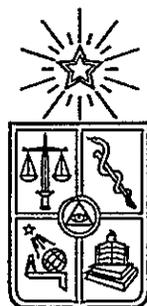


UCH-FC  
MAG-B  
N 964  
C.1



**EVOLUCIÓN Y DESARROLLO DEL PALADAR EN LAS  
AVES MODERNAS ¿EXISTE RECAPITULACIÓN DE LA  
CONDICIÓN PALEOGNATA EN NEOGNATOS?**

**Tesis**

Entregada a la  
Universidad de Chile  
en cumplimiento parcial de los requisitos  
para optar al grado de

**Magíster en Ciencias Biológicas**

Facultad de Ciencias

Por

**Daniel Elías Núñez León**

Noviembre 2015

Director de Tesis Dr.: Alexander Vargas Milne  
Co-Director de Tesis Dr.: Jorge Mpodosis Marin

**FACULTAD DE CIENCIAS  
UNIVERSIDAD DE CHILE  
INFORME DE APROBACIÓN  
TESIS DE MAGÍSTER**

Se informa a la Escuela de Postgrado de la Facultad de Ciencias que la Tesis de Magíster presentada por el candidato

**Daniel Elías Núñez León**

Ha sido aprobada por la comisión de Evaluación de la tesis como requisito para optar al grado de Magíster en Ciencias Biológicas, en el examen de Defensa Privada de Tesis rendido el día 21 de julio de 2015

**Director de Tesis:**

**Dr. Alexander Vargas Milne**

**Co-Director de Tesis:**

**Dr. Jorge Mpodozis Marin**

**Comisión de Evaluación de la Tesis:**

**Dr. Juan Fernández Hidalgo (presidente)**

**Dr. Miguel Allende Connelly**

.....

.....

.....

*Miguel Allende*

*The youth, when Nature and Art attract him, thinks that with a vigorous effort he can soon penetrate into the innermost sanctuary; the man, after long wanderings, finds himself still in the outer court.*

J. W. Goethe

*in consequence of the intimate causal connections between the two, many of the conclusions drawn from the investigation of individual development [would] throw light on the phylogenetic processes.*

Wilhelm Roux

## Biografía



Nació en la ciudad de Coquimbo la madrugada del 6 de julio de 1988. Se crió en una familia de biólogos marinos, en consecuencia, siempre tuvo contacto con la naturaleza y el quehacer científico. Sus primeros años de escolaridad, en la Escuela experimental de música "Jorge Peña Hen", despertaron el gusto por la música. A las 15 años, se mudó a Santiago, donde conoció una realidad muy distinta a la cual estaba acostumbrado, llovía. Los años de sequía, hicieron más fácil la aclimatación a esta nueva realidad. Luego de vertiginosos 4 años en el Colegio Altamira, tomo la decisión, resistida por sus padres, de estudiar biología. En la facultad de ciencias conoció la evolución, el desarrollo y la morfología.

## Agradecimientos

En primer lugar, agradezco a mi madre por aportar el corpúsculo del cual derivan todas mis células, y a mi padre por solo aportar material genético y un centriolo. A ambos también agradezco, por su dedicación y apoyo en mi desarrollo como persona. Agradezco a todos quienes aportaron en la realización de esta tesis. También agradezco a los integrantes del Rayo, específicamente a Alexander por confiar, generar el espacio y permitir que esta tesis se hiciera una realidad, a Chico por su guía técnica y espiritual, a Joven por la sociedad experimental que forjamos, y a Jompoma por no creer y así generar día a día un espíritu de superación y venganza. Por último, agradezco Conicyt por financiar mi vida en el año 2013 y al proyecto Fondecyt 1120424 por financiar esta tesis.

# ÍNDICE DE MATERIAS

ABSTRACT .....	iv
RESUMEN .....	x
INTRODUCCIÓN .....	12
<i>Hipótesis</i> .....	23
<i>Objetivo general</i> .....	23
<i>Objetivos específicos</i> .....	23
METODOLOGÍA.....	24
<i>Obtención de huevos y extracción de embriones</i> .....	24
<i>Estadios embrionarios</i> .....	26
<i>Fijación y tinción del tejido óseo</i> .....	27
<i>Caracterización del patrón de osificación</i> .....	28
RESULTADOS .....	29
<i>Patrón de osificación del paladar</i> .....	29
<i>Pterigoides, hemipterigoides, palatinos y vómer: en búsqueda de la recapitulación.</i> .....	31
DISCUSIÓN.....	52
<i>Ausencia de recapitulación en la aves modernas</i> .....	52
<i>Conservación de los hemipterigoides en la aves modernas</i> .....	54
<i>La plasticidad evolutiva del paladar</i> .....	58
REFERENCIAS .....	65

## ABSTRACT

There are two lineages that comprise the so-called modern birds (Neornithes): Palaeognathae and Neognathae. Each clade is associated with a particular morphology of the palate. In the paleognathous type of palate, the vomer and the pterygoids are in contact, while in the neognathous type, the pterygoids do not contact the vomer, but articulate with the palatines. According to Pycraft (1901) in chicks and juveniles of some orders of Neognathae, there is a temporary link between the vomer and the pterygoids, as in the paleognathous palate. This information has generated disparate interpretations and theories for the evolution of the palate in modern birds. To evaluate those possibilities, we studied the diversity of embryonic development in a Tinamiforme (chilean tinamou) and species of 7 orders of Neognathae, including 3 orders which, according to Pycraft, recapitulate the paleognathous condition in juveniles (Passeriformes, Gruiformes and Charadriiformes). In all Neognathae (including these three orders) the vomer ossifies later than the palatines, while in Paleognathae, the vomer ossifies earlier than the palatines. In embryos of Neognathae there is no contact between the vomer and the pterygoids, although in later embryonic stages, in species of Passerines, Gruiformes and Charadriiformes, these bones approach each other, almost overlapping or contacting. This suggests that, as described by Pycraft, the vomer and the pterygoids are in contact in chicks and juveniles (post-hatching). In Palaeognathae, the vomer connects with the pterygoids from embryonic stages. In contrast, in those Neognathae where a vomer-ptyergoid contact exists, it occurs later (post-hatching), suggesting a derived condition, rather than a real reversion to Paleognathous condition. Pycraft described an anterior specialized region of the pterygoid, the "hemipterygoid", which makes temporary contact with

the vomer. The data of this work show that the hemipterygoids are present in Paleognathae, being the part of the pterygoids that meets the vomer. In all Neognathae, the hemipterygoids are present, even if they're never in contact with the vomer (including species where the vomer is completely absent). We propose the hemipterygoids of Neognathe are homologous to the region connecting to the vomer in Palaeognathae.

## RESUMEN

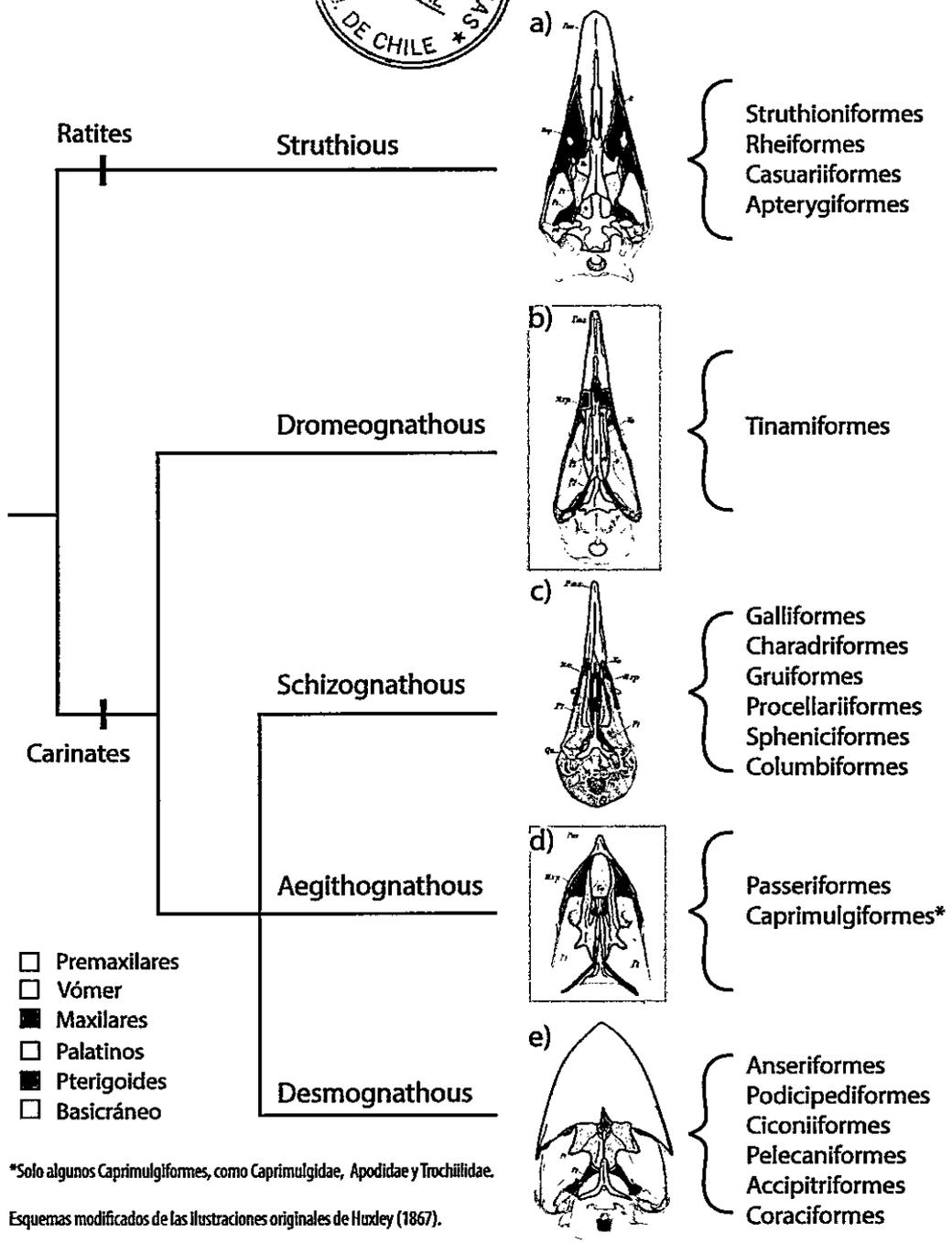
Existen dos linajes que comprenden las denominadas aves modernas (Neornithes): Palaeognathae y Neognathae. Cada clado se asocia a una morfología particular del paladar. En el paladar de tipo paleognato, el vómer contacta posteriormente con los pterigoides, mientras que en el de tipo neognato, los pterigoides no contactan con el vómer, sino que articulan con los palatinos. Según Pycraft (1901) en polluelos y juveniles de algunos órdenes de Neognathae, existe una conexión transitoria entre el vómer y los pterigoides, como en el paladar paleognato. Este hecho generó distintas interpretaciones y teorías sobre la evolución del paladar en las aves modernas. Para evaluar estas posibilidades, en esta tesis se estudió la diversidad del desarrollo embrionario del paladar en un Tinamiforme (la perdiz chilena) y en especies de 7 órdenes de Neognathae, incluyendo 3 órdenes que, según Pycraft, recapitulan la condición paleognata (Passeriformes, Gruiformes y Charadriiformes). En todas las Neognathae (incluyendo estos tres órdenes) los palatinos osifican antes que el vómer, mientras que en Palaeognathae, el vómer osifica antes que los palatinos. El contacto entre el vómer y los pterigoides no existe en los embriones de ninguna Neognathae, aunque en estadios embrionarios más tardíos de Passeriformes, Gruiformes y Charadriiformes, estos huesos se aproximan casi solapando o contactando. Esto sugiere la veracidad de lo descrito por Pycraft, que el vómer y los pterigoides contactan en polluelos y juveniles (post-eclosión). En Palaeognathae, el vómer se conecta con los pterigoides desde estadios embrionarios. En contraste, en aquellas Neognathae donde existe un contacto vómer-pterigoides, éste se establece de manera tardía (post-eclosión), lo cual sugiere una condición derivada, más que un

retroceso o auténtica reversión a la condición de Palaeognathae. En estos órdenes, Pycraft describió una región anterior especializada de los pterigoides, los "hemipterigoides", que conforman el contacto con el vómer. Los datos de esta tesis muestran que los hemipterigoides también están presentes en Palaeognathae, siendo la porción de los pterigoides que se une con el vómer. Los hemipterigoides son fácilmente reconocibles en todas las Neognathae, aún en aquellos órdenes donde nunca se establece contacto con el vómer, o donde el vómer está completamente ausente. Proponemos que los hemipterigoides de todas las Neognathae son homólogos a la región que conecta con el vómer en Palaeognathae.

## INTRODUCCIÓN

Las relaciones filogenéticas de las aves modernas (Neornithes) comenzaron a dilucidarse gracias al trabajo de Thomas H. Huxley (1867), "*On the classification of birds and the taxonomic value of the modifications of certain of the cranial bones observable in that class*". Este estudio establece al paladar como un carácter altamente variable, que sería útil para distinguir afinidades filogenéticas. Así, Huxley propone cinco tipos de paladar, que reflejarían diferentes ramas evolutivas de las aves: (i) struthious, (ii) dromeognathous, (iii) schizognathous, (iv) desmognathous y (v) aegithognathous (Fig. 1)<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Características morfológicas del paladar de tipo: (i) struthious, el vómer y los pterigoides fusionados relegan a los palatinos de la línea media del paladar; (ii) dromeognathous, esencialmente idéntico al tipo struthious, solo agrupado con los demás órdenes de aves por la presencia de quilla en el esternón; (iii) schizognathous, el vómer puede ser pequeño o grande asemejándose al tipo struthious, los maxilopalatinos no se encuentran en la línea media del paladar, los pterigoides junto a los palatinos generan una articulación con el parasfenoides; (iv) aegithognathous, generalmente presentan un vómer grande que se extiende hacia la zona posterior del paladar y es truncado en anterior. Los maxilopalatinos no se unen en la línea media del paladar, pero sí contactan el parasfenoides; y (v) desmognathous, el vómer es pequeño o esta ausente y los maxilopalatinos generalmente están fusionados en la línea media del paladar.



**FIGURA 1.** Esquema que interpreta las relaciones filogenéticas propuestas por Huxley (1867), según el tipo de paladar: a) (i) struthious, ej. el ñandú (*Rhea americana*); b) (ii) dromeognathous, ej. el tinamú gigante (*Tinamus major*); c) (iii) schizognathous, ej. el chorlito dorado común (*Pluvialis apricaria*); d) (iv) aegithognathous, ej. el vencejo común (*Apus apus*) y e) (v) desmognathous, ej. el podargo australiano (*Podargus strigoides*).

Si bien las categorías y afinidades propuestas fueron debatidas (Parker, 1875; Mcdowell, 1948; Simoneta, 1960; Hofer, 1945; Stegmann, 1978; Feduccia, 1996), también surgieron consensos. El estudio de la musculatura, aparato reproductor y morfología del paladar de Pycraft (1900) le permitió distinguir dos linajes básicos de aves, los superordenes Palaeognathae y Neognathae (Fig. 2), sustentados actualmente tanto por evidencia morfológica como molecular (Livezey y Zusi, 2007; Hackett et al, 2008; Yuri et al, 2013; Jarvis et al, 2014). Pycraft señaló que estos dos linajes, Palaeognathae (del griego “mandíbulas antiguas”) y Neognathae (del griego “mandíbulas nuevas”), poseen tipos de paladar característicos: paleognato y neognato (En esta tesis, se usará los términos formales en latín Palaeognathae y Neognathae, para referirse a los linajes, y los términos informales (castellanizados) paleognato y neognato, para referirse a sus morfologías palatales).

En el típico paladar paleognato, el vómer y los pterigoides contactan formando una barra muy característica, que impide el encuentro de los palatinos en la línea media del paladar (Gussekkloo y Bout, 2002) (Fig. 3d). Ésta es la diferencia más evidente con el típico paladar neognato, donde el vómer no se une a los pterigoides, sino que articula con los palatinos. En el paladar paleognato, los palatinos contactan en la zona anterior con los maxilopalatinos (porción palatal del maxilar) y en la zona posteromedial con el vómer y los pterigoides (Bock, 1963; Carrol, 1997) (Fig. 3d). En el paladar neognato, el vómer varía ampliamente en su morfología. A diferencia de Palaeognathae, el vómer es frecuentemente muy pequeño ó ausente y no contacta con los pterigoides (Zusi y Livezey, 2006). Los palatinos, los pterigoides y el parasfenoides constituyen una articulación móvil que permite mayor movilidad anteroposterior del paladar que en Palaeognathae (Carrol, 1997; Romer, 1966). A diferencia de la condición paleognata, los palatinos son alargados, se ubican paralelos, y contactan en la

región anterior con los premaxilares (Fig. 3e) (Bock, 1963). (En esta tesis, debido a la ambigüedad de la literatura, se usarán los términos contacto o unión cuando dos huesos se asocian a través de una articulación fibrosa, y solo articulación cuando dos huesos se asocian mediante una articulación sinovial).

Pycraft (1901) describió que en polluelos y juveniles de algunos linajes de Neognathae, como en Sphenisciformes (Fig. 4a, c) y Passeriformes (Fig. 4b, d), la porción anterior de los pterigoides (que este autor denomina "hemipterigoide") puede contactar o solapar con las porciones posteriores del vómer, como en Palaeognathae. Pero este contacto luego está ausente en el adulto, donde el hemipterigoide se desprende del resto del pterigoide y se fusiona totalmente (sinostosis) a los palatinos (Fig. 4c, d). Pycraft argumentó que el desarrollo de estas aves es recapitulatorio, y por lo tanto coherente con la noción que el paladar neognato es derivado, habiendo evolucionado a partir del tipo paleognato, que consideró primitivo.

