

# **Nueva información embriológica sobre la evolución del esternón en aves**

**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**

**Luis Israel Vega Jorquera**

**Julio, 2018**

**Director de Tesis Dr:**

**Alexander Vargas Milne**

Esta tesis fue realizada gracias al  
financiamiento de los proyectos Fondecyt 1150906 y  
Anillo ACT172099.



### **Luis Israel Vega Jorquera**

Nacido en Viña de Mar en 1992, desde pequeño presentó interés por la ciencia, en particular por la biología y la evolución. Realizó su educación media en el Colegio Rubén Castro de Viña del Mar, y formó parte del programa BETA de la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso para alumnos con Talento. Se trasladó a Santiago en 2010 al ingresar a la carrera de Biología Ambiental de Universidad de Chile, de la que egresó en 2015. Entró al programa de Magister en Ciencias Biológicas el año siguiente, trabajando desde entonces en el Laboratorio de Ontogenia y Filogenia de la Facultad de Ciencias.

## **Agradecimientos**

Le doy las gracias a mi familia que me apoyó durante todo este proceso, a mis compañeros del laboratorio de Ontogenia y Filogenia que siempre estuvieron disponibles cuando necesité ayuda con el trabajo, al profesor Alexander Vargas por darme la oportunidad de trabajar en este laboratorio, y en general a todas las personas que me animaron durante este estresante pero gratificante etapa.

## ÍNDICE DE SECCIONES

Índice de secciones.....	V
Índice de figuras.....	VI
Resumen.....	VII
Abstract.....	X
Introducción.....	1
Materiales y métodos.....	14
Resultados.....	17
Discusión.....	28
Conclusión.....	37
Bibliografía.....	39

## ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. PATRÓN DE OSIFICACIÓN ENCONTRADO EN <i>NOTHOPROCTA PERDICARIA</i> .....	20
FIGURA 2. PATRÓN DE OSIFICACIÓN ENCONTRADO EN <i>GALLUS GALLUS</i> .....	22
FIGURA 3. PATRÓN DE OSIFICACIÓN ENCONTRADO EN <i>TAENIOPYGIA GUTTATA</i> .....	24
FIGURA 4. PATRÓN DE OSIFICACIÓN ENCONTRADO EN <i>MELOPSITTACUS UNDULATUS</i> .....	25
FIGURA 5. PATRÓN DE OSIFICACIÓN ENCONTRADO EN <i>TURDUS FALCKLANDII</i> .....	27
FIGURA 6. ESQUEMA DEL MODELO PROPUESTO PARA EL PATRÓN DE OSIFICACIÓN ANCESTRAL DE NEORNITES.....	35

## **RESUMEN**

La estructura del esternón de las aves ha sido históricamente un tema importante en la discusión del origen y la mecánica del vuelo. A pesar de esto, los estudios enfocados en su osificación son muy escasos, por lo que el proceso está documentado en muy pocas especies. Hasta ahora se han descrito dos patrones de osificación en las aves modernas, a partir de placas pareadas en paleognatos no voladores, y a partir de un centro de osificación único de posición medial en neognatos. Además de estos centros, la mayoría de aves también presentan dos pequeños centros de osificación accesorios que corresponden a los procesos laterales del esternón. El registro fósil muestra que el patrón ancestral es el de placas pareadas, pero la historia temprana de las aves incluye formas sin esternones osificados, lo que complica su interpretación. Ornituromorfos basales poseen un

esternón completamente fusionado, que no permite identificar su patrón de osificación, mientras que enantiornites, su grupo hermano, desarrollaron un patrón de osificación completamente diferente, con 4 centros de osificación. Hasta el momento no se ha descrito ningún caso de aves con quilla y que presenten una osificación de placas pareadas. Esto ha hecho pensar que una osificación medial principal es necesaria para el desarrollo de la quilla. En este trabajo mostramos los patrones de osificación de 5 especies de aves modernas, de los géneros *Nothoprocta*, *Gallus*, *Taenopygia*, *Melopsicattus* y *Turdus*. *Nothoprocta* presenta una osificación a partir de placas pareadas, y presenta además una osificación medial que da forma a la quilla. *Gallus* presenta una única osificación principal tal como está descrito en la bibliografía. Las osificaciones de los procesos laterales *Taenopygia*, *Melopsicattus* y *Turdus* son significativamente grandes y forman no solo los procesos mismos, sino la parte lateral del cuerpo principal del esternón. *Turdus* presenta dos placas pareadas y una osificación separada para la quilla, mientras que *Taenopygia* presenta una única osificación principal. Los resultados muestran que no es necesario



tener una osificación medial principal para desarrollar una quilla, y que el patrón de una osificación medial no es representativo de todos los neognatos como se tenía pensado. En base a los patrones observados, proponemos un nuevo modelo para el patrón ancestral de neornites, el que incluye 5 centros de osificación y a partir del cual derivarían los patrones presentes en las aves modernas.

## **ABSTRACT**

The structure of the bird's sternum has been an important topic in the discussion of the origin of the flight. However, there are very few studies focused on its ossification, and that process has been described on a very limited amount of species. There are two different ossification patterns that have been described in modern birds, not flying paleognaths develop their sternum from two paired ossifications, while neognaths have a single ossification on a medial position. Most birds also have two small accessory ossification centers that form the lateral processes of the sternum. The fossil record shows that the ancestral pattern is the one with two paired ossifications, however the early evolution birds includes forms even without ossified sternum, which makes the interpretation of the evolution of this element harder. Basal ornithuromorpha have a completely developed and

fused sternum, which shows no sign of its ossification pattern, while their sister group, enantiornithes, developed a completely different ossification pattern, with 4 ossification centers. No specimen has been described with both a well-developed keel and evidence of a paired ossification pattern. This has produced the idea that a single medial ossification pattern is required to develop a keel. In this work we show the ossification patterns of 5 species of modern birds, of the genera *Nothoprocta*, *Gallus*, *Taenopygia*, *Melospicattus* and *Turdus*. *Nothoprocta* has a paired ossification pattern, and also has a small medial ossification that develops into the keel. *Gallus* has a single ossification center just as it's described in the literature. The ossification centers of the lateral processes in *Taenopygia*, *Melospicattus* and *Turdus* are considerably big and form not only the processes themselves, but the most lateral part of the main body of the sternum too. *Turdus* has two paired ossifications in the main body of the sternum and a separate ossification center for the keel, while *Taenopygia* has a single medial ossification center. The data shows that a single ossification pattern is not really required to develop a keel, and that the single

medial ossification pattern is not representative of neognatae like it was believed. Based on the result found, we propose a new model for the ancestral ossification pattern of neornithes, which includes 5 ossification centers and from which the patterns found in modern bird would have derived.

