

## Evidencias moleculares de hibridación entre *Serinus canaria domestica* (L., 1758) y *Spinus barbatus* (Molina, 1782) (Aves: Fringillidae)

### Molecular evidences of hybridization between *Serinus canaria domestica* (L., 1758) and *Spinus barbatus* (Molina, 1782) (Aves: Fringillidae)

Leila Díaz<sup>1</sup>, Víctor Alejandro Correa<sup>2</sup> & José J. Nuñez<sup>1</sup>

1. Instituto de Ciencias Marinas y Limnológicas, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Casilla 567, Valdivia, Chile.

2. Félix de Amesti N° 991, Depto. 502, Las Condes 7580350 Santiago, Chile.  
ac@alejandrorcorrea.cl

Recibido: 4 de julio de 2016. Aceptado: 1 de febrero de 2018.

Publicado en formato electrónico: 20 de diciembre de 2018.

**Palabras clave:** *Serinus*, *Spinus*, Retrocruce, Hibridación, ADN mitocondrial, ADN nuclear.

**Key words:** *Serinus*, *Spinus*, Backcrossing, Hybridization, Mitochondrial DNA, Nuclear DNA.

#### RESUMEN

En este estudio se muestran evidencias moleculares de éxito en la hibridación entre *Serinus canaria domestica* (LINNAEUS, 1758) y *Spinus barbatus* (MOLINA, 1782). Como parte de una secuencia de retrocruzamiento, se logró reproducir híbridos F2 a partir de hembras híbridas fértiles viables F1 x *S. c. domestica*. La F1 fue la descendencia entre  $P_0 = \textit{Serinus c. domestica} \times \textit{Spinus barbatus}$ . Las secuencias de nucleótidos de dos segmentos de ADN, citocromo b mitocondrial (Cyt b) y el receptor de tirosina quinasa muscular (MuSK) del ADN nuclear se obtuvieron de tres especímenes híbridos F2. Tanto las secuencias de Cyt b como de MuSK señalaron fuerte soporte filogenético a la condición genética híbrida de los tres embriones F2. De esta manera la evidencia molecular refleja el éxito en el cruce interespecífico entre *S. barbatus* con *S. c. domestica* y que es posible obtener híbridos fértiles viables F1 (en este caso hembras) y F2 entre estos dos linajes en poblaciones naturales.

#### ABSTRACT

In this study we show molecular evidences of success in hybridization between *Serinus canaria domestica* and *Spinus barbatus*. As part of a sequence of backcrossing we have achieved to reproduce F2 hybrids of fertile hybrid females F1 with parental *S. c. domestica*. F1 was the offspring between,  $P_0 = \textit{S. c. domestica} \times \textit{S. barbatus}$ . In this study the space where the observations and the breeding success are carried out between these species, they are described: is a room with the following measures; 4,45 m (lengthy) x 1,60 m (width) x 2,30 m (high), located in an urban building; specifically, glassed-balcony at a height of 10,60 m above ground level, facing some ornamental and exuberant canopy trees of *Platanus orientalis* (L., 1753) and with direct entrance of natural sunlight, in urban city of Santiago, Chile, where his perceptual world develops. We took care to keep the biotic and abiotic factors under control; specifically, incoming natural light, ambient vegetation and temperature. On the other hand, we fed the individuals appropriately and provided them with plenty of clean water to drink and get clean, where there were no predators. In sum, the individuals were kept in a healthy environment. The backcrossing between the male *S. c. domestica* (generation 0) bred with two viable hybrid F1 offspring females, it gave as result in a total of three independent generations of F2 hybrids (n = 12). All the individuals came out healthy, and none of them died, despite being inbred lineages. Three embryos representative of the F2 hybrids were sacrificed and deposited in 99% alcohol. Nucleotide sequences of two DNA segments, mitochondrial cytochrome b (Cyt b) and muscle-specific receptor tyrosine kinase (MuSK) gene of the nuclear DNA were obtained from three F2 hybrid specimens. The model of molecular evolution with the greatest adjustment to the data obtained by jModeltest was GTR + I + G (I = 0,1450, G = 0,0930), according to the phylogenetic analysis of mitochondrial DNA (Fig. 1a), the female progenitor  $P_0$  is *S.c.domestica*. This conclusion is based on the evi-