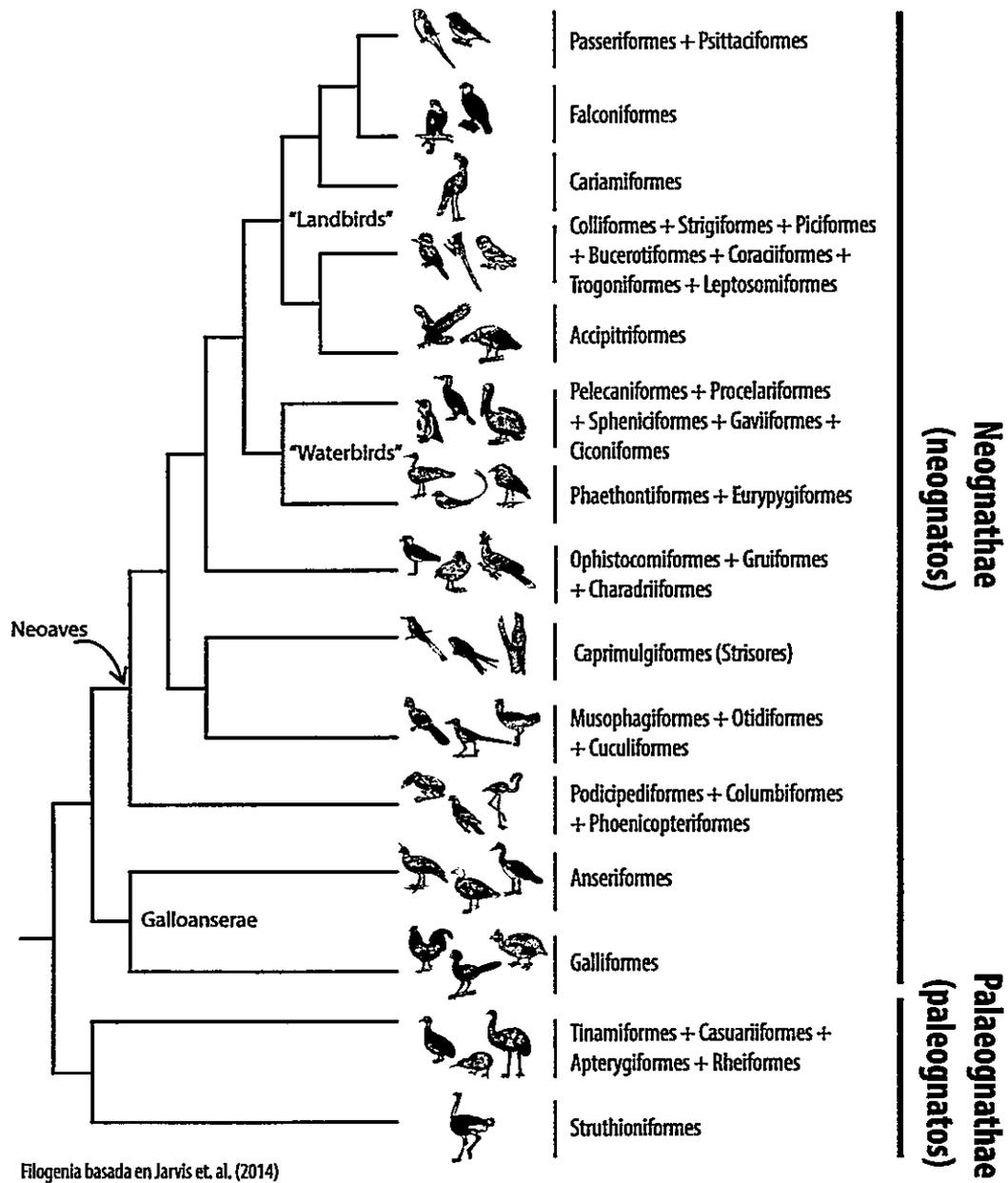
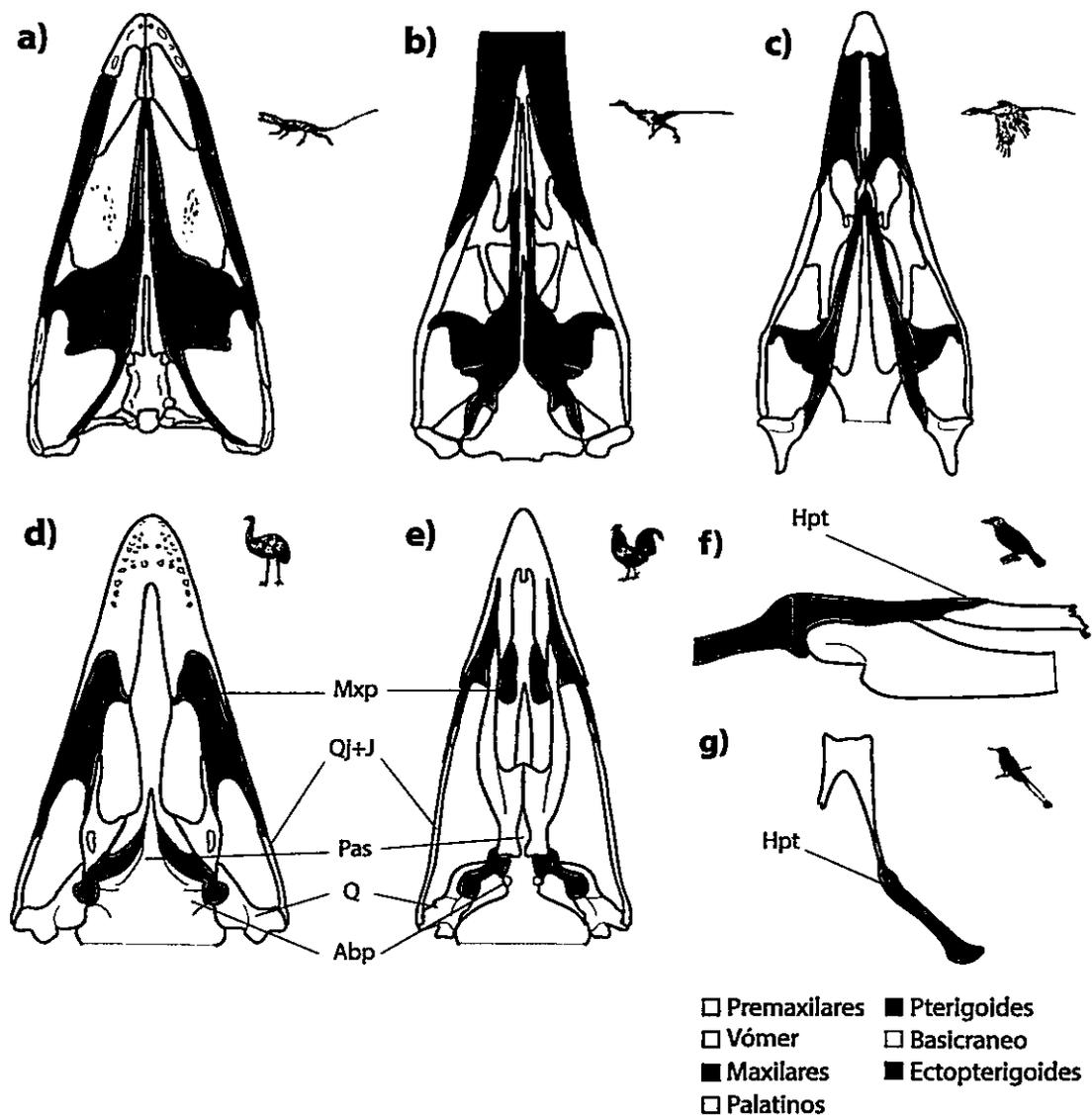


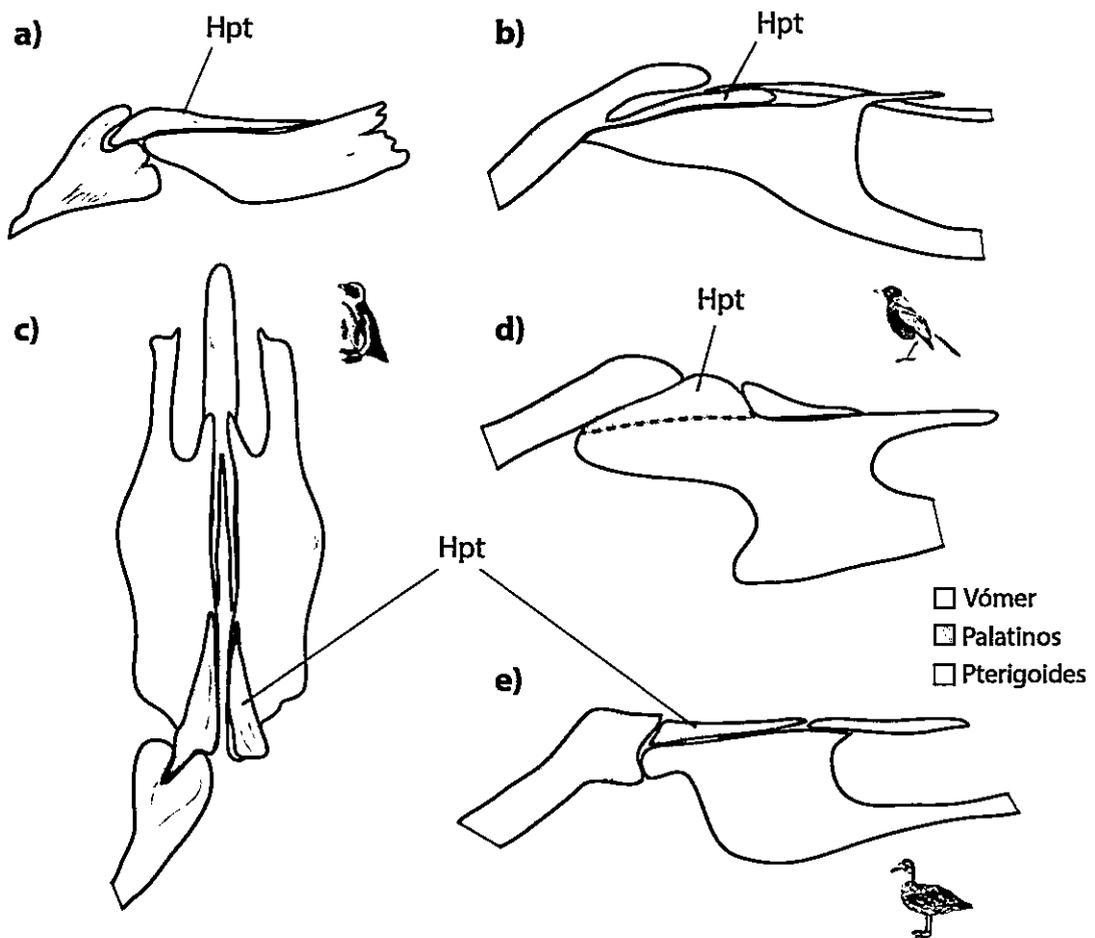
FIGURA 2. Relaciones filogenéticas consenso de Neornithes.



**FIGURA 3.** Morfología del paladar en formas fósiles y en las aves modernas. **a)** Vista ventral del paladar en *Euparkeria* (Witmer y Martin, 1984). **b)** Vista ventral del paladar en *Gobivenator mongolensis* (Tsuihiji et al, 2014). **c)** Vista ventral del paladar en *Archaeopteryx* (Wellnhofer, 2009). **d)** Vista ventral del paladar en el emú (*Dromaius novaehollandiae*) (Andors, 2001). **e)** Vista ventral del paladar en el pollo (*Gallus gallus*) (Andors, 2001). **f)** Vista lateral parcial del paladar en el barbudo grande (*Megalaima virens*) (Pycraft, 1901). **g)** Vista ventral parcial del paladar en el colibrí portacintas piquirrojo (*Trochilus polytmus*) (Lowe, 1939). **Abp**, apófisis basipterigoides; **J**, jugal; **Hpt**, hemipterigoide; **Mxp**, maxilopalatinos; **Pas**, parasfenoides; **Q**, cuadrado; **Qj**, cuadradojugal.

En contraste, Sir Gavin de Beer (1956) argumentó que las Palaeognathae podrían haber evolucionado a partir de las Neognathae, mediante la retención en el adulto de una condición juvenil (Neotenia: retraso del desarrollo somático). Rasgos como el plumaje con b́arbulas simétricas y suturas craneales persistentes en el adulto, evidenciarían neotenia en Palaeognathae. Para de Beer, el paladar paleognato no representa una condición ancestral, sino el resultado del desarrollo "truncado" del paladar de un neognato. Ambas hipótesis (Pycraft y de Beer) aceptan que la condición paleognata está presente en la ontogenia de las Neognathae, noción que fue ampliamente aceptada, incluso llevando al equivoco que también está presente en estadios embrionarios, previos a la eclosión (por ejemplo: Witmer y Martin, 1987; Andors, 2001)

Contrario a lo propuesto por de Beer, el registro fósil indica que la condición del paladar paleognato es primitiva (Huxley, 1867; Pycraft, 1900; Simonetta, 1960; Gingerich, 1973; Houde y Olson, 1981). Varios reptiles en el linaje conducente a las aves, presentan la unión del vómer con los pterigoides (véase, por ejemplo, el arcosauomorfo basal *Euparkeria* (Fig. 3a)). En particular, desde los años 1990's, se acepta que las aves son descendientes directas de los dinosaurios carnívoros bípedos (Theropoda). Los Theropoda presentan el vómer alargado, que *contacta con los pterigoides* (Fig. 3b), condición que también presenta el ave más basal conocida, *Archaeopteryx* (Fig. 3c).



**FIGURA 4.** Recapitulación de la condición paleognata en juveniles Neognathae. **a)** Vista lateral parcial del paladar de un juvenil del pingüino papúa (*Pygoscelis papua*) (Pycraft, 1901). **b)** Vista lateral parcial del paladar de un juvenil del robín americano (*Turdus migratorious*) (Jollie, 1957). **c)** Vista dorsal parcial del paladar de un juvenil del pingüino papúa (*Pygoscelis papua*) (Pycraft, 1901). **d)** Vista lateral parcial del paladar de un adulto del robín americano (*Turdus migratorious*) (Jollie, 1957). **e)** Vista lateral parcial del paladar de un juvenil del albatros de Laysan (*Phoebastria immutabilis*) (Zusi & Livezey, 2006). **Hpt**, hemipterigoide.

Sin embargo, estudios embriológicos recientes en algunas Palaeognathae y Neognathae, no confirman la recapitulación de la condición paleognata en el desarrollo embrionario de Neognathae (Maxwell, 2009, 2008a; Gossekloo y Bout, 2002). Estos estudios concluyen que el patrón de osificación en ambos tipos de paladar diverge tempranamente, sin que exista la condición paleognata en embriones de Neognathae. En consecuencia, aunque se acepta que la condición neognata deriva de la paleognata, ahora se postula que habría ocurrido mediante una reorganización del desarrollo temprano del paladar, sin recapitulación (es decir, sin adición terminal de cambios). Esta visión moderna (ausencia de recapitulación) ha ganado amplia aceptación. Sin embargo, se ha hecho caso omiso de aquellos linajes de aves en que Pycraft describió que existía recapitulación, cuyo desarrollo no ha vuelto a ser estudiado. También, ha desaparecido toda discusión de una posible transformación evolutiva como la propuesta por de Beer, desde un paladar neognato, hacia uno de tipo paleognato. Sin embargo, dentro de Neognathae, se ha descrito que en Trochilidae (“picaflores”) (Fig. 3g) y Megalaimidae (“barbudos”) (Fig. 3f) existe un contacto entre el vómer y los pterigoides en aves adultas, tal como en Palaeognathae. Esto indica que este tipo de transformaciones sí han ocurrido en la evolución de las Neognathae. Adicionalmente, experimentos recientes han demostrado que la modificación de mecanismos del desarrollo temprano de la zona facial (particularmente de la vía Wnt) en el pollo (*Gallus gallus*) es capaz de producir palatinos morfológicamente semejantes a los de un Palaeognathae (Buhllar et al, 2015).

Estos vacíos de información invitan a re-evaluar la posibilidad de que dentro de algunas Neognathae exista recapitulación, y su posible relación con reversión a rasgos paleognatos. En efecto, la documentación del desarrollo temprano de los huesos del paladar en Neornithes es aún limitada. Desde el siglo XIX existen reportes de los patrones de osificación del paladar

(Parker, 1869; Parker, 1875; Schinz y Zangel, 1937; Erdman, 1940; Jollie, 1957), pero se centran particularmente en una especie modelo, el pollo. Además, presentan poca concordancia entre ellos: inconsistencias como el momento de aparición o el número de centros de osificación, abundan en estos trabajos (Tabla 1).

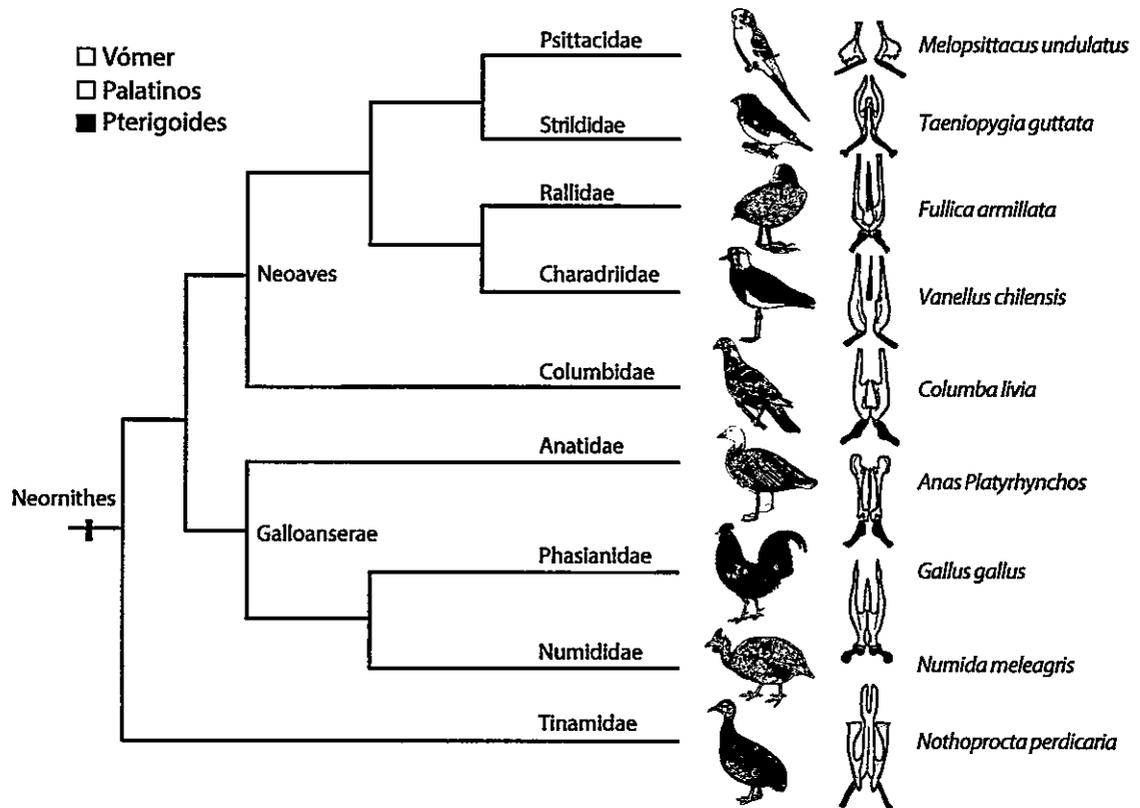
**TABLA 1.** Resumen comparativo del patrón de osificación embrionario en el pollo (*Gallus gallus*). Los números entre paréntesis indican la cantidad de centros de osificación reportados en cada estudio. Cabe destacar que en Schinz y Zangel (1937) no se encontró el vómer.

Hueso	Patrón de osificación embrionario (días de incubación)		
	Erdman (1940)	Schinz y Zangel (1937)	Jollie (1957)
vómer	11(2)	—	13(1)
pterigoides	7(1)	11	11(2)
palatinos	8(1)	11	11(1)
maxilar	8(1)	12	11(1)

Adicionalmente, existen problemas técnicos. Es común que, en estudios donde se analiza el patrón de osificación del cráneo (por ejemplo: Nakane y Tsudzuki, 1999; Sánchez-Villagra et al, 2009; Slater et al, 2009), se utilice la tinción de Alizarina para hueso, complementada con la tinción de azul de Alcian para cartílago. La previa tinción del cartílago con azul de Alcian genera descalcificación por el pH ácido de la solución en la que está disuelto este colorante (Yamazaki et al, 2010). Por lo tanto, en estadios tempranos de osificación es muy probable “borrar” pequeños centros de osificación, y así interpretar erróneamente el patrón de osificación.

Para evaluar si en efecto ocurre recapitulación y reversión en la evolución del paladar de las aves, es imperativo contar con más y mejores datos. En este estudio, se analizaron el patrón de osificación embrionario del paladar en una especie de Palaeognathae, y en especies

de 7 órdenes diferentes de Neognathae, incluyendo 3 órdenes que, según Pycraft, recapitulan la condición paleognata en el desarrollo juvenil (Passeriformes, Gruiformes y Charadriiformes) (Fig. 5).



**FIGURA 5.** Relaciones filogenéticas de la especies utilizadas en este estudio, y la morfología del paladar adulto correspondiente.

### ***Hipótesis***

El patrón de osificación embrionario del paladar en Neognathae, no presenta recapitulación de la condición paleognata.

### ***Objetivo general***

Comparar el desarrollo embrionario del paladar en diversas especies de aves, incluyendo una paleognata, utilizando técnicas histológicas que permitan caracterizar el patrón de osificación embrionario y discutir la evolución del desarrollo del paladar.

### ***Objetivos específicos***

- Estandarizar estadios embrionarios de distintas especies de Neornithes.
- Elaborar un protocolo de tinción exclusivamente de hueso para determinar centros tempranos de osificación.
- Caracterizar el patrón de osificación del paladar de la perdiz chilena (*Nothoprocta perdicaria*) en representación del clado Palaeognathae.
- Caracterizar el patrón de osificación del paladar de ocho especies del clado Neognathae con paladares morfológicamente divergentes y distribuidas ampliamente dentro de la filogenia del grupo.
- Comparar el desarrollo del paladar entre Palaeognathae y Neognathae, en búsqueda de la recapitulación de la condición paleognata en embriones Neognathae

## METODOLOGÍA

### *Obtención de huevos y extracción de embriones*

Con la finalidad de obtener embriones vivos, en distintos estadios del desarrollo, representantes de aves Palaeognathae y Neoganathae, se obtuvieron huevos fecundados de nueve especies de aves: perdiz chilena (*Nothoprocta perdicaria*), pollo (*Gallus gallus*), gallineta (*Numida meleagris*), pato (*Anas platyrhynchos*), queltehue (*Vanellus chilensis*), tagua común (*Fulica armillata*), paloma (*Columba livia*), diamante (*Taeniopygia guttata*) y cata (*Melopsittacus undulatus*).