## INTRODUCCIÓN

El esternón es uno de los huesos más importantes del esqueleto aviano. Es el hueso más grande del esqueleto de las aves voladoras, y sirve como punto de inserción de los enormes músculos que permiten el vuelo. El esternón de las aves es un hueso plano, con forma general de rectángulo o de triángulo invertido. El esternón aviano posee numerosos procesos óseos tanto en la zona anterior como en la posterior. En las esquinas anteriores del cuerpo del esternón se ubican dos pequeños procesos pareados denominados simplemente como "Procesos Laterales". Estos procesos están presentes en prácticamente la totalidad de aves actuales. La zona posterior del esternón puede presentar numerosos procesos que generalmente se extienden en dirección caudal, denominados Trabéculas. Estos procesos son muy variables en número y forma, tanto entre especies como de forma

intraespecífica, llegando incluso, en algunos casos, a fusionarse en su extremo distal, formando fenestras en la zona más caudal del esternón.

El desarrollo cartilaginoso del esternón está bien descrito en la literatura. Durante el desarrollo embrionario, el esternón aparece como dos placas pareadas que crecen de forma paralela al eje anteroposterior, y que luego se fusionan en la línea media, comenzando por el extremo anterior (Fell, 1939). En contraste, el proceso de osificación del esternón ha sido pobremente estudiado. El esternón osifica significativamente más tarde que el resto de huesos del cuerpo, ocurriendo después del nacimiento del polluelo en la mayoría de especies de aves. Debido a que los estudios presentes en la literatura se limitan principalmente al periodo anterior de la eclosión, los patrones de osificación del esternón han sido descritos únicamente en aquellas especies que este proceso ocurre excepcionalmente temprano.

Hasta el momento se han descrito 2 patrones de osificación diferentes en las aves modernas. En *Gallus*

aparece un único centro de osificación ubicado en la línea media, a partir del cual se desarrolla el cuerpo principal del esternón y la quilla. Además de esta osificación principal, *Gallus* también presenta osificaciones independientes, más pequeñas, que forman los procesos laterales (Hogg, 1980). Este patrón de osificación de un centro de osificación principal con pequeños centros independientes para los procesos laterales también ha sido registrado en otros grupos, principalmente en Passeriformes y Psittaciformes. Las trabéculas de *Gallus*, denominadas tradicionalmente como procesos lateroposteriores en esta especie, también osifican a partir de su propio centro de osificación (Hogg, 1980). Sin embargo, la identidad de estos procesos como una verdadera parte del esternón ha sido cuestionada debido a su diferente morfología en comparación a las trabéculas de otras aves, y a que osifican mucho más temprano que el resto del esternón. Ha sido sugerido que estos procesos serían derivados de costillas y que posteriormente habrían sido integradas al esternón. Por otro lado, otro patrón de osificación ha sido observado en aves paleognatas no voladoras, como avestruces, ñandúes y kiwis. En estas aves el esternón osifica a

partir dos placas pareadas que luego se fusionan en la línea media, de forma similar a su desarrollo cartilaginoso (Maxwell y Larsson, 2008). El esternón de estas aves nunca desarrolla una quilla. De forma particular, en ñandúes se ha observado la presencia de centros de osificación separados para los procesos laterales, similares a los encontrados en neognatos (Maxwell y Larsson, 2008). No se han encontrado centros de osificación equivalentes en las otras especies de paleognatas estudiadas.

El registro fósil sugiere que el patrón ancestral es de osificación por placas pareadas encontrado en paleognatos. Numerosos grupos de dinosaurios terópodos no avianos ha sido descritos con un esternón claramente formado por dos placas óseas, en ocasiones no completamente fusionadas (Clark y col, 1999, Weishampel y col, 2007). Algunos grupos de aves tempranas, por ejemplo los Confusiornítidos, también muestran evidencias de haber poseído un esternón desarrollado a partir de placas pareadas, como suturas en la línea media. Sin embargo, otros taxa importantes para el estudio de la filogenia de las aves, como los Troodontidos y *Archaeopteryx*, no



poseen un esternón osificado en absoluto, lo que complica la interpretación de la historia evolutiva de este elemento durante la evolución temprana del grupo. Zheng y col. (2014) realizaron un estudio para comprobar que esta situación es efectivamente un rasgo de las especies estudiadas y no corresponde solo a un sesgo de preservación, es decir que el esternón simplemente no se conservó en ninguno de los especímenes encontrados. Para esto se revisó la cantidad de individuos que fueron encontrados con elementos de la gastralia, huesos dérmicos ubicados en la zona ventral y que son más frágiles y usualmente mucho más difíciles de preservar que el esternón. Los resultados determinaron que la probabilidad que la ausencia de un esternón osificado sea un artefacto del estado de conservación de los fósiles es mínima, y por lo tanto esta ausencia es un rasgo real de estas taxa, llegando a sugerir que estas aves podrían carecer incluso de un esternón cartilaginoso. Esto nos entrega un escenario en donde pudieron suceder múltiples desapariciones y/o reapariciones de la osificación del esternón durante la evolución temprana de las aves.

La aparición de la quilla y su relación con los patrones de osificación del esternón es otro misterio que aún no ha sido completamente resuelto. La quilla está presente exclusivamente en dos grupos particulares de aves: Ornithuromorpha, grupo que incluye a las aves modernas, y Enantiornithes. La quilla de enantiornites esté restringida a la zona más caudal del esternón, mientras que la quilla de ornituromorfos se extiende por toda la línea media del esternón, desde el extremo craneal hasta el extremo caudal. Estas diferencias han dado pie a la hipótesis que ambos grupos evolucionaron esta estructura de manera independiente, y por lo tanto la quilla de ambos grupos podría no ser realmente homóloga. Ningún terópodo no aviano presenta quilla, y los taxa de aves basales que muestran evidencias de una osificación a partir de placas pareadas tampoco tienen una. El registro fósil de ornituromorfos entrega poca información para dilucidar el origen de la quilla de este grupo. La totalidad de ejemplares encontrados consiste de ejemplares adultos con esternones completamente desarrollados. Hasta el momento no se han encontrado restos de ejemplares juveniles con esternones aún en desarrollo. Incluso los taxa más basales encontrados

presentan esternones robustos, sin marcas de suturas u otros rasgos que podrían sugerir la presencia de uno u otro patrón de osificación. Por otro lado, el registro fósil de enantiornites entrega más información sobre sus patrones de osificación. Recientemente fueron descritos varios ejemplares juveniles de enantiornites derivados, los que muestran claramente que poseían un patrón de osificación diferente a los dos patrones descritos actualmente en las aves modernas (Zheng y col. 2012). Estas aves presentaban 4 centros de osificación diferentes, 2 ubicados en la línea media y 2 ubicados lateralmente. Los centros mediales forman el cuerpo principal del esternón, mientras que los centros laterales dan forma a la zona más lateral del esternón y las trabéculas. La posición de la quilla en enantiornites coincide con la posición de la osificación medial más caudal, por lo que se ha propuesto que la quilla se desarrolla únicamente a partir de esta osificación.

