بررسی سیتوژنتیکی چرخ ریسک بزرگ (*Parus major*) ماده در پارک جنگلی شهرستان نور

• **محمدرضا کلباسی**، استادیار دانشکدهٔ منابع طبیعی و علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس
• **طیبه اربابی**، دانش آموخته کارشناسی ارشد محیط زیست، دانشکدهٔ منابع طبیعی و علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس

تاریخ دریافت: شهریور ماه ۱۳۸۲ تاریخ پذیرش: شهریور ماه ۱۳۸۳

چکیده

ویژگی‌های سیتوژنتیکی چرخ ریسک بزرگ *(Parus major)* ماده ؛ در نمونه های تهیه شده از پارک جنگلی نور (استان مازندران) مورد مطالعه قرار گرفت. پس از تیمار کلشی‌سین به روش *In vivo*، از بافتهای کبد، مغز استخوانهای ران و درشت نی استفاده گردید. بر روی توده های کروموزومی، پارامترهای کاریولوژیکی از قبیل NF، طول بازوهای بزرگ و کوچک، شاخص سانترومری، نسبت بازوها، طول نسبی کروموزوم‌ها، مجموعهٔ طول کروموزوم‌ها و دامنهٔ تغییرات آنها تعیین گردید و بر اساس داده های نهایی کاریوگرام و ایدیوگرام تهیه شد. بررسی نتایج نهایی نشان داد که بیشترین اندیس متافازی از مغز استخوان درشت نی حاصل گردید. تعداد کروموزوم‌ها بین ۷۰-۸۰ عدد متغیر بود که از این تعداد ۱۹ کروموزوم در تمام پراکنشها ثابت و قابل سنجش بود و بقیه از نوع میکروکروموزوم بودند که تعداد متغیری را نشان می دادند. لذا فرمول کروموزومی این پرنده به صورت (میکروکروموزوم ۵۶+۵) +۱۲a + ۵sm+ ۲m= ۲ n و NF=۲۶ تعیین گردید. سایر پارامترهای کاریولوژیک شامل شاخص سانترومری، نسبت بازوها، طول نسبی کروموزوم‌ها و دامنهٔ تغییرات طول آنها به ترتیب بین ۲۰+۵۰، ۱-۴/۷، ۴-۲۴ و ۰/۸۳-۵ متغیر و مجموعهٔ طول کروموزوم‌ها۲۰/۸۲ میکرون بود. سیستم تعیین جنسیت پرندهٔ مورد مطالعه ZW تعیین گردید اما به دلیل عدم مشاهده ماکروکروموزومW، به نظر می‌رسد که کروموزوم جنسی W در چرخ ریسک بزرگ متعلق به میکروکروموزوم‌ها باشد .

کلمات کلیدی:چرخ ریسک بزرگ، گسترهٔ کروموزومی، کاریوتایپ، سیتوژنتیک، پارک جنگلی نور.

Pajouhesh & Sazandegi No 65 pp: 60-65

Karyotype analysis of Great Tit *(Parus major)* in Noor forest park (Mazandaran-Iran)

By: Kalbassi, M.P., Assist. Prof. of Natural Resources and Marine Sciences of Tarbiat Modares University
Arbabi, T., M.SC. of Environment, Natural Resources and Mariane Sciences of Tarbiat Modares University

Cytogenetical characters of great tit *(Parus major)*, were studied in Noor forest park (Mazandaran-Iran). After *in vivo* colchicine treatment, liver, bone marrow of femur and tibia tissues were used and karyological parameters such as

major and minor arms, centromeric index, arm ratio, relative length, total length and variation range of chromosomes length were determined on chromosomal slides as well as karyogram and idiogram. Final results show that maximum metaphase index were belong to bone marrow of tibia samples. Chromosomal number varied between 70-80, consist of one pair metacentric, three pairs submetacentric and six pairs acrocentric which were constant and visible on all spreads and the rest were variable microchromosomes. Sex determination mechanism were defined as ZW; but in none of the females studied could a W chromosome be identified, probably it placed in microchromosomes set, which will needed further studies. Karyological parameters show that centromeric index, arm ratio, relative length and variation range of chromosomes length were between 20-50, 1-4.7, 4-24 and 0.83-5 respectively and total length and NF were 20.82 and 26. karyotypic formula were determined as 2n=2m+5sm+12a+(56±5 microchromosomes).

