

**Aron Restani**

**Filogenia De Espécies Seleccionadas De Psitacídeos (Aves,  
Psittaciformes) Com Base No Comportamento De Auto Limpeza.**

**Assis 2019**

**Aron Restani**

**Filogenia De Espécies Seleccionadas De Psitacídeos (Aves,  
Psittaciformes) Com Base No Comportamento De Auto Limpeza.**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências e Letras, Assis, para a obtenção do título de Mestre em Biociências (Área de Conhecimento: Caracterização e Aplicação da Diversidade Biológica)

Orientador(a): Prof<sup>o</sup>. Dr<sup>o</sup>. Carlos Camargo Alberts

Bolsista CAPES: Aron Restani

**ASSIS**

**2019**

R436f Restani, Aron  
Filogenia De Espécies Seleccionadas De Psitacídeos  
(Aves, Psittaciformes) Com Base No Comportamento De  
Auto Limpeza. / Aron Restani. -- Assis, 2019  
58 f.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista  
(Unesp), Faculdade de Ciências e Letras, Assis  
Orientador: Carlos Camargo Alberts

1. Filogenia. 2. Etologia. 3. Papagaio (Aves). I. Título.

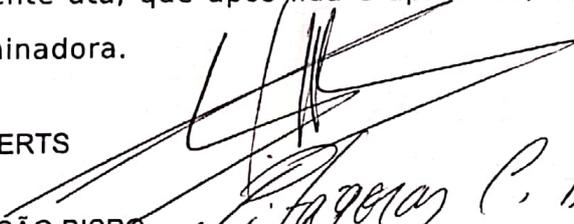
Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da  
Faculdade de Ciências e Letras, Assis. Dados fornecidos pelo autor(a).

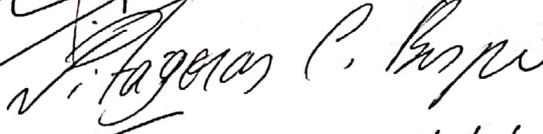
Essa ficha não pode ser modificada.

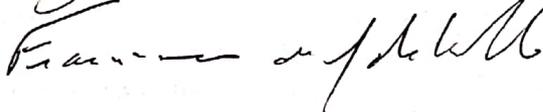


**ATA DA DEFESA PÚBLICA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DE ARON RESTANI, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCIÊNCIAS, DA FACULDADE DE CIÊNCIAS E LETRAS.**

Aos 12 dias do mês de março do ano de 2019, às 09:30 horas, no(a) SALA DE DEFESAS DA PÓS-GRADUAÇÃO, reuniu-se a Comissão Examinadora da Defesa Pública, composta pelos seguintes membros: Prof. Dr. CARLOS CAMARGO ALBERTS - Orientador(a) do(a) Departamento de Ciências Biológicas / UNESP/Assis, Prof. Dr. PITÁGORAS DA CONCEIÇÃO BISPO do(a) Departamento de Ciências Biológicas / UNESP/ASSIS, Prof. Dr. FRANCISCO DE ASSIS GANEO DE MELLO do(a) Instituto de Biociências de Botucatu - UNESP/Botucatu, sob a presidência do primeiro, a fim de proceder a arguição pública da DISSERTAÇÃO DE MESTRADO de ARON RESTANI, intitulada **FILOGENIA DE ESPÉCIES SELECIONADAS DE PSITACÍDEOS (AVES, PSITTACIFORMES) COM BASE NO COMPORTAMENTO DE AUTO LIMPEZA**. Após a exposição, o discente foi arguido oralmente pelos membros da Comissão Examinadora, tendo recebido o conceito final Aprovado \_\_\_\_\_. Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pelos membros da Comissão Examinadora.

Prof. Dr. CARLOS CAMARGO ALBERTS 

Prof. Dr. PITÁGORAS DA CONCEIÇÃO BISPO 

Prof. Dr. FRANCISCO DE ASSIS GANEO DE MELLO 

## **Agradecimentos**

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pelo apoio financeiro.

Ao Parque Zoológico Municipal Quinzinho de Barros, que gentilmente cedeu a autorização para minha pesquisa.

Aos meus pais, Airton e Ângela, que sempre me apoiaram nessa jornada, sem eles nada seria possível.

À minha companheira, Isabela, por estar sempre presente ao meu lado.

Aos meus familiares.

Ao meu orientador, Professor Dr. Carlos C. Alberts, que topou a difícil missão de me orientar e me guiar durante a graduação e pós graduação.

Ao Professor Dr. Sérgio Stampar, que me auxiliou muito durante este mestrado.

À todos os professores da FCL UNESP Assis, que contribuíram na minha formação como biólogo.

Aos moradores da República Calango e seus agregados, Pardella, Prego, Coxa, Joãozinho, Nelson, Cido, Frango, Zé, P2, Meninoney, Thibago e Caio, por todos os momentos compartilhados, morar com vocês foi... INDESCRITÍVEL.

Ao Calangoró, grande companheiro.

Aos jogadores do MITOSE, exceto o Thomaz que não faz a falta, por me proporcionarem mais derrotas do que eu pensava que fosse possível.

Aos membros do Sagrado, que mesmo na distância e com gosto duvidoso de memes, sempre estavam ali para animar o dia e zuar o Caique, maior astro que já sentou no banco do Shakhtar.

À todos os moradores da República 5 Bola, da UNESP Sorocaba, que me fizeram parte de uma irmandade desde o momento em que cheguei na casa, única tri campeã, rumo ao tetra.

Ao Relâmpago Marquinhos, que possibilitou todas as viagens feitas durante esse mestrado.

Ao Tácio, baiano que se empenhou muito para me ensinar usar o WinClada

À todos os amigos, que contribuíram para eu me tornar a pessoa que sou hoje.

À todos os funcionários do Restaurante Universitário da UNESP Assis, que trabalham arduamente todos os dias para nos proporcionar deliciosos almoços.

À todos os funcionários da Seção de pós graduação, que sempre se empenham para auxiliar ao máximo os pós graduandos.

Ao Sivaldo, porteiro da UNESP Assis, sempre bem humorado e solícito.

À todos os funcionários da UNESP Assis, de modo geral, que realizam suas funções diariamente e possibilitam o funcionamento desta bela instituição.

*“A sua cabeça é seu guia.”*

*- Angela Ap. O. Restani, minha mãe.*

Restani, Aron. **Filogenia De Espécies Seleccionadas De Psitacídeos (Aves, Psittaciformes) Com Base No Comportamento De Auto Limpeza.** Dissertação (Mestrado Acadêmico em Biociências). – Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências e Letras, Assis, 2019.

### **Resumo**

A filogenia dos psitacídeos ainda é algo de muita divergência entre os taxonomistas. Embora sejam muito diversificados morfológicamente, principalmente em suas cores, os psitacídeos constituem um grupo muito homogêneo, gerando muitas contradições e controvérsias em sua classificação. Este trabalho buscou utilizar duas fontes de dados para um estudo filogenético, sendo elas: comportamento de auto limpeza e a análise de DNA mitocondrial. Para o estudo, foram selecionadas 17 espécies (*Amazona aestiva*, *Amazona brasiliensis*, *Amazona farinosa*, *Amazona rhodocorytha*, *Amazona vinacea*, *Aratinga solstitialis*, *Diopsitaca nobilis*, *Eos bornea*, *Eupsittula aurea*, *Guaruba guarouba*, *Pionopsita pileata*, *Pionus maximiliani*, *Pionus menstruus*, *Primolius maracanã*, *Psittacara leucophthalmus*, *Pyrrhura frontalis* e *Pyrrhura perlata*). O estudo do comportamento de auto limpeza se deu através de observações e registros videográficos no Parque Zoológico Municipal Quinzinho de Barros, em Sorocaba – SP. A análise de DNA mitocondrial foi feita através de dados obtidos no “GenBank”. Resultados da análise comportamental apontam congruência entre a filogenia obtida e outros estudos filogenéticos moleculares e morfológicos, evidenciando que análises filogenéticas através do comportamento podem ser uma fonte de dados viável. Enquanto a filogenia resultante da análise de máxima verossimilhança das sequências de DNA mitocondrial 12S e 16S apontam que com dados obtidos no GenBank podemos realizar uma reconstrução filogenética com resultados satisfatórios, evidenciando a importância desta fonte de dados de livre acesso e a necessidade de continuar fomentando a base de dados para o auxílio de pesquisas futuras.

**Palavras chave:** Auto Limpeza, DNA Mitocondrial, Comportamento, Psittaciformes, Relações Filogenéticas.

Restani, Aron. **Phylogeny Of Selected Species Of Psittacids (Birds, Psittaciformes) Based On Grooming Behavior**. Dissertation (Masters in Biosciences). – São Paulo State University (UNESP), School of Sciences, Humanities and Languages, Assis, 2019.

### **Abstract**

The phylogeny of parrots is still a matter of great divergence among taxonomists. The examples are very diversified, mainly in their nuclei, the psittacídeos constitute a very homogeneous group, generating many contradictions and controversies in its classification. This work sought to use two data sources for a phylogenetic study, being: self cleaning behavior and mitochondrial DNA analysis. For the study, we selected 17 species (*Amazona aestiva*, *Amazona rhodocorytha*, *Amazona vinacea*, *Aratinga solstitialis*, *Diopsitaca nobilis*, *Eos bornea*, *Eupitiula aurea*, *Guaruba guarouba*, *Pionopsita pileata*, *Pionus maximiliani*, *Pionus menstruus*, *Primolius maracanã*, *Psittacara leucophthalmus*, *Pyrrhura frontalis* and *Pyrrhura perlata*). The study of the Self Cleaning Behavior was done through OBSERVATIONS and Videographic Records at the Municipal Zoological Park Quinzinho de Barros, in Sorocaba - SP, Analysis of mitochondrial DNA was made through Data obtained in the "GenBank". Results of the behavioral analysis point out congruence between phylogeny and other phylogenetic and molecular studies, evidencing phylogenetic analyzes through behavior can be a viable data source. While the phylogeny resulting from the maximum likelihood analysis of the 12S and 16S mitochondrial DNA sequences indicates that with data obtained there we can perform a phylogenetic reconstruction with satisfactory results, evidencing the importance of this source of free access data and the need to continue fomenting a base of data to assist future research

**Key Words:** Behavior, Mitochondrial DNA, Grooming, Psittaciformes, Phylogenetic Relationships.

## Sumário

<b>RESUMO</b> .....	VII
<b>ABSTRACT</b> .....	VIII
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	10
1.1 Os Psitacídeos.....	10
1.2 Sistemática Filogenética.....	13
1.3. Comportamento.....	16
1.4. Análise Molecular .....	17
1.5 As Espécies .....	20
<b>2. ARTIGO</b> .....	26
2.1. Introdução.....	28
2.2 Objetvos.....	29
2.3. Metodologia.....	30
2.4. Resultados e discussão .....	33
2.5. Considerações.....	34
2.6. Referências .....	34
2.7. Legendas.....	37
2.8. Anexos.....	38
<b>3. REFERENCIAS</b> .....	50
<b>4. ANEXOS</b> .....	56

## 1. Introdução

### 1.1. Os Psittacideos

A ordem Psittaciformes, que engloba as araras, cacatuas, calopsitas, papagaios, periquitos e afins, é dos grupos mais conhecidos de aves, muito devido a característica de sua coloração viva, formato diferenciado do bico, do corpo e dos pés. Estas características, individualmente, não são exclusivas do grupo, mas descrevendo de forma mais específica, como nas descrições de Beddard, 1898, Glenny, 1959, Smith, 1975 e Gaban-Lima e Höfling, 2006, o conjunto das características morfológicas torna clara a identificação de um membro desta ordem, sendo essas características: pés zigodáctilos (quando o segundo e o terceiro dedo são dispostos para frente e primeiro e o quarto são direcionados para trás); tarsometatarso muito curto; formato exclusivo do bico em forma de gancho onde a maxila se curva sobre a mandíbula juntamente com a musculatura ligadas a maxila; língua preênsil; osso esterno fenestrado; fúrcula frágil ou ausente; 10 rêmiges primárias e 10 a 14 secundárias; 12 retrizes, em geral; plumagem densa e extremamente colorida; e ausência dos cecos intestinais.

Suas belas e coloridas penas e sua capacidade de vocalização despertam curiosidade e admiração nas pessoas, principalmente os papagaios, que podem até imitar a voz humana e, por isso, estas aves têm sofrido com a captura para o comércio ilegal. No Brasil, várias espécies se encontram ameaçadas de extinção, pois além da captura, ainda sofrem com a grande pressão ambiental, o que torna urgente a sua proteção *in natura*, bem como o estabelecimento de programas de reprodução em cativeiro (Sick, 1997).

São reconhecidas, atualmente, cerca de 355 espécies nesta ordem, embora ainda não haja consenso definitivo quanto aos gêneros, a maior parte dos estudos reconhece 86 gêneros, incluindo os já extintos (Collar, 1997; Caparroz e Pacheco, 2006). Sua distribuição é cosmopolita, predominantemente tropical, com alguns táxons chegando a zonas temperadas.

Segundo Collar (1997), na região Neotropical, que compreende a totalidade das Américas do Sul e Central e a porção sul da América do Norte, é encontrada a maior variedade de espécies e gêneros da ordem, com cerca de 150 espécies e 32 gêneros. Dentro da região Neotropical, destaca-se a América do Sul, com mais de 100 espécies e o Brasil com 72 espécies (Sick, 1997).

Os Psittaciformes possuem tantas características derivadas que sua relação filogenética dentro do grande grupo das Neoaves ainda é motivo de discussão (Gaban-Lima 2007). Estudos que utilizam caracteres moleculares e morfológicos como o de Dyke e Van Tuinen (2004) coloca os Psittaciformes como grupo irmão de Galloanserae, gerando contradição com o resto do grupo de Neoaves proposto por Sick (1997). Isso demonstra o quão complicado, ainda, são estudos filogenéticos com as aves.