El descubrimiento de este nuevo patrón de osificación abrió una vez más el debate sobre la evolución del esternón y la quilla. Algunos autores incluso llegaron a cuestionar la posición de enantiornites y ornituromorfos

como grupos hermanos (Zheng y col. 2012). Afortunadamente, nuevos fósiles de pengornítidos, un grupo de enantiornites basales, fueron sido descritos recientemente y ayudaron a aclarar un poco el panorama. Este grupo presenta un esternón claramente formado a partir de dos placas pareadas, muy similar a lo encontrado en dinosaurios terópodos no avianos y a lo descrito en paleognatos modernos (O'Connor y col. 2014). Esto deja en claro que el patrón de osificación ancestral para enantiornites es el de placas pareadas, y que el nuevo patrón encontrado en enantiornites más derivados aparecería posteriormente en su historia evolutiva. Al considerar la relación entre enantiornites y ornituromorfos, esto sugeriría que el patrón de placas pareadas también sería el patrón ancestral en el linaje de las aves modernas, y que en algún momento en su evolución éste sería reemplazado por el patrón de una osificación medial.

La aparición de la quilla presenta otras interrogantes. Hasta el momento no se ha descrito ningún espécimen, ya sea fósil o viviente, que presente una quilla bien desarrollada y evidencias de una osificación a partir de

placas pareadas a la vez, salvo por una mención de Parker (1868) en *Corvus*, que ha recibido muy poca atención. Todas las demás aves modernas en las que se ha reportado un desarrollo a partir de placas pareadas han perdido tanto la quilla como la capacidad de volar durante su evolución, mientras que las condiciones tafonómicas de los nuevos fósiles de pengornítidos impide determinar si estos individuos poseían o no una quilla como el resto de enantiornites. Esto ha llevado a algunos autores a proponer que la presencia de una quilla osificada tiene como requisito que el esternón se desarrolle a partir una o más placas de posición medial. La hipótesis sugiere que una quilla conectada a una línea de cartílago en medio de dos placas en proceso de osificación no sería capaz de soportar adecuadamente la fuerza mecánica ejercida por los prominentes músculos del vuelo, por lo que una placa de osificación medial sería necesaria para su correcto desarrollo. Esta idea es apoyada en parte por los experimentos de parálisis en embriones de pollo de Hall y Herring (1990), en donde la parálisis de los músculos del vuelo provocó una fusión incompleta de las placas cartilagosas del esternón. En este caso, la quilla solo se desarrolló en la zona en que las placas alcanzaron a

fusionarse, encontrándose quillas muy cortas en aquellos individuos con poca fusión de los cartílagos en la línea media.

A pesar de la gran cantidad de interrogantes aún no resueltas acerca la evolución del esternón y la quilla, los estudios en especies vivas son muy escasos. Crítica resulta, por ejemplo, la falta de estudios en tinamúes, paleognatas voladoras que aún conservan la quilla. Si los tinamúes presentaran una única osificación medial tal como los neognatos, eso apoyaría la hipótesis que propone una osificación medial como requisito para el desarrollo adecuado de una quilla, permitiría interpretar el patrón con una osificación medial como el patrón ancestral para neornites, e implicaría que el resto de paleognatos sufrieron una reversión al patrón de placas pareadas, probablemente en conjunción a la pérdida del vuelo. Sin embargo, si presentaran un patrón de osificación similar al resto de paleognatos, entonces demostraría que es posible desarrollar una quilla a partir de placas pareadas, e invalidaría la hipótesis recién mencionada.

Si bien estudios en especies claves como los tinamúes son necesarios, también es necesaria más investigación en un mayor número de especies de neognatos. La mayor parte de los datos existentes actualmente se concentra en estudios de galliformes, con muy pocos trabajos dedicados a otros grupos de aves. *Gallus* ha sido tradicionalmente utilizado como el modelo estándar de ave debido a lo fácil que resulta trabajar con él, sin embargo la escasa cantidad de datos existentes de otras especies de aves pone en duda su legitimidad como modelo en este caso. Como fue mencionado anteriormente, *Gallus* presenta un par de osificaciones independientes para los procesos latero-posteriores que no se encuentran en otros grupos de aves, lo que muestra que el grupo posee rasgos derivados que no están presentes en otros grupos de aves. Sería ideal contar con más estudios en otros órdenes de aves, para así poder confirmar que el patrón de una placa medial efectivamente es generalizado en neognatos.

Por último, las osificaciones de los procesos laterales han sido considerablemente ignoradas por la comunidad científica. Los trabajos que los nombran generalmente se limitan a mencionar su existencia como osificaciones

separadas del cuerpo principal del esternón, sin discutir su importancia en el desarrollo o en la estructura del esternón. Parker (1868) muestra que en *Phalacrocorax* las osificaciones de los procesos laterales no solo dan forma a los procesos mismos, sino que dan origen a parte importante de la zona lateral del esternón. No existen otros registros que mencionen algo similar, sin embargo, esto abre la posibilidad que el rol de estas osificaciones haya sido subestimado, y que podrían ser parte importante de la estructura del esternón aviano.

Estas son las interrogantes que dan origen a este trabajo. Aquí se presenta el estudio del desarrollo post-eclosión del esternón de varias especies de aves modernas. Se incluyen en este estudio varias especies no estudiadas hasta el momento, incluyendo un representante del grupo clave de los tinamúes. El objetivo de este estudio es proveer nueva información acerca de los patrones de osificación en aves modernas, la que podría dar nuevas luces para la interpretación de la historia evolutiva de este elemento. También se consideran dentro de los objetivos de este estudio el testear la hipótesis que propone una osificación medial como requisito para



una quilla osificada, mediante el estudio del desarrollo del esternón en tinamúes, así como realizar el primer análisis sobre la importancia de las osificaciones de los procesos laterales en la estructura del esternón.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio consiste en la realización de series de osificación del esternón para 4 especies de aves: la paleognata *Nothoprocta perdicaria* (Tinamidae), y las neognatas *Gallus gallus* (Galliformes), *Taeniopygia guttata* (Passeriformes) y *Melopsittacus undulatus* (Psittaciformes). Los polluelos fueron sacrificados mediante asfixia en cámara de gas utilizando isofluorano. Este método fue elegido tanto para preservar la integridad del esqueleto de las aves como para evitar su sufrimiento innecesario. Los individuos fueron obtenidos en los criaderos del propio laboratorio, o en el caso de los polluelos de *Nothoprocta*, fueron comprados a un criadero especializado. Adicionalmente se utilizó un único ejemplar de *Turdus falcklandii* (Passeriformes) que fue encontrado muerto en las proximidades del

laboratorio. Este ejemplar fue incluido debido a lo importante de los resultados encontrados en este individuo.

Se utilizaron un total de 32 polluelos de *Nothoprocta* de entre 5 y 15 días de edad, 10 polluelos de *Gallus* de entre 2 y 10 días de edad, 22 polluelos de *Taeniopygia* de entre 4 y 16 días de edad, y 18 polluelos de *Melopsittacus* de entre 6 y 20 días de edad.