dence that mitochondrial DNA in birds, as well as in most animal groups, is exclusively inherited through the maternal ways. The same analysis carried out with the nuclear MuSK gene shows that the parental male  $P_0$  of the embryos analyzed is very much related to *S. barbatus* (Fig. 1b). The Cyt b and MuSK region show strongly support to hybrids genetic condition of the three F2 embryos. Intergeneric hybrids are usually sterile, but it is worth noting that genera of Fringillidae are very closely related (the Family as a whole is only 12 million years old, and most genera in the terminal canary-siskin group are <5 million years old). This is simply a case of poor classification with oversplitting or maybe the nature of these lineages are fractals, since in most of the Passeriformes, family-level taxa are more than 20 million years old, and in other groups of Aves families and genera are even older. Then hybridization takes place more easily in captivity. Many authors considered that hybridization in birds is not important because hybrids are formed in proportion 1/50,000 specimens. Despite this, many bird hybrids have been created in captivity.

In addition, hybrids produced *ex situ* under controlled conditions would play an important role for reproductive success and subsequent interspecific viability. The main conclusions derived from this study are as follows:

1) The present report strongly indicates that hybridizations have occurred among *S. c. canary* x *S. barbatus*. 2) In this way the molecular evidence reflects and justifies the success in interspecific reproduction between *S. barbatus* with *S. c. domestica* and that it is possible to obtain viable fertile hybrids F1 (in this case females) and F2 between these two lineages, 3) And consequently the close genetic affinity between these two genera and the formation of hybrids in natural populations should not discard.

## I. INTRODUCCIÓN

Los híbridos interespecíficos han sido durante mucho tiempo fuente de enorme interés por parte de los biólogos (LOPES *et al.*, 2016), principalmente porque el proceso de hibridación puede ayudar a comprender el origen de las adaptaciones, el mantenimiento de la diversidad y la formación de nuevas especies (MALLETT, 2005; ISHISHITA & MATSUDA, 2016).

Pragmáticamente, bajo varios conceptos de especies (biológico, de reconocimiento, filogenético, genealógico, entre otros), la hibridación entre individuos de diferentes especies es rara por definición, lo que impide *a priori* el intercambio de genes. Además, la mayoría de esos conceptos invoca el proceso de selección natural contra los híbridos, manteniendo así las diferencias entre las especies simpátricas (GOW *et al.*, 2007).

Sin embargo, la hibridación no es una mera rama lateral o un “ruido evolutivo”, sino que puede ser reconocida como una fuerza evolutiva importante y una parte significativa de la especiación (COYNE & ORR, 2004; SOLTIS *et al.*, 2014; CHUNCO, 2014). Por ejemplo, las evidencias muestran que aproximadamente el 10% de los grupos de especies animales bien estudiados hibridan con al menos una especie relacionada (MALLETT, 2005). Entre las aves, la incidencia de hibridación en la naturaleza se estima en 9,3%, más alta que entre otros taxones de animales; el 19,5% de tales hibridaciones interespecíficas son entre géneros (GRANT & GRANT, 1992).

Los biólogos evolutivos, criadores de aves y avicultores han sido entusiastas productores de híbridos, particularmente aquellos entre diferentes especies de aves acuáticas, rapaces, palomas, pinzones y muchas otras especies de aves (MC CARTHY, 2006; BIRKHEAD & VAN BALEN, 2005). Por ejemplo, la hibridación es muy común entre miembros de la familia Fringillidae, donde se han encontrado hibridaciones entre *Spinus uropygialis* Sclater, 1862, *S. crassirostris* (Landbeck, 1877) y *S. magellanicus* (Forster, 1781) (BECKMAN & WITT 2015). En la década de 1920, DUNCKER (1927) obtuvo éxito de descendencia de híbridos fértiles entre *S. c. domestica* y *S. cucullata* Swainson, 1820 (BIRKHEAD, 2003). En Chile, muchos criadores de aves y ornitólogos han reproducido con éxito híbridos fértiles con aves domésticas con otras especies de aves nativas salvajes (CORREA, datos no publicados).