Historicamente a ordem Psittaciforme já foi agrupada como grupo irmão, ou até mesmo fazendo parte de outras ordens. Diversos estudos, desde o século XIX, vêm propondo, através de variados métodos de análise, novas formas de agrupar esta ordem, que já foi incorporada aos Piciformes por Gadow (1892); aos Columbiformes por Mayr e Amadon (1951); aos Falconiformes e Strigiformes por Gysels (1964), entre outros. Um estudo mais recente, feito por Livezey e Zusi (2007), com caracteres de anatomia comparada, sugere as seguintes relações: (Psittaciformes, Columbiformes ((Caprimulgiformes, Apodiformes) ((Coliiformes, Trogoniformes) (Coraciiformes, Piciformes, Passeriformes))). Estes estudos comprovam que as relações filogenéticas da ordem ainda estão muito longe de serem consideradas definitivas.

Assim como ainda estamos longe de uma filogenia consensual acerca da ordem Psittaciforme e seus grupos mais próximos, a sistemática dentro do grupo também está em constante modificação. Em 1874, Garrod, e posteriormente, em 1898, Beddard, propuseram a divisão da ordem em duas famílias (Palaeornithidae e Psittacidae), uma contendo 3 (Palaeornithinae, Cacatuinae e Stringopinae) e outra com 4 subfamílias (Arinea, Pyrrhurinae, Platycercinae e Chrysotinae), respectivamente, baseados na glândula uropigialis, no musculo *Ambiens* e no osso da fúrcula. Contemporaneamente aos estudos já citados, Salvadori (1891) publicou um catálogo com base em caracteres morfométricos, morfologia externa e características de plumagem, cuja divisão proposta difere

completamente da divisão de Garrod e da de Beddard. Estes estudos servem de exemplo para demonstrar que não existe consenso desde o início dos estudos de sistemática do grupo.

Sick (1997) propôs em seu livro, duas formas de classificação das espécies brasileiras de psitacídeos, pela coloração da plumagem e pelo formato da cauda, classificação esta que ainda é muito aceita entre os sistematas do grupo. Conforme esta classificação, a separação desta forma (os números entre parênteses correspondem ao número de espécies do gênero):

Segundo o colorido:

Azul: *Anodorhynchus hyacinthinus*, *A. leari*, *A. glaucus*, *Cyanopsitta spixii* e *Ara couloni*.

Azul e amarelo: *Ara ararauna*.

Vermelhas predominantemente: *Ara macao* e *Ara chloroptera*.

Amarelas ou alaranjadas predominantemente: *Guarouba guarouba* e *Aratinga solstitialis*.

Verdes: *Aratinga*, *Pyrrhura*, *Forpus*, *Touit*, *Pionus*, *Amazona*, *Ara severa*, *Ara couloni* (azulado), *Propyrrhura maracana*, *P. auricollis*, *Orthopsittaca manilata* e *Diopsittaca*. O gênero *Brotogeris*, em seu atual conceito, é heterogêneo para o colorido da plumagem.

Segundo a cauda:

Cauda longa, pontiaguda ou cuneiforme: *Anodorhynchus* (3), *Cyanopsitta* (1), *Ara* (5), *Aratinga* (7), *Nandayus* (1), *Pyrrhura* (10), *Myiopsitta* (1), *Brotogeris tirica*, *B. versicolorus* e *B. chiriri*. Os maracanãs: *Propyrrhura* (2), *Orthopsittaca* (1), *Diopsittaca* (1), *Guarouba* (1), *Ara severa* e *Ara couloni*.

Cauda longa e larga: *Triclaria* (1) e *Deroptyus* (1).

Cauda curta, truncada, arredondada ou cuneiforme: *Touit* (4), *Pionites* (2), *Pionopsitta* (4, inclui *Gypopsitta*), *Graydidascalus* (1), *Pionus* (3), *Amazona* (11), *Brotogeris cryopterus*, *B. cyanoptera*, *B. sanctithomae* e *Forpus* (3).

Como já ressaltado por Prates (2006), outros estudos corroboram esta divisão posposta por Sick, inclusive estudos com base em análises por DNA mitocondrial, como, por exemplo, Miyaki et al (1998), que utilizou análises de minissatélites em um estudo de da evolução peleogeográfica do grupo.

## **1.2. Sistemática Filogenética**

A Sistemática é a ciência da diversidade dos organismos, isto é, seu objeto central de estudo é a diversidade biológica e suas relações de parentesco evolutivo, ocupando-se de: “ (1) descrever essa diversidade; (2) encontrar que tipo de ordem existe na diversidade biológica (se existir); (3) compreender os processos que são responsáveis pela geração dessa diversidade. (...) (4) apresentar um sistema geral de referência sobre a diversidade biológica” (Amorim, 2002). A taxonomia data desde 3000 antes de Cristo, quando o imperador chinês Shennong começou a catalogar as plantas para o cultivo. Há relatos também da civilização egípcia que catalogava plantas comestíveis, mas o sistema tomou fama com o filósofo grego Aristóteles, a quem é, geralmente, atribuído o primeiro sistema de agrupamento dos seres vivos. Aristóteles levou em conta, principalmente, o habitat e a forma de reprodução dos organismos. No âmbito da zoologia, foi quem originou os termos “vertebrados” e “invertebrados”, usados até os tempos atuais.

A taxonomia teve uma grande revolução com a publicação da décima edição da obra *Systema Naturae* (1758), escrita pelo naturalista sueco Carolus Linneaus, que propôs um sistema de classificação binominal, separando os seres vivos em táxons. Este sistema era baseado no essencialismo e fixismo, ou seja, agrupava os organismos de acordo com as semelhanças compartilhadas, pois acreditava-se que os organismos sempre existiram daquela forma, sem qualquer mudança evolutiva. Embora não se use mais o fixismo como base para a comparação dos organismos, o sistema taxonômico binomial proposto por Linneaus é utilizado até hoje (Amorim, 2002).

Com a divulgação da Teoria da Evolução, de Darwin e Wallace, os conceitos acerca do mundo orgânico mudaram bruscamente ao adotar essa nova teoria. Os pesquisadores da área de taxonomia mudaram seus métodos de

classificação, deixando de utilizar o fixismo e se embasando na história evolutiva dos grupos biológicos, dando origem aos estudos de filogenia, que é o modelo mais utilizado na sistemática atual.

A partir do conceito de paradigma proposto por Thomas Khun (1991), que caracteriza paradigma como sendo o resultado de atividades concretas, universalmente reconhecidas que, durante algum tempo, fornecem soluções modelares a comunidade científica, podemos dizer que a sistemática filogenética é o atual paradigma da área.

Para Amorim (2002), na área da sistemática, temos 4 grandes escolas que divergem nos conceitos e nas formas de avaliação na separação dos seres vivos, sendo elas: Catalográfica, Gradista ou evolutiva, Sistemática Fenética (ou Taxonomia Numérica) e Sistemática Filogenética ou Cladista.

A Catalográfica, a escola mais tradicional dentre as 4, não utiliza bases teóricas em suas divisões, a classificação se baseia em critérios extremamente simples, como por exemplo a semelhança morfológica sem considerar outros fatores. Taxonomista geralmente a usam apenas como uma base prévia de organização (Amorim, 2002).

A Gradista, também conhecida como Taxonomia Evolutiva, foi a primeira destas escolas a incorporar claramente os conceitos de evolução proposto por Darwin. Esta escola baseia-se na criação de táxons que representem as etapas (ou graus, daí a origem do nome, Gradista) da evolução daquele organismo, onde cada nova característica obtida através da evolução representa uma nova habilidade de explorar um novo ambiente ou alcançar uma nova zona adaptativa. Assim cada nova classificação taxonômica representa uma etapa da evolução do grupo (Amorim, 2002). Esta escola possuía um problema muito grande, que era a subjetividade para definir quais seriam características suficientemente relevantes para a determinação de um novo grado, o que levou pesquisadores a grandes equívocos.

A Sistemática Fenética, ou Taxonomia Numérica, trabalha com base em modelos matemáticos onde a classificação deve resultar de uma avaliação quantitativa das relações de similaridade entre os organismos, desconsiderando processos evolutivos devido a subjetividade na avaliação de relevância evolutiva

do caráter analisado. O resultado de uma taxonomia numérica é um diagrama ramificado onde a proximidade das unidades terminais indica um maior grau de semelhança do conjunto de caracteres analisados simultaneamente (Amorim, 2002). Atualmente ainda é utilizada, mas de forma diferente, levando em consideração alguns processos evolutivos para os caracteres analisados.

A Sistemática Filogenética, ou Cladista, propõe que a classificação deve resultar do estudo das relações de parentesco entre os táxons levando em consideração que os organismos estão em constante processo de evolução. Para isso utiliza a maior quantidade de conteúdo disponível sobre a ancestralidade do grupo e seu processo evolutivo, afim de formar sempre grupos monofiléticos (Amorim, 2002).

A sistemática filogenética surge oficialmente em 1950, com a publicação do livro *Grundzüge einer Theorie der Phylogenetischen Systematik*, do entomólogo alemão Emil Hans Willi Hennig, mas seu método só tomou fama na ciência mundial após a tradução de seu livro do alemão para o inglês em 1966 (Guimarães, 2005). Parafraseando Amorim (2002) “O centro da proposta de Hennig é que as classificações biológicas devem ser um reflexo inequívoco do conhecimento atual sobre as relações de parentesco entre os táxons.”, isso quer dizer que as classificações devem ser feitas por “grupos naturais” (terminologia proposta por Henning para grupos monofiléticos) que possuem um ancestral comum a todos os pertencentes do grupo, sem exceções.

O objetivo do estudo da Sistemática Filogenética, ou Cladística, consiste na identificação das relações de parentesco pela reconstrução da filogenia dos seres vivos. Para tal, há de se verificar a existência de homologias, isto é, estruturas que apresentem a mesma origem ontogênica, e se correspondem a estruturas primitivas, também denominadas plesiomorfias, ou derivadas, também denominadas apomorfias. Se corresponder a uma característica apomórfica exclusiva de um táxon terminal, também denominada autapomorfia, é o suficiente para constatar que este grupo é monofilético, pois apresenta um ancestral comum, o primeiro a apresentar esta novidade evolutiva. Se a característica é compartilhada por vários grupos de seres vivos, diz-se então que é uma sinapomorfia. Estes grupos, considerados naturais, recebem um nome

cientificamente válido e assumem uma posição, dependendo da hierarquia do grupo em questão (Amorim, 2002).

### **1.3. Comportamento**

Os estudos do comportamento animal datam desde as primeiras civilizações, quando homens pré históricos aprenderam a observar e utilizar do conhecimento do comportamento para otimizar a caça. Hoje em dia o comportamento é o foco de diversas pesquisas, com os mais variados temas, desde a melhoria na efetividade de caça e pesca, até o uso para proteção de lavouras ou proteção da biodiversidade (Alcock, 2009).

Não é de agora que cientistas vem propondo o uso do comportamento como uma possível fonte de dados para estudos filogenéticos, há estudos propondo este método desde o meio do século XX, como por exemplo Lorenz, 1941; Tinbergen, 1959; Hodos e Campbell, 1969; Alberts, 1996. Atualmente, praticamente já não se questiona mais a presença do sinal filogenético dentro do comportamento, e sim como extraí-lo e utiliza-lo em uma reconstrução filogenética (Quadros, 2002).

Atz (1970) fez um grande trabalho com objeções ao uso do comportamento como caráter de análise filogenética, sintetizando o trabalho de Atz, o autor diz que o comportamento é evanescente e pode sofrer variações durante a vida do animal, dependendo de influências ambientais, inviabilizando as comparações. O autor também diz que comportamentos de espécies diferentes, sofrendo pressão do meio podem variar e convergirem para se tornar semelhantes, porém não homólogas, ou seja, comportamentos se tornaram semelhantes não por um ancestral comum, mas sim por influência do meio.

Posteriormente, novas tecnologias e estudos, que não estavam disponíveis na época, refutaram a teoria de Atz (Quadros, 2008). Atualmente não há uma grande força de pesquisadores que se oponham ao uso do comportamento como ferramenta de análise filogenética. Ao contrário, alguns dos trabalhos que corroboram o uso de comportamentos herdados como fonte de informação para análise filogenética podem ser exemplificados em: Prum,

1990; Edwards e Naeem, 1993; Mclennan e Mattern, 2001; Quadros, 2002; Giannini e Bertelli, 2004, Japyassu *et al* 2006 e Malange *et al* 2013.

O comportamento pode ser descrito como a interação do genótipo com o meio ambiente, pois o animal utiliza constantemente o comportamento em função de sua sobrevivência e perpetuação da espécie, portanto pode ser uma fonte de caracteres filogenéticos. O comportamento pode ser herdado, pois representa a adaptabilidade da espécie perante o meio (Quadros, 2002).

#### **1.4. Análise Molecular**

Em 2003, Hebert e colaboradores iniciam a utilização de marcadores moleculares para criar um “código de barras” (Barcode) para identificar as espécies. Acreditava-se que com isso se removeria um pesado fardo dos taxonomistas, que se utilizavam, principalmente, de caracteres morfológicos para a identificação de espécies (Goldstein, 2011). O que gerava problemas quando se tratava, por exemplo, de espécies crípticas, em que a morfologia não bastava para diferenciar espécies muito semelhantes (Brower, 1996). Assim, a iniciativa Barcode pretendia padronizar um fragmento de gene, a subunidade 1 da citocromo oxidase (COI), de tamanho de 648 pares de base como um identificador provisório para espécies e amostras (Goldstein, 2011). O objetivo era obter uma sequência de DNA de diversos indivíduos, do maior número de populações do maior número possível de espécies (Savolainen *et al.*, 2005).

O Barcode of Life Data System (BOLD) é um banco de dados com o intuito de auxiliar a aquisição, armazenamento, análise e publicação de registros de DNA barcode (Ratnasingham & Hebert, 2007). É uma ferramenta gratuita que integra informações moleculares, morfológicas e geográficas que ficam disponíveis a qualquer pesquisador interessado em utilizar o DNA barcode em seus estudos (Ratnasingham & Hebert, 2007).