Las series de osificación se realizaron mediante diafanización de los individuos utilizando alicerina roja. Luego de ser sacrificados, a los especímenes se les sacó las plumas, la piel y los órganos internos y fueron conservados en metanol durante varios días, hasta que éstos se deshidrataran. Luego serían teñidos en una solución de alicerina roja al 0.03% y KOH al 1% durante 6 horas. Terminada de la tinción, los individuos fueron colocados en agua destilada durante 3 a 6 días, dependiendo del tamaño del animal. El agua destilada fue renovada cada día. Los animales se consideraban listos para pasar a la siguiente etapa del procedimiento una vez que el agua dejara de teñirse con los restos de la

alicerina roja. Posteriormente, fueron colocados en una solución de KOH al 2% durante 24 horas. Finalmente, los especímenes fueron sometidos a una secuencia de soluciones de glicerol, de concentraciones al 20%, 50% y 85%. Los animales se mantuvieron por una semana en cada una de las soluciones de 20% y de 50%, y son conservadas en la solución de 85% hasta el momento.

El procedimiento permite la tinción de los elementos óseos del cuerpo con un color rojo fácilmente distinguible a simple vista, a la vez que cambia el coeficiente de refracción el resto de tejidos del cuerpo, volviéndolo en mayor parte transparente. Zonas con tejidos muy densos, como por ejemplo músculos muy gruesos, pueden mantener cierto grado de coloración. De darse este caso, los músculos que estorben la visibilidad de los huesos de interés son removidos manualmente antes de tomar las fotografías del espécimen.

## RESULTADOS

En *Nothoprocta*, las primeras osificaciones en aparecer son las de los procesos laterales, las que presentan una forma triangular y se ubican en las esquinas superiores de la zona del esternón. Estas osificaciones aparecen antes del día 5 después de la eclosión. Alrededor del día 6 y 7, el cuerpo principal del esternón comienza a osificar a partir de placas de osificación pareadas, una a cada lado del esternón, que aparecen en la zona más caudal del esternón. Estas placas crecen en dirección craneal y luego se fusionan en la línea media (Figura 1, B). Se encontró un alto grado de variabilidad interespecífica en el crecimiento y el momento de fusión de las placas. Algunos individuos presentaron una temprana fusión, mientras que otros presentaban placas casi completamente desarrolladas pero aún sin fusión en la línea media. Las placas completan su osificación

alrededor del día 10, punto en donde articulan con los coracoides.

Las trabéculas en *Nothoprocta* son delgadas y muy largas, morfología similar a las encontradas en galliformes. Sin embargo, estas surgen a partir de las osificaciones de los procesos laterales como procesos que se extienden hacia caudal. Las costillas articulan únicamente con las osificaciones de los procesos laterales y no tienen contacto con las placas pareadas del cuerpo principal.

Alrededor del día 9 después de la eclosión, aparece un nuevo centro de osificación de posición medial en la zona más craneal del esternón. Esta nueva osificación tiene forma lobular, aparece como un único centro de osificación y aparece en una posición más ventral que las placas del cuerpo principal (Figura 1, C.2). Este centro crece hacia ventral, dando forma a la zona más craneal de la quilla, y se fusiona rápidamente con las placas pareadas principales. Una vez completada la fusión resulta difícil reconocer que hubo alguna vez un centro de osificación medial independiente de las placas

principales. Después de la fusión la quilla continúa su crecimiento sobre las placas principales.

Finalmente, la parte más craneal del esternón es formada a partir de dos procesos que se extienden desde las osificaciones de los procesos laterales hacia la línea media.

En *Gallus* efectivamente se observa una única osificación medial que da forma al cuerpo principal del esternón; la que tiene una forma bilobulada en sus etapas más tempranas del desarrollo, lo que le da la apariencia de un centro de origen bilateral (Figura 2, A.1). Este centro de osificación crece de forma inusual, no osificando de forma uniforme en una dirección, sino formando pequeños procesos que se fusionan en los extremos, formando fenestras que luego serían rellenadas con tejido óseo (Figura 2, B.1 y C.1). Una vez cerradas estas fenestras, el centro de osificación vuelve a presentar la apariencia esperada un centro de osificación único, y crece de forma normal. La quilla aparece de forma temprana a partir de este mismo centro de osificación.