Los huevos de perdiz chilena fueron comprados en el criadero "Tinamou Chile" (Los Ángeles, Región del Biobío, Chile), los de pollo en el criadero "Don pollo" (Pirque, Región Metropolitana, Chile) y los de gallineta y pato en el criadero "Avícola Metrenco" (Temuco, Región de La Araucanía, Chile). Los huevos de queltehue fueron extraídos de nidos silvestres (Melipilla, Región Metropolitana, Chile) según el permiso SAG nº 5950/2014 y los de tagua común de nidos silvestres (Maipú, Región Metropolitana, Chile) según el permiso SAG nº 9483/2014. Los huevos de paloma (*Columba livia*), diamante (*Taeniopygia guttata*) y cata (*Melopsittacus undulatus*) se obtuvieron de colonias mantenidas en el vivero de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Chile (Ñuñoa, Región metropolitana, Chile).

Todos los huevos fueron incubados a 37,5°C y 60% de humedad. Los huevos provenientes de criadero y del vivero, se introdujeron en la incubadora luego de un reposo de

12 horas a temperatura ambiente, tras su llegada al laboratorio. Como no se tenía información a priori del momento de ovoposición de los huevos provenientes de la naturaleza, se utilizó el criterio de flotación descrito por Hays y LeCroy (1971) (Fig. 6) para estimar el estado de desarrollo de los embriones. Los huevos que se sumergieron fueron directamente incubados (estadios tempranos) y los huevos que flotaron fueron abiertos de inmediato para extraer el embrión.

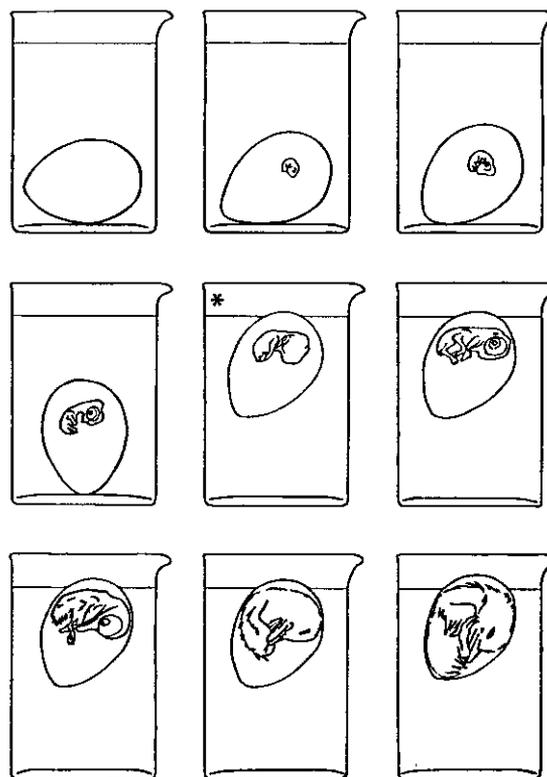


Figura digitalizada desde Hays & LeCroy (1971)

**FIGURA 6.** Método de flotación propuesto por Hays y LeCroy (1971) para determinar el patrón del desarrollo en el gaviotín común (*Sterna hirundo*). \* Estado del desarrollo cerca del comienzo de la osificación del cráneo.

Todos los huevos se introdujeron por un minuto en hielo para anestésiar al embrión previo a su extracción. Para limpiar y quitar los anexos embrionarios, los embriones fueron sumergidos en solución de PBS al 1%. Utilizando el mismo medio, los embriones fueron fotografiados bajo lupa<sup>1</sup> previo a la fijación.

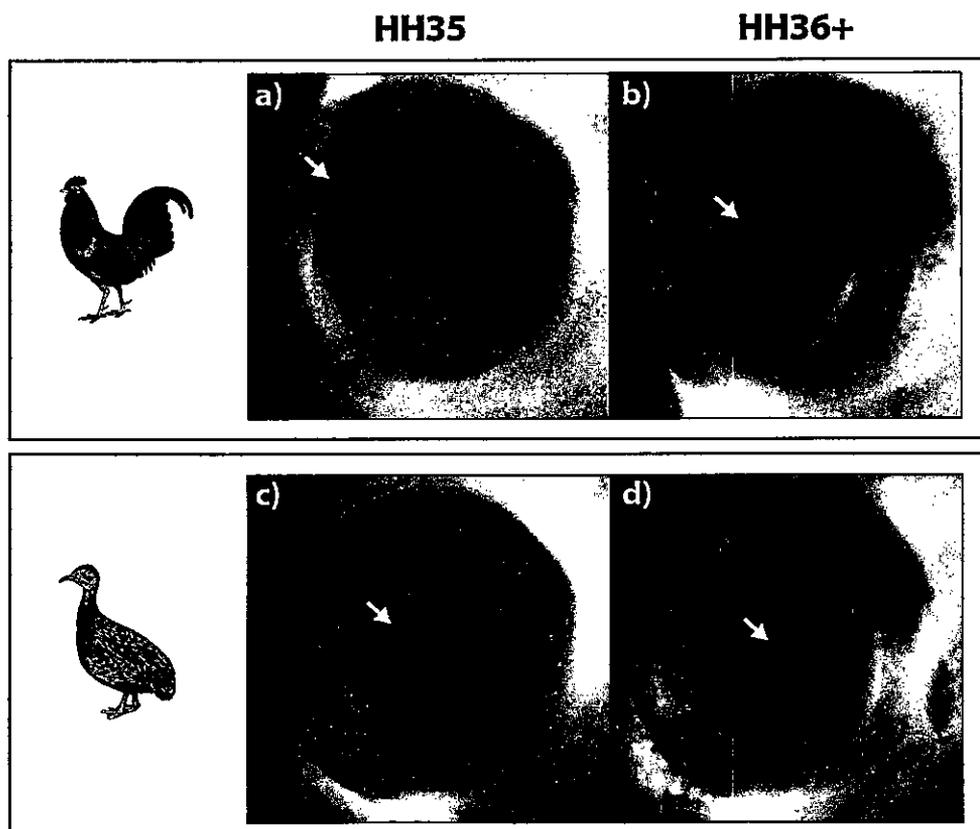
Para cada especie se trabajó con el siguiente número de embriones: 53 de la perdiz chilena, 41 del pollo, 40 del queltehue y la tagua común, 38 del pato, 32 de la cata, 19 de la paloma, 18 del diamante y 16 de la gallineta.

### ***Estadios embrionarios***

Debido a la disparidad del periodo de incubación de las especies utilizadas en este estudio (por ejemplo: perdiz chilena 21 días vs. diamante 15 días aproximadamente), los estadios embrionarios fueron estandarizados según la tabla existente para el pollo (Hamburger y Hamilton, 1951). Específicamente se utilizaron los rasgos más estereotipados presentes entre el estadio 34 y 39 (Stark, 1993): la morfología de las extremidades, el patrón de aparición de las plumas y el crecimiento de los parpados (Fig. 7). Desde el estadio 39, en adelante, el desarrollo se torna específico para cada especie. Por lo tanto, los estadios posteriores se rotularon como HH39+.

---

<sup>1</sup> En una lupa Olympus SZX10 se adaptó una cámara fotográfica digital EOS Rebel T3i Canon que fue conectada y manejada directamente desde un computador con Windows 7.



**FIGURA 7.** Método del establecimiento de estadios embrionarios entre especies distintas, mediante la comparación morfológica del crecimiento de los párpados a modo de ejemplo. **a)** Embrión de pollo en el estadio HH35, **b)** embrión de pollo entre los estadios HH36 y HH37 (HH36+), **c)** embrión de perdiz chilena equivalente al embrión de pollo en el estadio HH35 y **d)** embrión de perdiz chilena equivalente al embrión de pollo entre los estadios HH36 y HH37 (HH36+). Las flechas indican el párpado superior.

#### ***Fijación y tinción del tejido óseo***

Para la tinción de hueso, los embriones fueron fijados inicialmente en metanol 100% a temperatura ambiente. Este primer fijador fue cambiado dos veces durante una semana de agitación. Previo a la tinción, se utilizó como segundo fijador formalina al 10% durante 10 min.

Debido a que los huesos del paladar se desarrollan por osificación intramembranosa, y no a partir de cartilago, se buscó evitar la descalcificación de los elementos esqueléticos tempranos durante la tinción (Yamazaki et al, 2010). Para esto, los embriones fueron teñidos durante una hora mediante una solución de 0,02% de alizarina (ARS, Sigma-Aldrich) en KOH al 0,5%. El exceso de tinción fue removido con agua destilada por tres días con agitación continua. Previo a la transparentación gradual del tejido mediante glicerol 20%, 50% y 85%, el tejido fue macerado por un día en una solución acuosa de KOH al 2%.

Ya con el embrión teñido y transparentado, se extrajo la cabeza para estudiar el paladar en detalle. De la cabeza se extrajeron los ojos, la mandíbula inferior y se eliminó el tejido circundante a los elementos óseos del paladar. Luego de esta limpieza, se procedió a observar y tomar registro fotográfico de los ejemplares en glicerol 85%.

#### ***Caracterización del patrón de osificación***

Para comparar la osificación entre especies distintas, independiente de los días de incubación y los estadios embrionarios, se confeccionó un rango de orden de aparición de los elementos óseos. Por ejemplo, en todos los casos los primeros huesos en osificar fueron los pterigoides, por lo tanto se marcó con el número 1 (Tabla 2).



## RESULTADOS

### *Patrón de osificación del paladar*

El patrón de osificación de las especies utilizadas en este estudio se resume en la Tabla

2.

**TABLA 2.** Rango de orden de osificación de los elementos del paladar. Entre paréntesis se expresa el número de centros de osificación de cada elemento. La paloma y la cata no presentan vómer.

Especie	Elemento óseo				
	Vómer	Pterigoides	Palatinos	Maxilar	Parasfenoides
Perdiz chilena	3(2)	1(1)	4(1)	4(2)	2(1)
Pollo	3(2?)	1(2)	2(1)	2(2)	2(1)
Pato	4(1)	1(1)	2(1)	2(2)	4(1)
Paloma	—	1(1)	3(1)	3(2)	2(1)
Queltehue	5(2)	1(2)	2(2)	3(2)	4(1)
Tagua común	5(2)	1(2)	3(2)	2(2)	4(1)
Cata	—	1(1)	2(1)	3(2)	3(1)

Siempre los pterigoides son los primeros elementos esqueléticos en osificar (Fig. 8c; Fig. 10c; Fig. 14c; Fig. 16c; Fig. 18c; Fig. 20c y Fig. 22c). Luego existe una notable diferencia: el vómer osifica antes en embriones de Palaeognathae que en Neognathae. Particularmente, después del comienzo de la osificación de los pterigoides, en la perdiz chilena comienza a osificar el vómer (Fig. 8f), a diferencia de los embriones Neognathae, donde los huesos que continúan el proceso de osificación son los palatinos (Fig. 10i; Fig. 14f; Fig. 16i; Fig. 18f; Fig. 20i y Fig. 22f), y luego surge el vómer (Fig. 11i; Fig. 15c; Fig. 19c; Fig. 21c y Fig. 23c). También,

existe variación del momento en el cual aparece el vómer en Neognathae, siendo muy característico que en el pollo y la gallineta (ambos Galiiformes) el vómer comienza a osificar en estadios del desarrollo muy tardíos (HH40-41), en comparación con los demás Neognathae estudiados, donde en el caso del pato, el queltehue, la tagua común y el diamante, el vómer comienza a osificar entre los estadios HH36-37. Además, existe diferencia en la posición en donde comienzan a osificar los palatinos. En la perdiz chilena surgen desde centros de osificación en la zona posterolateral del paladar (Fig. 8i), en cambio en embriones Neognathae surgen desde la zona anteriomedial del paladar (Fig. 10i; Fig. 18f y Fig. 20i).

Respecto al número de centros de osificación, como se grafica en la Tabla 2, el patrón de osificación del vómer es muy variable, en concordancia con la morfología dispar que presenta este hueso en Neognathae. En el queltehue, la tagua común y el diamante, hay dos centros de osificación bilaterales muy evidentes. En el pollo, solo fue posible observar un elemento en HH41 con forma de "V" invertida (Fig. 11i), lo cual sugiere dos dominios o centros fusionados hacia la línea media del paladar. En otro Galliforme, como la gallineta, el inicio de la osificación de este elemento no es clara. Sólo se observa un centro de osificación difuso (Fig. 13c), pero el bajo muestreo para esta especie no permite descartar la existencia previa de dos centros separados. En el pato, que fue extensamente muestreado, se evidencia el origen del vómer desde un sólo centro de osificación (Fig. 15c).

En el queltehue y la tagua común se encuentran dos centros de osificación, tanto para los pterigoides y los palatinos. Los pterigoides (en ambas especies) presentan un centro de osificación anterior y otro posterior (Fig. 18c y Fig. 20c), donde el centro anterior se transforma presumiblemente en la protrusión que Pycraft (1901) denominó como "hemipterigoide". El

centro posterior da lugar al “cuerpo” de los pterigoides (Fig. 18f y Fig. 20f). En el pollo también existe otro centro de osificación del pterigoide (Jollie, 1957), pero no corresponde al hemipterigoide, sino que forma parte de la zona anteriomedial de los pterigoides que articula con los palatinos (Fig. 10f). En las especies restantes, sólo existe un centro de osificación, la del cuerpo principal del pterigoide. También, en el queiltehue y la tagua común, los palatinos presentan un centro de osificación anterior y otro posterior. El centro anterior surge antes que el centro posterior (Fig. 18f y Fig. 20i), luego se fusiona con el centro posterior (Fig. 18h, i; Fig. 19c y Fig. 21c), el cual se orienta en la cara ventral de los pterigoides.

*Por último, en el desarrollo del maxilar se encontraron dos centros de osificación (Fig. 8i; Fig. 10h, i; Fig. 22f). Aunque la presencia de dos centros separados no es clara en todos los casos, siempre se distinguen dominios diferentes (ver por ejemplo Fig. 18f, i). Cada centro de osificación corresponde a una zona característica del maxilar: uno representa la porción de la barra jugal (la cual se fusionará en la región anterior con el premaxilar y en la región posterior con el jugal) y otra que representa la porción del paladar (el maxilopalatino). Además, se visualizó un tercer centro de osificación en la perdiz chilena, el pollo y el pato, en forma de un pequeño centro independiente en la región que más tarde dará lugar a la apófisis nasal del maxilar, estructura que contacta ambos huesos de manera variable en Neornithes, generalmente cerrando el borde caudal de la narina (Gussekkloo y Cubo, 2013).*

#### ***Pterigoides, hemipterigoides, palatinos y vómer: en búsqueda de la recapitulación.***

En el reporte de Pycraft sobre recapitulación en algunas Neognathae, describe una porción anterior de los pterigoides que contacta o solapa transitoriamente con las apófisis posteriores del vómer, la cual llama hemipterigoide (Pycraft, 1901). En la perdiz chilena, previo

a la unión entre los pterigoides y el vómer (generando la barra característica de la condición paleognata), surge un ápice anterior en la zona dorsal de los pterigoides, proyectando hacia el extremo posterior del vómer, directamente comparable al hemipterigoide (Fig. 24a). Luego estos huesos comienzan a encontrarse (Fig. 24b), quedando los hemipterigoides en una disposición dorsal, el ápice posterior del vómer en disposición ventral, y los palatinos relegados en una disposición ventral a los pterigoides y el vómer (Fig. 24c).

En el pollo, luego que los pterigoides están bien desarrollados, aparece en el extremo anteromedial un centro de osificación, pero que no corresponde al hemipterigoide (Fig. 24d). A continuación, el extremo anterior de los pterigoides se hipertrofia, asemejándose en forma al extremo anterior de los pterigoides en la gallineta, otro Galliforme (Fig. 13c); sin que exista ninguna apófisis semejante a los hemipterigoides (Fig. 24e). En esta etapa, los pterigoides comienzan a interactuar con los palatinos, generando la articulación característica de la condición neognata. Es así como ya en un estadio previo a la eclosión, el vómer presenta apófisis posteriores, que por tamaño y posición, están muy distantes de contactar con los pterigoides (Fig. 24f).

La paloma, una Neoave basal, no posee vómer (Jollie, 1957). Si bien en estadios tempranos del desarrollo en los pterigoides no se encuentra atisbo de los hemipterigoides (Fig. 24j), llama la atención que en estadios tardíos del desarrollo, inclusive en un recién nacido, existe una protrusión anterior en los pterigoides, muy semejante a los hemipterigoides de otros neognatos analizados en este estudio (Fig. 24k, l).

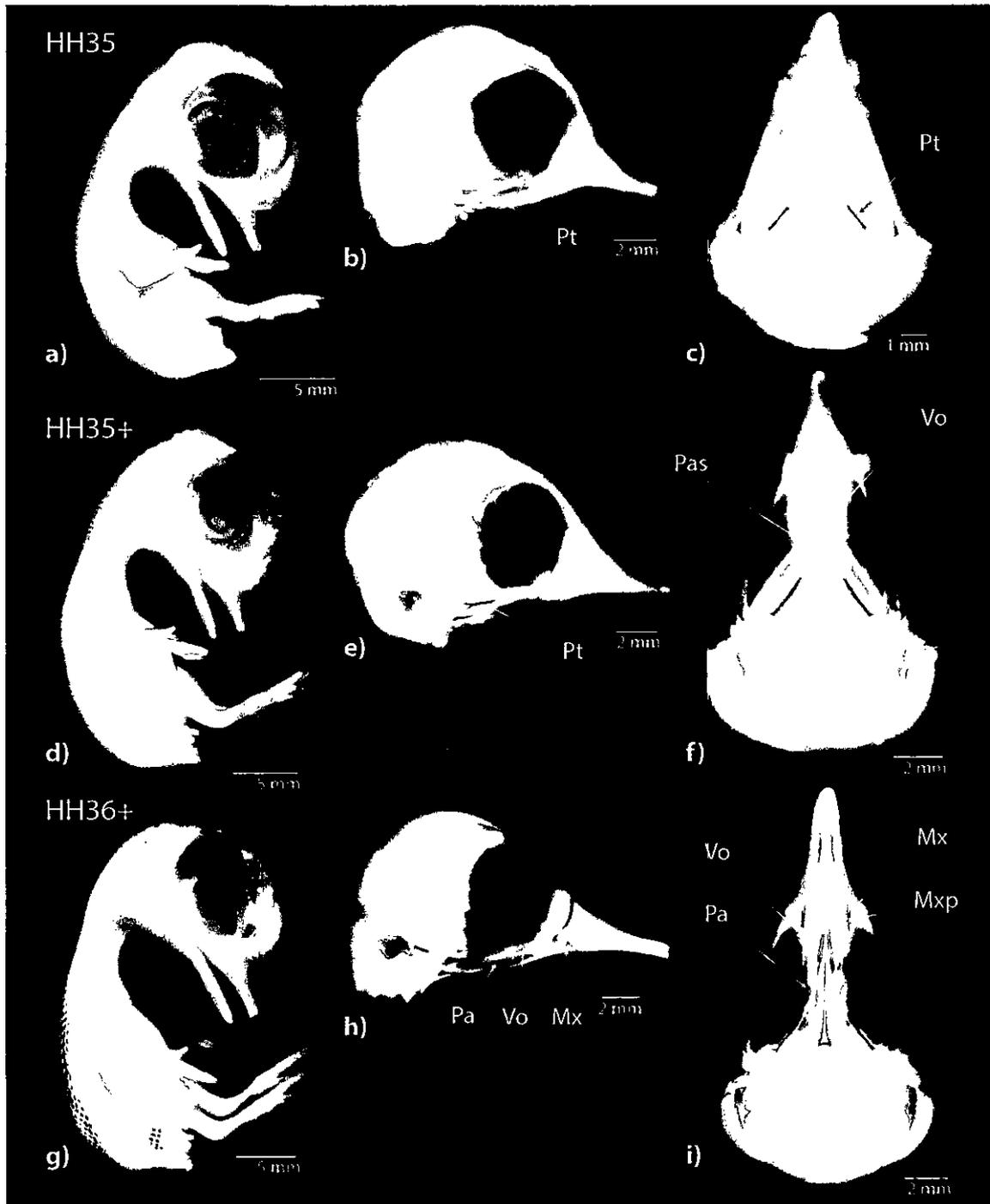
El queltehue y la tagua común, como ya se mencionó, comparten un patrón de osificación semejante. En primera instancia el pterigoide se desarrolla desde dos centros de

osificación, siendo el centro anterior más grande y correspondiente a los futuros hemipterigoides (Fig. 24g). En estadios del desarrollo siguientes, se notan los hemipterigoides distintivamente, proyectándose por la cara dorsal de los palatinos (Fig. 24h). Luego que los pterigoides y los palatinos se encuentran muy desarrollados, comienza a osificar el vómer (Fig. 24m). Por otro lado, las porciones posteriores del vómer proyectan hacia la zona posterior del paladar, pero nunca alcanzando los hemipterigoides, ya que estas apófisis se sitúan en una disposición ventromedial en relación a los palatinos, mientras que los hemipterigoides se disponen en una orientación dorsolateral respecto a los palatinos (Fig. 24i, n, ñ). Entonces, en estas especies los palatinos se disponen entre los hemipterigoides y las apófisis posteriores del vómer, impidiendo el solapamiento o encuentro entre estos dos elementos esqueléticos.