Las especies silvestres de *Serinus* y aquellas del género *Spinus*, son especies de aves que en su estado natural se pueden encontrar aisladas entre sí en varios continentes. *S. canaria* se extiende por las Azores, el archipiélago de Madeira, África y las Islas Canarias, mientras que las especies del género *Spinus* se pueden encontrar en muchas partes del mundo (CLEMENT, 2015; ARNAIZ-VILLENA *et al.*, 1999), incluyendo la especie Eurásica *S. tibetanus* (Hume, 1872) y *S. spinus* (L., 1758), las neárticas *S. pinus* (Wilson, 1810), *S. tristis* (L., 1758) y *S. lawrencei* (Cassin, 1850) y todas las especies Neotropicales.

La especie andina *S. barbatus* (Molina, 1782) (cabecita negra austral) es gregaria (ARCHUBY *et al.* 2007) y es una especie que junto a otras especies de *Spinus* de los Andes Centrales han tenido una alta capacidad de dispersión y además han experimentado una rápida diversificación durante el Pleistoceno (BECKMAN & WITT, 2015). Desde el punto de vista de su clasificación, algunas especies de *Spinus* se han colocado

en otros géneros, probablemente debido a que han divergido solo unos pocos millones de años en el Plio-Pleistoceno (ARNAIZ-VILLENNA *et al.*, 1998). De hecho, según estudios filogenéticos (ZUCCON *et al.*, 2012), *S. barbatus* ha sufrido un cambio taxonómico en la clasificación, pasando desde el género *Carduelis* a *Spinus* (PAYEVSKY, 2015).

Por su parte, *S. c. domestica*, es reconocidamente gregaria, generalmente vuela en bandadas y son omnívoros (CLEMENT, 2015). Los canarios (variedades domésticas de *S. canaria*) no están particularmente relacionados con los *Spinus* andinos (NQUEMBOCK *et al.*, 2009; ZUCCON *et al.*, 2012), no obstante se ha confirmado la viabilidad de algunos híbridos entre algunas especies de *Spinus* (antes *Carduelis*) y *Serinus* mediante análisis cromosómico y bioquímico (BECKMAN *et al.*, 1965; WOLFF *et al.*, 1969).

El objetivo del presente trabajo es informar sobre las evidencias moleculares (secuencias de DNA), que dan cuenta del éxito reproductivo y los eventos de retrocruzamiento e hibridaciones entre dos hembras híbridas F1 [(descendientes F1 de  $P_0 = S. c. domestica$  (hembra)  $\times$  *Spinus barbatus* (macho))] con un macho de *S. c. domestica*. Los resultados fueron 12 huevos híbridos fertilizados F2. Nuestros resultados confirman la investigación previa de otros autores (DUNCKER, 1927; BECKMAN *et al.*, 1965; WOLFF *et al.*, 1969) que mencionan que la reproducción entre *S. c. domestica* y otras especies de género *Spinus* producen híbridos que son viables.