Em 2004 criou-se o Consortium for the Barcode of Life (CBOL), que conta com diversas organizações de vários países, e tinha o objetivo de em 20 anos criar uma biblioteca de DNA Barcode para todos os animais eucarióticos (Ratnasingham & Hebert, 2007). Então, o CBOL sabendo da massiva quantidade

de dados que essa iniciativa iria gerar, entrou em acordo com grandes bancos genômicos, como o National Center for Biotechnology Information (NCBI), organizações de biodiversidade como a Global Biodiversity Information Facility (GBIF) entre outros para definir parâmetros e requisitos para receber a denominação de Barcode. Kvist (2013) realizou um estudo para analisar a qualidade e quantidade de sequências conjuntas nos bancos “GenBank” e “BOLD”, onde encontrou informação de 15% da biodiversidade total reconhecida, com mais de 230 mil táxons únicos citados, mostrando o grande potencial e a importância desses bancos de dados online para o avanço do DNA barcode.

Com o aumento da disponibilidade de sequências de DNA em bancos de dados de livre acesso e o avanço de tecnologias voltadas para as análises através da genômica comparativa, os estudos de diferenças e similaridades genéticas vem se popularizando e se aperfeiçoando (Primose & Twyman, 2003). Este tipo de análise comparativa se tornou uma ferramenta de grande importância na compreensão dos mecanismos da evolução molecular e na identificação de regiões reguladoras do DNA (Schwartz et al., 2000). Através de análises comparativas de sequências DNA genômico entre espécies, é possível identificar elementos funcionais, visto que estes tendem a ter uma taxa de evolução menor do que sequências não funcionais (Nóbrega & Pennachio, 2004). Genes ortólogos, por definição, são genes homólogos entre diferentes genomas, que foram separados em algum momento da evolução por um evento de especiação. Estes genes são as sequências mais buscadas e utilizadas em estudos de evolução molecular, pois sofrem pressão seletiva que retém seus sítios de ligações funcionais (Lenhard et al., 2003).

A partir da década de 80, diferentes tipos de DNA (mtDNA, principalmente) vêm sendo amplamente utilizados em estudos genéticos e evolutivos. Pesquisas em nível molecular têm dado muita ênfase aos estudos sistemáticos, em vários grupos de animais. O genoma mitocondrial, pelas suas características e particularidades, tem sido especialmente útil em estudos de análises evolutivas dos organismos (Matioli & Passos-Bueno, 2001).

A taxa de evolução é um dado importante na escolha do gene para resolver questões filogenéticas, taxonômicas e de genética de populações. No

mtDNA, essa taxa não é homogênea entre os seus diferentes genes. Alguns genes acumulam mais rapidamente essas substituições de bases (Saccone, 1994). No entanto, na pesquisa de eventos mais antigos como a formação de espécies, gêneros, famílias, os genes mais conservados podem ser bons indicadores (Saccone, 1994). A ausência de recombinação e a herança materna aliados à alta taxa de evolução heterogênea entre seus genes, fazem com que o mtDNA seja um excelente marcador para estudos filogenéticos, taxonomia molecular e dos movimentos migratórios de populações ao redor do mundo (Avice 2000; Saccone, 1994).

O DNA mitocondrial animal é uma molécula de fita dupla circular que codifica, aproximadamente, 5% de toda maquinaria necessária para o funcionamento da mitocôndria. O conteúdo em termos de genes é extremamente conservado, contudo, algumas diferenças são relatadas quando comparados organismos que divergiram há muito tempo, como entre ordens e classes taxonômicas (Matioli & Passos-Bueno, 2001; Hebert et al. 2004).

Análises filogenéticas baseadas em genes mitocondriais são frequentemente limitadas a espécies proximamente relacionadas, devido a sua alta taxa de substituição de nucleotídeos. Contudo, variações nos conteúdos gênicos mitocondriais e sua ordem têm sido utilizados para elucidar relações evolutivas entre espécies relacionadas e distantes evolutivamente, baseada em características compartilhadas e derivadas que retomam a um ancestral comum que originou o grupo (Nei & Kumar, 2000). Sequências parciais de genes mitocondriais de várias espécies têm sido utilizadas como marcadores para análises filogenéticas. Por exemplo, o gene COI tem sido extensivamente utilizado para identificação de espécies nos projetos de “DNA barcoding” (Ratasingham & Hebert, 2007; Kress & Erickson, 2008).

O gene 16S codifica a subunidade menor do ribossomo e corresponde a uma região altamente conservada do genoma. Como os demais genes ribossomais são moléculas universais e a similaridade na sua estrutura sugere que tenham evoluído muito cedo em um ancestral comum a todos os seres vivos e se alterado relativamente pouco até hoje (Giribet, 2015). Este gene apresenta um tamanho que varia de 1.237 a 1.513 pares de bases, tendo sido utilizado para inferir relações filogenéticas em diversos níveis taxonômicos (Schwartz et

al., 2000). Contudo, devido ao seu baixo nível de divergência, o gene 16S pode falhar ao analisar as relações taxonômicas entre espécies do mesmo gênero, mas este gene pode ser muito útil para relações taxonômicas de táxons mais distantes, como famílias (Muraji et al., 2000).

O DNA ribossomal (rDNA) é uma região bem conservada e que se mostrou valioso para pesquisas de sistemática e filogenia de organismos próximos ou relacionados de forma distante e que não acumulam mutações independentemente, de cada unidade de rDNA evolui de forma sincronizada, podendo ser tratada como um único gene (Giribet, 2015).

### **1.5. As Espécies**

A descrição das 17 espécies cujos comportamentos foram analisados, foi feita, abaixo, segundo os livros “Ornitologia Brasileira” de Helmut Sick (1997) e “Parrots of the World” de Joseph M. Forshaw e Willian T. Cooper (1989), e para as espécies que mudaram de gênero, foi referenciado de acordo com o estudo mais recente.

#### *Guaruba guarouba*

Popularmente conhecida como Ararajuba, possui tamanho médio de 34cm quando adulto, coloração amarelo vívido com apenas as rêmiges verde oliva, coloração esta que lhes conferiram o nome derivado da língua Tupi, onde *Guará*=pássaro, *yuba*=amarelo, e também a colocou como um animal extremamente visado para caçadores e criadores ilegais. Considerada endêmica no Norte e Nordeste brasileiro, ocorre, atualmente, do Maranhão até o oeste do Pará, mas registros antigos mostram sua ocorrência chegando até o estado da Bahia, estima-se que sua população natural seja de 3 mil espécimes (Laranjeiras, 2008). É considerada uma espécie, internamente, sociável, mas territorialista em competição com outras espécies. Sua taxonomia já foi alvo de grandes discussões, anteriormente acredita-se fazer parte do gênero *Aratinga*, mas sua vocalização e etologia não condizia com o grupo, atualmente é agrupada ao gênero *Guaruba*

#### *Psittacara leucophthalmus*

Até 2013 era uma espécie pertencente ao gênero *Aratinga*, sendo esta espécie conhecida como *Aratinga leucophthalmus*, mas com a publicação de Remsen *et al.* (2013) o gênero *Aratinga* foi revisto e considerado um grupo parafilético, por isso foi criado o gênero *Psittacara*. A espécie *P. leucophthalmus* tem tamanho médio de 32cm, cabeça ovalada com predominância da coloração verde pelo corpo todo, com exceção de algumas penas vermelhas na região do pescoço e nas coberteiras inferiores da asa, característica da espécie. São muito sociáveis e vivem em grupos grandes, superior a 30 indivíduos, por isso recebe o nome popular de “Aratinga de bando”. Sua distribuição geográfica é bem ampla, ocorrendo em praticamente toda a América do Sul.

#### *Pyrrhura frontalis*

‘Tiriba de testa vermelha’ ou ‘cara suja’, como é popularmente conhecida, mede cerca de 27cm, tem o pescoço e a região auricular de coloração pardacenta, fronte, abdômen e a face inferior da cauda são vermelhos. Dividida em duas subespécies *Pyrrhura frontalis chiripepe* e *Pyrrhura frontalis frontalis*, vivem em grupos pequenos, a primeira tem distribuição da Bahia até a região norte do estado de São Paulo, a segunda tem distribuição mais meridional, ocorrendo do Sul do Brasil até o Uruguai e Argentina

#### *Pyrrhura perlata*

A Tiriba de barriga vermelha ainda é alvo de muitos estudos taxonômicos, pois há 3 espécies (*P. perlata*, *P. anerythra* e *P. coerulescens*) que sua elevação de nível taxonômico como espécie geram muitos questionamentos. Somenzari e Silveira (2015), propuseram a manutenção de *Pyrrhura perlata* como espécie e a divisão em 3 subespécies (*Pyrrhura perlata perlata*, *Pyrrhura perlata anerythra* e *Pyrrhura perlata coerulescens*). De acordo com a descrição de Sick (1997), que reconhecia apenas como uma espécie, possuem cerca de 24cm, corpo verde, de coberteiras inferiores das asas vermelhas; bochechas verdes, pescoço anterior marrom-escamoso e flancos azuis. Era considerada endêmica do Brasil, mas Bates *et al.* (1989), conseguiram encontrar exemplares na Amazônia boliviana.

#### *Diopsitaca nobilis*

Medindo 33cm, com ocorrências que vão desde o Suriname até o sudeste do Brasil, esta espécie possui uma variação de tamanho médio dos adultos que cresce progressivamente à medida que vamos do Norte para o Sul. No Brasil sua maior ocorrência é no cerrado. Possui fronte azul, coberteiras inferiores das asas escarlates, face inferior das rêmiges amarelada e cara branca

*Pionopsita pileata*

“Periquito grego”, com apenas 21cm é um papagaio facilmente confundido com periquitos, por isso seu nome popular. Outro nome popular é ou “Cuiú cuiú” devido a sua vocalização inconfundível que lembra o a palavra “cuiú”. Quando adulto, sua coloração é praticamente inconfundível, os machos apresentam o corpo verde uniforme, com a cauda e a plumagem marginal da asa azulados, o macho apresenta a fronte vermelha, enquanto a fêmea possui a fronte azul. Sua ocorrência é do sul da Bahia até o norte da argentina

*Pionus menstruus*

A “Maitaca de cabeça azul”, deve esse nome popular a sua coloração característica, possui o corpo verde, a cabeça toda azul cobalto, em algumas populações o azul chega até o meio do peito, a região auricular é preta e o bico negro com a maxila vermelha tornam sua identificação muito fácil. Ocorre desde a Costa Rica até a região centro oeste do Brasil e chega a medir 27cm

*Pionus maximiliani*

Maitaca verde, como é conhecida, se assemelha muito a “maitaca de cabeça azul” (*Pionus menstruus*, descrito acima) em tamanho e distribuição geográfica, mas difere na questão da coloração, a cabeça é verde acinzentado, o bico é amarelo com a base cinza escuro, quase preto e parte interna das retrizes da cauda são vermelhas.

*Amazona brasiliensis*

Papagaio de cara roxa, chega a medir 36cm, de coloração predominantemente verde, possui a região da fronte vermelha e da região auricular até o pescoço uma faixa bem definida de cor que varia do azul cobalto ao roxo, possui também as coberteiras superiores orladas de amarelo ouro. Encontrada na mata atlântica do litoral, tinha distribuição do litoral norte do estado de São Paulo até o litoral

do Rio Grande do Sul, mas devido à perda de habitat, levantamentos recentes mostram que já foi extinta no Rio Grande do Sul e em Santa Catarina, sendo encontrada apenas no litoral do Paraná e sul de São Paulo (Seixas e Mourão, 2018; Sipinski *et al.* 2014)

#### *Amazona rhodocorytha*

Papagaio Chauá, chega a medir até 37cm, possui o corpo verde, fronte vermelha, loro vermelho alaranjado, plumagem abaixo dos olhos azul celeste e parte interna da cauda avermelhada. Endêmica brasileira, ocorre nas baixadas litorâneas do Alagoas ao Rio de Janeiro, mas vem sofrendo muito com a caça e a perda de habitat, levantamentos recentes estimam uma população natural com menos de 3 mil indivíduos (Clements, 2014)

#### *Amazona aestiva*

O famoso “papagaio verdadeiro”, extremamente procurado para criação como animal doméstico por ter a fama de ser o melhor “falador” entre os papagaios. Fronte e loros azuis e com um anel amarelo que circunda os olhos e, às vezes, se estende até a região auricular. Algumas populações apresentam o corpo completamente verde e em outras as coberteiras médias e as rêmiges primárias apresentam uma mancha vermelha. Medem cerca de 35cm e são encontradas em todo o território nacional, Paraguai Argentina e Bolívia.

#### *Amazona farinosa*

Papagaio moleiro, considerado o maior papagaio das Américas, chega a medir 41cm. Seu nome científico “farinosa” deriva do curioso fato de que a plumagem desta espécie é naturalmente coberta por um pó branco e fino, que se assemelha muito a farinha de trigo. Possui cauda relativamente longa para o gênero, corpo praticamente todo em tons de verde, com exceção do topo da cabeça, que apresenta uma região amarelada, o gera o nome popular “moleiro”, pois seria em uma região equivalente a fontanela humana, conhecida popularmente como “moleira”. Ocorrência bem ampla, que se estende do México até o centro oeste brasileiro e Bolívia.

#### *Amazona vinacea*

Papagaio de peito roxo, o nome popular, assim como o nome científico são devido a característica da parte superior do peito ser arroxeadada (em latim *vinum* significa vinho), geralmente essa coloração roxa é mais intensa nos machos, possui fronte, loros, mento, retrizes e a base do bico vermelhos, o resto do corpo é verde. Com 35cm é encontrado nas matas secas interioranas, pinheirais, orla de capões de mata entre campos, até a década de 70 era comumente encontrado de Minas Gerais até o Rio Grande do Sul, Argentina e Paraguai, mas com a perda de habitat, levantamentos recentes como o de Clements (2012), já apontam a extinção da espécie no estado do Espírito Santo e populações a beira da extinção no Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná.

### *Aratinga solstitialis*

Jandaia, mede em torno de 31cm, corpo franzino e bico negro. Possui 3 subespécies com distribuição geográfica e coloração bem distintas.