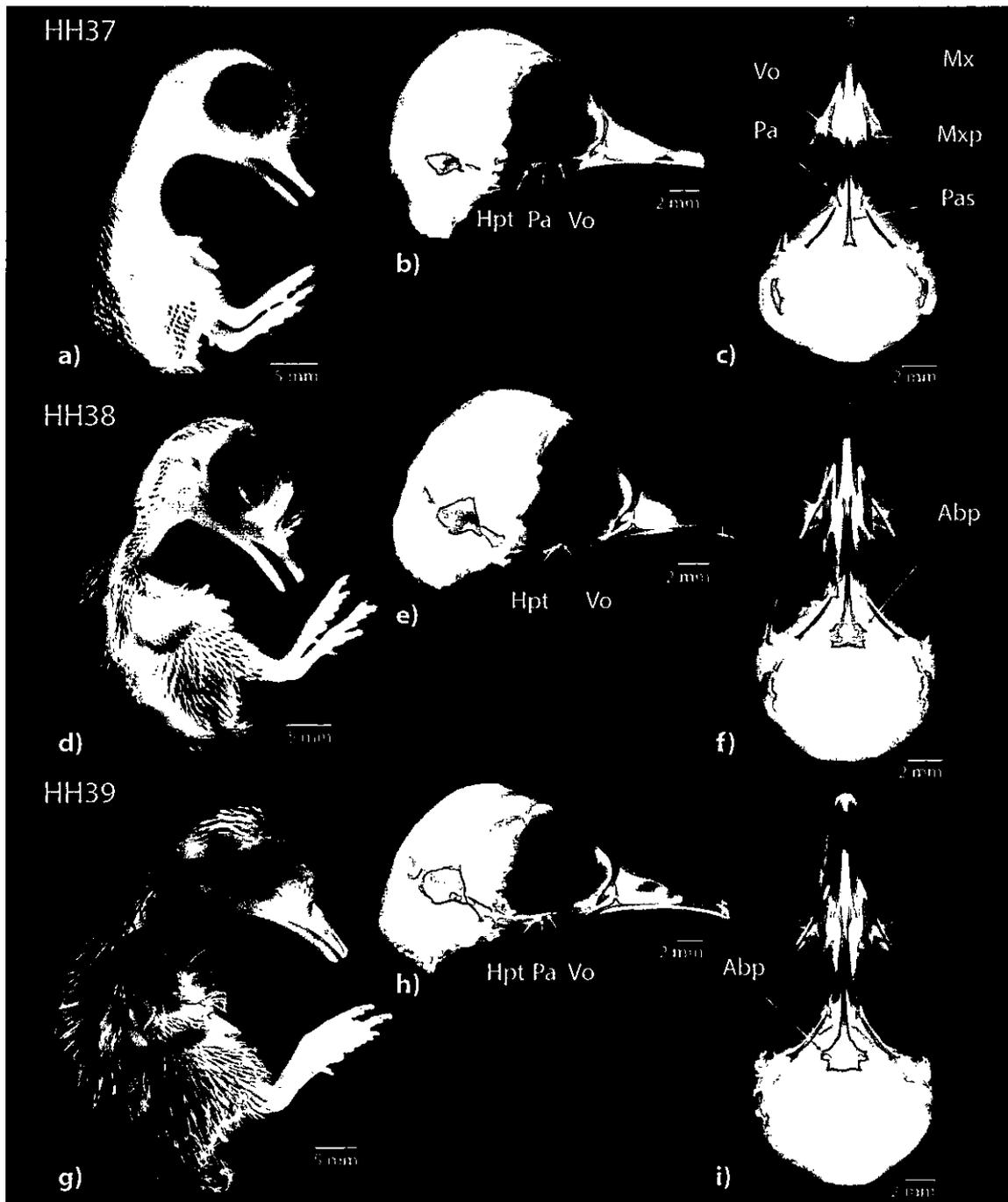
Por último, el diamante presenta poco desarrollo de los hemipterigoides cuando comienza la osificación del vómer, momento en el cual los demás elementos óseos del paladar presentan gran desarrollo (Fig. 24o). En estadios del desarrollo siguientes, hasta la eclosión, el vómer y los pterigoides se extienden a lo largo del paladar pero nunca se sobreponen o contactan, debido a que al igual que en el queltehue y la tagua común, los palatinos impiden el encuentro entre ambos huesos (Fig 24p, q).

En conclusión, no se encontró un contacto entre el vómer y los pterigoides en los embriones de ninguna Neognathae, incluso cuando en las especies estudiadas de Passeriformes, Gruiformes y Charadriiformes, estos huesos se acercan y están muy próximos en estadios embrionarios cerca de la eclosión. Esto sugiere la veracidad de lo descrito por Pycraft (1901), donde estos huesos llegarían a estar contactados en polluelos y juveniles (post-eclosión). En contraste, en embriones de la perdiz chilena (*Palaeognathae*) se observa que los

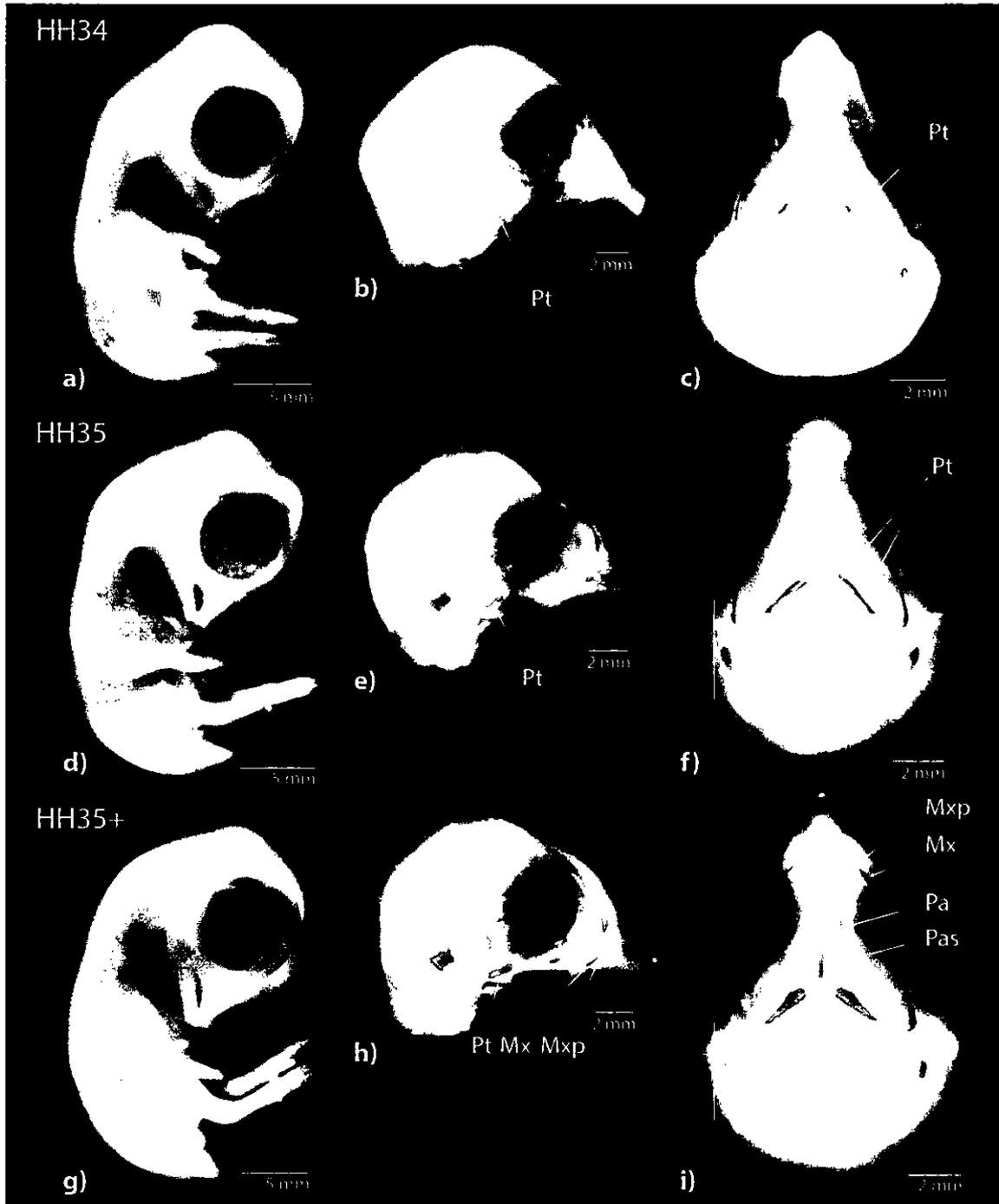
pterigoides y el vómer están en contacto. En todas las Neognathae (incluyendo Passeriformes, Gruiformes y Charadriiformes) el patrón de osificación del paladar es marcadamente distinto al de las Palaeognathae. Los palatinos osifican antes que el vómer, mientras que en Palaeognathae, los vómer osifican antes que los palatinos.



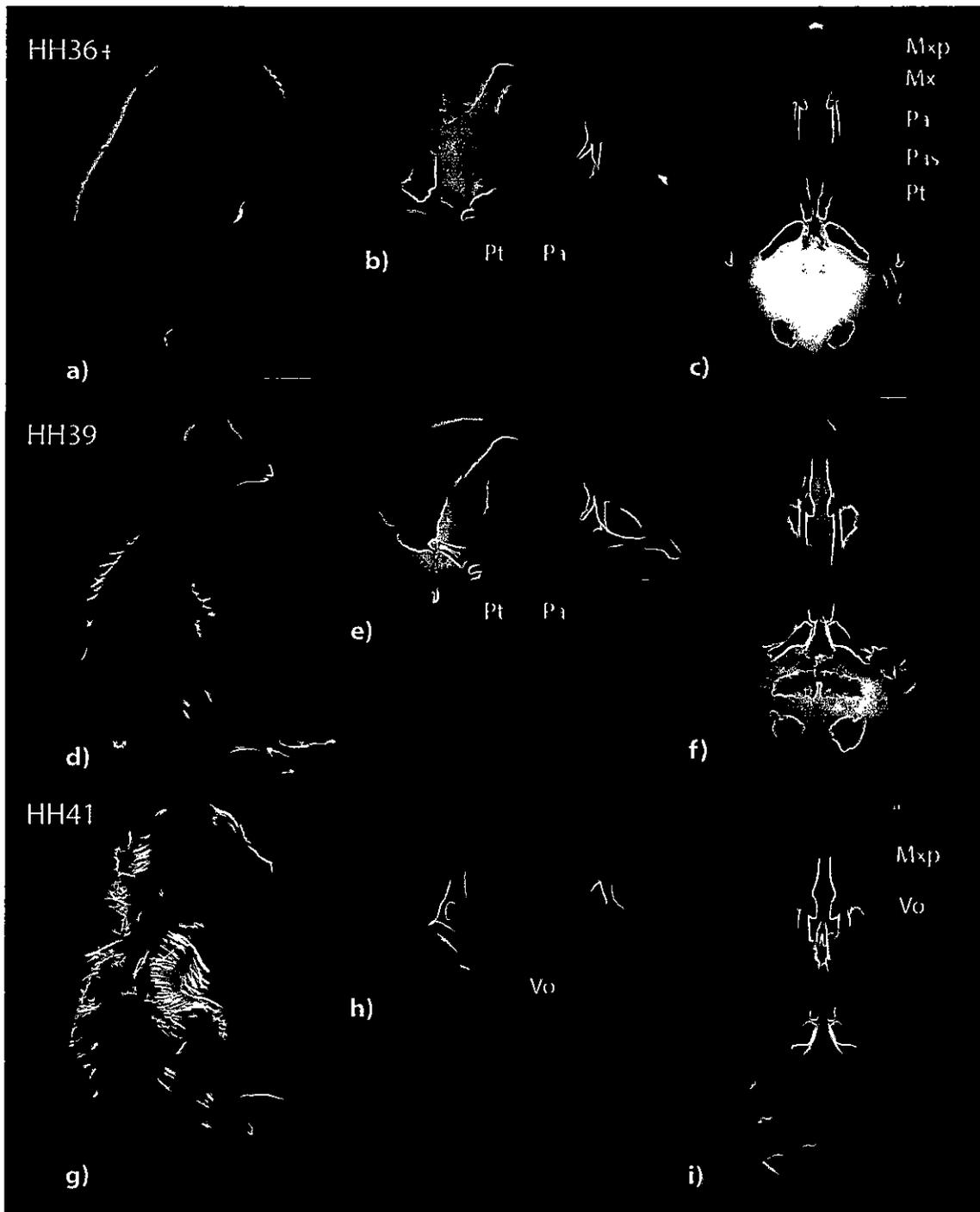
**FIGURA 8.** Patrón de osificación del paladar en embriones HH35, HH35+ y HH36+ de la perdz chilena. a) Morfología externa en HH35. b) Vista lateral del paladar en HH35. c) Vista ventral del paladar en HH35. d) Morfología externa en HH35+. e) Vista lateral del paladar en HH35+. f) Vista ventral del paladar en HH35+. g) Morfología externa en HH36+. h) Vista lateral del paladar en HH36+. i) Vista ventral del paladar en HH36+. Mx, maxilar ("porción Jugal"); Mxp, maxilopalatino; Pa, palatino; Pas, parasfenoides; Pt, pterigoide; Vo, vómer.



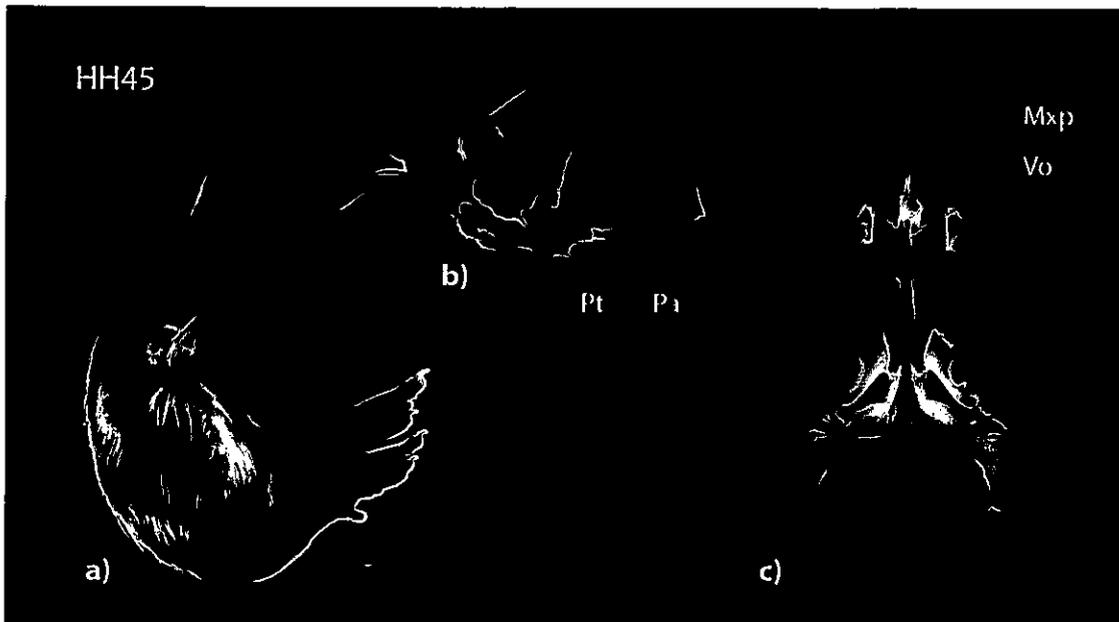
**FIGURA 9.** Patrón de osificación del paladar en embriones HH37, HH38 y HH39 de la perdiz chilena. a) Morfología externa en HH37. b) Vista lateral del paladar en HH37. c) Vista ventral del paladar en HH37. d) Morfología externa en HH38. e) Vista lateral del paladar en HH38. f) Vista ventral del paladar en HH38. g) Morfología externa en HH39. h) Vista lateral del paladar en HH39. i) Vista ventral del paladar en HH39. **Abp**, apófisis basipterigoide; **Hpt**, hemipterigoide; **Mx**, maxilar ("porción Jugal"); **Mxp**, maxilopalatino; **Pa**, palatino; **Pas**, parasfenoides; **Pt**, pterigoide; **Vo**, vómer



**FIGURA 10.** Patrón de osificación del paladar en embriones HH34, HH35 y HH35+ del pollo. **a)** Morfología externa en HH35. **b)** Vista lateral del paladar en HH35. **c)** Vista ventral del paladar en HH35. **d)** Morfología externa en HH35+. **e)** Vista lateral del paladar en HH35+. **f)** Vista ventral del paladar en HH35+. **g)** Morfología externa en HH36. **h)** Vista lateral del paladar en HH36. **i)** Vista ventral del paladar en HH36. **Mx**, maxilar ("porción Jugal"); **Mxp**, Maxilopalatino; **Pa**, palatino; **Pas**, parasfenoides; **Pt**, pterigoide.



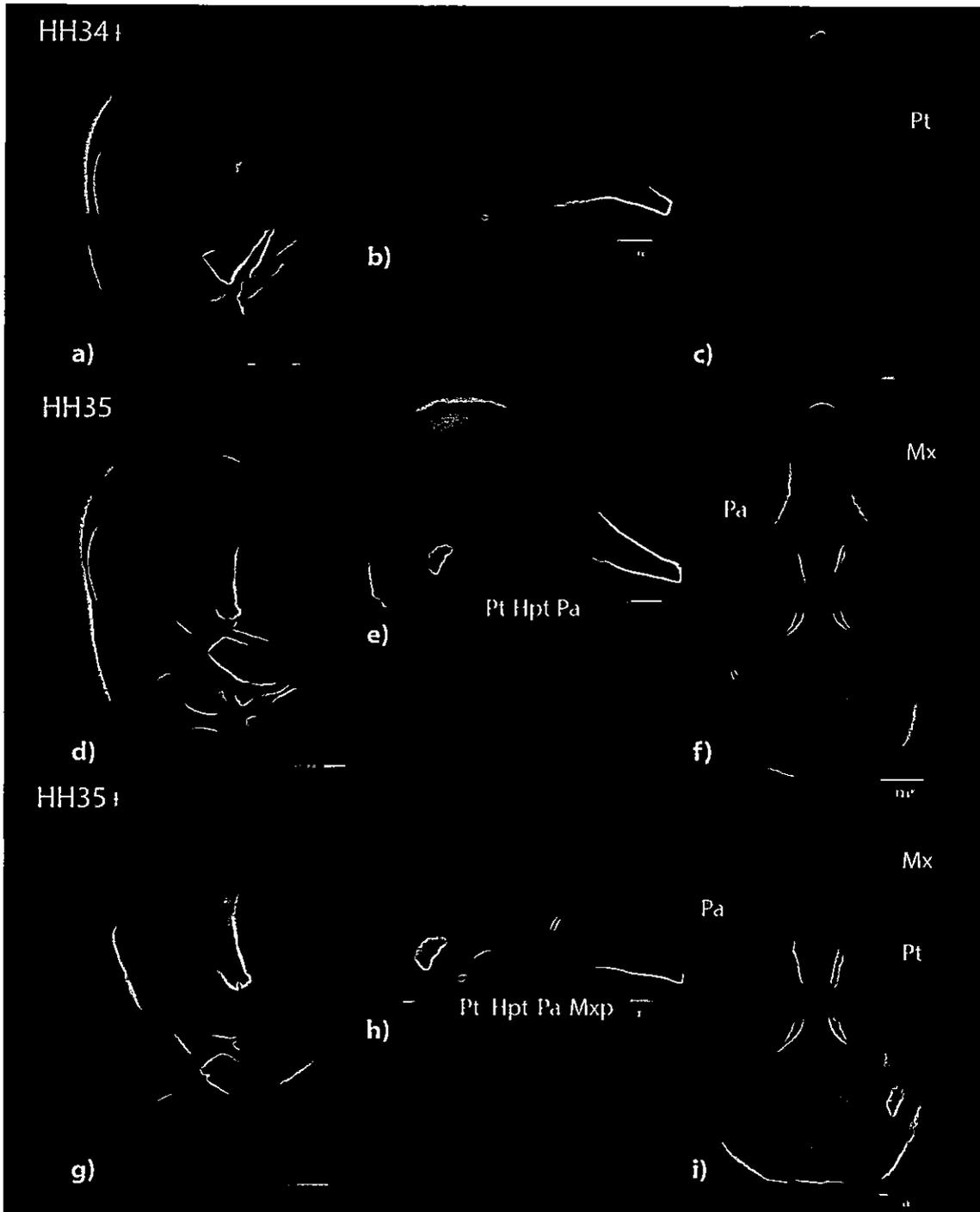
**FIGURA 11.** Patrón de osificación del paladar en embriones HH36+, HH39 y HH41 del pollo. **a)** Morfología externa en HH36+. **b)** Vista lateral del paladar en HH36+. **c)** Vista ventral del paladar en HH36+. **d)** Morfología externa en HH39. **e)** Vista lateral del paladar en HH39. **f)** Vista ventral del paladar en HH39. **g)** Morfología externa en HH41. **h)** Vista lateral del paladar en HH41. **i)** Vista ventral del paladar en HH41. **Mx**, maxilar ("porción Jugal"); **Mxp**, maxilopalatino; **Pa**, palatino; **Pas**, parasfenoides; **Pt**, pterigoide; **Vo**, vómer.