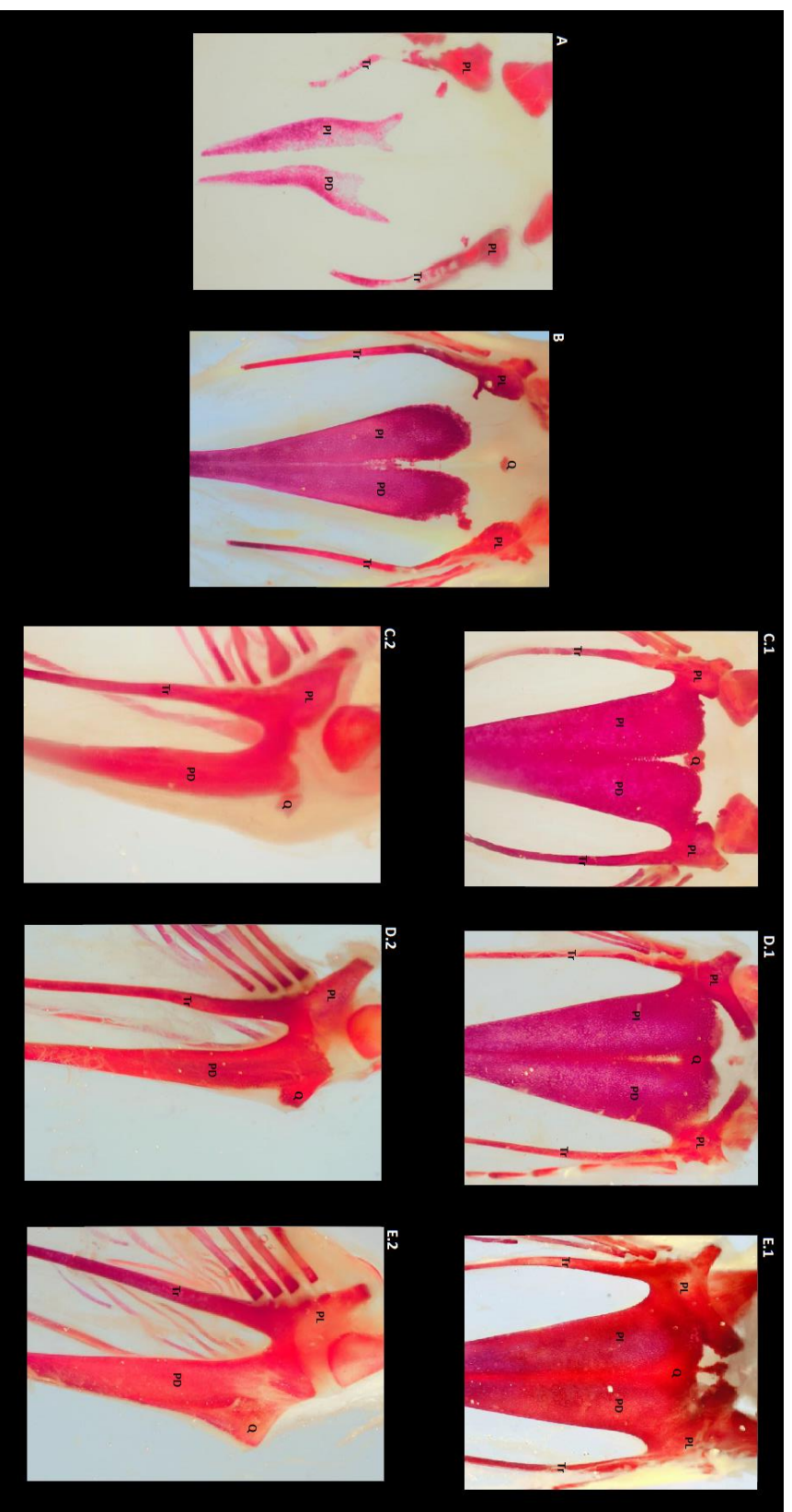


Figura 1. Patrón de osificación encontrado en *Nothoprocta perdicaria*.

A: 7 días de edad, vista dorsal. B: 9 días de edad, vista dorsal. C: 10 días de edad, 1: vista dorsal, 2: vista lateral. D: 11 días de edad, 1: vista dorsal, 2: vista lateral. E: 12 días de edad, 1: vista dorsal, 2: vista lateral.

Leyenda: PL: Procesos laterales, PI: placa principal izquierda, PD: placa principal derecha, Q: quilla, Tr: trabéculas.



Tanto los procesos laterales como las trabéculas aparecen como centros de osificación independientes. Las osificaciones de los procesos laterales son pequeñas en comparación a la placa principal. Todos los elementos estaban presentes incluso en los individuos más jóvenes. No se observó fusiones entre ninguno de los elementos en ninguno de los individuos estudiados.

En *Taeniopygia* los primeros elementos en aparecer son las osificaciones de los procesos laterales. Estas tienen forma triangular y son de mayor tamaño a las encontradas en las 2 especies anteriores. En este caso, estas osificaciones no parecen estar dando forma sólo a los procesos laterales, sino a parte importante de la zona lateral del cuerpo principal del esternón. Las costillas articulan con estas osificaciones, similar a lo encontrado en *Nothoprocta*.

Alrededor de 8 días después de la eclosión aparece una única osificación medial ubicada en la zona más craneal de esternón. Esta osificación de forma al resto del cuerpo principal y a la quilla. A diferencia de *Gallus*, los tres centros de osificación se fusionan rápidamente,

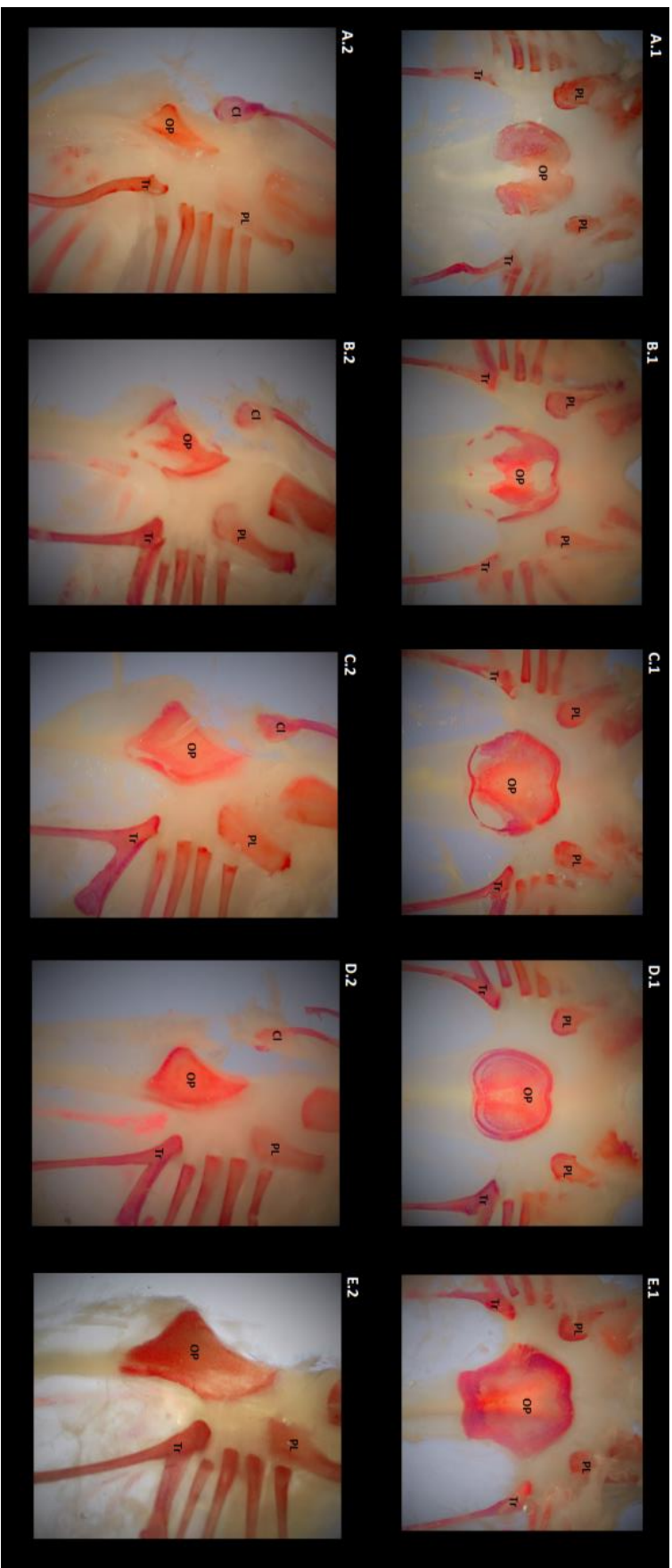


Figura 2. Patrón de osificación encontrado en *Gallus gallus*.

A: 1 día de edad, 1: vista dorsal, 2: vista lateral. B: 2 días de edad, 1: vista dorsal, 2 vista lateral. C: 4 días de edad, 1: vista dorsal, 2: vista lateral. D: 5 días de edad, 1: vista dorsal, 2: vista lateral. E: 8 días de edad, 1: vista dorsal, 2: vista lateral.

Legenda: PL: Procesos laterales, OP: placa de osificación principal, Tr: trabéculas, Cl: clavícula.

formando una única estructura ósea que abarca toda la

zona craneal del esternón (Figura 3, B.1), la que luego crece hacia dorsal formando el resto del cuerpo del esternón y de la quilla. Las trabéculas también se forman después de la fusión de los centros de osificación, por lo que resulta más difícil distinguir si se originan a partir de las osificaciones de los procesos laterales, como en *Nothoprocta*, o no.