Keywords: Great tit, Chromosomal Spread, Karyotype, Cytogenetic, Noor forest park, Iran

مقدمه

مطالعـهٔ کاریوتایـپ پرندگان به علت وجـود میکروکروموزوم‌ها، که بارزترین ویژگی سـیتوژنتیک پرندگان اسـت، همواره با مشـکل روبرو بوده اسـت و تعیین شـکل و تعداد دقیق این کروموزوم‌ها دشـوار اسـت (۱۸). در تمام پرندگانی که تاکنون مـورد مطالعه قـرار گرفته اند می توان کروموزوم‌ها را از نظر اندازه در دو طبقهٔ مشـخص قرار داد: ماکروکروموزوم‌ها که اندازه ای بیـن چهـار تا هشـت میکرون دارند و می توان آنها را از نظر ریخت‌شناسـی مورد مطالعه قـرار داد و میکروکروموزوم‌ها که اندازه‌ای کمتر از دو میکرون داشـته و در بسـیاری موارد زمانی که توسط میکروسـکوپ نوری مطالعه می‌شوند به صورت نقطه به نظر می رسـند(۳). مشـخصهٔ دوم کاریوتایپ پرندگان عدد دیپلوئید نسـبتاً بالای آنهاست که از ۴۰ در چاخ لق (*Burhinus oedicnemus*) تا ۱۲۶ در هدهد (*Upupa epops*) نوسـان دارد. عدد کروموزومی (2n) در اغلب گونه ها بین ۷۶ تا ۸۲ اسـت کـه معمولاً ۶۰ تا ۶۴ عدد از آنها را میکروکروموزوم‌ها تشـکیل می‌دهد. خصوصیت سـومی کـه در تمام پرندگان وجود دارد سـاختار کروموزوم‌های جنسـی است. در جنس ماده کروموزوم‌های جنسـی غیرهمانند و مرکب از دو کروموزوم Z و W است در حالی که در نرها همانند و مرکب از دو کروموزوم Z می باشـد (۱۴،۵).

روشهای متفاوتی برای تهیهٔ گسترش کروموزومی پرندگان وجود دارد که شامل روشهای *in vitro* از قبیل کشت پالپ پر، بافت خون و مغز اسـتخوان در محیط‌های کشـت است که معمولا زمان بر بوده و جهت مطالعات تخصصی کروموزوم‌ها مورد استفاده قرار می گیرد . روش ساده تر در این خصوص استفاده از متدهای *In vivo* می باشد که شامل تیمار کلشی سین و نمونه‌گیری مستقیم از پالپ پر یا مغز اسـتخوان از داخل بدن می‌باشـد و با صرف زمانی کمتر از ۱۲ سـاعت قابل اجرا است . استفاده از روشهای مختلف بستگی به گونه مورد مطالعه ، امکانات آزمایشگاهی و دقت و هدف نهایی دارد (۱، ۶).