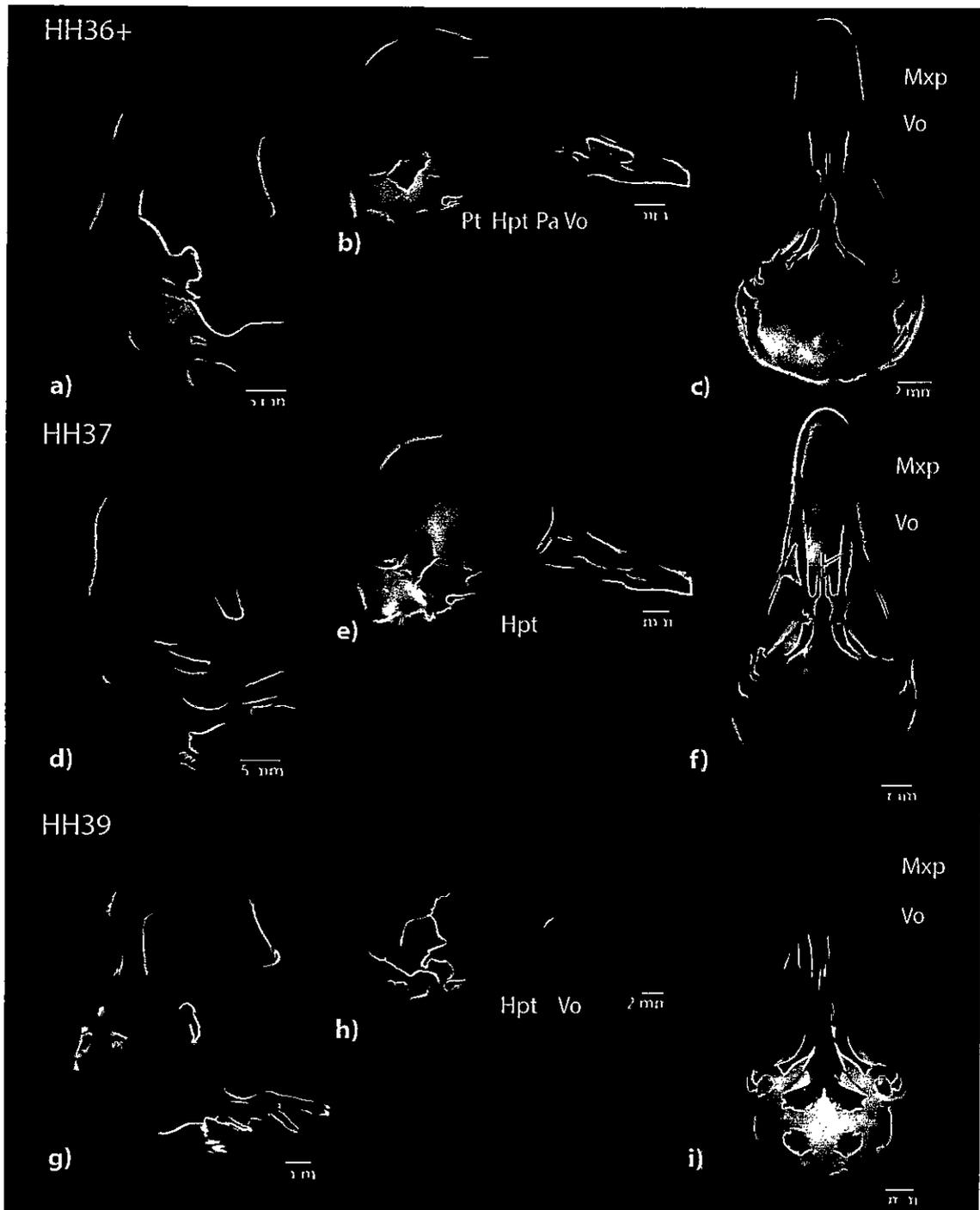
**FIGURA 12.** Patrón de osificación del paladar en un embrión HH41 del pollo. a) Morfología externa en HH41. b) Vista lateral del paladar en HH41. c) Vista ventral del paladar en HH41. **Mxp**, maxilopalatino; **Pa**, palatino; **Pt**, pterigoide; **Vo**, vómer.



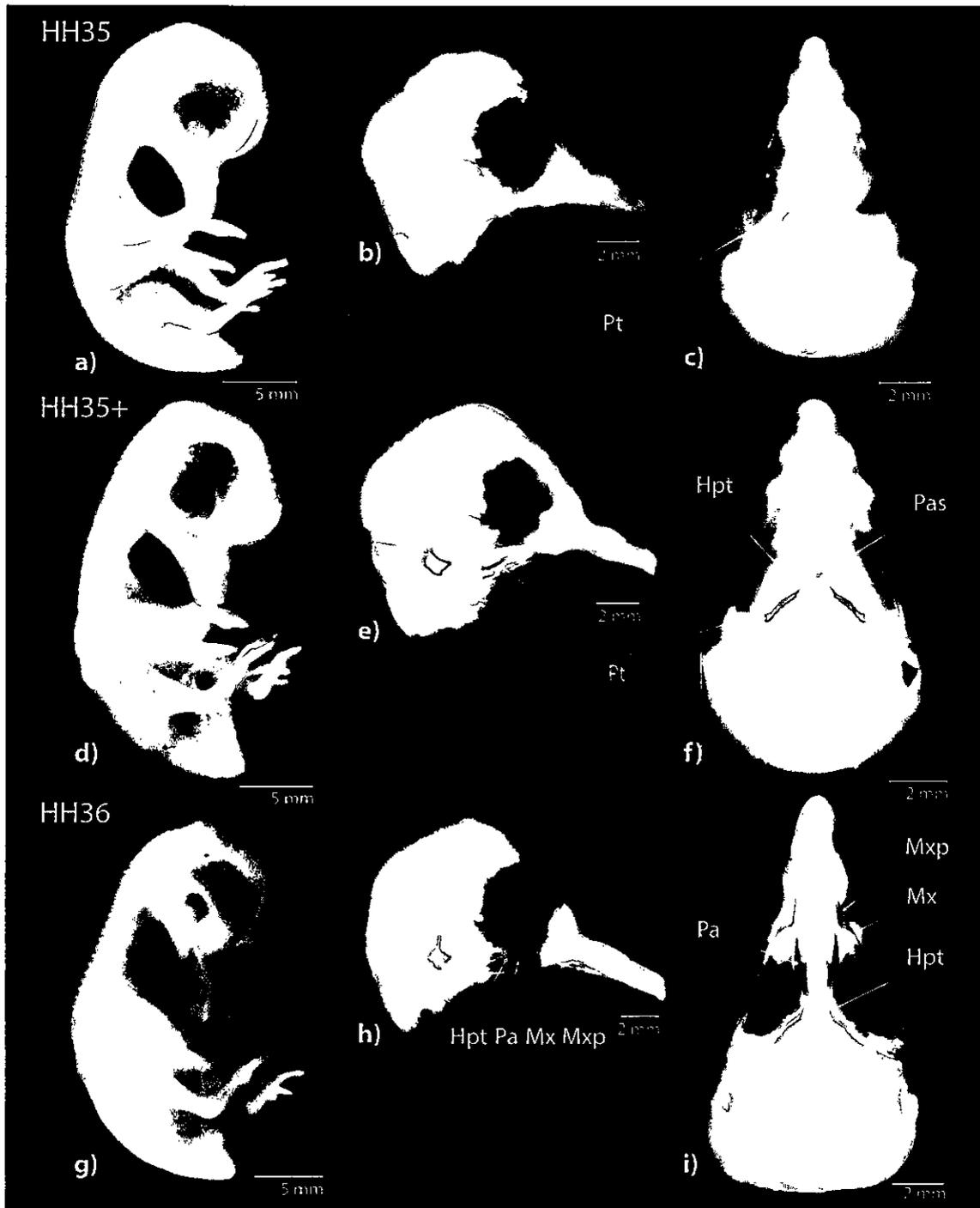
**FIGURA 13.** Patrón de osificación del paladar en un embrión HH39+ de la gallineta. a) Morfología externa en HH39+. b) Vista lateral del paladar en HH39+. c) Vista ventral del paladar en HH39+. **Mxp**, maxilopalatino; **Pa**, palatino; **Pt**, pterigoide; **Vo**, vómer



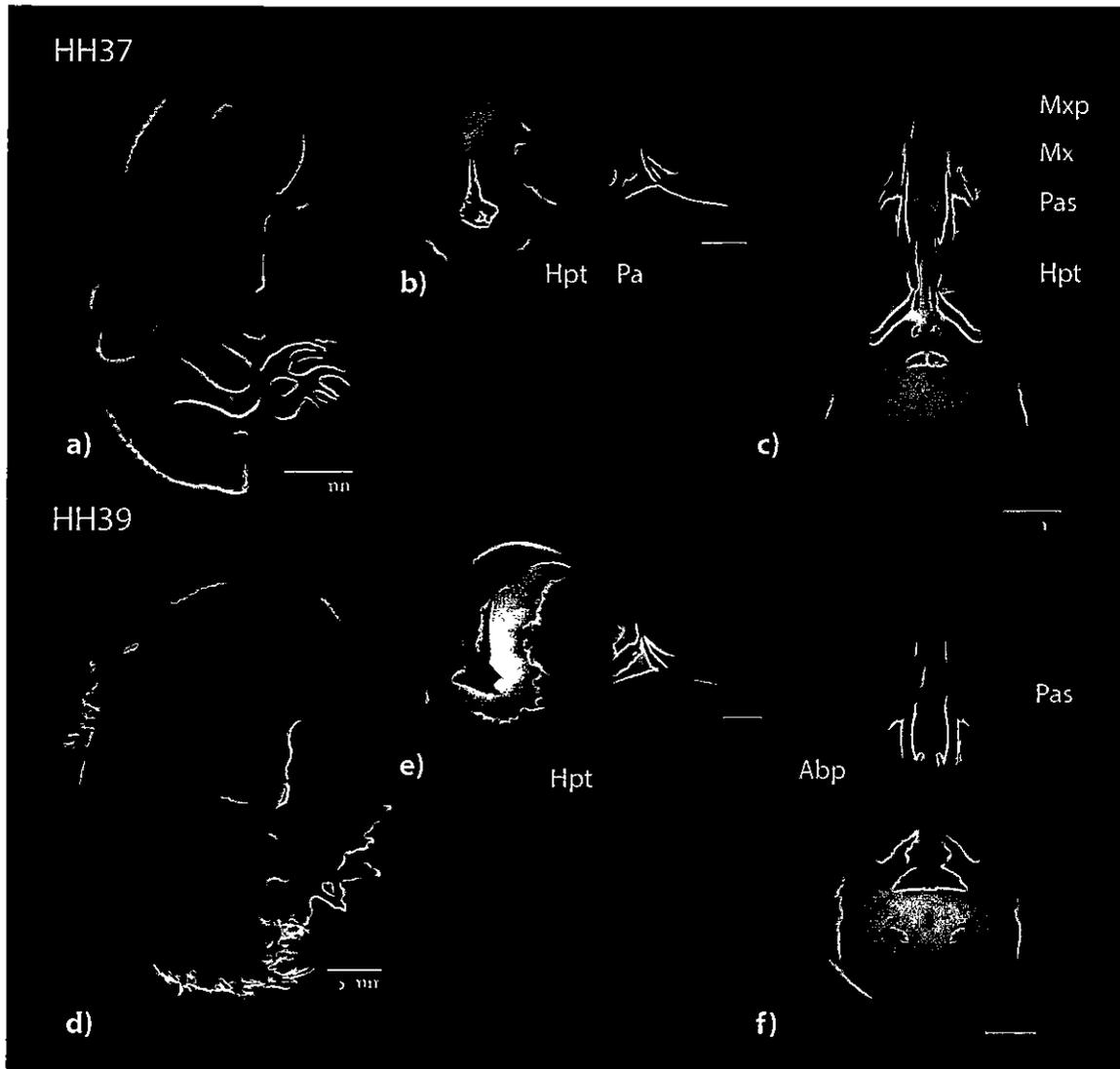
**FIGURA 14.** Patrón de osificación del paladar en embriones HH34+, HH35 y HH35+ del pato. a) Morfología externa en HH34. b) Vista lateral del paladar en HH34. c) Vista ventral del paladar en HH34. d) Morfología externa en HH35. e) Vista lateral del paladar en HH35. f) Vista ventral del paladar en HH35. g) Morfología externa en HH35+. h) Vista lateral del paladar en HH35+. i) Vista ventral del paladar en HH35+. Hpt, hemipterigoide; Mx, maxilar ("porción Jugal"); Mxp, maxilopalatino; Pa, palatino; Pas, parasfenoides; Pt, pterigoide.



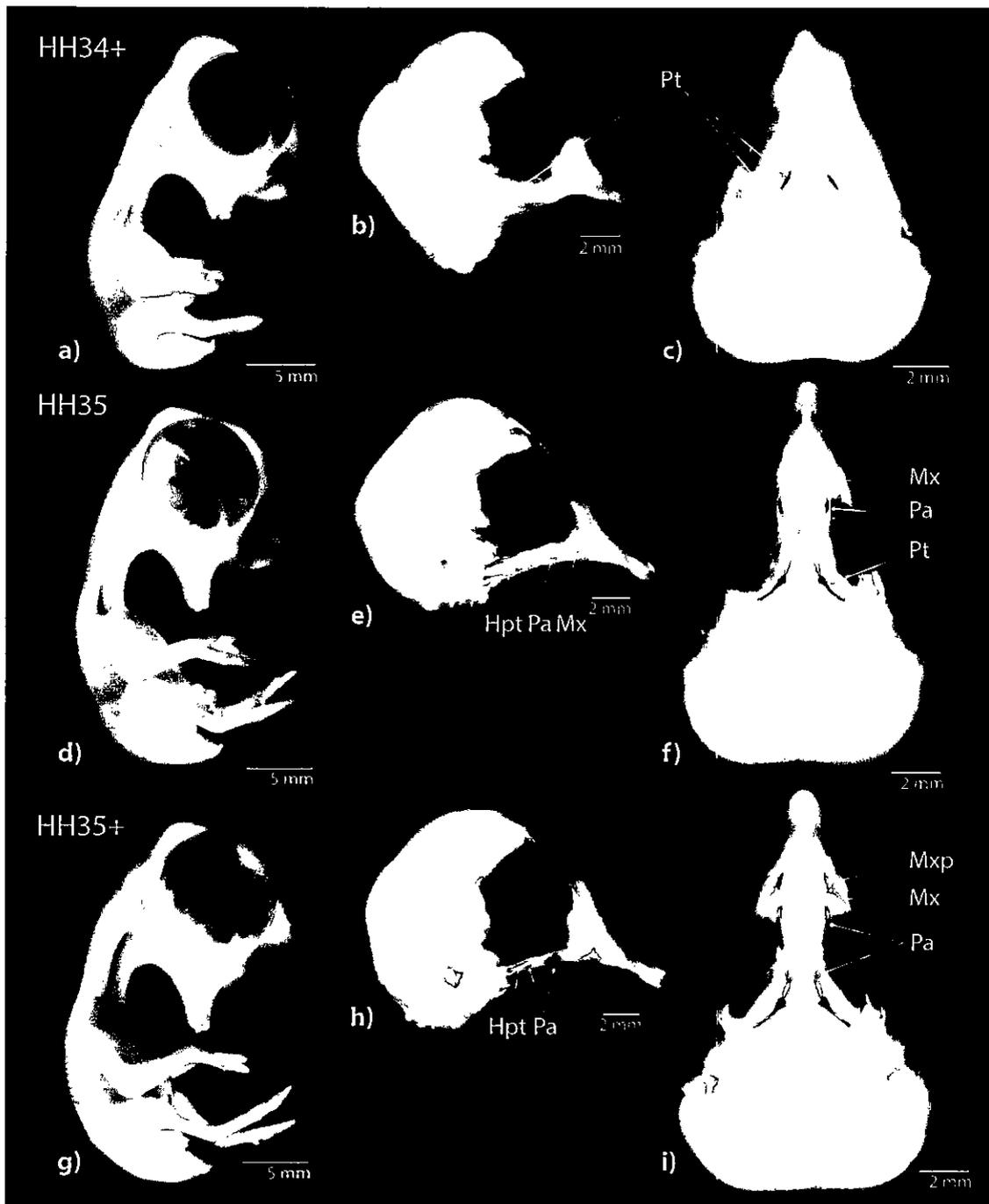
**FIGURA 15.** Patrón de osificación del paladar en embriones HH36+, HH37 y HH39 del pato. a) Morfología externa en HH36+. b) Vista lateral del paladar en HH36+. c) Vista ventral del paladar en HH36+. d) Morfología externa en HH37. e) Vista lateral del paladar en HH37. f) Vista ventral del paladar en HH37. g) Morfología externa en HH39. h) Vista lateral del paladar en HH39. i) Vista ventral del paladar en HH39. **Hpt**, hemipterigoide; **Mxp**, maxilopalatino; **Pa**, palatino; **Pas**, parasfenoides; **Pt**, pterigoide; **Vo**, vómer



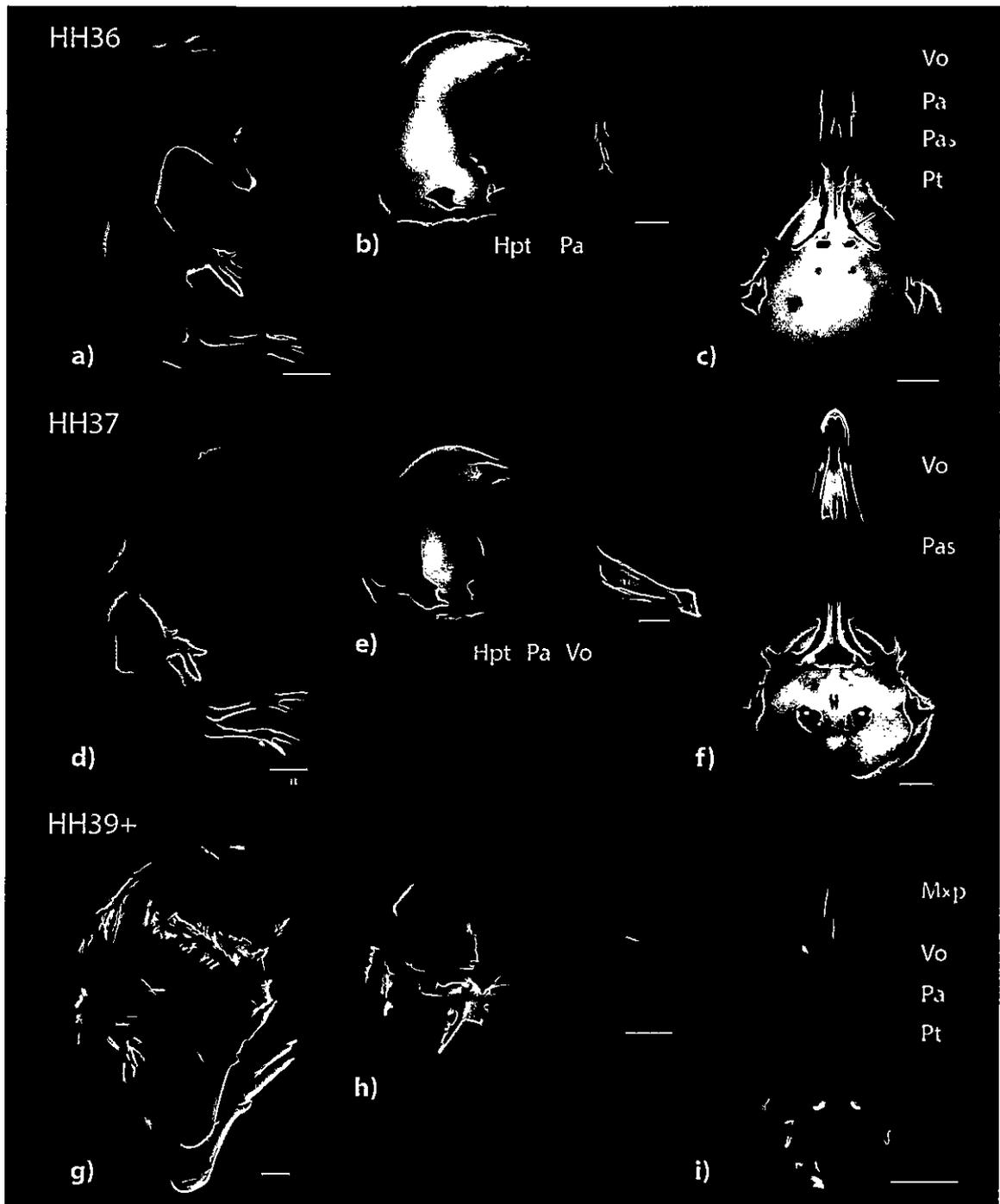
**FIGURA 16.** Patrón de osificación del paladar en embriones HH35, HH35+ y HH36 de la paloma. **a)** Morfología externa en HH35. **b)** Vista lateral del paladar en HH35. **c)** Vista ventral del paladar en HH35. **d)** Morfología externa en HH35+. **e)** Vista lateral del paladar en HH35+. **f)** Vista ventral del paladar en HH35+. **g)** Morfología externa en HH36. **h)** Vista lateral del paladar en HH36. **i)** Vista ventral del paladar en HH36. **Hpt**, hemipterigoide; **Mx**, maxilar ("porción Jugal"); **Mxp**, maxilopalatino; **Pa**, palatino; **Pas**, parasfenoides; **Pt**, pterigoide.