1. *Aratinga solstitialis solstitialis*, conhecida como “jandaia sol”, possui o corpo predominantemente amarelo, com a face laranja, rêmiges e cauda verde azulado. Ocorre nas Guianas, Roraima e norte do Amazonas

2. *Aratinga solstitialis jandaya*, Jandaia-verdadeira, possui a cabeça e o peito amarelo ou amarelo esverdeado, as asas e a cauda são verdes, apenas com a ponta da rêmiges azul, tida como endêmica brasileira, ocorre do sudeste do Pará e Maranhão a Pernambuco e leste de Goiás

3. *Aratinga solstitialis auricapilla*, Jandaia de testa vermelha, possui o corpo totalmente verde, somente com a fronte e a parte superior do peito em tons de vermelho e laranja. Isolada geograficamente das outras duas subespécies, ocorre no sul da Bahia e em Minas Gerais. Autores como Forshaw & Cooper (1989) e Collar *et al.* (1992) defendem que está subespécie seja elevada ao nível taxonômico de espécie, mas, por enquanto, continuam sendo subespécie de *Aratinga solstitialis*

### *Eupsittula aurea*

Periquito rei, mede 27 cm e é um dos psitacídeos mais conhecidos no Brasil, pois além de ser extremamente abundante em território nacional, também é um dos psitacídeos mais criados em cativeiros e comercializados. Tem o corpo todo

em tons de verde e apenas a fronte em amarelo ouro, que lembra uma coroa, por isso seu nome popular. É encontrada em praticamente todo território brasileiro, Bolívia, Paraguai e Argentina.

*Primolius maracana*

Ararinha ou Arara Maracanã, é uma arara de pequeno porte, 43cm, com coloração predominantemente verde, com a parte inferior do abdômen e das costas vermelha e bico preto, possui duas características bem distintas que tornam muito fácil sua identificação, possui um pequeno penacho vermelho na fronte e a região do “rosto” é desprovida de penas, geralmente branca ou levemente amarelada. Ocorre nas regiões norte, nordeste, centro oeste e sudeste do Brasil, assim como na Argentina e no Paraguai

*Eos bornea*

Lóris vermelho, é um papagaio endêmico da ilha de Bornéu, que tem seu território dividido entre Indonésia, Brunei e Malásia. Mesmo medindo em torno de 30cm, possui porte franzino e chama muita atenção pela sua cor, praticamente todo vermelho, inclusive o bico, tem apenas algumas poucas rêmiges azul escuro, quase preto.

## 2. Artigo

### **Filogenia De Espécies Seleccionadas De Psitacídeos (Aves, Psittaciformes) Com Base No Comportamento De Auto Limpeza.**

*Phylogeny Of Selected Species Of Psittacids (Birds, Psittaciformes) Based On Grooming Behavior.*

Aron Restani<sup>1,3</sup>, Carlos Camargo Alberts<sup>2</sup>

1. Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências e Letras, Campus de Assis. Programa de Pós-Graduação em Biociências, LEvEtho, Laboratório de Evolução e Etologia. Av. Dom Antônio, 2100. Parque Universitário, CEP 19806-900, Assis - SP.

2. Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências e Letras, Campus de Assis. Departamento de Ciências Biológicas, LEvEtho, Laboratório de Evolução e Etologia. Av. Dom Antônio, 2100. Parque Universitário, CEP 19806-900, Assis - SP. calberts@unesp.br

3. Autor para correspondência: aron.restani@gmail.com

### **Resumo**

A filogenia dos psitacídeos ainda é algo de muita divergência entre os taxonomistas. Embora sejam muito diversificados morfológicamente, principalmente em suas cores, os psitacídeos constituem um grupo muito homogêneo, gerando muitas contradições e controvérsias em sua classificação. Este trabalho buscou utilizar duas fontes de dados para um estudo filogenético, sendo elas: comportamento de auto limpeza e a análise de DNA mitocondrial. Para o estudo, foram seleccionadas 17 espécies (*Amazona aestiva*, *Amazona brasiliensis*, *Amazona farinosa*, *Amazona rhodocorytha*, *Amazona vinacea*, *Aratinga solstitialis*, *Diopsitaca nobilis*, *Eos bornea*, *Eupsittula aurea*, *Guaruba guarouba*, *Pionopsita pileata*, *Pionus maximiliani*, *Pionus menstruus*, *Primolius maracanã*, *Psittacara leucophthalmus*, *Pyrrhura frontalis* e *Pyrrhura perlata*). O estudo do comportamento de auto limpeza se deu através de observações e registros videográficos no Parque Zoológico Municipal Quinzinho de Barros, em Sorocaba – SP. A análise de DNA mitocondrial foi feita através de dados obtidos no “GenBank”. Resultados da análise comportamental apontam congruência entre a filogenia obtida e outros estudos filogenéticos moleculares e morfológicos, evidenciando que análises filogenéticas através do comportamento podem ser uma fonte de dados viável. Enquanto a filogenia resultante da análise de máxima verossimilhança das sequências de DNA mitocondrial 12S e 16S apontam que com dados obtidos no GenBank podemos realizar uma reconstrução filogenética com resultados satisfatórios, evidenciando a importância desta fonte de dados de livre acesso e a necessidade de continuar fomentando a base de dados para o auxílio de pesquisas futuras.

**Palavras chave:** Auto Limpeza, DNA Mitocondrial, Comportamento, Psittaciformes, Relações Filogenéticas.

### **Abstract**

The phylogeny of parrots is still a matter of great divergence among taxonomists. The examples are very diversified, mainly in their nuclei, the psitacídeos constitute a very homogeneous group, generating many contradictions and controversies in its classification. This work sought to use two data sources for a phylogenetic study, being: self cleaning behavior and mitochondrial DNA analysis. For the study, we selected 17 species (*Amazona aestiva*, *Amazona rhodocorytha*, *Amazona vinacea*, *Aratinga solstitialis*, *Diopsitaca nobilis*, *Eos bornea*, *Eupitiula aurea*, *Guaruba guarouba*, *Pionopsita pileata*, *Pionus maximiliani*, *Pionus menstruus*, *Primolius maracanã*, *Psittacara leucophthalmus*, *Pyrrhura frontalis* and *Pyrrhura perlata*). The study of the Self Cleaning Behavior was done through OBSERVATIONS and Videographic Records at the Municipal Zoological Park Quinzinho de Barros, in Sorocaba - SP, Analysis of mitochondrial DNA was made through Data obtained in the "GenBank". Results of the behavioral analysis point out congruence between phylogeny and other phylogenetic and molecular studies, evidencing phylogenetic analyzes through behavior can be a viable data source. While the phylogeny resulting from the maximum likelihood analysis of the 12S and 16S mitochondrial DNA sequences indicates that with data obtained there we can perform a phylogenetic reconstruction with satisfactory results, evidencing the importance of this source of free access data and the need to continue fomenting a base of data to assist future research

**Key Words:** Behavior, Mitochondrial DNA, Grooming, Psittaciformes, Phylogenetic Relationships.

## 2.1. Introdução

A auto limpeza possui a característica de ser uma série de movimentos altamente estereotipados, um comportamento muito frequente nos vertebrados terrestres, mas sua função ainda não é totalmente clara para a ciência (Spruijt *et al.*, 1992). De maneira geral, acredita-se que suas principais funções estão ligadas a manutenção da plumagem ou pelagem, remoção de parasitas e controle da temperatura (Ferkin *et al.*, 1996, Malange *et al.* 2013).

Ferkin *et al.* (2001) realizaram um estudo sobre a auto limpeza em roedores (*Microtus pennsylvanicus*) e seus resultados apontam que este comportamento é uma forma de interação e comunicação social e, no caso dos machos, também está vinculado a atração de fêmeas e afastar outros machos competidores, pois os machos da espécie também utilizam o momento da auto limpeza para dispersar feromônios na pelagem.

Frentress (1973), afim de corroborar com a teoria da herdabilidade do comportamento de auto limpeza, fez um teste onde as patas dianteiras de camundongos recém nascidos foram amputadas, após isso ele observou que os animais apresentavam o padrão estereotipado de auto limpeza facial como se ainda possuem as patas, os movimentos da cabeça, pálpebras e língua se mantiveram como se o animal não tivesse sido amputado.

Entre os gatos, a autolimpeza facial foi observada em animais com poucas horas após o nascimento, ainda com os olhos fechados, ou seja, isolados visualmente (Alberts, 1996). A autolimpeza apresenta padrões bastante fixos, isso a torna uma boa fonte de caracteres filogenéticos, pois é a reação do animal aos estímulos endógenos e exógenos, e se enquadra dentro da definição de estrutura fixa de base genética necessária para ser entendida como caractere filogenético.

O genoma mitocondrial (DNAmt) animal é uma molécula circular que contém os genes para dois RNAs ribossomais (rRNA), 22 RNAs transportadores (tRNA) e 13 proteínas; além da Região Controladora. Íntrons parecem estar ausentes e há pequenos espaços intergênicos. Em alguns casos os genes se sobrepõem e ocorre a redução do comprimento dos códons de parada em uma ou duas bases (Houde *et al.*, 1997).

Os estudos com DNAm<sub>t</sub> iniciaram-se com o desenvolvimento das técnicas do DNA recombinante. Isso se deve à facilidade de sua manipulação e purificação em laboratório, sua capacidade de gerar várias cópias, por ter principalmente herança materna, haver raros eventos de recombinação e evoluir mais rápido que o genoma nuclear (Nei & Kumar, 2000). Esses estudos têm se mostrado de grande utilidade para resolver os problemas existentes na sistemática tradicional de gêneros de várias espécies, como no caso de aves do gênero *Amazona* (Seixas & Mourão, 2018).

As sequências de DNA que codificam para os RNAs ribossomais 12S e 16S são muito utilizadas em trabalhos filogenéticos. O gene rDNA 12S é consideravelmente menor que o do 16S. Essas regiões não codificam para proteínas, apresentam propriedades semelhantes e são conservadas em sua estrutura secundária (Desjardins e Morais, 1990; Houde et al., 1997).

O gene rDNA mitocondrial 12S pode ser subdividido em quatro domínios principais, cada qual possui fitas duplas (regiões formadas por trechos de sequência que se complementam) e alças. Acredita-se que nas porções que formam fitas duplas existe certa pressão de conservação na sequência para manter a estrutura do ribossomo; enquanto as regiões que formam alças não devem sofrer tal pressão, podendo apresentar substituições com maior frequência sem alterar a estrutura secundária da molécula. Porém, existem regiões de alça que são bem conservadas entre diferentes organismos, assim como regiões de fita consideradas entre as mais variáveis do gene (Houde et al 1997). O gene rDNA 16S apresenta propriedades semelhantes (Desjardins e Morais, 1989).

## **2.2. Objetivos**

Fornecer dados que possam contribuir para estudos filogenéticos de psitacídeos, baseando no comportamento de auto limpeza e em sequencias de genes mitocondriais.

Corroborar o uso do comportamento como caráter de análises filogenéticas de psitacídeos.

Verificar através de duas técnicas distintas a atual filogenia de psitacídeos.

### 2.3. Metodologia

Para a análise comportamental dos animais estudados, foram empregadas 3 metodologias de registro comportamental, sendo eles: Ad libitum, animal focal e o registro em vídeo. Seguindo as recomendações de Murphy & Campbell (1987), evitando qualquer interferência no ambiente experimental.

Para o estudo de comportamento de auto limpeza, foram observadas 17 espécies, sendo elas: *Amazona aestiva*, *Amazona brasiliensis*, *Amazona farinosa*, *Amazona rhodocorytha*, *Amazona vinacea*, *Aratinga solstitialis*, *Diopsitaca nobilis*, *Eos bornea*, *Eupsittula aurea*, *Guaruba guarouba*, *Pionopsita pileata*, *Pionus maximiliani*, *Pionus menstruus*, *Primolius maracana*, *Psittacara leucophthalmus*, *Pyrrhura frontalis* e *Pyrrhura perlata*. Estas espécies foram escolhidas devido a suas disposições dentro da filogenia mais consensual do grupo, afim de conter espécies dentro da mesma família e espécies mais distantes, afim de contemplar posições filogeneticamente próximas e distantes, também prezando as melhores condições de iluminação e observação, para otimizar a qualidade das filmagens para análise.

Foram registradas um total de 20 filmagens para cada espécie, obedecendo atentamente a todos os critérios de observação animal e também as restrições da Comissão de Ética no Uso de Animais. Não houve qualquer forma manipulação de nenhum dos indivíduos registrados.

Foi realizado o estudo piloto do comportamento de auto limpeza, foram feitas observações empregando o método Ad libitum, que consiste em um registro escrito das características comportamentais julgadas importantes para a pesquisa. Tal método foi utilizado a fim de definir quais comportamentos serão utilizados nas observações posteriores.

Depois de um estudo piloto, foram registradas as sessões de auto limpeza, onde foram empregados os métodos Animal Focal, que consiste na observação focada em apenas um animal, e o registro em vídeo do indivíduo em foco, para uma análise posterior e mais precisa do comportamento do animal dentre as categorias previamente estabelecidas

Para o registro em vídeo, foram utilizadas seis câmeras, sendo elas: uma câmera de ação SJCAM 5000+ de 16 megapixels de resolução, uma câmera de celular Lenovo VIBE K5 de 13 megapixels de resolução, duas câmeras de celular LG optimus L5 de 5 megapixels, uma câmera Sony Cybershot de 13 megapixels e uma câmera de celular Nokia Lumia 630 de 8 megapixels, todas a uma distância de 2,5 a 5 metros de distância do indivíduo registrado e fixadas com o auxílio de tripés apropriados.

Para o registro em vídeo, todas as câmeras citadas acima foram posicionadas de forma a enquadrar o local de descanso (poleiro) e foram deixadas registrando continuamente à uma distância que não atrapalhe a rotina do animal. As filmagens foram feitas sob luz usual do local, ou seja, não houve adição ou remoção de luz no local de alimentação, a fim de preservar ao máximo a naturalidade do local. As observações em loco, foram registradas de uma distância maior, para assegurar que a presença do observador não fosse notada pelos animais.