محافظـت ژنتیکـی و مطالعه تنوع زیسـتی (Biodiversity) پرندگان , مسـتلزم آگاهی اولیه از اطلاعات سـیتولوژیک آنها بوده کـه این اطلاعات در راسـتای طبقه بندی فیلوژنتیکـی آنها به روش Cytosystematic و تهیه اطلس کروموزومی نیز مورد اسـتفاده قرار می‌گیرد. همچنین کاریولوژی پرندگان ابزار مفیدی در جهت تشـخیص سیسـتم تعیین جنسیت , تعیین جمعیتهای متفاوت , تشخیص نوع جنسیت، شناخت گونه های هیبرید و تعیین گونه یا زیرگونه پرندگان می‌باشد(۲،۱۱،۲۱). از آنجا که این امر در ایران کمتر مورد توجه قرار گرفته اسـت؛ در این تحقیق تلاش گردید تا با روشـی سـاده , ویژگی‌های کاریولوژیک چرخ ریسک بزرگ در پارک جنگلی شهرستان نور که نقش مهمی در کنترل حشرات جنگلی بر عهده دارد ارائه گردد تا به عنوان یک الگو جهت مطالعات مشـابه سـیتوژنتیکی بر روی سایر پرندگان مورد استفاده قرار گیرد. به‌علاوه نتایج به‌دسـت آمده بر روی این پرنده در ایران ، برای نخستین بار گزارش می‌گردد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری در پارک جنگلی شهرستان نور و با کمک تور پرنده‌گیری (Mist net) با چشمهٔ ۴۰۰ میلیمتر مربع و ابعاد ۳×۱۰ متر انجام شد. تور در ارتفاع چهار تا هفت متری وصل گردید و ۳ نمونه صید شده به صورت زنده به آزمایشگاه منتقل شدند تا آزمایشهای لازم سیتوژنتیکی بر روی آنها انجام گیرد. با بررسی گنادها جنسیت همه نمونه ها ماده تشخیص داده شد .مواد لازم در تهیهٔ گسترهٔ کروموزومی با نسبتهای زیر مورد استفاده قرار گرفت:

محلول کلشی سین: ۵ mg کلشی سین+۲۰ ml محلول سرم فیزیولوژی نه در هزار

محلول هیپوتونیک: ۰/۵۶ گرم کلرورپتاسیم+۱۰۰ ml آب مقطر فاقد یون کلسیم و منیزیوم

تثبیت کنندهٔ کارنوی: یک حجم اسید استیک گلاسیال (۹۶٪) : سه حجم متانول مرک

تامپون فسفات (pH=۶/۸): (۱/۶۴ گرم NaH_2PO_4، ۲/۰۶ گرم Na_2HPO_4) در یک لیتر آب مقطر

محلول رنگ آمیزی گیمسا: ۴ ml گیمسای خالص + ۹۶ ml تامپون فسفات

جهت تهیهٔ گسترشهای کروموزومی ابتدا پرندگان توزین و به ازای هر گرم، ۰/۰۱ میلی‌لیتر محلول کلشی‌سین به زیر پوست شکم تزریق گردید و به مدت ۸۰ دقیقه به حال خود گذاشته شد. سپس توسط کلروفرم بیهوش و بافتهای مغز استخوان ران، مغز استخوان درشت نی و کبد استخراج شد و در ۱۵میلی‌متر محلول ۳۸ درجه سانتیگراد کلرورپتاسیم عمل هیپوتونیزاسیون انجام شد. سپس نمونه ها به انکوباتور ۳۸ درجه سانتیگراد منتقل گردید و این عمل در مدت زمانهای ۲۰، ۲۵، ۳۵ دقیقه ادامه یافت. این امر جهت تعیین مناسبترین زمان تأثیر محلول هیپوتونیک بر بافت‌ها صورت پذیرفت. لوله های محتوی بافت به مدت ۸ دقیقه با دور ۱۶۰۰ (دور در دقیقه) سانتریفوژ گردید، سپس قسمت رویی لوله ها به کمک پیپت پاستور جمع آوری و تخلیه شد. جهت تثبیت نمونه ها به رسوبات باقی مانده در هر لوله ۵ میلی‌متر محلول کاملاً خنک کارنوی اضافه و توسط پیپت پاستور همگن شد. عمل تعویض محلول کارنوی سه نوبت در زمانهای ۳۰ دقیقه، ۱۰ دقیقه و ۱۰ دقیقه تکرار شد. در این مرحله سوسپانسیون سلولی تثبیت شده از ارتفاعات ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ سانتیمتری بر روی لام‌های کاملاً تمیز و یخ زده که بصورت شیب‌دار قرار داده شده بودند ریخته شد و سپس لام‌های تهیه شده در هوای آزاد خشک شدند. علاوه بر لام‌های خنک، تعدادی از گسترشها پس از تهیه شدن به روش فوق، سه مرتبه از روی شعله عبور داده شدند تا پراکنش بیشتر کروموزوم‌ها انجام پذیرد. پس از خشک شدن تمامی لام‌ها عمل رنگ آمیزی با استفاده از گیمسای ۴٪ به مدت ۱۵-۲۰ دقیقه انجام پذیرفت و سپس لامها با آب مقطر فاقد یون کلسیم و منیزیم شسته و در هوای آزاد خشک گردیدند. لامها توسط فتومیکروسکوپ مدل Olympus-BH-۲ مورد مطالعه قرار گرفت و از کروموزوم‌های مناسبتر با درشتنمایی ۱۰۰۰× عکس تهیه شد. جهت تهیهٔ کاریوگرام ابتدا از عکسهای تهیه شده اسکن به عمل آمد و سپس با نرم افزار فتوشاپ، کروموزوم‌ها از روی عکس جداسازی و به ترتیب اندازه چیده شدند. درنهایت پارامترهای کاریولوژیک مورد سنجش قرار گرفتند و بر اساس روش MacGregor (۱۲) نوع کروموزوم‌ها و فرمول کروموزوم‌های متاسانتریک تا آکروسانتریک مشخص گردید. سایر پارامترهای کاریولوژیک از قبیل شاخص سانترومری، نسبت بازوها و طول نسبی کروموزوم‌ها نیز به ترتیب از روابط ۱ الی ۳ محاسبه گردید (۲۳).