## 2. MÉTODOS

### 2.1. Reproducción en cautiverio

El estudio se realizó durante la primavera y el verano, desde septiembre de 2015 hasta enero de 2016, en Santiago de Chile (33° 25 'S; 70° 34' W). El espacio en donde se realizaron las observaciones y el éxito reproductivo en cautiverio *ex situ* entre estas especies, se describe a continuación: es un balcón cerrado con amplias ventanales ubicado en un edificio urbano; de 4,45 m (largo)  $\times$  1,60 m (ancho)  $\times$  2,30 m (alto), el balcón está a una altura de 10,60 m sobre el nivel del suelo, frente a él se observa el dosel exuberante de árboles ornamentales de *Platanus orientalis* (L., 1753) y con entrada directa de luz solar natural al interior de él y en donde se desarrolla su mundo perceptual. Nos ocupamos de mantener los factores bióticos y abióticos bajo control; específicamente luz natural entrante, vegetación ornamental y temperatura. Por otro lado, las aves fueron alimentadas adecuadamente y les proporcionamos abundante agua limpia para beber y asearse. No hay depredadores en los alrededores. En resumen, los individuos se mantuvieron en un ambiente controlado, limpio y saludable, obteniéndose exitosos retrocruzamientos entre *S. c. domestica* macho  $\times$  dos hembras híbridas fértiles F1 (procedentes de un linaje generación cero  $P_0$  entre *S. c. domestica* hembra  $\times$  macho silvestre de *S. barbatus*). Por otra parte, el retrocruzamiento entre el macho *S. c. domestica* y dos hembras híbridas viables F1 procedentes de la generación cero ( $P_0$ ) dio como resultado un total de tres generaciones independientes de híbridos F2 ( $n=12$ ). Todos los individuos salieron saludables, y ninguno de ellos murió a pesar de ser linajes endogámicos.

### 2.2. Origen de las muestras y extracción de ADN

Tres embriones representativos de los híbridos F2 fueron sacrificados y depositados en alcohol al 99%. El ADN genómico se extrajo de estas muestras utilizando el kit Qiagen DNeasy (Qiagen, Valencia, CA), de acuerdo con los protocolos estándar. Se amplificó un fragmento de DNA mitocondrial (Citocromo b), así como un locus nuclear (MuSK) para cada una de las muestras, de acuerdo a lo señalado por ZUCCON *et al.* 2012. La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se realizó en un cóctel que contenía 2,0  $\mu$ L de ADN, 8,0  $\mu$ L de dNTP (1,25 mM), 4,0  $\mu$ L de tampón Taq 10x, 4,0  $\mu$ L de cada cebador (10  $\mu$ M), 4,0  $\mu$ L de  $MgCl_2$  (25 mM), 22  $\mu$ L de agua destilada y 0,25  $\mu$ L de polimerasa Taq (5 U/ $\mu$ L; Promega Corp., Madison, WI). El perfil de ciclos para las amplificaciones de PCR fue de 3 min a 94 ° C (1 ciclo), 30 s, 94 ° C, 1 min 47-53 ° C, y 1 min 72 ° C (35 ciclos), seguido de una extensión final de 7 min a 72 ° C la secuencia y la temperatura de hibridación de PCR para cada par de cebadores. Los productos de PCR se verificaron mediante electroforesis en un gel de agarosa al 1% teñido con SYBR-Safe (Invitrogen). Las secuencias se generaron en MacroGen INC, Seúl, Corea. Los electroferogramas complementarios se ensamblaron y anotaron utilizando Sequencher™ v 4.9 (Gene Codes Corporation) y después se alinearon usando la estrategia G-INS-

I en MAFFT 7.0 (KATOY *et al.*, 2009). Las secuencias se acceden en GenBank bajo los números MG950169-MG950171.