Os registros videográficos foram realizados no Parque Zoológico Municipal Quinzinho de Barros, localizado na cidade de Sorocaba, estado de São Paulo, no período da manhã, antes da abertura do zoológico para a visitação e nas segundas feiras (dia em que o parque zoológico não abre para visitas) as filmagens foram realizadas sempre no período da tarde, a fim de confirmar que não há diferença no comportamento de auto limpeza em função do horário.

Para a análise dos vídeos, as filmagens foram transferidas para o computador, onde foi possível observar em velocidade reduzida e com ampliação da imagem as seções de autolimpeza.

Para o estudo filogenético por comportamento de autolimpeza foram estabelecidas as categorias comportamentais obtidas baseadas nas pesquisas de Quadros (2002) e Prates (2006), que sequenciaram o comportamento de auto limpeza de falconiformes e psitacídeos, respectivamente.

As sequências de auto limpeza que algum outro indivíduo, dentro do viveiro, interferiu, foram descartadas, pois a interferência de outro indivíduo pode provocar a alteração da sequência comportamental natural da espécie.

As análises dos vídeos foram feitas através dos softwares de análise e sequenciamento comportamental EthoLog(Otoni, 2000) e EthoSeq (JAPYASSÚ *et al.*, 2006), ambos os softwares são de livre distribuição. As filmagens foram transcritas com o uso do programa EthoLog, que permitiu registrar com exatidão os comportamentos e sua duração, gerando assim um arquivo de texto do tipo “.rep”, o qual foi convertido em arquivo tipo “.mdf” para que pudesse ser inserido no programa EthoSeq.

A partir do “.mdf” arquivo foi possível a análise pelo programa EthoSeq. Este programa analisou as matrizes de transição de primeira ordem e as converteu em matrizes de probabilidade condicional, o que permitiu a geração de “árvores orientadas”, que são diagramas que permitem a observação dos eventos comportamentais, suas sequencias e suas probabilidades. Em seguida, estas matrizes foram transformadas em arquivos tipo “.xls” para que pudessem ser exportadas para o programa Microsoft Office Excel e transformada em matriz binária de 0 e 1, onde qualquer valor acima de 0, foi considerado 1. O programa Winclada versão 0.9.9+Beta (Nixon 1999) a partir desta matriz e pelo método cladístico de máxima parcimônia (Henning 1966) gerou a árvore mais parcimoniosa.

Para a análise molecular, foram utilizados os marcadores 16S e 12S do DNA mitocondrial, importado diretamente do GenBank (NCBI, 2009). Não eram todas as espécies possuíam as seqüências de nucleotídeos 16S e 12S disponíveis, portanto a análise molecular se conteve apenas as disponíveis, que são: *Amazona brasiliensis*, *Amazona farinosa*, *Amazona rhodocorytha*, *Amazona vinacea*, *Aratinga solstitialis auricapila*, *Diopsitaca nobilis*, *Eupsittula aurea*, *Guaruba guarouba*, *Pionopsita pileata*, *Pionus maximiliani*, *Pionus menstruus*, *Primolius maracana* e *Psittacara leucophthalmus*, para o marcador 12S, e as mesmas espécies para o marcador 16s, com exceção da espécie *Psittacara leucophthalmus*, pois o mesmo não estava disponível.

O programa de análise utilizado para a reconstrução das árvores filogenéticas usando os métodos de máxima parcimônia, foi o software MEGA-Molecular Evolutionary Genetics Analysis (versão 10; Kumar *et al* 2018).

Para a análise de evidencia total, foi fundido os dados comportamentais com os dados moleculares da sequência 12S, utilizando o programa POY 4.1.2 (Varon *et al.*, 2010)

## 2.4. Resultados e discussão

Como principal resultado das observações comportamentais, obteve-se uma matriz com cerca de 1000 eventos comportamentais para cada espécie observada, através da qual pode-se reconstruir uma árvore filogenética (figura 1).

Na árvore filogenética obtida através de dados comportamentais (figura 1), podemos ver grande congruência com outras árvores filogenéticas proposta para o grupo. Esta filogenia reforça o monofiletismo da tribo Arini (sub família de Psitacídeos), pois a espécie *Eos bornea* (pertencente à família *Psittacidae*, mas sub família *Loriinae*) aparece como uma espécie externa as demais. Também é possível identificar dois grandes grupos monofiléticos entre si dentro da tribo Arini, um grupo contendo o gênero *Amazona*, *Pionus* e *Pionopsita* e outro grupo contendo os gêneros *Aratinga*, *Diopsitaca*, *Eupsittula*, *Guaruba*, *Primolius* e *Psittacara*, estes 2 grupos ficam melhor evidenciados quando visualizados em uma árvore filogenética com maior número de espécies (figura 2). Estas filogenias já são bem documentas por diversos estudos como Ribas *et al.* (2005), Tavares *et al.* (2006), Smith (1975), Miyaki *et al.* (1998), Sick (1997), Wright (2008), entre outros.

Na figura 3, podemos ver a congruência da reconstrução obtida quando comparada com outra reconstrução, esta já consagrada e de grande aceitação dentro do meio científico.

Uma ressalva deve ser feita sobre esta reconstrução filogenética baseada no comportamento de auto limpeza, as espécies *Amazona brasiliensis* e *Pionopsita pileata* estão apresentando monofiletismo entre elas, teoria esta que não possui nenhum suporte.

Na análise realizada através do uso da sequência molecular 12S (figuras 3 e 4) e do 16S (figuras 5 e 6) é possível notar grande semelhança com filogenias atualmente publicadas utilizando marcadores moleculares distintos, como por exemplo Wright (2008), porém, como foram encontradas apenas 13 espécies para a sequência 12S e 12 espécies para a sequência 16S, não foi possível fazer uma análise comparativa contemplando todas as espécies.

Com base na análise de evidencia total, unindo os dados moleculares 12S e 16S com os dados obtidos da análise comportamental, pode se comprovar a monofilia do grupo contendo o gênero *Amazona*, *Pionus* e *Pionopsita*.

## 2.5. Considerações finais

Com base nos dados comportamentais obtidos nesta pesquisa e em dados já obtidos por Prates (2006) e Quadros (2002 e 2008), podemos inferir que o uso do comportamento de auto limpeza como caracter para reconstrução de filogenia de aves é uma fonte viável de informações, mas ainda são necessários mais estudos na área para consolidar o uso do comportamento.

Bases de dados moleculares como o GenBank são inegavelmente benéficos, pois possibilitam análises que, em condições normais, grande parte dos pesquisadores não teriam acesso, seja por inviabilidade na obtenção do material biológico, por falta de recursos para análise ou por qualquer outro motivo, mais é preciso fomentar cada vez mais estes bancos de dados, para que futuras pesquisas sejam mais abrangentes em número de espécies e/ou de dados analisados e se tornem, cada vez mais, mais eficientes.

## 2.6. Referências

- Alberts C.C. 1996. O comportamento de autolimpeza do gato doméstico (*Felis catus*) e uma proposta para usá-lo como caracter filogenético. Unpubl PhD. Thesis, Universidade de São Paulo, São Paulo, 125p.
- Bullerwell C.E. & Gray M.W. 2004. Evolution of the mitochondrial genome: protist connections to animals, fungi and plants. *Current Opinion in Microbiology*. 2004 Oct;7(5):528-34.
- Desjardins, P. & Morais, R. 1990 Sequence and gene organization of chicken mitochondrial genome – a novel gene order in higher vertebrates. *J. Mol. Biol.* 212: 599-634.

- Felsenstein J. 1985. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution* 39:783-791.
- Fentress, J. C. (1973). Development of grooming in mice with amputated forelimbs. *Science*, 179(4074), 704-705.
- Ferkin, M. H.; Sorokin, E.S. & Johnston, R.E. 1996. Self-grooming as a sexually dimorphic communicative behaviour in meadow voles, *Microtus pennsylvanicus*. *Animal Behavior* 51: 801-810.
- Ferkin, M.H.; Leonard, S.T.; Heath, L.A. & Paz-y-Miño C.G. 2001. Self-grooming as a tactic used by prairie voles *Microtus ochrogaster* to enhance sexual communication. *Ethology* 107: 939-949.
- Houde, P.; Cooper, A.; Leslie, E.; Strand, A. E. & Montaña, G. A. 1997 Phylogeny and evolution of 12S rDNA in Gruiformes (Aves). In: Mindell, D. P. (ed.) *Avian Molecular Systematics and Evolution*.
- Japyassú, H.F., Alberts, C.C., Izar, P. & Sato, T. 2006. EthoSeq: a tool for phylogenetic analysis and data mining on behavioural sequences. – *Behavior Research Methods*.
- Kumar S.; Stecher G.; Li M.; Knyaz C.; & Tamura K. 2018. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution* 35:1547-1549.
- Malange J, Alberts CC, Oliveira ES, Oliveira ES, Japyassú HF. The evolution of behavioural systems: A study of grooming in rodents. *Behaviour*. 2013;150: 1295–1324.
- Miyaki, C.Y.; Matioli, S.R.; Burke, T. & Wanjtal A. 1998. Parrot evolution and paleogeographical events: mitochondrial DNA evidence. *Society for Molecular Biology and Evolution*
- Murphy, J. B. & Campbell, J. A. 1987. Captive maintenance. In: Seigel, R. A.; Collins, J. T. & Novak, S.S. eds. *Snakes: Ecology and Evolutionary Biology*. New York, McMillan. p.165-183.
- Nei M. & Kumar S. 2000. *Molecular Evolution and Phylogenetics*. Oxford University Press, New York.

Nixon K. 1999. Winclada: a windows program for creating, editing and analyzing systematic data sets.

Otoni, E. B. EthoLog 2.2: a tool for the transcription and timing of behavior observation sessions. *Behavior Research Methods Instruments & Computers*. v. 32, n. 3, p. 446-449, 2000.

Prates, F.O. 2006. Relações filogenéticas entre as espécies cauda-longa da tribo Arini (Aves, Psittaciformes). Dissertação de Doutorado. Botucatu: Universidade Estadual Paulista.

Quadros A.H. 2002. Filogenia da família Cathartidae (Aves) baseada em comportamento de autolimpeza. Unpubl. MSc. Dissertation- Universidade de São Paulo, São Paulo, 175p.

Ribas, C. C., R. Gaban-Lima, C. Y. Miyaki, & J. Cracraft. 2005. Historical biogeography and diversification within the Neotropical parrot genus *Pionopsitta* (Aves: Psittacidae). *Journal of Biogeography* 32:1409–1427.

Seixas, G.H. & Mourão, G. 2018. Communal roosts of the Blue-fronted Amazons (*Amazona aestiva*) in a large tropical wetland: Are they of different types? *PLOS ONE*. 13. e0204824. 10.1371/journal.pone.0204824.

Spruijt B.M.; Van Hooff J.A. & Gispen W.H. 1992 Ethology and neurobiology of grooming behavior. *Physiol Rev* 72: 825–852, 1992

Tavares E.S.; Baker A.J.; Pereira S.L. & Miyaki C.Y. 2006. Phylogenetic relationships and historical biogeography of Neotropical parrots (Psittaciformes: Psittacidae: Arini) inferred from mitochondrial and nuclear DNA sequences. *Systematic Biology* 55: 454–470.

Varon, A., Vinh, L.S. & Wheeler, W.C., 2010. POY version 4: phylogenetic analysis using dynamic homologies. *Cladistics* 26, 72–85.

Wright T.F., Schirtzinger E.E., Matsumoto T., Eberhard J.R., Graves G.R., Sanchez J.J., et al. 2008 A multilocus molecular phylogeny of the parrots (Psittaciformes): support for a Gondwanan origin during the cretaceous. *Mol Biol Evol*. 2008;25:2141–2156. doi: 10.1093/molbev/msn160

## 2.7. Legendas

Figura 1: Reconstrução da filogenia das espécies alvo do estudo utilizando o comportamento de auto limpeza. Cladograma gerado a partir do software Winclada.

Figura 2: Cladograma de relações entre representantes de 69 gêneros de papagaios e 8 taxa de grupos com base em um consenso estrito de 4 árvores obtido a partir da análise de parcimônia combinada (PC) de partições sequenciais (COI + ND2, TROP, TGFB2 e RDPSN) com lacunas codificadas. Valores de suporte de bootstrap PC para cada nó são mostrados acima das ramificações com valores de 100% indicados por asteriscos; Os valores do índice de decaimento de Bremer são mostrados abaixo. As classificações de Rowley (1997) e Collar (1997) são indicadas por barras à direita: I) família Cacatuidae, II) subfamília Loriinae e, dentro da subfamília Psittacinae, as tribos a) Strigopini, b) Nestorini, c) Psittrichadini d) Psittacini e) Arini, f) Psittaculini, g) Micropsittini, h) Platycercini e i) Cyclopsittacini. Imagem retirada de Wright *et al.* (2008)

Figura 3: Comparação da reconstrução filogenética obtida com base no comportamento de autolimpeza com uma reconstrução obtida através da análise morfológica da cauda, retirada de Tavares E.S.; Baker A.J.; Pereira S.L. & Miyaki C.Y. 2006. Phylogenetic relationships and historical biogeography of Neotropical parrots (Psittaciformes: Psittacidae: Arini) inferred from mitochondrial and nuclear DNA sequences. *Systematic Biology* 55: 454–470.

Figura 4: Reconstrução da filogenia das espécies alvo do estudo com sequenciamento 12S disponíveis no banco de dados GenBank, com grupo externo.

Figura 5: Reconstrução da filogenia das espécies alvo do estudo com sequenciamento 12S disponíveis no banco de dados GenBank, sem grupo externo.

Figura 6: Reconstrução da filogenia das espécies alvo do estudo com sequenciamento 16S disponíveis no banco de dados GenBank, com grupo externo.

Figura 7: Reconstrução da filogenia das espécies alvo do estudo com sequenciamento 16S disponíveis no banco de dados GenBank, sem grupo externo.

Tabela 1: Relação espécie x número de indivíduos presentes no viveiro do Parque Zoológico Municipal Quinzinho de Barros das 18 espécies analisadas.