رابطهٔ ۱:

۱۰۰× [طول کل کروموزوم / طول بازوی کوچک] = **شاخص سانترومری**:

رابطه ۲:

طول بازوی کوچک / طول بازوی بلند = **نسبت بازوها**

رابطهٔ ۳:

۱۰۰× طول کلی تمام کروموزوم‌ها در یک سری هاپلوئید

تقسیم طول کل کروموزوم = **طول نسبی**

پس از تعیین پارامترهای فوق الذکر، ایدیوگرام کروموزومی بر اساس مقادیر بدست آمده ترسیم گردید.

نتایج و بحث

تعداد زیادی از گستره های کروموزومی توسط میکروسکوپ نوری مورد شمارش قرار گرفت، تعداد کروموزوم‌ها بین ۷۰ تا ۸۰ عدد متغیر بود و تعداد زیادی از آنها را میکروکروموزوم‌ها تشکیل می‌داد. این تحقیق با مطالعات محققان دیگر همخوانی دارد مثلاً Castroviejo و همکاران (۴) چنین مطالعه‌ای را بر روی چهار گونهٔ *Parus major*. *Parus palustris*. *Passer montanus* و *Passer domesticus* انجام داده و تعداد کروموزوم‌ها

تصویر۱- گسترهٔ کروموزومی چرخ ریسک بزرگ (*Parus major*) (بزرگنمایی ۱۰۰۰×)

را بیـن ۶۸-۸۰ تخمین زدنـد. Derjusheva و همـکاران(۷) نیز به تهیه و مطالعهٔ کاریوتیپ سـهرهٔ جنگلـی *Fringilla coelebs* پرداختند و تعداد کروموزوم‌هـای سـهرهٔ جنگلـی را ۸۰ تعییـن کردند که تعـداد زیادی را میکروکروموزوم‌ها تشـکیل می دادند. آنها به این نتیجه رسیدند که تعداد کروموزوم‌ها و مورفولوژی آنها در گونه های مختلف گنجشـک سانان مشابه اسـت. به عبارت دیگر تمایز زیادی بین گونه های گنجشک سانان و دیگر پرندگان وجود دارد. سـاختار ۱۰ جفت ماکروکروموزوم که قابل بررسـی با میکروسکوپ نوری بودند عبارتست از:

اولیـن جفت متاسـانتریک و به طور قابل ملاحظـه ای بزرگتر از بقیهٔ کروموزوم‌هـا می باشـد. دومین و چهارمین جفـت و همچنین کروموزوم جنسـی از نوع ساب متاسانتریک هستند. این پرنده شش جفت کروموزوم (سـومین و پنجمین تا نهمین جفت آتوزومها) آکروسانتریک دارد. مجموع طول کروموزوم‌های هاپلوئید در این گونه ۲۰/۸۲ میکرون و دامنهٔ تغییرات آنها بین ۰/۸۳-۵ می باشـد. لذا فرمول کروموزومی در این پرنده به صورت (میکروکرومـوزوم +۱۲ a+ ۵ sm+۲ m=۲n) تعییـن گردید و تعداد بازوهای ماکروموزوم‌ها NF=۲۶ بود . سـایر پارامترهای کاریولوژیک شامل شاخص سانترومری، نسبت بازوها و طول نسبی کروموزوم‌ها به ترتیب بین ۲۰-۵۰، ۱-۴/۷، ۴-۲۴ متغیر بود (جدول ۱).