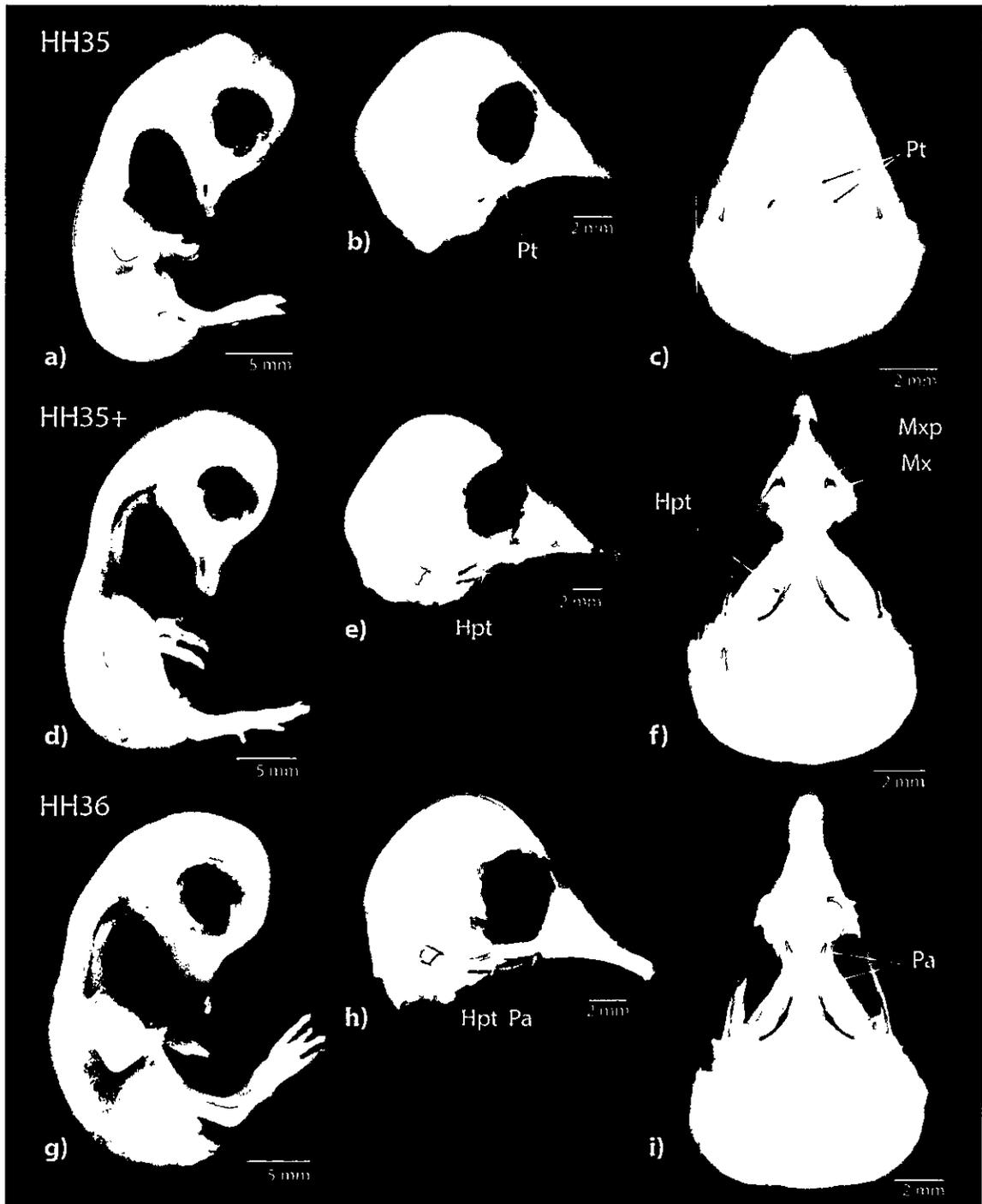
**FIGURA 17.** Patrón de osificación del paladar en embriones HH37 y HH39 de la paloma. **a)** Morfología externa en HH37. **b)** Vista lateral del paladar en HH37. **c)** Vista ventral del paladar en HH37. **d)** Morfología externa en HH39. **e)** Vista lateral del paladar en HH39. **f)** Vista ventral del paladar en HH39. **Abp**, apófisis basipterigoides; **Hpt**, hemipterigoide; **Mx**, maxilar ("porción Jugal"); **Mxp**, Maxilopalatino; **Pa**, palatino; **Pas**, parasfenoides; **Pt**, pterigoide.



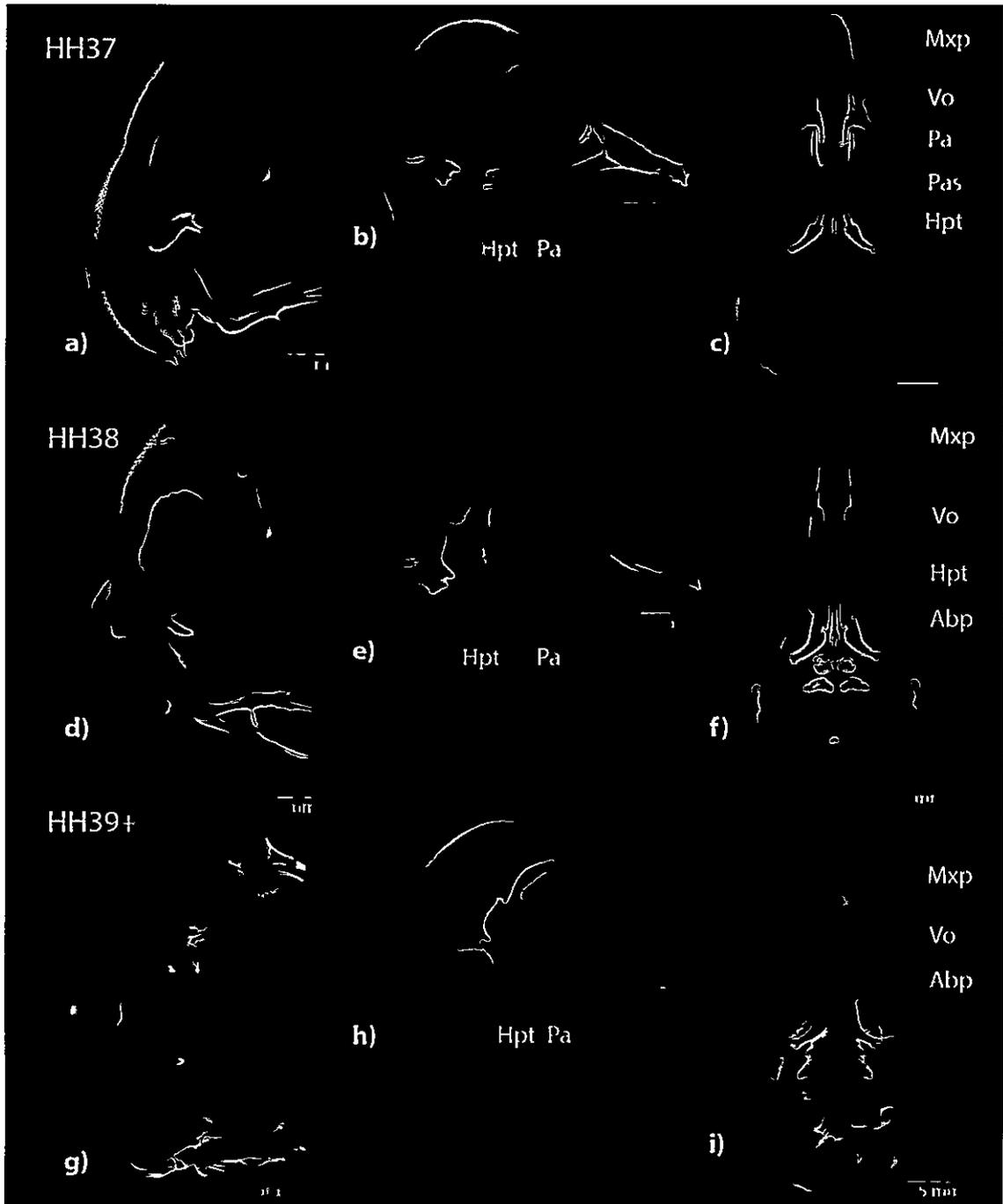
**FIGURA 18.** Patrón de osificación del paladar en embriones HH34+, HH35 y HH35+ del quetzal. a) Morfología externa en HH34+. b) Vista lateral del paladar en HH34+. c) Vista ventral del paladar en HH34+. d) Morfología externa en HH35. e) Vista lateral del paladar en HH35. f) Vista ventral del paladar en HH35. g) Morfología externa en HH35+. h) Vista lateral del paladar en HH35+. i) Vista ventral del paladar en HH35+. Hpt, hemipterigoide; Mx, maxilar ("porción Jugal"); Mxp, Maxilopalatino; Pa, palatino; Pas, parasfenoides; Pt, pterigoide; Vo, vómer.



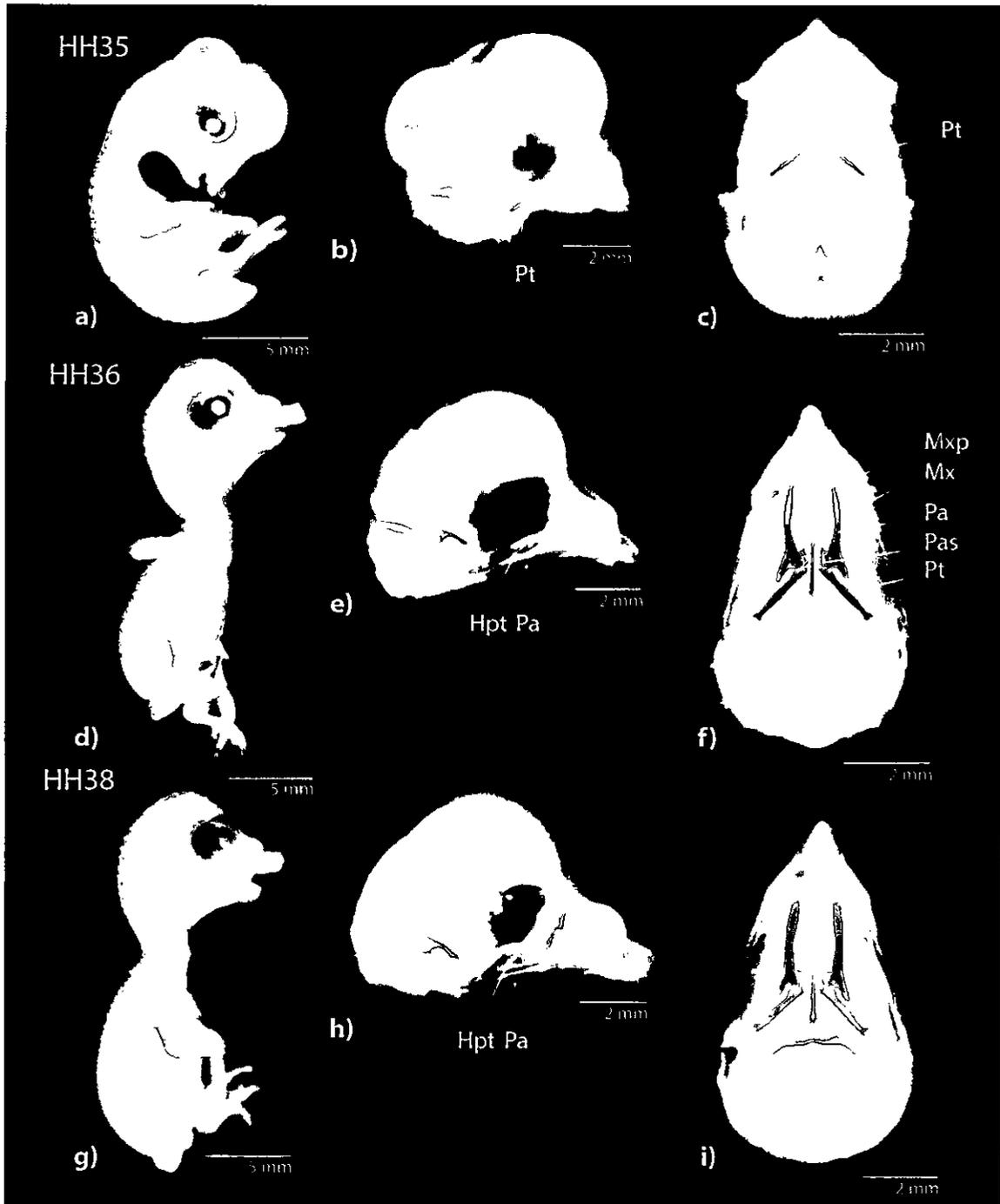
**FIGURA 19.** Patrón de osificación del paladar en embriones HH36, HH37 y HH39+ del quetzal. a) Morfología externa en HH36. b) Vista lateral del paladar en HH36. c) Vista ventral del paladar en HH36. d) Morfología externa en HH37. e) Vista lateral del paladar en HH37. f) Vista ventral del paladar en HH37. g) Morfología externa en HH39+. h) Vista lateral del paladar en HH39+. i) Vista ventral del paladar en HH39+. Hpt, hemipterigoide; Mxp, maxilopalatino; Pa, palatino; Pas, parasfenoides; Pt, pterigoide; Vo, vómer.



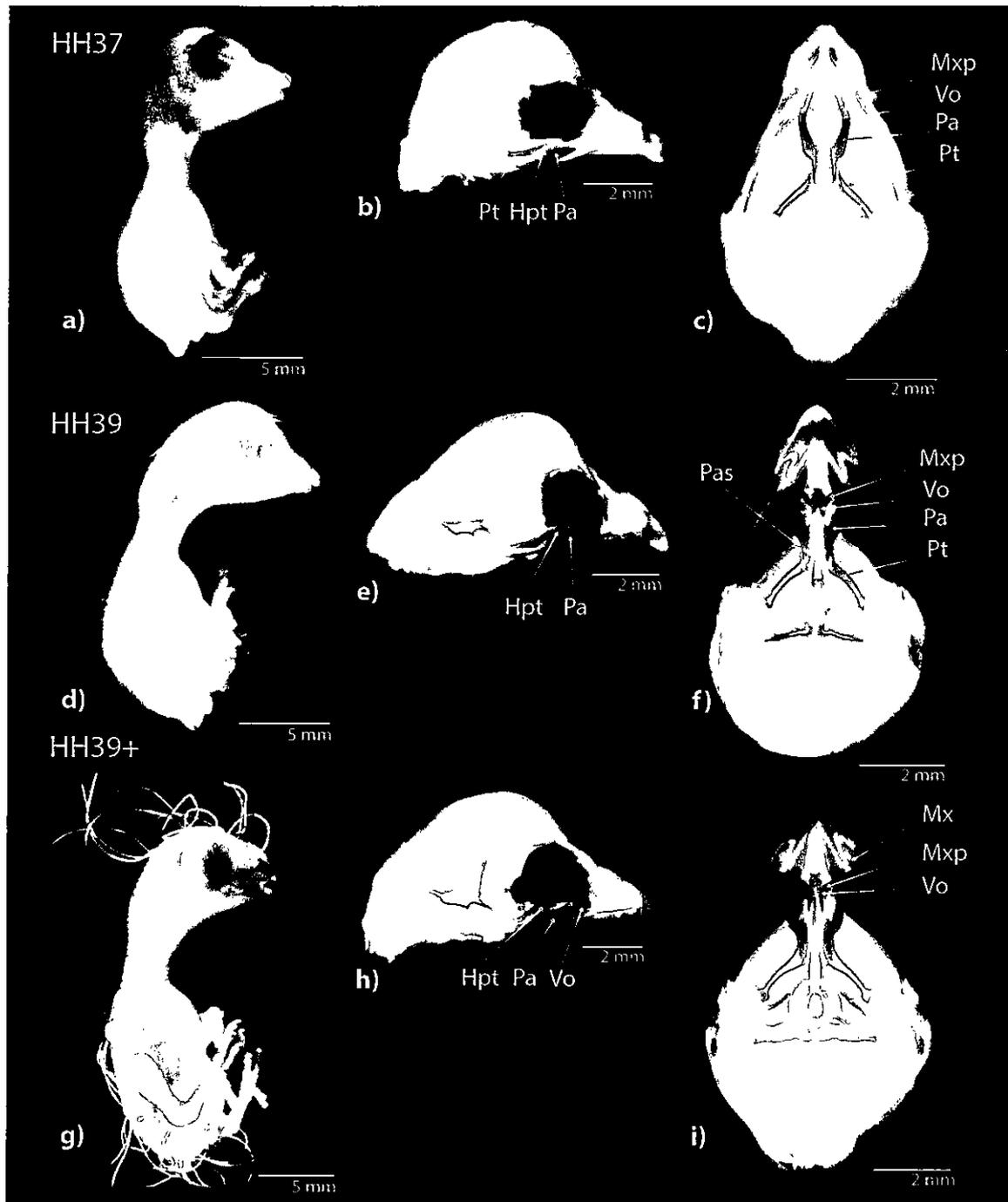
**FIGURA 20.** Patrón de osificación del paladar en embriones HH35, HH35+ y HH36 de la tagua común. a) Morfología externa en HH35. b) Vista lateral del paladar en HH35. c) Vista ventral del paladar en HH35. d) Morfología externa en HH35+. e) Vista lateral del paladar en HH35+. f) Vista ventral del paladar en HH35+. g) Morfología externa en HH36. h) Vista lateral del paladar en HH36. i) Vista ventral del paladar en HH36. Abreviaciones: Hpt, hemipterigoide; Mx, maxilar ("porción Jugal"); Mxp, maxilopalatino; Pa, palatino; Pas, parasfenoides; Pt, pterigoide.