Tabela 2: Descrição do comportamento utilizado para sequenciamento do comportamento de auto limpeza com a sigla utilizada no programa EthoLog.

## 2.8. Anexos

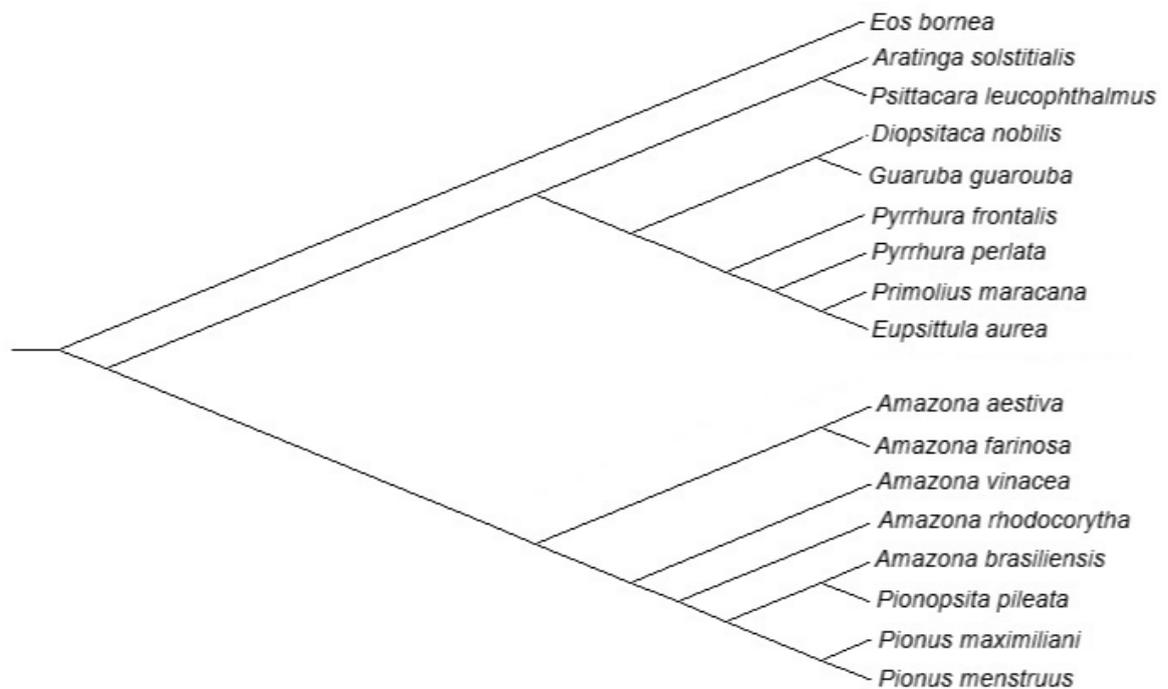


Figura 1

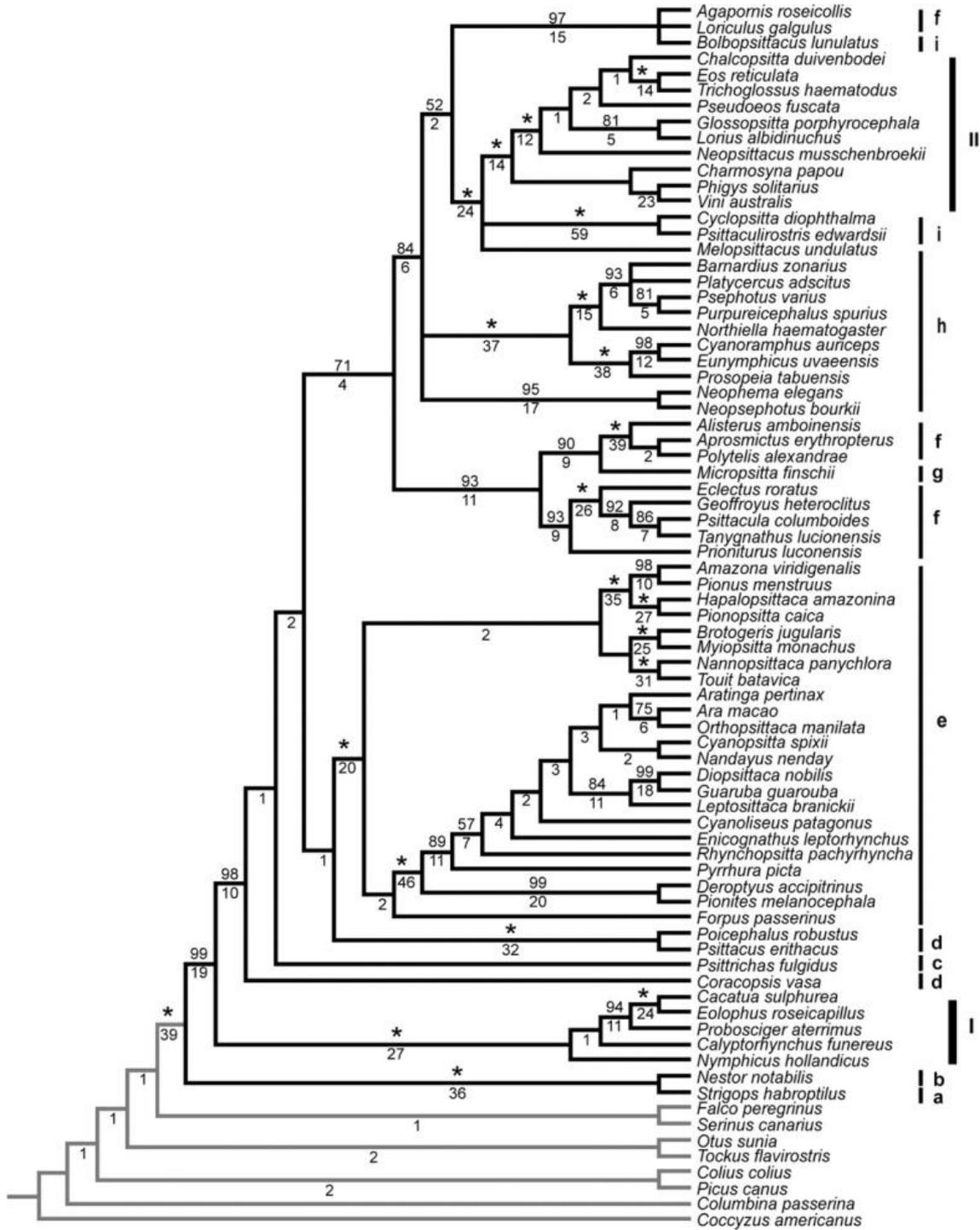


Figura 2



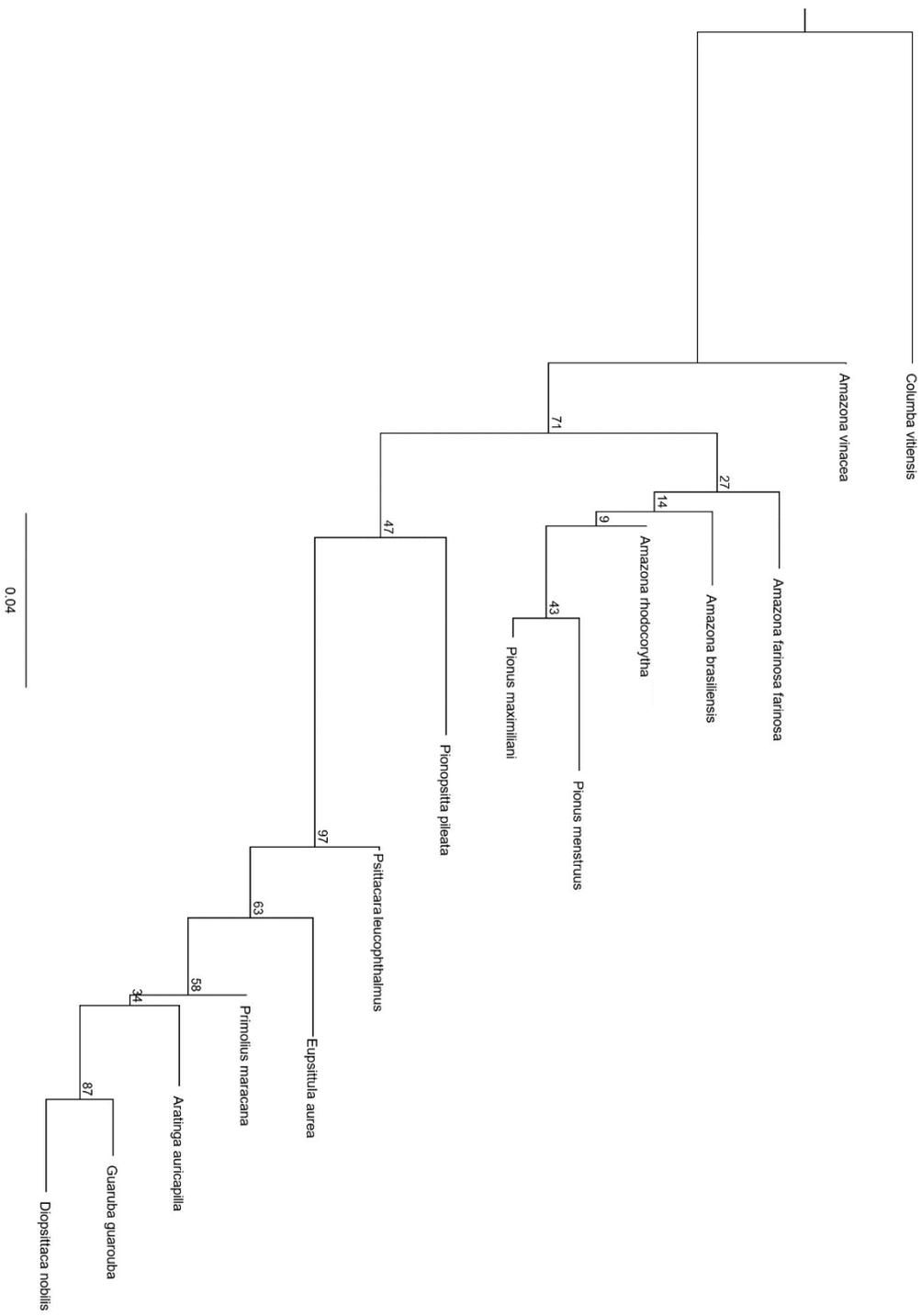


Figura 4

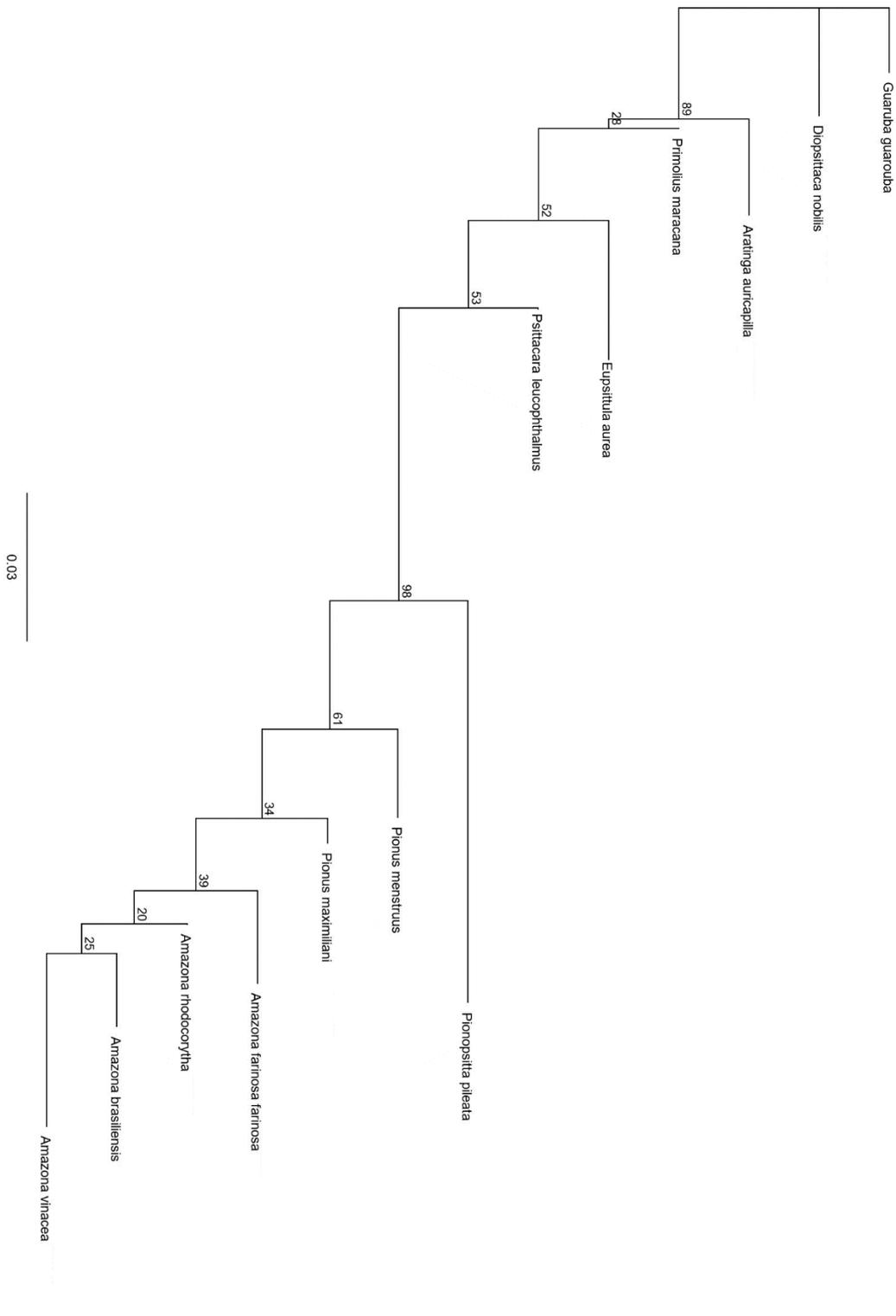


Figura 5

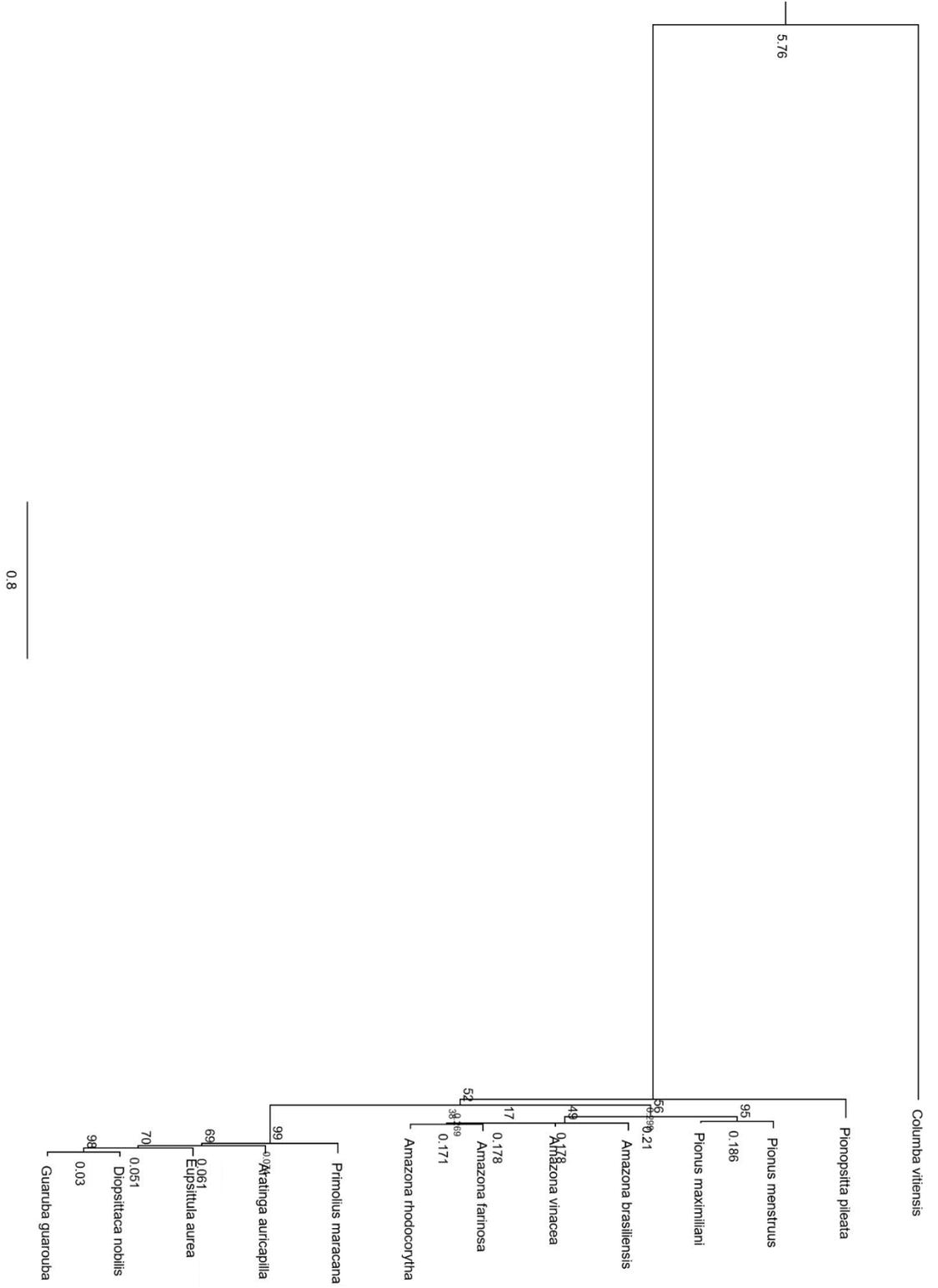


Figura 6

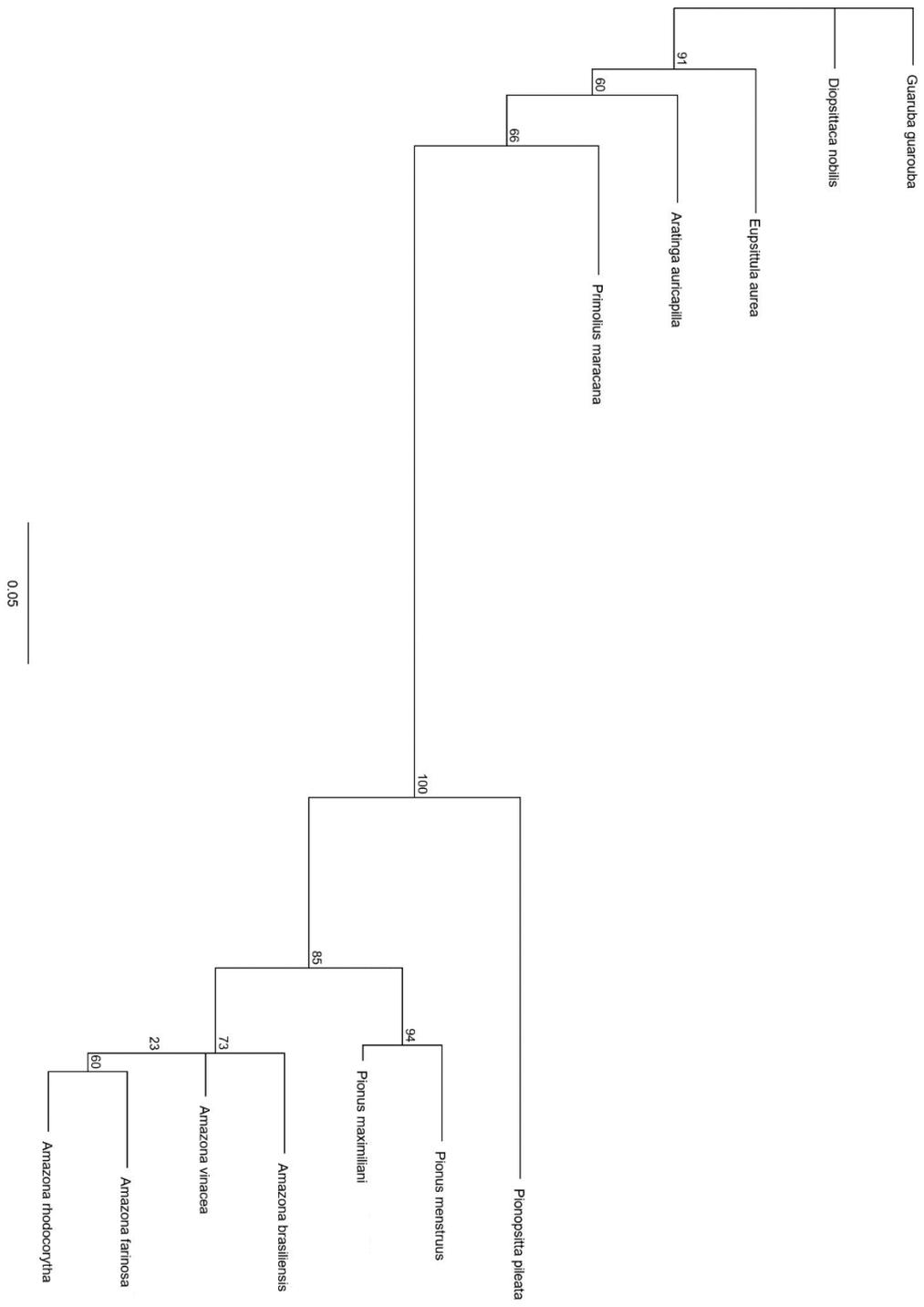


Figura 7

Tabela 1

Nome da espécie	Número de indivíduos observados
<i>Amazona aestiva</i>	6
<i>Amazona brasiliensis</i>	4
<i>Amazona farinosa</i>	3
<i>Amazona rhodocorytha</i>	2
<i>Amazona vinacea</i>	3
<i>Aratinga solstitialis</i>	3
<i>Diopsitaca nobilis</i>	4
<i>Eos bornea</i>	2
<i>Eupsittula aurea</i>	2
<i>Guaruba guarouba</i>	5
<i>Pionopsita pileata</i>	2
<i>Pionus maximiliani</i>	6
<i>Pionus menstruus</i>	9
<i>Primolius maracana</i>	5
<i>Psittacara leucophthalmus</i>	5
<i>Pyrrhura frontalis</i>	5
<i>Pyrrhura perlata</i>	1

Tabela 2

Sigla do comportamento utilizado no programa EthoLog	Descrição do comportamento utilizado para sequenciamento do comportamento de auto limpeza
OBS	Observar: Em repouso ou interrompendo um movimento a ave observa (por pelo menos 1s), sem iniciar nenhum surto de auto limpeza; a ave pode ou não estar apoiada em apenas uma das patas a outra pata fica recolhida entre as coberteiras do abdômen com os dígitos abduzidos; pescoço em posição

	normal, nem encolhido e nem distendido, e as asas não elevadas
CBA	Coçar bico e ou cabeça com uma das patas: A ave inclina o corpo para frente, a cabeça voltada para o lado e com uma das patas esticadas para cima, coça a região dorsal da cabeça, região perioftálmica, bico, pescoço ou peito com os dois dedos anteriores, se realiza o movimento com a pata esquerda, coça o lado esquerdo dessas regiões, se realiza o movimento com a pata direita, coça o lado direito dessas regiões
ACM	Arrumar as coberteiras do manto com o bico: A ave gira a cabeça pelo lado até o dorso, protraí o esterno e penteia as coberteiras com o bico puxando para cima, da base ao ápice, mastigando-as
ACG	Arrumar as coberteiras da garganta: A ave curva a cabeça sobre a garganta, acima da linha dos encontros. Protraí o esterno de forma a obter uma maior curvatura com o pescoço, penteia com o bico as coberteiras, da base ao ápice, repetidamente, por toda a região da garganta, repetindo o movimento de mastigar na base das coberteiras
ACP	Arrumar coberteiras do peito: Curvando a cabeça sobre o peito e penteia as coberteiras com o bico, puxando-as para cima da base ao ápice, repetidamente, por toda a região do peito, repetindo o movimento de mastigar na base das coberteiras
ACA	Arrumar as coberteiras do abdome: A ave curva a cabeça até o abdômen, contraindo o esterno

	<p>e subindo os encontros, puxa para cima as coberteiras, da base ao ápice, repetindo o movimento de mastigar na base das coberteiras, a ave pode ou não estar apoiada em apenas uma das patas e a outra pata fica recolhida entre as coberteiras do abdômen, com os dígitos abduzidos.</p>
AUR	<p>Arrumar coberteiras do uropígio, crisso e retrizes: A ave gira o pescoço em direção ao dorso, ao mesmo tempo em que abduz ligeiramente a asa e abre as retrizes. Se o pescoço gira para o lado esquerdo, o flanco direito fica elevado em relação ao esquerdo. Desenvolve-se um comportamento de mastigar as coberteiras do uropígio e/ou crisso e/ou de pentear as retrizes. A ave sacode horizontal e rapidamente as retrizes, que podem estar em sentido horizontal ou vertical</p>