در ایـن تحقیـق کروموزوم جنسـی (Z) به صورت تنهـا در جایگاه دهم قرار داده شـده اسـت (تصاویـر ۲و۳). تشـخیص کروموزوم‌های جنسـی پرندگان به صـورت ZZ در نر و ZW در ماده اولین بار توسـط Werner (۲۶) بـرای توصیف کاریوتایپ بوقلمون پیشـنهاد شـد و این نظریـه برای تمـام گونه‌هـای پرندگان پذیرفته شـد(۱۴). شناسـایی صحیح کروموزوم جنسـی Z در طیور توسط Unger (۲۴) انجام گرفت، وی یـک کروموزوم متاسـانتریک و از نظـر اندازه پنجمیـن کروموزوم بـزرگ را در جنـس نر به صورت جفت و در جنـس ماده به صورت فرد مشـاهده کرد، این کروموزوم بعداً به عنوان کروموزوم جنسـی Z توسط Sokolov و همـکاران (۲۲)، Miller (۱۳) و Yamashina (۲۷) معرفی شـد. کروموزوم W نخستین بار توسـط Frederic (۱۰) به صورت یک میکروکرومـوزوم آکروسـانتریک توصیف شـد، سـپس Schmid (۱۹) عنصر واحدی را در سـلولهای پرندهٔ ماده تشخیص داد که در آزمایشگاه تیمیدیـن تریتیـوم دار را به مقـدار زیاد و با آهنگ نسـبتا" کند جذب مـی کـرد، وی ایـن کروموزوم را بـه صورت سـاب متاسـانتریک و نه آکروسـانتریک مشـاهده کرد و بیان کرد که این عنصر همان کروموزوم جنسی W است که Frederic به آن اشاره کرده است. Ohno و همکاران (۱۷) بیان کردند کروموزوم جنسـی در پرندگان ماده بصورت ZW است نه ZO.

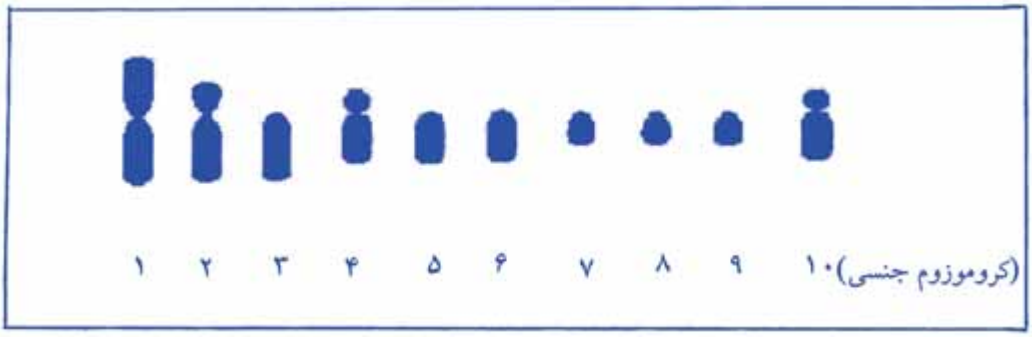
در بین گونه‌های مختلف حتی گونه های متعلق به یک جنس تغییرات قابل ملاحظه ای در اندازه و شـکل کروموزوم W مشـاهده می شـود، این کروموزوم ممکن اسـت یـک میکروکروموزوم یا ماکروکروموزوم باشـد که الگـوی نواربنـدی G متفاوتی در گونه های مختلف نشـان مـی دهد (۷). در تعـدادی از پرندگان ماننـد *Serinus canarius*، Rubo v. virginianus، *Cygnopsis cygnoid* و *Columba livia domestica* کرومـوزوم W بـه صورت متاسـانتریک یا ساب متاسانتریک بین ششـمین و هفتمین جفت شرح داده شده است اما در *Gallus domesticus* تعیین شکل W کروموزوم مشـکل بود، Owen (۱۸) آن را بین هفتمین و هشتمین جفت قرار داد و Shoffnerو همـکاران (۲۰) بین نهمیـن و دهمین جفت. با توجه به اینکه کروموزوم جنسـی موجود در این پرنده (Z)، فاقد همولوگ بود (تصویر ۲) به نظر می رسـد کروموزوم مزبور (W) در بین میکروکروموزوم‌ها باشـد که تعیین آن نیاز به مطالعات کاملتر خواهد داشت.