El proceso de osificación del esternón en *Melopsittacus* comienza considerablemente más tarde que en el resto de las especies estudiadas, encontrándose individuos de hasta 12 días sin ningún rastro de osificaciones esternales. Asimismo, una vez comenzado el proceso, la osificación es rápida, haciendo difícil el estudio de esta especie. No se logró encontrar individuos en una etapa previa a la fusión de las placas de los procesos laterales con la o las principales. Se encontró, sin embargo, individuos en una etapa similar a la encontrada en *Taeniopygia*, donde existe una gran masa ósea en la zona más craneal del esternón. A diferencia de *Taeniopygia*, el cuerpo principal del esternón *Melopsittacus* se desarrolla más lento que la quilla y las trabéculas. Se observa una quilla osificada casi en su

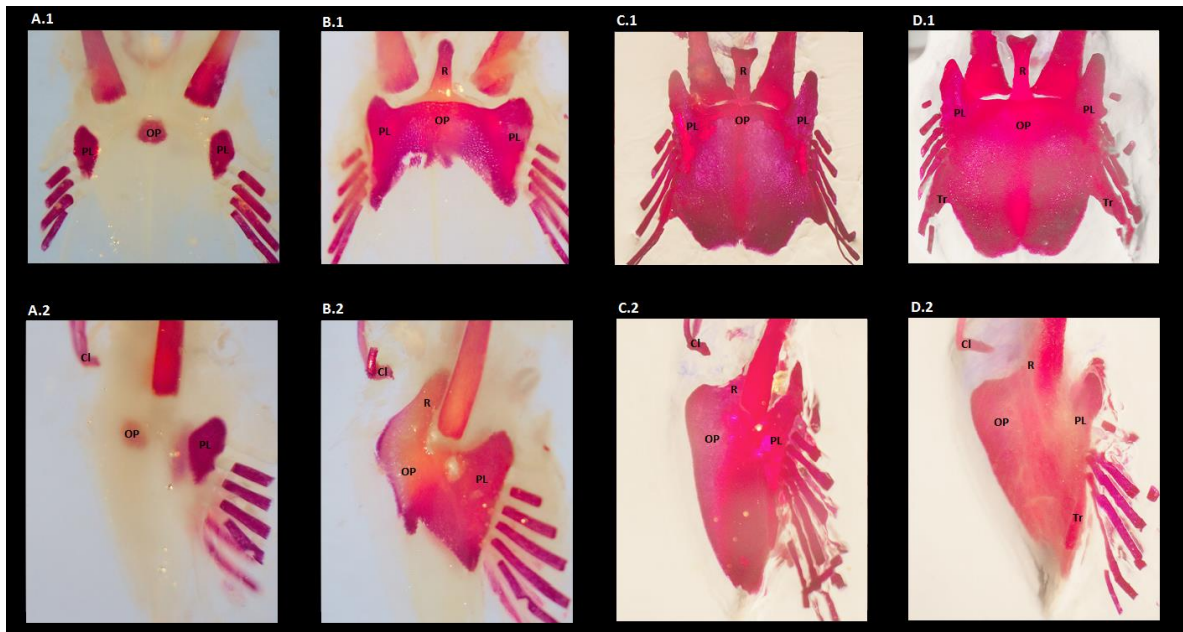


Figura 3. Patrón de osificación encontrado en *Taeniopygia guttata*.

A: 8 días de edad, 1: vista dorsal, 2: vista lateral. B: 10 días de edad, 1: vista dorsal, 2: vista lateral. C: 12 días de edad, 1: vista dorsal, 2: vista lateral. D: 13 días de edad, 1: vista dorsal, 2: vista lateral.

Leyenda: PL: Procesos laterales, OP: placa de osificación principal, Tr: trabéculas, Cl: clavícula, R: rostrum.

totalidad que descansa sobre un esternón aún no osificado, lo que le da la apariencia de estar flotando sobre la línea media (Figura 4, A.1 y A.2). Las trabéculas también están más desarrolladas que el cuerpo principal, y están más claramente asociadas a la zona que correspondería a la de las osificaciones de los procesos laterales que en *Taeniopygia*. Las costillas también articulan con estas osificaciones.



Figura 4. Patrón de osificación encontrado en *Melopsittacus undulatus*.

A: 13 días de edad, 1: vista dorsal, 2: vista lateral. B: 14 días de edad, 1: vista dorsal, 2: vista lateral. C: 16 días de edad, vista dorsal, D: Corte del extremo caudal de un esternón de 16 días. Se ven 3 osificaciones diferentes, que aún no se fusionan entre sí.

Leyenda: PL: Procesos laterales, Q: quilla, R: rostrum, PD: osificación derecha del cuerpo del esternón, PI: osificación izquierda del cuerpo del esternón.

En individuos más desarrollados el cuerpo principal del

esternón se encuentra más osificado. Sin embargo, es posible ver en la línea media, directamente debajo de la quilla, una delgada línea donde aún no ha ocurrido la osificación (Figura 4, C), lo que sugiere que serían dos placas que se fusionan en la línea media. Con el objetivo de realizar una mejor observación de este resultado, se realizó un corte en el extremo caudal del esternón de uno de los individuos con esta condición. Se pudo observar claramente tres placas de osificación diferentes, dos placas correspondientes al cuerpo principal del esternón y una a la quilla, que aún no estarían fusionadas (Figura 4, D). Finalmente, *Turdus* muestra claramente dos osificaciones pareadas que corresponden al cuerpo del esternón y una osificación separada que da origen a la quilla. A diferencia de *Nothoprocta*, las osificaciones del cuerpo principal están ubicadas en la zona craneal del esternón. *Turdus* también posee osificaciones para los procesos laterales muy similares a las encontradas en *Taeniopygia*. En este caso también dan forma a la zona más lateral del esternón y articulan con las costillas (Figura 5).

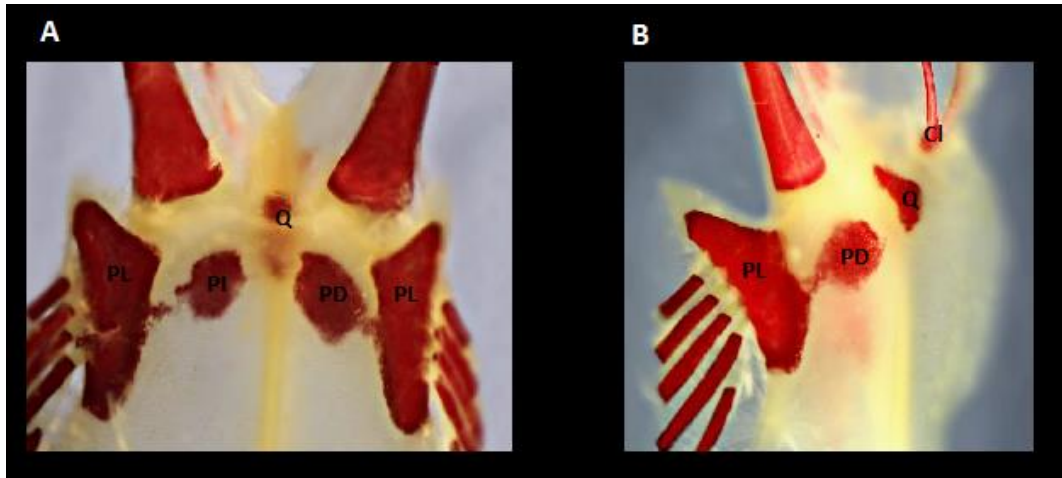


Figura 5. Patrón de osificación encontrado en *Turdus falcklandii*.