ACE	<p>Arrumar coberteiras do encontro: Torcendo o pescoço em direção ao encontro. Inclinando ligeiramente o corpo, a ave abduz sutilmente a asa, enquanto, com o bico, inicia o comportamento de mastigar, nas penas sob o encontro</p>
LIT	<p>Limpeza do tarso: A limpeza desta região pode dar-se com uma das patas erguidas ou mantendo-as afastadas no poleiro. A ave inclina ligeiramente o corpo para frente, dobrando o pescoço para baixo e torcendo-o em direção ao tarso. No calção a ave desfere movimentos de abrir e fechar o bico, penteando as pernas que cobrem o calção, da base ao ápice. Nos dedos a ave realiza o movimento de “mordiscar” com a ponta do bico</p>

AST	<p>Arrumar as penas das asas pela parte de trás do corpo: A ave torce o pescoço para algum dos lados, ao mesmo tempo em que movimenta a cabeça em direção ao uropígio, ultrapassando a linha vertical do encontro. Enquanto desfere este movimento, estica ou afasta do flanco a asa direita/esquerda. Então, protraindo o esterno – deixando o flanco oposto ao da asa a ser limpa ligeiramente inclinado em relação a postura OBS- a ave alcança as penas da asa da porção superior da asa com o bico. Com o bico penteia as penas da base ao ápice repetidamente</p>
ASF	<p>Arrumar as penas das asas pela parte da frente do corpo: A ave torce o pescoço para a direita/esquerda, levando a cabeça na região inferior da asa. Enquanto desfere este movimento, estica ou afasta do flanco a asa direita/esquerda. Então, protraindo o esterno (deixando o flanco oposto ao da asa a ser limpa, ligeiramente inclinado à postura OBS) a ave alcança as penas da asa da porção inferior da asa com o bico. Com o bico penteia as penas da base ao ápice, repetidamente</p>
SAC	<p>Sacudir o corpo: A ave inicia um movimento giratório lateralmente para direita e esquerda. O encontro, do lado que se inicia o movimento, fica ligeiramente abaixo do nível do encontro oposto. O movimento, então, é desferido inversamente, sem interrupção, para o lado oposto, continua e velozmente. A cabeça e o pescoço acompanham o movimento giratório do restante do corpo.</p>

CBO	<p>Coçar o bico em um objeto: A ave esfrega o bico em um objeto. Posiciona a cabeça sobre o objeto de forma que, ao movimentar o seu bico para frente e para baixo, toda a extensão longitudinal do bico, raspe na superfície do objeto. Nesta categoria inclui-se também molhar o bico na água, submergindo apenas o bico.</p>
SCL	<p>Sacudir cabeça lateralmente: Com um movimento lateral da cabeça para direita/esquerda, a ave sacode horizontalmente, sem alterar a postura do corpo.</p>
ECM	<p>Esfregar cabeça e/ou mento no manto e/ou asa: A ave esfrega a cabeça ou o mento nas coberteiras terciárias anteriores de uma asa ou no manto. Esfregar consiste em torcer o pescoço e levar a cabeça em direção as coberteiras terciárias da asa ou no manto. E em seguida esfrega a cabeça ou o mento nas coberteiras, em um movimento de “vai e vem” em sentido antero posterior, a ave torce o pescoço para a direita e para a esquerda, levando a cabeça em direção ao dorso, de forma que o pescoço curva-se totalmente para trás, deixando o loro e a região malar em contato com o dorso</p>
NAL	<p>Não Autolimpeza: Categoria composta de outros comportamentos que não os de autolimpeza, como por exemplo bocejar, dormir com a cabeça voltada para o dorso; esticar a asa (s) (asas) e erguer as asas.</p>
END	<p>Fim do surto: Categoria utilizada para o processamento das sequências</p>

(Para maiores detalhes consultar Prates 2006).