جدول شمارهٔ ۱- فرمول و نوع کروموزوم در کاریوتایپ چرخ ریسک بزرگ (*Parus major*)

نوع کروموزوم	طول نسبی	نسبت بازوها	شاخص سانترومری	طول کلی کروموزوم (µm)	بازوی بلند (µm)	بازوی کوتاه (µm)	جفت
m	۲۴	۱	۵۰	۵	۲/۵	۲/۵	۱
sm	۱۶	۳/۰۱	۲۵	۳/۳۳	۲/۵	۰/۸۳	۲
A	۱۲	∞	۰	۲/۵	۲/۵	۰	۳
sm	۱۰	۴/۰۷	۲۰	۲/۰۸	۱/۶۷	۰/۴۱	۴
a	۸	∞	۰	۱/۶۷	۱/۶۷	۰	۵
a	۸	∞	۰	۱/۶۷	۱/۶۷	۰	۶
a	۴	∞	۰	۰/۸۳	۰/۸۳	۰	۷
a	۴	∞	۰	۰/۸۳	۰/۸۳	۰	۸
a	۴	∞	۰	۰/۸۳	۰/۸۳	۰	۹
sm	۱۰	۴/۰۷	۲۰	۲/۰۸	۱/۶۷	۰/۴۱	۱۰

m: کروموزوم متاسانتریک sm: کروموزوم ساب متاسانتریک a: کروموزوم آکروسانتریک

تصویر۲- کاریوگرام ماکروکروموزوم‌ها در جنس مادهٔ چرخ ریسک بزرگ (*Parus major*)



تصویر ۳- ایدیوگرام هاپلویید جنس مادهٔ چرخ ریسک بزرگ (*Parus major*)

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از زحمات مهندس منصور علی آبادیان در جستجوی مقالات ارزشمند و همکاری مهندس بهنام بلمکی و مهندس بتول عابدی در جمع آوری نمونه‌ها تشکر می‌نمایم.

منابع مورد استفاده

۱ - قلیچی پور، زهرا. ۱۳۷۶. بررسی تغییرات درون گونه‌ای کبک *(Alectoris chukar)* در رشته کوههای البرز و زاگرس. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشکده شیلات و محیط زیست. دانشگاه تهران. ۹۱ ص.

2-Bouzat JL. 2001; The population genetic structure of the greater rhea *(Rhea americana)* in an agricultural landscape. Biol Conserv 99:277:284.

3-Burt DW, Bruley C, Dunn IC, Jones CT, Ramage A, Law AS, Morrice DR, Paton IR, Smith J, Windsor D, Sazanov A, Fries R, Waddington D. 1999; The dynamics of chromosome evolution in birds and mammals. Nature. Nov 25;402(6760):411-3.

4- Castroviejo, J., Christian, L. C., Gropp, A., 1975. Karyotypes of four species of birds of the families Ploceidae and Paridae. Heredity 61: 134-136.

5- Christidis, L. 1989; Karyotypic analyses in birds. In: Cytogenetics of animals. Halnan, R.E. (ed). C.A.B. International. pp: 125-133.

6-De Lucca EJ, Shirley LR and Lanier C. 1991; Karyotype studies in twenty-two species of parrots (Psittaciformes: Aves). Braz J Genet 14:73-98.