### 2.3. Análisis filogenético

Los árboles filogenéticos se construyeron bajo dos métodos basados en modelos, máxima verosimilitud (ML) e inferencia Bayesiana (BI). Para ambos análisis, se seleccionó el modelo de sustitución de nucleótidos que mejor se ajustó a los datos usando el criterio de información de Akaike de acuerdo con el procedimiento descrito por POSADA & BUCKLEY (2004), e implementado en jMODELTEST, versión 0.1.1 (POSADA, 2008). Los análisis ML se realizaron usando GARLI, versión 0.951 (ZWICKL, 2006). Para garantizar la convergencia de topologías, se realizaron tres análisis simultáneos. El soporte estadístico para los nodos se estimó mediante el bootstrap no paramétrico, con 200 pseudoréplicas (FELSENSTEIN, 1985). El análisis bayesiano se realizó utilizando MrBAYES, versión 3.04b (RONQUIST & HUELSENBECK, 2003). Las cadenas de Markov se iniciaron a partir de un árbol aleatorio, se ejecutaron para  $1,0 \times 10^7$  generaciones y se muestrearon cada mil generaciones. La fase estacionaria se verificó según lo descrito por NYLANDER *et al.* (2004). Los puntos de muestreo antes de la fase estacionaria fueron descartados como “burn-in”, y los árboles restantes se combinaron para encontrar la estimación de probabilidad máxima a posteriori de la filogenia. El soporte de las relaciones se estimó con las probabilidades posteriores Bayesianas (BPP). Se realizaron dos análisis simultáneos para garantizar la convergencia en las topologías. Las secuencias de *S. canaria* (KMO78794) y *S. barbatus* (KT221364) fueron tomadas de bases de datos GenBank. Se tomó como grupo externo a la especie de ave *Hesperiphona vespertina* (Cooper, 1825).

## 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El modelo de evolución molecular de mejor ajuste a los datos obtenido por jModeltest fue GTR+I+G (I=0,1450; G= 0,0930). De acuerdo con el análisis filogenético del ADN mitocondrial (Figura 1a), los tres híbridos se observan estrechamente relacionados a la secuencia de *S. c. domestica* obtenida desde Genbank. Dado que la herencia del ADN mitocondrial es de herencia exclusivamente materna en vertebrados, se puede inferir que la hembra parental de estos híbridos es en efecto, *S. c. domestica*. El mismo análisis realizado con el gen nuclear MuSK muestra a los tres híbridos dentro de una politomía donde se incluye a *S. barbatus*, por lo que podemos inferir que el macho parental de los híbridos es esta especie (Figura 1b).

MAYR (1997) consideró que la hibridación en aves no es importante porque los híbridos se forman en proporción 1/50 000 especímenes. A pesar de ello, muchos híbridos de aves se han creado en cautiverio (GRANT & GRANT, 1992) y por otra parte se ha documentado bajo rigurosos criterios que la hibridación juega un rol importante en la especiación (LAMICHHANEY *et al.* 2017). Además, los híbridos producidos *ex situ* (GÜTINGER *et al.*, 1982) bajo condiciones controladas (VOIGT *et al.*, 2011) jugarían un papel importante para el éxito reproductivo y la subsecuente viabilidad interespecífica.

*S. c. domestica* no es particularmente cercana a *S. barbatus* (Figura 1a), pero los géneros de Fringillidae están estrechamente relacionados (la familia en su conjunto tiene solo 12 millones de años, y la mayoría de los géneros en el grupo *Serinus-Spinus* terminal tienen <5 millones de años de divergencia) (ZUCCON *et al.*, 2012). Este es simplemente un caso de una clasificación taxonómica deficiente con “oversplitting” o tal vez la naturaleza de estos linajes son fractálicas (HUBBELL, 2001), ya que en la mayoría de los Passeriformes, los taxones familiares tienen más de 20 millones de años, y en otros grupos de aves las familias y géneros son aún más antiguos. No obstante, el linaje de híbridos originados en cautiverio son especies sociables y gregarias que de hecho se mezclan con bandadas de jilgueros (*S. barbatus*), canarios (*S. canaria*) y “chirihues” (*Sicalis luteola*) (CORREA, observación personal).

El presente reporte indica fuertemente que se han producido hibridaciones entre las especies *S. c. canaria* x *S. barbatus*. De esta manera la evidencia molecular refleja el éxito en la reproducción interespecífica entre *S. barbatus* x *S.c. domestica* y que es posible obtener híbridos fértiles viables F1 (en este caso hembras) y F2 entre estos