A: vista dorsal. B: vista lateral.

Leyenda: PL: Procesos laterales, PD: placa principal derecha, PI: placa principal izquierda, Q: quilla, Cl: clavícula.

## DISCUSIÓN

Las secuencias de osificación han revelado varios resultados interesantes. *Nothoprocta* presenta una osificación a partir de placas pareadas tal como se ha descrito anteriormente en otras especies de paleognatos. Sin embargo, en ninguna otras especie de ave moderna, tanto paleognata como neognata, se había descrito un tercer centro de osificación separado como el que da origen a la quilla en este caso. Este diferente patrón de osificación tiene múltiples implicancias. Primero, la presencia de placas pareadas sugiere que este tipo de osificación es el patrón ancestral para paleognatos. Más importante, demuestra que la presencia de una quilla bien desarrollada no es incompatible con un esternón formado por placas pareadas. Esto significa que no podemos asumir que taxas fósiles con quillas bien desarrolladas poseían un patrón de osificación en base a una osificación medial principal. Esto no prueba que taxas extintos tuvieran un



patrón de osificación de placas pareadas, pero muestra que es mecánicamente posible. De hecho, sería razonable pensar que taxas más basales de aves con quilla presentaban un patrón de osificación más similar al de *Nothoprocta*, pues este conserva las dos placas de osificación pareadas presentes en aves más primitivas y en dinosaurios terópodos no avianos.

Por otro lado, la presencia de una tercera osificación medial en *Nothoprocta* muestra que la idea que una quilla osificada requiere una osificación medial no es tan fuera de lugar, si bien no es necesario que ésta sea la osificación principal como lo es en galliformes. Esto sugiere que la quilla es un elemento óseo independiente, diferente de las placas que forman el cuerpo principal.

Los resultados encontrados en las diferentes especies de neognatos aportan nueva información sobre la evolución del esternón en este grupo. A diferencia de lo encontrado en *Nothoprocta*, donde las placas pareadas comienzan su osificación en la zona caudal del esternón, en todas las especies de neognatos estudiados la osificación comienza en la parte más craneal, independientemente de la

cantidad de centros de osificación que éstas posean. Es posible que este rasgo constituya una sinapomorfía del grupo. Aparte de esto, es claro que existe gran diversidad en los patrones de osificación del esternón dentro de neognatos. Las osificaciones encontradas en *Turdus* demuestran que el patrón en base a una osificación medial no es una constante de todos los neognatos. De hecho, los patrones encontrados en *Gallus* y *Taeniopygia* son considerablemente diferentes a pesar de poseer una cantidad similar de centros de osificación. El origen del centro principal de *Gallus* resulta difícil de interpretar debido a su inusual forma de crecimiento y a su morfología aparentemente bilateral, a pesar de aparecer como un único centro de osificación, en sus primeras etapas del desarrollo. Además de esto, las osificaciones de los procesos laterales tienen una participación mucho menor en la formación del cuerpo del esternón en comparación a las de *Taeniopygia*, y la fusión de elementos ocurre mucho más tarde. Esto hace sospechar que ambos patrones de osificación fueron obtenidos de forma independiente, y que la presencia de un centro de osificación principal corresponde a una convergencia entre ambos linajes. Por otro lado, el patrón encontrado

en *Taeniopygia* se parece más a los encontrados en *Melopsittacus* y *Turdus*, lo que no resulta tan sorprendente al considerar su posición filogenética. En todas estas especies las osificaciones de los procesos laterales son de mayor tamaño a los encontrados en *Gallus* y *Nothoprocta*, y dan lugar no solo a los procesos mismos, sino forman parte íntegra de la parte más lateral del cuerpo del esternón, similar al caso reportado en *Phalacrocorax* por Parker (1868). Esto también implica que el patrón encontrado en *Gallus* no es un modelo adecuado para representar a todo el resto de neognatos, sino que se trata probablemente de un patrón derivado único de galliformes.

Con respecto a las osificaciones de los procesos laterales, estas se encontraron consistentemente asociadas a las costillas en todas las especies estudiadas, o en el caso de *Gallus*, las costillas articulan en la zona en que se esperaría que ocurra la fusión entre las osificaciones laterales y las osificaciones independientes de las trabéculas. Estos centros de osificación también están asociados a las trabéculas en *Nothoprocta*, *Melopsittacus* y posiblemente

en *Taenopygia*, y se fusionan directamente con las osificaciones de las trabéculas en *Gallus*. Estos datos nos hacen pensar que estas osificaciones tienen más importancia de la que se ha discutido hasta ahora en la evolución del esternón de las aves, posiblemente constituyendo el punto de articulación para las costillas en la mayoría de aves modernas

Los resultados encontrados *Melopsittacus* fueron los más inesperados de todos los encontrados. La presencia de una quilla osificada sobre un esternón aún cartilaginoso es un escenario que no había sido sugerido anteriormente. Esto apoya la idea que la quilla es un elemento óseo independiente de las placas que forman el cuerpo principal, y que esta independencia se mantiene incluso después de la fusión de todos los centros de osificación en la zona más craneal. A pesar de no poseer la secuencia de osificación completa en este caso, es posible argumentar que se trata de un caso similar al de *Turdus*, con dos placas pareadas en vez de una única placa principal, debido a que se puede observar en individuos más grandes una pequeña sección aún no osificada en la línea media, donde se esperaría ocurriera la fusión de

las placas pareadas. Más trabajo tanto en esta especie como en *Turdus* está en desarrollo, con el objetivo de completar las secuencias de osificación, y así poder confirmar o rechazar esta hipótesis.