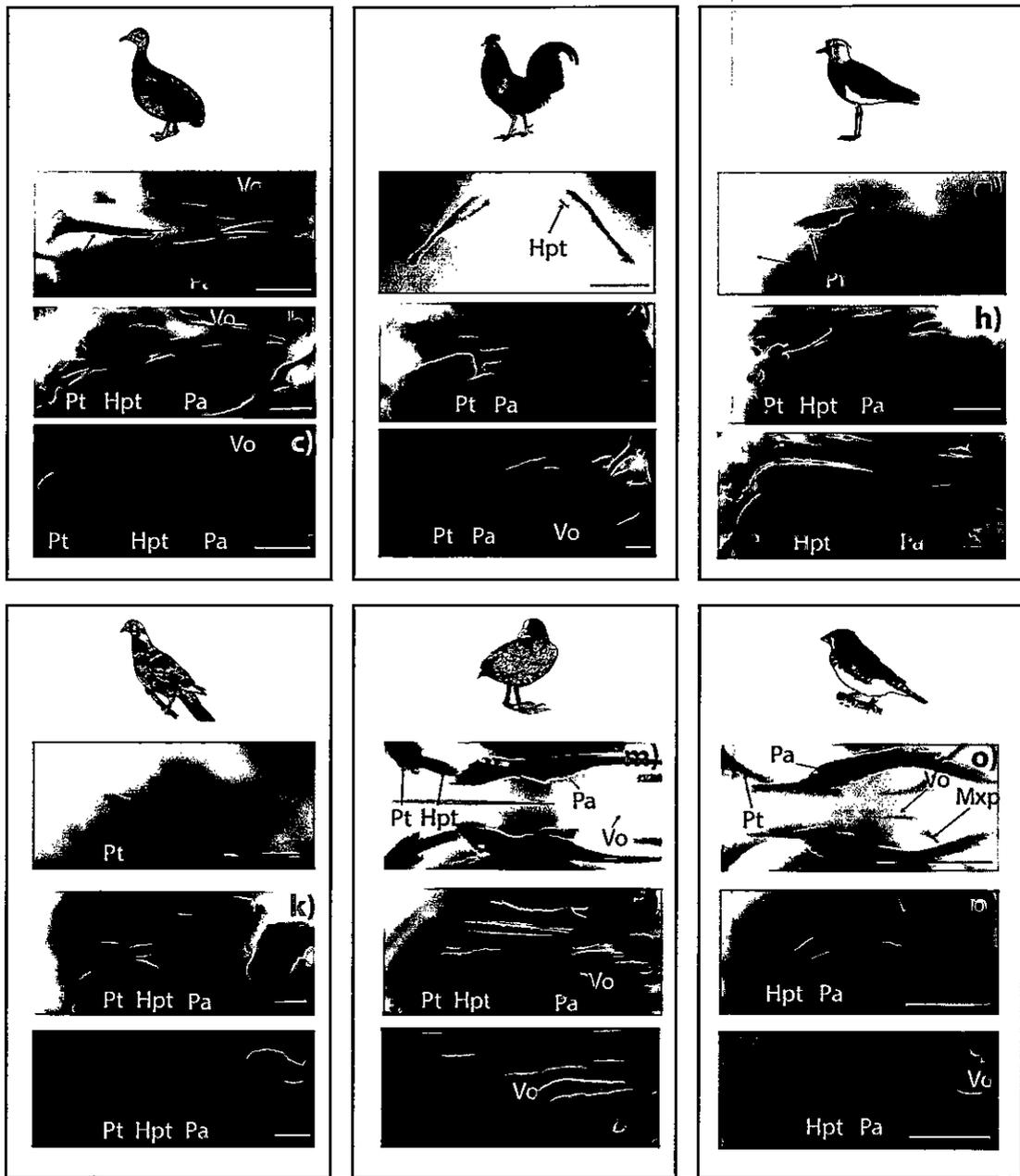
**FIGURA 21.** Patrón de osificación del paladar en embriones HH37, HH38 y HH39+ de la tagua común. **a)** Morfología externa en HH37. **b)** Vista lateral del paladar en HH37. **c)** Vista ventral del paladar en HH37. **d)** Morfología externa en HH38. **e)** Vista lateral del paladar en HH38. **f)** Vista ventral del paladar en HH38. **g)** Morfología externa en HH39+. **h)** Vista lateral del paladar en HH39+. **i)** Vista ventral del paladar en HH39+. Abreviaciones: **Abp**, apófisis basipterigodes; **Hpt**, hemipterigoide; **Mxp**, maxilopalatino; **Pa**, palatino; **Pas**, parasfenoides; **Pt**, pterigoide; **Vo**, vómer.



**FIGURA 22.** Patrón de osificación del paladar en embriones HH35, HH36 y HH39 de la cata. **a)** morfología externa en HH35. **b)** Vista lateral del paladar en HH35. **c)** Vista ventral del paladar en HH35. **d)** Morfología externa en HH36. **e)** Vista lateral del paladar en HH36. **f)** Vista ventral del paladar en HH36. **g)** Morfología externa en HH38. **h)** Vista lateral del paladar en HH38. **i)** Vista ventral del paladar en HH38. **Hpt**, hemipterigoide; **Mx**, maxilar ("porción Jugal"); **Mxp**, maxilopalatino; **Pa**, palatino; **Pas**, parasfenoides; **Pt**, pterigoide.



**FIGURA 23.** Patrón de osificación del paladar en embriones HH37, HH39 y HH39+ del diamante. a) Morfología externa en HH37. b) Vista lateral del paladar en HH37. c) Vista ventral del paladar en HH37. d) Morfología externa en HH39. e) Vista lateral del paladar en HH39. f) Vista ventral del paladar en HH39. g) Morfología externa en HH39+. h) Vista lateral del paladar en HH39+. i) Vista ventral del paladar en HH39+. Hpt, hemipterigoide; Mx, maxilar ("porción Jugal"); Mxp, maxilopalatino; Pa, palatino; Pas, Parasfenoides; Pt, pterigoide; Vo, vómer.



**FIGURA 24.** Relaciones ontogénicas entre los pterigoides, los hemipterigoides y el vómer. **a)** Vista laterodorsal del paladar de un embrión de perdiz chilena en HH36+. **b)** Vista laterodorsal del paladar de un embrión de perdiz chilena en HH37. **c)** Vista laterodorsal del paladar de un embrión de la perdiz chilena en HH39. **d)** Vista ventral del paladar de un embrión del pollo en HH35. **e)** Vista laterodorsal del paladar de un embrión del pollo en HH39. **f)** Vista laterodorsal del paladar de un embrión del pollo en HH45. **g)** Vista laterodorsal del paladar de un embrión del queltehue en HH34+. **h)** Vista laterodorsal del paladar de un embrión del queltehue en HH35+. **i)** Vista laterodorsal del paladar de un embrión del queltehue en HH37.

(Continuación Fig. 24)

**j)** Vista laterodorsal del paladar de un embrión de la paloma en HH35. **k)** Vista laterodorsal del paladar de un embrión de la paloma en HH39. **i)** Vista laterodorsal del paladar de una paloma recién nacida. **m)** Vista ventral del paladar de un embrión de la tagua común en HH37. **n)** Vista laterodorsal del paladar de un embrión de la tagua común en HH38. **ñ)** Vista laterodorsal del paladar de un embrión de la tagua común en HH39+. **o)** Vista Ventral del paladar de un embrión del diamante en HH37. **p)** Vista laterodorsal del paladar de un embrión del diamante en HH39. **q)** Vista laterodorsal del paladar de un diamante recién nacido. **Hpt**, hemipterigoide; **Pa**, palatino; **Pt**, pterigoide; **Vo**, vómer. Las barras de tamaño corresponden a 1mm.

## DISCUSIÓN

### *Ausencia de recapitulación en la aves modernas*

Llama la atención que en años recientes no se haya estudiado el desarrollo de aquellas Neognathae en que Pycraft (1901) describió que existía recapitulación. Pese a que estos estudios se realizaron hace más de 100 años, y se documentaron sólo con dibujos, no es fácil dudar de la veracidad de lo descrito por Pycraft, quien observó especímenes los cuales también observó de Beer (1956). Adicionalmente, existen dos reportes que mencionan la presencia del contacto vómer-pterigoides en juveniles Procelariiformes (familia Diomedidae) y Passeriformes (familia Turdidae), donde en el adulto este contacto está ausente (Fig. 4 b, d, e). En este contexto, resulta concebible que el desarrollo embrionario de ciertas Neognathae fuera comparable al de una Palaeognathae. De ser así, podría representar un proceso ancestral de recapitulación, que se perdió de manera secundaria en la ramas basales de Neognathae (Galloanserae).

Esta importante posibilidad puede ser descartada gracias a los datos aportados por esta tesis, que establecen con claridad que en ninguna Neognathae, los embriones se asemejan a los de Palaeognathae. Si bien en ambos linajes el comienzo del desarrollo es parecido (siempre osifican los pterigoides en primer lugar), luego el desarrollo del paladar presenta diferencias fundamentales: En todas las Neognathae (incluyendo los tres órdenes posiblemente "recapitulatorios") los palatinos osifican antes que el vómer. En Palaeognathae, el vómer osifica antes que los palatinos, y el vómer está en contacto con los pterigoides en estadios

embrionarios (pre-eclosión). Además, existe una reordenación de los palatinos en Neognathae, ya que como se había descrito anteriormente (Schinz & Zangerl, 1937; Tokita, 2003; Maxwell, 2008a, 2008b), osifican en la zona anterior de la línea media del paladar, orientándose paralelamente uno de otro y articulando con los pterigoides. En cambio en el patrón de osificación de la perdiz chilena (Palaeognathae), el patrón de desarrollo es propio del paladar tipo paleognato (Maxwell, 2009), donde los palatinos osifican en la zona posterior del paladar, disponiéndose perpendicular uno de otro y fusionándose después con el vómer y los pterigoides.

*En ningún embrión Neognathae se observó el contacto entre el vómer y los pterigoides.*

En especies de Passeriformes, Gruiformes y Charadriiformes, estos huesos se aproximan durante el desarrollo embrionario, y están casi en contacto en los estadios embrionarios más tardíos, lo cual es consistente con lo reportado por Pycraft (1901). Sin embargo, ahora es posible aclarar que la unión entre estos huesos se establecería sólo de manera tardía, por sobre un patrón general previo de desarrollo, que es típico de Neognathae. Las profundas diferencias con el desarrollo embrionario del paladar en Palaeognathae descartan que en estos órdenes exista una auténtica recapitulación. La evolución secundaria de un contacto vómer-pterigoides en algunas Neognathae puede deberse al incremento del tamaño del vómer, especialmente grande en estos órdenes. Esto también sugiere que no existe una auténtica reversión, ya que en rigor estas Neognathae no presentan desarrollo embrionario de tipo paleognato. Aún cuando se establezca la unión del vómer con los pterigoides, ésta ocurre de acuerdo a otro camino ontogenético, más que por re-aparición de los antiguos mecanismos del desarrollo de Palaeognathae.

En síntesis, esta tesis apoya y propone dos eventos causales de cambio en el desarrollo del paladar en Neognathae. Primero una heterocronía del vómer, siempre su osificación comienza después que los palatinos presentan gran desarrollo, siendo en el pollo muy retrasado, y en el queltehue, tagua y diamante menos retrasado. Y segundo, un reordenamiento espacial de los palatinos, que sumado a su desarrollo temprano, permite la articulación con los pterigoides.

### ***Conservación de los hemipterigoides en la aves modernas***

En aquellas Neognathae con "recapitulación", Pycraft (1901) describe en la porción anterior de los pterigoides, el desarrollo de un ápice denominado "hemipterigode". Este elemento esquelético se contactaría con el vómer brevemente, y luego se escindiría de los pterigoides, quedando asociado a los palatinos, sin contactar el vómer (Fig. 4). La evidencia de esta tesis aclara que una protrusión anterior del pterigoide (hemipterigoide) también está presente en Palaeognathae e incluso en las Neognathae en que nunca se establece contacto con el vómer. En el caso de la perdiz chilena, esta porción de los pterigoides se une con el vómer. En estadios embrionarios de todos los Neognathae, queda relegado a la cara dorsal de los palatinos.

Aunque su conectividad varíe, es posible argumentar que en todas las Neognathae el hemipterigoide es el mismo que, en Palaeognathae, participa de la unión entre los pterigoides y el vómer. Esto se puede explicar porque el desarrollo retrasado del vómer, y el desarrollo previo de los palatinos (en una posición relativa semejante a la del vómer en Palaeognathae) impide mecánicamente que ocurra la recapitulación. El vómer comienza a osificar cuando los palatinos y los pterigoides están muy desarrollados y ya articulando, por lo tanto si se

extienden las apófisis posteriores del vómer, se encuentran siempre con la cara ventral de los palatinos, incluso en especies que presentan un vómer grande, como en el queltehue, la tagua común y el diamante.

Por otra parte, hay que hacer hincapié que esta es la primera vez que se describe la presencia de los hemipterigoides en el desarrollo embrionario en una diversidad de linajes de Neornithes. En Palaeognathae es necesario para la unión entre el vómer y los pterigoides, mientras que en Neognathae presenta un patrón muy variable. Por ejemplo, el pollo presenta un centro de osificación en la zona del hemipterigoide, pero luego en el desarrollo embrionario *no se distingue del resto del pterigoide. Esto contrasta con el queltehue y la tagua común, que* presentan dos centros de osificación tempranos pertenecientes a los pterigoides, donde luego el centro anterior contribuye en la formación del hemipterigoide, claramente diferenciable. Más aún, llama la atención que el hemipterigoide está presente en especies que han perdido el vómer, como la paloma y la cata. Por lo tanto, en Neognathae, este ápice anterior de los pterigoides podría considerarse un vestigio del antiguo contacto entre el vómer y los pterigoides.

#### ***Conservación y variación de los patrones de osificación en las aves modernas***

Vale la pena discutir las similitudes y diferencias encontradas en el patrón de osificación del paladar de las especies estudiadas en esta tesis. Como ya se ha expuesto, todas las especies estudiadas comparten el patrón común en que los pterigoides son los primeros elementos del paladar en osificar (Tabla 2). Esto contrasta con estudios previos, en donde se describe el inicio de la osificación de los pterigoides como simultáneo a los demás elementos del paladar (Por ejemplo: Maxwell 2008a, 2008b, 2009), debido a que estos estudios contaron



con un muestreo insuficiente de las etapas más tempranas del patrón de osificación del paladar. Llama la atención que el queltehue y la tagua común presentan dos centros de osificación, en vez de uno, tanto en los pterigoides, como en los palatinos, situación que no se observó en ninguna otra especie, y que no se conoce tampoco en la literatura. Este hallazgo puede ser importante en términos filogenéticos, ya que estudios moleculares recientes demuestran que los dos ordenes a los que pertenecen estas especies (Charadriiformes y Gruiformes respectivamente) están agrupados como grupos hermanos o muy cercanos (Jarvis et al, 2014; Prum et al, 2015), por lo tanto esta singularidad podría corresponder a un rasgo propio del linaje de aves donde están anidados estos ordenes.

Como se grafica en la Tabla 1, el patrón de osificación del vómer es un tema controvertido. Primero, se ha sugerido que en el pollo, este elemento aparece a los 11 o 13 días de incubación (Jollie, 1957; Erdman, 1940; Gussekloo y Bout, 2002), cerca de la eclosión (Maxwell, 2008a) o simplemente no se visualizó en el embrión (Schinz y Zangel, 1937). Tampoco hay acuerdo sobre cuántos centros de osificación existen para este elemento esquelético. Erdman (1940) y Jollie (1957) reportan uno y dos centros para el pollo respectivamente. En esta tesis se identificó el comienzo de la osificación de este hueso entre HH40 y HH41 (14-15 días de incubación), siendo observable un sólo elemento en HH41, pero con forma de "V" invertida, lo cual sugiere la presencia de dos dominios o centros de osificación bilaterales. En embriones de otra Galliforme (gallineta), sólo se observó un centro de osificación medial, sin embargo, la muestra limitada de embriones para esta especie impide descartar la presencia previa de dos osificaciones. En el pato, la muestra de embriones fue suficientemente numerosa para concluir que, en efecto, se desarrolla un único centro de osificación medial para el vómer. Sin evidencia alguna de dos centros de osificación bilaterales,

como en otras aves. De esta forma, al menos para la evolución del pato, se confirma la simplificación del vómer a un único elemento medial que surge desde un centro de osificación, sin descartarse que exista una tendencia similar en el pollo y la gallineta. Estas especies pertenecen al linaje Galloanserae, anidado en el origen de las Neognathae.

Esta tesis también pudo documentar la presencia de dos centros de osificación en el desarrollo del maxilar en gran parte de las especies analizadas, a diferencia de estudios anteriores (Maxwell 2008a, 2008b, 2009) que describen sólo uno. En la perdiz chilena, el pollo y el pato, existe incluso un tercer centro de osificación. Si esto corresponde a un carácter primitivo o derivado es un tema por investigar, que requiere de observaciones en más especies de Palaeognathae y Neognathae.

Por último, es necesario discutir algunas razones por las cuáles algunos patrones de osificación documentados en esta tesis han pasado desapercibidos por trabajos previos. En algunas especies, hay cambios morfológicos que ocurren en intervalos temporales muy acotados y pueden ser interpretados inadecuadamente, si el muestreo de embriones es insuficiente. Incluso entre huevos con el mismo periodo de incubación, a la misma temperatura y humedad, no todos se encuentran en el mismo momento de desarrollo. Esta situación se agrava para aquellas especies que no se crían en cautiverio, donde suelen haber restricciones numéricas al muestreo y se desconoce el momento exacto del comienzo de la incubación. También es necesario destacar las diferencias que existen entre especies de aves que poseen distintas modalidades del desarrollo. Las equivalencias de estadios "HH" (Hamburger y Hamilton, 1951) entre diferentes especies de aves es una herramienta de gran ayuda, que nos permite, *comparar estados del desarrollo equivalentes, donde existe un retraso evidente del*

desarrollo en formas altriciales, respecto a las precociales. Por ejemplo, si comparamos la perdiz chilena, que tiene un periodo de incubación de 21 días y un modo de desarrollo precocial, con la cata, que tiene un periodo de incubación de 15 días aproximadamente y un modo de desarrollo altricial, notaremos que la perdiz chilena pasa por estadios del desarrollo en menos tiempo que la cata, la cual se demora comparativamente varios días en pasar desde HH36 a HH39 (Botelho et al, 2015). Esto tiene especial importancia en la medida en que algunas transformaciones morfológicas pueden ser más lentas (y por lo tanto, fácilmente documentables) según el modo de desarrollo de la especie. Debido a esto, para discernir patrones generales a todas las aves, lo óptimo es maximizar el número de especies utilizadas, y las distancias filogenéticas entre ellas. Otra arista en este punto, tiene relación con los reportes donde se indican que los patrones de osificación en vertebrados pueden variar dentro de una especie, entre diferentes poblaciones en cautiverio ó salvajes (Maxwell, 2009; Sheil & Greenbaum, 2005). En efecto, en algunos embriones de pollo HH41 (n=3) no se observó el vómer, pero en estadios más tardíos previos a la eclosión, siempre está presente, lo cual indica la presencia de una marcada variación intraespecífica en el tiempo de aparición de este hueso.

### ***La plasticidad evolutiva del paladar***

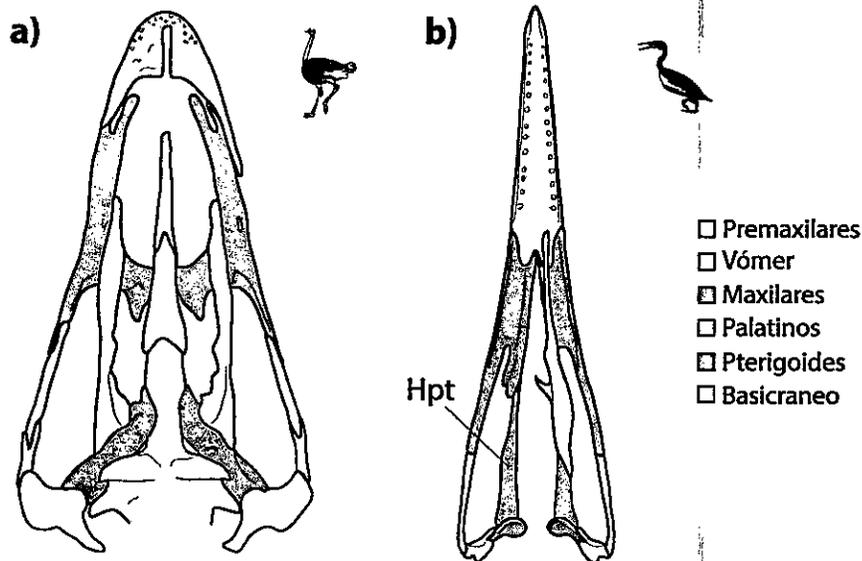
Esta tesis confirma la opinión actual, de que no existe recapitulación del paladar paleognato en embriones de Neognathae. Sin embargo, sin los nuevos datos aportados, esta conclusión era endeble. Adicionalmente, la literatura actual hace poca mención de hechos importantes, que dan cuenta de la verdadera plasticidad evolutiva del paladar de las aves. En especial, no se discuten aquellas Neognathae que presentan rasgos del paladar paleognato, como la presencia de la unión del vómer con los pterigoides en el adulto de Trochilidae o

Capitonidae (Fig 3f, g), y en juveniles de Sphenisciformes (Fig. 4a, c), Passeriformes (Fig. 4b, d) y Procelariformes (Diomediidae) (Fig. 4e), por ejemplo. Esta tesis aclara que en formas con este contacto, el desarrollo embrionario del paladar sería diferente al del paladar paleognato. Sin embargo, estas formas presentan un aumento del tamaño del vómer, semejante a Palaeognathae. Esto podría considerarse una reversión parcial, que contribuye a un resultado final parecido (contacto con pterigoides), pese a las diferencias embriológicas. Estas reversiones parciales no son adecuadamente reconocidas en la literatura actual, que se centra particularmente en la refutación histórica de la hipótesis defendida por de Beer (1956) (que las Palaeognathae se originan a partir de Neognathae por neotenia).