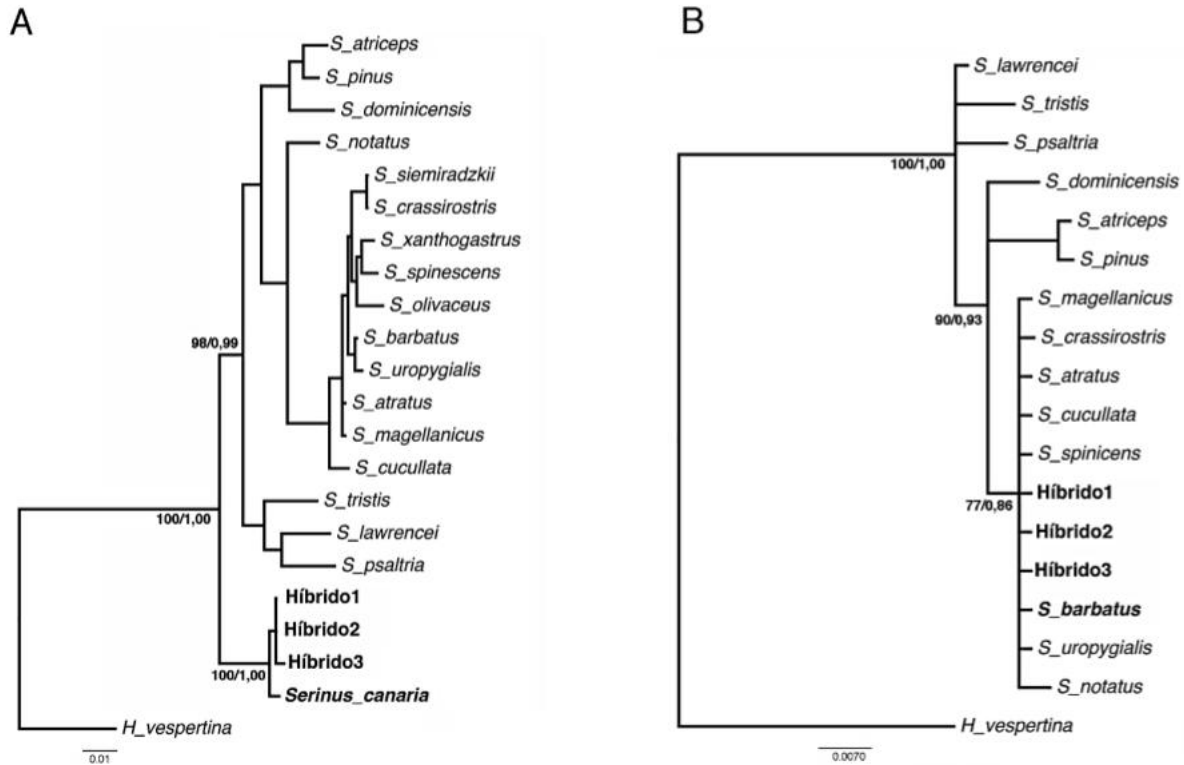


Figura 1. Árboles filogenéticos obtenidos por análisis de máxima verosimilitud y Bayesiano del gen citocromo b mitocondrial (A) y el receptor de la tirosina quinasa específico del músculo (B). Se resalta la relación entre los embriones analizados (híbridos 1, 2, 3), *Serinus canaria* y *Spinus barbatus*. Los números en los nodos indican soporte de bootstrap y probabilidad *a posteriori*.

dos linajes y en consecuencia no se debe descartar la cercana afinidad genética entre estos dos géneros y la formación de híbridos en poblaciones naturales.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Austral de Chile, en especial al Laboratorio de Sistemática del Instituto de Ciencias Marinas y Limnológicas, por el acceso a su laboratorio para el análisis de las muestras. A J. Fjeldå por su colaboración con comentarios personales.

BIBLIOGRAFÍA

ARCHUBY, D., MARTI, L., MONTALTI, D., SOAVE, G., CAMPERI, A., ARAMBARRI, A. & DARRIEU, C. 2007. Alimentación del cabecitanegra austral (*Carduelis barbata*) durante el otoño. *Hornero*, 22: 65-68.