En base a todos estos resultados proponemos un nuevo modelo para la evolución del proceso de osificación del esternón de las aves modernas. El patrón ancestral contaría con 5 osificaciones diferentes: dos osificaciones para los procesos laterales, dos osificaciones para el cuerpo principal del esternón y una osificación para la quilla. Las osificaciones de los procesos laterales son las que articularían con las costillas, y darían forma a la parte más lateral del esternón, incluyendo al menos una parte de las trabéculas. El resto del cuerpo del esternón sería formado por las dos placas principales y la quilla se formaría a partir de un centro independiente que aparecería en la zona craneal del esternón. La estructura de este modelo está ilustrada en la Figura 6. En base a esto, los patrones encontrados en aves actuales serían derivados a partir de este patrón ancestral. En *Nothoprocta* las osificaciones laterales continúan

formando los procesos laterales y las trabéculas, pero habrían dejado de formar la parte más lateral del cuerpo principal. En *Taenopygia* las osificaciones laterales mantendrían su condición ancestral, pero habría ocurrido un cambio en el cuerpo principal, que ahora estaría siendo formado por una única osificación medial. Es incierto si esta osificación corresponde solo a la osificación de la quilla mientras que los otros centros se habrían perdido, o si en realidad es el producto de una fusión muy temprana de los tres centros de osificación que deberían aparecer en esta zona. Gallus presentaría el estado con mayor cantidad de modificaciones en relación al modelo ancestral. La participación de las osificaciones laterales se habría reducido, y éstas habrían dejado de formar las trabéculas. La osificación medial nos presenta un problema similar al encontrado en *Taenopygia*, en donde no sabemos si corresponde solo a una o a la fusión de las tres osificaciones que deberían aparecer. Finalmente *Turdus* y posiblemente *Melopsittacus* presentarían el patrón más similar al patrón ancestral propuesto.

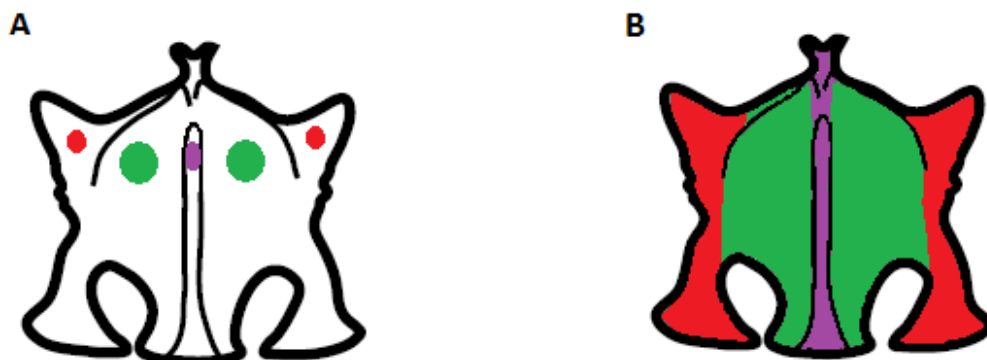


Figura 6: Esquema del modelo propuesto para el patrón de osificación ancestral de neornites.

A: Ilustración de la posición tentativa de los centros de osificación.

B: Esquema que muestra las zonas que formaría cada centro de osificación.

Leyenda: Rojo: Centros de osificación de los procesos laterales. Verde: centros de osificación pareados del cuerpo principal del esternón.

Violeta: centro de osificación de la quilla.

Al considerar que los miembros basales de enantiornites poseían un patrón de osificación en base a dos placas pareadas, es normal hipotetizar que los ornituromorfos más basales también presentaban un patrón similar. Sin embargo, los fósiles más antiguos conocidos de ornituromorfos ya presentan una quilla desarrollada, lo que significa la osificación de la quilla habría aparecido temprano en la historia evolutiva del grupo. Estas aves primitivas habrían tenido a lo menos tres centros de osificación: los dos centros pareados del

cuerpo principal y el centro medial de la quilla. No hay claridad de cuando ocurriría el origen de las osificaciones laterales. Su presencia tanto en especies de paleognatos como de neognatos implica que su evolución ocurrió antes que el origen del grupo corona de neornites, pero el momento preciso de su origen es incierto. Son necesarios más estudios de fósiles, así como revisiones de fósiles ya descritos, en búsqueda de rastros que puedan indicar la presencia de estas osificaciones.



## CONCLUSIÓN

El proceso de la osificación del esternón de las aves está pobremente documentado. El estudio de este elemento en diferentes especies de aves modernas ha entregado nuevos datos, los que han permitido una nueva interpretación de su evolución. Los resultados encontrados desmienten la idea que es necesario tener un patrón de osificación a partir de una única osificación principal para el desarrollo de una quilla ósea. La quilla es realmente un elemento separado del resto del esternón, que, como se pudo ver en *Melopsittacus*, puede desarrollarse y osificar incluso sin un esternón osificado.

Las osificaciones de los procesos laterales han mostrado tener una mayor participación de lo mencionado en la bibliografía, formando parte importante de la zona lateral del cuerpo del esternón en *Taenopygia*, *Turdus* y

*Melopsittacus*. Estas también forman las trabéculas y son las osificaciones que articulan con las costillas.

Con estos resultados hemos propuesto un nuevo modelo para el patrón de osificación ancestral de neornites, el que incluye 5 centros de osificación: dos para los procesos laterales, dos para el cuerpo principal y uno para la quilla. Los patrones encontrados en las especies estudiadas serían formas derivadas de este patrón ancestral.

Más estudios en otras especies de aves, especialmente pertenecientes a grupos aún no estudiados, son necesarios para tener un mejor entendimiento del estudio de este elemento del esqueleto y para poner a prueba el modelo propuesto. Asimismo, revisiones de fósiles ya descritos en búsqueda de rastros de las osificaciones laterales serían útiles para descubrir el momento de su aparición. Finalmente, se tiene contemplado continuar con el estudio de *Turdus* y *Melopsittacus*, con el objetivo de completar sus secuencias de osificación.

## BIBLIOGRAFÍA

Clark, J. M., Norell, M., Chiappe, L. M., & Mongolian-American Museum Paleontological Project. (1999). An oviraptorid skeleton from the late Cretaceous of Ukhaa Tolgod, Mongolia, preserved in an avianlike brooding position over an oviraptorid nest. *American Museum novitates*; no. 3265.

Fell, H. B. (1939). The origin and developmental mechanics of the avian sternum. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B*, 229(563), 407-463.

Hall, B. K., & Herring, S. W. (1990). Paralysis and growth of the musculoskeletal system in the embryonic chick. *Journal of morphology*, 206(1), 45-56.

Hogg, D. A. (1980). A re-investigation of the centres of ossification in the avian skeleton at and after hatching. *Journal of Anatomy*, 130(Pt 4), 725.

Maxwell, E. E., & Larsson, H. C. (2009). Comparative ossification sequence and skeletal development of the postcranium of palaeognathous birds (Aves: Palaeognathae). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 157(1), 169-196.

O'connor, J. K., Zheng, X. T., Sullivan, C., Chuong, C. M., Wang, X. L., Li, A., ... & Zhou, Z. H. (2015). Evolution and functional significance of derived sternal ossification patterns in ornithothoracine birds. *Journal of evolutionary biology*, 28(8), 1550-1567.

Parker, W. K. (1868). A monograph on the structure and development of the shoulder girdle and sternum in the Vertebrata (Vol. 42). Ray Society.

Weishampel, D. B., Dodson, P., & Osmólska, H. (Eds.). (2007). *The dinosauria*. Univ of California Press.

Zheng, X., O'Connor, J., Wang, X., Wang, M., Zhang, X., & Zhou, Z. (2014). On the absence of sternal elements in *Anchiornis* (Paraves) and *Sapeornis* (Aves) and the complex early evolution of the avian sternum. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(38), 13900-13905.