De manera similar, existe poca discusión de la presencia de rasgos semejantes al paladar neognato en la rama basal de Palaeognathae. El avestruz (*Struthio camelus*) presenta palatinos alargados y paralelos, el vómer está muy reducido, y no está unido a los pterigoides (Fig. 25a) (compárese con un Palaeognathae más convencional, el emú, Fig. 3d). Debido a que las descripciones del desarrollo temprano del paladar en la avestruz son insuficientes (Parker, 1866; Webb 1957; Maxwell, 2009), se desconoce si en la avestruz osifica el vómer antes que los palatinos. De osificar primero los palatinos, las semejanzas con Neognathae se extendería a los patrones embrionarios de osificación.

Por otro lado, existe poca información sobre la evolución de formas cercanas conducentes hacia las aves modernas, precisamente porque los huesos del paladar tienden a fragmentarse en el proceso de fosilización (Bock, 2002; Zusi & Livezey, 2006). En efecto, *Hesperornis* es virtualmente la única ave cercana a las aves modernas, en donde relativamente se conoce la morfología del paladar. En *Hesperornis*, las reconstrucciones más recientes no son

concluyentes con la presencia del vómer (Elzanowski, 1991). Los pterigoides y los palatinos se encuentra unidos paralelamente, con un prominente hemipterigode proyectando sobre la cara dorsal de los palatinos, donde estos se asemejan a la condición neognata (Buhllar et al, 2015). Esta es una condición derivada, y no es considerada homóloga a la articulación propia de la condición neognata (Fig. 25b) (Elzanowski, 1991; Zusi & Livezey, 2006). Es de esperar que nuevos descubrimientos indiquen la presencia de rasgos paleognatos en el linaje conducente a las aves modernas, confirmando que *Hesperornis* representa un caso independiente de convergencia. De todas formas, el avestruz y *Hesperornis* representan hitos evolutivos importantes, que confirman una gran plasticidad evolutiva del paladar en las aves, desde muy temprano en su evolución.



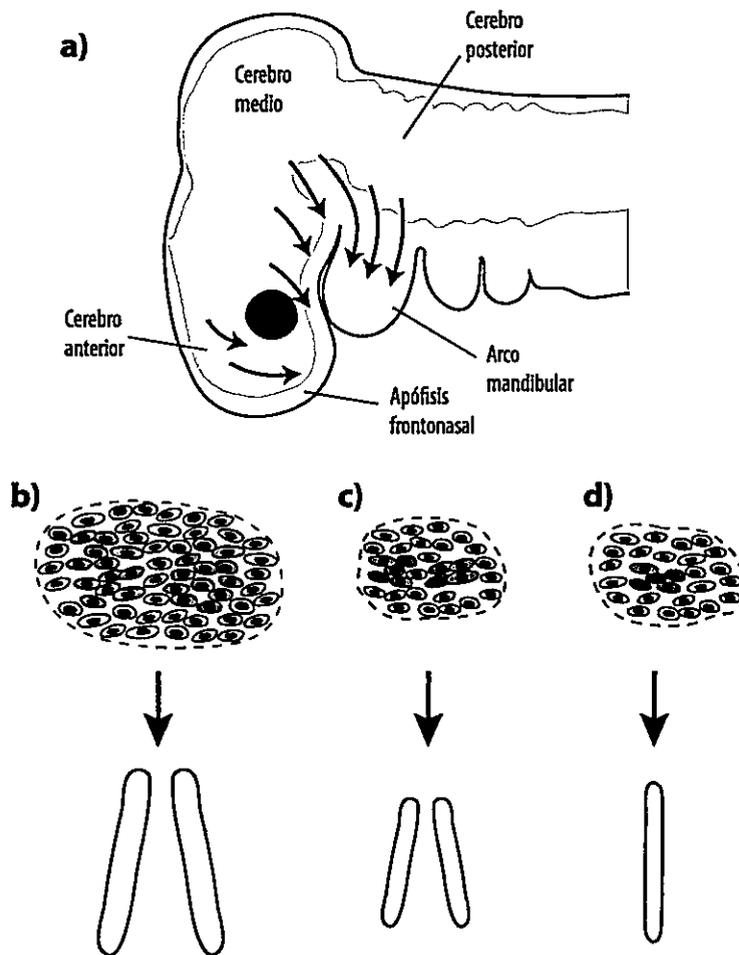
**FIGURA 25.** Morfología del paladar en a) el avestruz (Huxley, 1867) y en b) *Hesperornis* (Elzanowzki, 1991).

Para entender la manifiesta plasticidad evolutiva del paladar en Neornithes, debe ser abordada desde los subyacentes mecanismos del desarrollo (previos a la osificación). Los principales elementos esqueléticos del paladar (vómer, pterigoides, palatinos y maxilares) derivan de la cresta neural craneal (ectodermo) (Couly et al, 1993), y se desarrollan mediante el poco estudiado proceso de diferenciación denominado osificación intramembranosa (Abzhanov et al, 2007). De esta manera, el linaje celular que dará lugar a los huesos faciales, se generan desde características condensaciones que posteriormente darán lugar a osteoblastos (Hall & Miyake, 1992; Jabalee et al, 2013, Abzhanov et al, 2007). Son pocos los estudios donde se analiza el patrón morfo-espacial de estas condensaciones previas a la mineralización. Así, para entender las dos novedades del desarrollo del paladar neoganto confirmadas por esta tesis (heterocronía del vómer y reorganización espacial de los palatinos), es imperante entender que ocurre en este proceso, comparado con el desarrollo paleoganto. La morfología resultante depende de los eventos morfogenéticos previos a la mineralización. Es así como el tamaño relativo de estas condensaciones (Richman et al, 2006), el momento en que migran sus precursores (Tokita, 2006), el número de centros de osificación (Hall & Miyake, 1992) y la temporalidad relativa entre estas entidades celulares, serían causales claves del resultado fenotípico de los elementos craneales. Ahora, teniendo en cuenta la heterocronía del vómer presente en Neognathae, podríamos especular ciertos cambios en sus mecanismos del desarrollo. Primero, considerando la interacción epitelio-mesénquima, donde los grupos celulares que migran desde la cresta neural craneal hacia las zonas faciales, interactúan con el epitelio que los aloja (Helms & Schneider, 2003), se ha comprobado que estas interacciones son vitales para los siguientes procesos morfogenéticos, ya que si estas células son implantadas en otras zonas faciales, el compromiso de éstas puede cambiar (Helms & Schneider, 2003).

Entonces, debido a que existe un componente temporal (siempre en un embrión Neognathae el vómer comienza a osificar después que los demás elementos del paladar), podría haber ocurrido un retraso en la migración de las células desde la cresta neural craneal hasta la zona facial que dará lugar al vómer, por ende tendríamos una diferenciación retrasada o distinta, debido a que estas células interactuarían con un epitelio más maduro, distinto al que interactuaron los demás elementos del paladar (Fig. 26a). También, en algunos Neognathae (como en el pollo), el vómer presenta menor tamaño relativo. Entonces, la condensación sería más pequeña. Esto puede ocurrir, porque menos células migran hacia esta zona o porque existe menos proliferación de estas células (Fig. 26c), comparado con el vómer paleognato (Fig. 26b). Por otro lado, también puede ocurrir un cambio de los números de centros de osificación, como ocurre en el pato, ya que solo presenta un centro de osificación y la morfología de este hueso es alargada y comprimida lateralmente, siendo derivado dentro de los Neognathae estudiados en esta tesis (Fig. 26d). Por último, en algunos Neognathae estudiados en este trabajo (como el queltehue o la tagua común) solo cumplirían con el retraso del desarrollo del vómer, ya que el tamaño relativo y la forma de este hueso se asemeja al que encontramos en la condición paleognata (Fig. 26b).

*Finalmente, Buhllar et al (2015) revela la importancia de estudiar los mecanismos morfogenéticos de los huesos del cráneo para entender su evolución. Alterando los mecanismos de la vía wnt en el pollo, se obtuvo un re-arreglo de los principales huesos de la mandíbula superior: los premaxilares y los palatinos. Específicamente, cambió el tamaño y la posición de los palatinos hacia la zona lateral de la línea media del paladar, en contraste con el fenotipo normal, donde los palatinos están orientados paralelamente y extendiéndose por casi toda la línea media del paladar. Si bien los palatinos permanecen articulando con los*

pterigoides, ahora contactan con los maxilopalatinos (maxilares), por lo tanto sumado al cambio en la posición y tamaño, este fenotipo experimental nos recuerda la condición paleognata de los palatinos. En consecuencia, este estudio refuerza que es imperante estudiar los procesos del desarrollo previo a la mineralización, en correspondencia con los eventos o cambios del desarrollo que ocurrieron en el paladar de la aves modernas.



a) Modificado de Healmis & Schneider (2003) y b)-d) basados de Richman et al (2006)

**FIGURA 26.** Cambios hipotéticos de los mecanismos del desarrollo del vómer en embriones Neognathae. **a)** Patrón de migración de la cresta neural craneal en un embrión de pollo. La flecha roja indica el linaje celular que dará lugar al vómer, graficando un desacople temporal en relación a los demás linajes celulares migrando (flechas negras). **b)** Morfología hipotética de la condensación celular que dará lugar al vómer en embriones Palaeognathae. **c)** Morfología hipotética de la condensación celular que dará lugar al vómer en el pollo. **d)** Morfología hipotética de la condensación celular que dará lugar al vómer en el pato. Las células con el citoplasma en rojo, representan los centros de osificación.

## REFERENCIAS

- Abzhanov A, Rodda SJ, McMahon AP, y Tabin CJ (2007) Regulation of skeletogenic differentiation in cranial dermal bone. *Development* 134: 3133–3144
- Andors AV (2001) Neognathae (Typical Birds). En eLS. *John Wiley & Sons Ltd, Chichester, West Sussex, England*
- Bhullar BA, Morris ZS, Sefton EM, Tok A, Tokita M, Namkoong B, Camacho J, Burnham DA y Abzhanov A (2015) A molecular mechanism for the origin of a key evolutionary innovation, the bird beak and palate, revealed by an integrative approach to major transitions in vertebrate history. *Evolution* 69: 1665–1677
- Bock WJ (1963) The cranial evidence for ratite affinities. En *Proceedings of the XIII International Ornithological Congress, Ithaca, New York, USA, 17-24 June 1962, pp. 39–54, Sibley CG, Hickey JJ and Hickey MB (eds.). American Ornithologists Union, Baton Rouge, Louisiana, USA*
- Bock WJ (2002) The evolution of avian cranial kinesis. En *Proceedings of the 5<sup>th</sup> Symposium of the Society of Avian Paleontology and Evolution, Beijing, China, 1-4 June 2000, pp. 191-201, Zhou Z and Zhang F (eds.). Science Press, Beijing, China.*
- Botelho JF, Smith-Paredes D, y Vargas AO (2015) Altriciality and the Evolution of Toe Orientation In Birds. *Evolutionary Biology* 1-9.
- Carroll RL (1997) Vertebrate paleontology and evolution, 7<sup>th</sup> ed. *Freeman, New York, USA.*

- Couly GF, Coltey PM y Le Douarin NM (1993) The triple origin of skull in higher vertebrates: a study in quail-chick chimeras. *Development* 117: 409-429.
- De Beer G (1956) The evolution of ratites. *Bulletin of the British Museum (Natural History), Zoology* 4: 57-70
- Elzanowski A (1991) New observations on the skull of Hesperornis with reconstructions of the bony palate and otic region. *Postilla* 207: 1-20.
- Erdmann K (1940) Zur entwicklungsgeschichte der knochen im schädel des huhnes bis zum zeitpunkt des ausschlüpfens aus dem ei. *Zoomorphology* 36: 315-400.
- Feduccia A (1999) *The Origin and Evolution of Birds*, 2<sup>da</sup> ed. Yale University Press, New Haven, Connecticut, USA.
- Gingerich P (1973) Skull of hesperornis and early evolution of birds. *Nature* 243: 70-73.
- Gussekloo SWS y Bout RG (2002) Non-neotenus origin of the palaeognathous (aves) pterygoid-palate complex. *Canadian Journal of Zoology* 80: 1491-1497.
- Gussekloo SW y Cubo J (2013) Flightlessness affects cranial morphology in birds. *Zoology* 116: 75-84.
- Hackett SJ, Kimball RT, Reddy S, Bowie RCK, Braun EL, Braun MJ, Chojnowski JL, Cox WA, Han K-L, Harshman J, Huddleston CJ, Marks BD, Miglia KJ, Moore WS, Sheldon FH, Steadman DW, Witt CC y Yuri T (2008) A phylogenomic study of birds reveals their evolutionary history. *Science* 320: 1763-1768.
- Hall BK y Miyake T (1992) The membranous skeleton: The role of cell condensations in vertebrate skeletogenesis. *Anatomy and embryology* 186: 107-124.

- Hamburger V y Hamilton HL (1951) A series of normal stages in the development of the chick embryo. *Journal of Morphology* 88: 49–92.
- Hays H y LeCroy M (1971) Field criteria for determining incubation stage in eggs of the common tern. *The Wilson Bulletin* 83: 425–429.
- Helms J y Schneider R (2003) Cranial skeletal biology. *Nature* 423: 326–331.
- Hofer H (1945) Untersuchungen über den bau des vogelschädels, besonders über den der spechte und steihühner. *Zoologische Jahrbuch (Anatomie und Ontogenie der Tiere)* 69: 1–158.
- Houde P y Olson SL (1981) Paleognathous carinate birds from the early tertiary of north america, *Science* 214: 1236–1237.
- Huxley TH (1867) On the classification of birds and the taxonomic value of the modifications of certain of the cranial bones observed in that class. *Proceedings of the Zoological Society of London* 1867: 416–472
- Jabalee J, Hillier S, y Franz-Ondendaal T (2013) An investigation of cellular dynamics during the development of intramembranous bones: the scleral ossicles. *Journal of anatomy* 223: 311–320.
- Jarvis ED, Mirarab S, Aberer AJ, Li B, Houde P, Li C, Ho SY, Faircloth BC, Nabholz B, Howard JT et al. (2014) Whole-genome analyses resolve early branches in the tree of life of modern birds. *Science* 346: 1320–1331.
- Jollie MT (1957) The head skeleton of the chicken and remarks on the anatomy of this region in other birds. *Journal of Morphology* 100: 389– 436.

Lowe PR (1939) IV. On the Systematic Position of the Swifts (Suborder Cypseli) and Humming-Birds (Suborder Trochill), with special reference to their Relation to the Order Passeriformes. *The Transactions of the Zoological Society of London* 24: 307-348.

Livezey BC y Zusi RL (2007) Higher-order phylogeny of modern birds (Theropoda, aves: Neornithes) based on comparative anatomy. II. Analysis and Discussion. *Zoological Journal of the Linnean Society* 149: 1-95.

Maxwell EE (2008a) Comparative embryonic development of the skeleton of the domestic turkey (meleagris gallopavo) and other galliform birds. *Zoology* 111: 242-257.

Maxwell EE (2008b) Ossification sequence of the avian order Anseriformes, with comparison to other precocial birds. *Journal of Morphology* 269: 1095-1113.

Maxwell EE (2009) Comparative ossification and development of the skull in paleognathous birds (aves: Palaeognathae). *Zoological Journal of the Linnean Society* 156: 184-200

McDowell S (1948) The bony palate of birds. Part I. The Palaeognathae. *Auk* 65: 520-549.

Nakane Y y Tsudzuki M (1999) Development of the skeleton in Japanese quail embryos. *Development Growth and Differentiation* 41: 523-534.

Parker WK (1869) On the structure and development of the skull of the common fowl (gallus domesticus). *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* 159: 755-807.

Parker WK (1875) On ægnithognathous birds (part 1). *Transactions of the Zoological Society of London* 9: 289-351.

- Prum RO, Berv JS, Dornburg A, Field DJ, Townsend JP, Lemmon EM y Lemmon AR (2015) A comprehensive phylogeny of birds (Aves) using targeted next-generation DNA sequencing. *Nature*
- Pycraft WP (1900) On the morphology and phylogeny of the palæognathæ (ratitæ and crypturi) and neognathæ (carinatae). *The Transactions of the Zoological Society of London* 15: 149–290.
- Pycraft WP (1901) Some points in the morphology of the palate of the Neognathæ. *Journal of the Linnean Society, Zoology* 28: 343–357.
- Richman JM, Buchtová M y Boughner JC (2006) Comparative ontogeny and phylogeny of the upper jaw skeleton in amniotes. *Developmental dynamics* 235: 1230–1243.
- Romer AS (1966) Vertebrate paleontology, 3<sup>rd</sup> ed., *University of Chicago Press, Chicago, USA*.
- Sánchez-Villagra MR, Müller H, Shell CA, Scheyer TM, Nagashima H y Kuratani S (2009) Skeletal development in the chinese soft-shelled turtle pelodiscus sinensis (testudines: Trionychidae). *Journal of Morphology* 270: 1381–1399.
- Schinz HR y Zangerl R (1937) Beiträge zur Osteogenese des Knochensystems beim Haushuhn, bei der Haustaube und beim Haubensteissfuss. *Denkschriften der Schweizerischen Naturforschenden Gesellschaft Abteilung* 72: 116–162.
- Shell CA y Greenbaum E (2005) Reconsideration of skeletal development of chelydra serpentina (reptilia: Testudinata: Chelydridae): evidence for intraspecific variation. *Journal of Zoology* 265: 235–267.
- Stegmann BC (1978) Relationships of the Superorders Alectoromorphae and Charadriomorphae (Aves): A Comparative Study of the Avian Hand. *Nuttall Ornithological Club* 17: 1-119

- Simonetta AM (1960) On the mechanical implications of the avian skull and their bearing on the evolution and classification of birds. *Quarterly Review of Biology* 35: 206–220.
- Slater BJ, Liu KJ, Kwan MD, Quarto N y Longaker MT (2009) Cranial osteogenesis and suture morphology in *Xenopus laevis*: a unique model system for studying craniofacial development, *PLoS One* 4: e3914.
- Starck J (1993) Evolution of avian ontogenies. En *Current ornithology*, Springer, pp. 275–366.
- Tokita M (2003) The skull development of parrots with special reference to the emergence of a morphologically unique cranio-facial hinge. *Zoological science* 20: 749-758.
- Tokita M (2006) Cranial neural crest cell migration in cockatiel *Nymphicus hollandicus* (aves: Psittaciformes). *Journal of morphology* 267: 333–340.
- Tsuihiji T, Barsbold R, Watabe M, Tsogtbaatar K, Chinzorig T, Fujiyama Y y Suzuki S (2014) An exquisitely preserved troodontid theropod with new information on the palatal structure from the upper cretaceous of Mongolia, *Naturwissenschaften* 101: 131–142.
- Webb M (1957) The ontogeny of the cranial bones, cranial peripheral and cranial parasymphathetic nerves, together with a study of the visceral muscles of *Struthio*. *Acta Zoologica* 38: 81-203
- Wellnhofer P (2009) Archaeopteryx the icon of evolution. *Verlag Dr. Friedrich Pfeil, Munchen, Alemania*.
- Witmer L y Martin L (1987) The primitive features of the avian palate, with special reference to mesozoic birds, *Documents des Laboratoires de Geologie de la Faculte des Sciences de Lyon* 99: 21–40.

Yamazaki Y, Yuguchi M, Kubota S, y Isokawa K (2010) Whole-mount bone and cartilage staining of chick embryos with minimal decalcification. *Biotechnic & Histochemistry* 86: 351–358.

Yuri T, Kimball RT, Harshman J, Bowie RC, Braun MJ, Chojnowski JL, Han KL, Hackett SJ, Huddleston CJ, Moore WS et al. (2013) Parsimony and model-based analyses of indels in avian nuclear genes reveal congruent and incongruent phylogenetic signals, *Biology* 2: 419–444.

Zusi RL y Livezey BC (2006) Variation in the os palatinum and its structural relation to the palatum osseum of birds (aves). *Annals of the Carnegie Museum* 75: 137–180.