7- Derjusheva, S., Kurganova, A., Saifitdinova, A. and Gaginskaya, E. 2001; Karyotype analysis of *Fringilla coelebs* (Aves, Passeriformes) using fluorochrome staining, Ag-NOR and Fish. Biological Institute of Saint-Petersburg University, Saint-Petersburg, 198504 Russia.

8-Duarte JMB and Caparroz R. 1995; Cytotaxonomic analyses of Brazilian species of the genus Amazona (Psittacidae, Aves) and confirmation of the genus Salvatoria (Ribeiro, 1920). Braz J Genet 18:623-628.

9-Francisco MR and Galetti Jr. PM. 2001; Cytotaxonomic considerations on Neotropical Psittacidae birds and description of three new karyotypes. Hereditas 134:225-228.

10- Frederic, J. 1961. Contribution a letude du caryotype chez le poulet. Archives de biologie 72: 185-209.

11-Hudson QJ, Wilkins RJ, Wass JR and Hogg ID. 2000; Low genetic variability in small populations of New Zealand kokako *Callaeas cinerea* Wilsoni. Biol Conserv 96:105-112.

12- MacGregor. U. C. 1993; An Introduction to animal cytogenetics. Chapter 1,2. C & H press. pp.1-30.

13- Miller, R.A. 1938; Spermatogenesis in a sex-reversed female and in normal males of domesticus fowl (*Gallus domesticus*). Anat. Record 70: 155-189.

14-Mizuno S, MacGregor HC.1998; The ZW lampbrush chromosomes of birds: A unique opportunity to look at the molecular cytogenetics of sex chromosomes. Cytogenet Cell Genet 80: 149-157.

15-Morgan, G.T. 2002; Lampbrush chromosomes and associated bodies: New insights into principles of nuclear structure and function. Chromosome Research. 10: 177 - 200.

16-Nader W, Werner D and Wink M.1999; Genetic diversity of scarlet macaws *Ara macao* in reintroduction studies for threatened populations in Costa Rica. Biol Conserv 87:269-272.

17- Ohno, S., Steinius, C., Christian, L.C., Becak, W. and Becak, M.L. .1964; Chromosomal uniformity in the avian subclass carinatae. Chromosoma 15: 280-288.

18- Owen, J.J.T. 1965; Karyotype studies on *Gallus domesticus*. Chromosoma 16: 601-608.

19- Schmid, W. 1962; DNA replication patterns of the heterochromosomes in *Gallus domesticus*. Cytogenetics 1: 344-352.

20- Shoffner, R.N., Wang, N., Lee, F., King, R., and Otis, J.S. 1979; Chromosome homology between the Ross's and Emperor goose. J. Hered. 10: 395-400.

21-Sick H.1990; Notes on the taxonomy of Brazilian parrots. Ararajuba 1:111-112.

22- Sokolov, N.N., Tiniakov, G.G. and Trafimov, J.E. 1936; On the morphology of the chromosomes in Gallinaceae. Cytologia 7: 466-489.

23- Thorgaard, G. H., Disney, J. E. 1993; Chromosome preparation and analysis. Chapter 6. pp. 171-186.

24- Unger, H. 1936; Beitrag zur chromosomen forschung der vogel. Z. Zellforsch. Mickroskop Anat. 25: 476-500.

25-Vitor de Oliveira LunardiI; Mercival Roberto FranciscoI; Guaracy Tadeu RochaII; Beatriz GoldschmidtIII; Pedro Manoel Galetti JuniorI .2003; Karyotype description of two Neotropical Psittacidae species: The endangered Hyacinth Macaw, *Anodorhynchus hyacinthinus*, and the Hawk-headed Parrot, *Deroptyus accipitrinus* (Psittaciformes: Aves), and its significance for conservation plans .Genet. Mol. Biol. vol.26 no.3

26- Werner, O.S. 1931; The chromosome of the domesticus turkey. Biol. Bull. 61: 157-164.

27- Yamashina, Y. 1944; Karyotype studies in birds. I. Comparative morphology of chromosomes in seventeen races of domesticus fowl. Cytologia 13: 270-296.