ARNAIZ-VILLENA, A., ÁLVAREZ-TEJADO, M., RUÍZ DEL VALLE, V., GARCÍA DE LA TORRE, C., VARELA, P., RECIO, M. J., FERRE, S. & MARTÍNEZ-LASO, J. 1998. Phylogeny and rapid Northern and Southern Hemisphere speciation of goldfinches during the Miocene and Pliocene Epochs. *CMLS Celular and Molecular Life Sciences*, 54: 1031-1041.

ARNAIZ-VILLENA, A., ÁLVAREZ-TEJADO, M., RUÍZ DEL VALLE, V., GARCÍA DE LA TORRE, C., VARELA, P., RECIO, M. J., FERRE, S. & MARTÍNEZ-LASO, J. 1999. Rapid radiations of canaries (genus *Serinus*). *Molecular Biology and Evolution*, 16(1): 1-11.

BECKMAN, E.J. 2016. *Biogeography, Interspecific Introgression and the Evolution of Hemoglobin genes in the high Andes: The Evolutionary history of Sothamerican Siskins (Spinus)*. University of New Mexico. UNM Digital Repository. <http://digitalrepository.unm.edu/biol\_etds/151/> [Consulta: 4-6-2017].

BECKMAN, E.J. & WITT, C.C. 2015. Phylogeny and biogeography of the new world siskins and goldfinches; rapid, recent diversification in Central Andes. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 87: 28-45.

BECKMAN, L. & NILSON, L. 1965. Variations of serum enzymes in bird species and hybrids. *Hereditas*, 53: 221-230.

BIRKHEAD, T. 2003. *The red Canary*. Weidenfeld and Nicholson, London.

BIRKHEAD, T. & VAN BALEN, S. 2005. The importance of aviculture in scientific ornithology: a historical review. *Zoologische Mededelingen*, 79(3): 181-183.

CHUNCO, A.J. 2014. Hybridization in a warmer world. *Ecology and Evolution*. 4(10): 20219-20131.

- CLEMENT, P. 2015a. *Island Canary (S. canaria)*. In: HOYO, J. del, ELLIOTT, A., SARGATAL, J., CHRISTIE, D.A. & JUANA, E. de. Eds. *Handbook of the Birds of the World Alive*. Lynx Edicions, Barcelona. <<http://www.hbw.com/node/61292>> [Consulta: 4-6-2017].
- 2015b. *Black-chinned Siskin (C. barbata)*. In: HOYO, J. del, ELLIOTT, A., SARGATAL, J., CHRISTIE, D.A. & JUANA, E. de. Eds. *Handbook of the Birds of the World Alive*. Lynx Edicions, Barcelona. <<http://www.hbw.com/node/61292>> [Consulta: 4-6-2017].
- COYNE, J.A. & ORR, H.A. 2004. *Speciation*. Oxford University Press. USA.
- DUNCKER, H.A. 1927. Bastarde von Kapuzeinzeisig und weissen Kanarievögel. *Vogel ferner länder*, 1: 67-74.
- FELSENSTEIN, J. 1985. Phylogenies and the Comparative Method. *The American Naturalist*, 125(1): 1-15.
- GOW, J.L., PEICHEL, C.L. & TAYLOR, E.B. 2007. Ecological selection against hybrids in natural populations of sympatric three spine sticklebacks. *Journal Evolutionary Biology*, 20(6): 2173-2180.
- GRANT, P.R. & GRANT B.R. 1992. Hybridization of bird species. *Science*, 256(5054): 193-197.
- GÜTTINGER, H.R. & CLAUS, G. 1982. Der Gesangsaufbau von Stieglitz Kanarien bastarden (*Carduelis carduelis* × *Serinus canaria*) im Vergleich zu den Elternarten. *Journal für Ornithologie*, 123(3): 269-286.
- HUBBELL, S.P. 2001. *The Unified Neutral Theory of Biodiversity and Biogeography*. Princeton: Princeton University Press.
- ISHISHITA, S. & MATSUDA, Y. 2016. Interspecific hybrids of dwarf hamsters and Phasianidae birds as animal models for studying the genetic and developmental basis of hybrid incompatibility. *Genes Genetics Systematics*, 91(2): 63-75.
- KATO, K., ASIMENOS, G. & TOH, H. 2009. Multiple alignment of DNA sequences with MAFFT. *Methods Molecular Biology*, 537: 39-64. DOI: 10.1007/978-1-59745-251-9\_3.
- LAMICHHANEY, S., HAN, F., WEBSTER, M.T., ANDERSSON, L., GRANT, B.R. & GRANT, P. 2017. Rapid hybrid speciation in Darwin's finches. *Science*. DOI: 10.1126/Science/eaao4593.
- LOPES, R., JOHNSON J., TOOMEY M.B., HILL G.E., FERREIRA, M.S., ARAUJO, P.M., MELO-FERREIRA, J., ANDERSSON, L., CORBO, J.C. & CARNEIRO, M. 2016. Genetic basis for red coloration in birds. *Current Biology*, 26: 1-8.
- MALLET, J. 2005. Hybridization as an invasion of the genome. *Trends in Ecology and Evolution*, 20: 229-237. <<http://doi.org/10.1016/j.tree.2005.02.010>> [Consulta: 4-6-2017].
- MAYR, E. 1997. *Evolution and the diversity of life*. Harvard University Press, Cambridge.
- MC CARTHY, E. 2006. *Handbook of Avian Hybrids of the World*. Oxford University Press, Oxford.
- NYLANDER, J.A., RONQUIST, F., HUELSENBECK, J.P. & NIEVES-ALDREY J.L. 2004. Bayesian phylogenetic analysis of combined data. *Systematics Biology*, 53(1): 47-67.
- NQUEMBOCK, B., FIELDSA, J., COULOUX, A. & PASQUET, E. 2009. Molecular phylogeny of Carduelinae (Aves, Passeriformes, Fringillidae) proves polyphyletic origin of the genera *Serinus* and *Carduelis* and suggest redefined generic limits. *Molecular Phylogenetic and Evolution*, 51(2): 169-181.
- PAYEVSKY, V.A. 2015. Taxonomy of true finches (Fringillidae, Passeriformes): a review of problems. *Biology Bulletin*, 42(8): 713-723.
- POSADA, D. 2008. jModelTest: phylogenetic model averaging. *Molecular Biology Evolution*, 7: 1253-6. doi: 10.1093/molbev/msn083.
- POSADA, D. & BUCKLEY, T.R. 2004. Model selection and model averaging in phylogenetics: advantages of akaike information criterion and bayesian approaches over likelihood ratio tests. *Systematic Biology*, 53(5): 793-808.
- RONQUIST, F. & HUELSENBECK, J.P. 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics*, 19(12): 1572-1574.
- SOLTIS, P.S., LIU, X., MARCHANT, D.B. ; VISGER C.J. & SOLTIS, D.E. 2014. *Polyploidy and novelty: gottlieb's legacy*. *Philosophical Transactions of the Real Society of Biology*, 369: 20130351. doi: 10.1098/rstb.2013.0351.
- VOIGT, C., MEINERS, T., TER-MAAT, A. & LEITNER, S. 2011. Multisensory Non-photoperiodic Cue Advances the Onset of Seasonal Breeding in Island Canaries (*Serinus canaria*). *Journal of Biological Rhythms*, 26(5): 434-440.
- WOLFF, U., KLOSE, J. & OSER, G. 1969. Zur gen Lokalisierung der glucose-6-phosphat Dehydrogenase bei vögeln. Untersuchungen an interspecies hybriden der gattungen *Serinus* und *Carduelis* (Fringillidae). *Humangenetik*, 8: 137-141.
- ZUCCON, D., PRYS-JONES, R., RASMUSSEN, P. & ERICSON, P.G.P. 2012. The phylogenetic relationships and generic limits of finches (Fringillidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 62: 581-596.
- ZWICKL, D.J. 2006. *Genetic algorithm approaches for the phylogenetic analysis of large biological sequence datasets under the maximum likelihood criterion*. Dissertation of degree of PhD. The University of Arizona, Tucson.