### 3. Referências

- Alberts C.C. 1996. O comportamento de autolimpeza do gato doméstico (*Felis catus*) e uma proposta para usá-lo como caracter filogenético. Unpubl PhD. Thesis, Universidade de São Paulo, São Paulo, 125p.
- Alcock, J. 2009. Animal Behavior, an evolutionary approach. Sinauer Associates, Inc. EUA. 9ª ed.
- Amorim, D. 2002. Fundamentos de sistemática filogenética. Ribeirão Preto. Editora Holos.
- Avise, J.C. 2000. Phylogeography: The History and Formation of Species, Harvard. 447p
- Bates, J M; Garvin, M C; Schmitt, D C & Schmitt, C G. 1989. Notes On Bird Distribution In Northeastern Dpto. Santa Cruz Bolivia With 15 Species New To Bolivia. Bulletin of the British Ornithologists' Club.
- Beddard F. E. 1898. Structure and classification of birds. London: Longsman, Green and Co. p. 548
- Brower, A. V. 1996. A new mimetic species of *Heliconius* (Lepidoptera: Nymphalidae), from southeastern Colombia, revealed by cladistic analysis of mitochondrial DNA sequences. Zoological Journal of the Linnean Society, 116(3), 317-332;
- Bullerwell C.E. & Gray M.W. 2004. Evolution of the mitochondrial genome: protist connections to animals, fungi and plants. Current Opinion in Microbiology. 2004 Oct;7(5):528-34.
- Caparroz, R. & Pacheco, J. F. 2006. A homonymy in Psittacidae: new name for *Salvatoria* Miranda-Ribeiro. Rev. Bras. Orn. v. 14, n. 2, 174-75.
- Clements, J. F.; Schulenberg, T. S.; Iliff, M. J.; Roberson, D.; Fredericks, T. A.; Sullivan, B. L. & Wood, C. L.. The Clements checklist of Birds of the World: Version 6.9; Cornell: Cornell University Press, 2014.

Collar, N. J. 1997. Family Psittacidae (Parrots). In: del Hoyo, J.; Elliot, A. E.; Sargatal, J. (eds.). Handbook of the birds of the world. v. 4. Sandgrouse to Coochos. p. 280-477. Barcelona: Lynx Edition.

Collar, N.J.; Gonzaga, L.P.; Krabbe N.; Madroño Nieto A.; Naranjo L.G; Parker Iii T.A. & Wege D..1992. Threatened birds of Americas: the ICBP/IUCN red data book. Cambridge, International Council for Bird Preservation, 1150p

Dyke, G. J & Van Tuinen, M. 2004. The evolutionary radiation of modern birds (Neornithes): reconciling molecules, morphology and the fossil record. Zool. Journ. Linn. Soc., v. 141, p. 153–77.

Felsenstein J. 1985. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. Evolution 39:783-791.

Fentress, J. C. (1973). Development of grooming in mice with amputated forelimbs. Science, 179(4074), 704-705.

Ferkin, M. H.; Sorokin, E.S. & Johnston, R.E. 1996. Self-grooming as a sexually dimorphic communicative behaviour in meadow voles, *Microtus pennsylvanicus*. Animal Behavior 51: 801-810.

Ferkin, M.H.; Leonard, S.T.; Heath, L.A. & Paz-y-Miño C.G. 2001. Self-grooming as a tactic used by prairie voles *Microtus ochrogaster* to enhance sexual communication. Ethology 107: 939-949.

Forshaw, J. M. & Cooper, W. T. 1989. Parrots of the world. Willoughby, Austrália: Lansdowne Editions.

Gaban-Lima, R. & Höfling, E. 2006. Comparative anatomy of the syrinx in the tribe Arini (Aves: Psittacidae). Brazilian journal of morphological sciences. v. 23, n. 3-4, p. 501-12.

Gadow, H. 1892. On the classification of birds. Proceedings of the Zoological Society of London, p. 229-56.

Garrod, A. H. 1874. On certain muscles of birds and their value in classification. Part II. Proceedings of the Zoological Society of London, p. 111-24.

- Giribet, G. 2015. New animal phylogeny: future challenges for animal phylogeny in the age of phylogenomics. *Org Divers Evol*, v. 2015, p. 1-8.
- Glenny, F. H. 1959. Specific and individual variation in reduction of the clavicles in parrots. *The Ohio Journal of Science.*, v. 59, p. 321-2.
- Goldstein, P. Z., & DeSalle, R. 2011. Integrating DNA barcode data and taxonomic practice: determination, discovery, and description. *Bioessays*, 33(2), 135-147;
- Goloboff, P., Farris, J. & Nixon, K. 2008 TNT, a free program for phylogenetic analysis. *Cladistics* 24: 774-786.
- Guimarães, M.A. 2005. Cladogramas e Evolução no Ensino de Biologia. Dissertação (Mestrado em Educação para a Ciência) – Universidade Estadual Paulista, Bauru. 2005.
- Gysels H. 1964. A biochemical evidence for the heterogeneity of the family Psittacidae. *Bulletins de la Société royale de zoologie d'Anvers* 33:29-41.
- Hebert P.D.N., Stoeckle M.Y., Zemplak T.S., Francis C.M. 2004 Identification of birds through DNA barcodes. *PLoS Biology* (2004); 2(10):e312. doi: 10.1371/journal.pbio.0020312 PMID: 15455034; PubMed Central PMCID: PMC518999.
- Japyassú, H.F., Alberts, C.C., Izar, P. & Sato, T. 2006. EthoSeq: a tool for phylogenetic analysis and data mining on behavioural sequences. – *Behavior Research Methods*.
- Kress, W. J.; Erickson, D. L. 2008 DNA barcodes: Genes, genomics, and bioinformatics. *PNAS*, v. 105, n. 8, 2761-2762.
- Kuhn, T.S. 1991. A estrutura das revoluções científicas. São Paulo: Perspectiva.
- Kumar S.; Stecher G.; Li M.; Knyaz C.; & Tamura K. 2018. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution* 35:1547-1549.
- Kvist, S. 2013. Barcoding in the dark? A critical view of the sufficiency of zoological DNA barcoding databases and a plea for broader integration of

taxonomic knowledge. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, v. 69, n. 1, p. 39-45.

Laranjeiras, T.O. 2008. Distribuição geográfica, história natural e conservação da ararajuba (*Guarouba guarouba* - psittacidae) (Dissertação de Mestrado em Ecologia). Manaus: INPA-UFAM

Lenhard, B.; Sandelin, A.; Mendoza, L.; Engstrom, P. 2003 Identification for conserved regulatory elements by comparative genome analysis. *Journal of Biology*, v. 2, p. 13-30.

Livezey, B. C. & Zusi, R. L. 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.

Malange J, Alberts CC, Oliveira ES, Oliveira ES, Japyassú HF. The evolution of behavioural systems: A study of grooming in rodents. *Behaviour*. 2013;150: 1295–1324.

Matioli, R. S., Passos-Bueno, M. R. S. 2001. Métodos baseados em PCR para análise de plimorfismos de ácidos nucléicos. In: MATIOLI, S. R. (ED.). *Biologia Molecular e Evolução*, Ribeirão Preto, Holos, p. 153-161.

Mayr, E. & Amadon, D. 1951. A classification of recent birds. *American Museum Novitates*, n. 1956, 42 p.

Miyaki, C.Y.; Matioli, S.R.; Burke, T. & Wanjtal A. 1998. Parrot evolution and paleogeographical events: mitochondrial DNA evidence. *Society for Molecular Biology and Evolution*

Murphy, J. B. & Campbell, J. A. 1987. Captive maintenance. In: Seigel, R. A.; Collins, J. T. & Novak, S.S. eds. *Snakes: Ecology and Evolutionary Biology*. New York, McMillan. p.165-183.

Nei M. & Kumar S. 2000. *Molecular Evolution and Phylogenetics*. Oxford University Press, New York.

Nixon K. 1999. *Winclada: a windows program for creating, editing and analyzing systematic data sets*.

Nobrega, M. A.; Pennacchio, L. A. 2004 Comparative genomic analysis as a tool for biological discovery. *Journal of Physiology*, v. 554, n. 1, p. 31-39.

Otoni, E. B. EthoLog 2.2: a tool for the transcription and timing of behavior observation sessions. *Behavior Research Methods Instruments & Computers*. v. 32, n. 3, p. 446-449, 2000.

Piacentini, V. Q.; Aleixo, A.; Agne, C. E.; Maurício, G. N.; Pacheco, J. F.; Bravo, G. A.; Brito, G. R. R.; Naka, L. N.; Olmos, F.; Posso, S.; Silveira, L. F.; Betini, G. S.; Carrano, E.; Franz, I.; Lees, A. C.; Lima, L. M.; Pioli, D.; Schunck, F.; Amaral, F. R.; Bencke, G. A.; Cohn-Haft, M.; Figueiredo, L. F. A.; Straube, F. C. & Cesari, E. 2015. Annotated checklist of the birds of Brazil by the Brazilian Ornithological Records Committee. *Revista Brasileira de Ornitologia* 23:91–298

Prates, F.O. 2006. Relações filogenéticas entre as espécies cauda-longa da tribo Arini (Aves, Psittaciformes). Dissertação de Doutorado. Botucatu: Universidade Estadual Paulista.

Primrose, S. B.; Twyman, S. R. 2003 *Principles of Genome analysis and genomics*, 3 ed. Turin: Blackwell Publishing Company, 263p.

Quadros A.H. 2002. Filogenia da família Cathartidae (Aves) baseada em comportamento de autolimpeza. Unpubl. MSc. Dissertation- Universidade de São Paulo, São Paulo, 175p.

Quadros A.H. 2008. Filogenia de Falconiforme (Aves) baseada em comportamento de autolimpeza. Tese (Doutorado) – Instituto de Psicologia, Universidade de São Paulo

Ratnasingham S.; Hebert P.D.N. 2007. The Barcode of Life Data System. *Molecular Ecology Notes*, ([www.barcodinglife.org](http://www.barcodinglife.org)) 7: 355–364.

Remsen Jr. J.V.; Schirtzinger, E.E.; Ferraroni, A.; Silveira, L.F.; & Wright, T.F. 2013. DNA-sequence data require revision of the parrot genus *Aratinga* (Aves: Psittacidae). *Zootaxa* 3641(3): 296–300. doi: 10.11646/zootaxa.3641.3.9

Saccone, C. 1994 The evolution of mitochondrial DNA. *Current Opinion in Genetic and Development*. v. 4, p. 875-881.

Salvadori, T. 1891. Catalogue of the Psittaci, or parrots, in the collection of the British Museum. Catalogue of the Birds in the collection of the British Museum, v. 20. London: Longman and Company.

Savolainen, V.; Cowan, R. S.; Vogler, A. P.; Roderick, G. K. & Lane, R. 2005. Towards writing the encyclopaedia of life: an introduction to DNA barcoding. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 360(1462), 1805-1811;

Schwartz, S.; Zhang, Z.; Frazer, K. A.; Smit, A.; Riemer, C.; Bouck, J.; Gibbs, R.; Hardison, R.; Miller, W. 2000. PipMaker – A web server for Aligning two genomic DNA sequences. *Genome Research*, v. 10, p. 577-586.

Seixas, G.H. & Mourão, G. 2018. Communal roosts of the Blue-fronted Amazons (*Amazona aestiva*) in a large tropical wetland: Are they of different types? *PLOS ONE*. 13. e0204824. 10.1371/journal.pone.0204824.

Sick H. 1997. *Ornitologia Brasileira*. Rio de Janeiro: Editora Nova Fronteira, 1997. 912p.

Sipinski E.A.B., Abbud M.C., Sezerban R.M., Serafini P.P., Boçon R., Manica L.T. et al. Tendência populacional do papagaio-de-cara-roxa (*Amazona brasiliensis*) no litoral do estado do Paraná. 2014. *Ornithologia*. 146 (2): 136-143

Smith, A. G. 1975. Systematics of parrots. *Ibis*, v.117, p. 18-68.

Somenzari, M. & Silveira, L. F. 2015. Taxonomy of the *Pyrrhura perlata-coerulescens* complex (Psittaciformes: Psittacidae) with description of a hybrid zone. *Journal of Ornithology*, 156: 1049- 1060.

Spruijt B.M.; Van Hooff J.A. & Gispen W.H. 1992 Ethology and neurobiology of grooming behavior. *Physiol Rev* 72: 825–852, 1992

Tavares E.S.; Baker A.J.; Pereira S.L. & Miyaki C.Y. 2006. Phylogenetic relationships and historical biogeography of Neotropical parrots (Psittaciformes: Psittacidae: Arini) inferred from mitochondrial and nuclear DNA sequences. *Systematic Biology* 55: 454–470.

#### 4. Anexos

##### Diretrizes da Revista Brasileira de Zoologia

##### MANUSCRITOS

Devem ser acompanhados por carta de concessão de direitos autorais e anuência, modelo disponível no site da SBZ (Sociedade Brasileira de Zoologia), assinada por todos os autores. Os artigos devem ser enviados em três vias impressas e em mídia digital, disquete ou CD, em um único arquivo no formato PDF, incluindo as figuras e tabelas. O texto deverá ser digitado em espaço duplo, com margens esquerda e direita de 3 cm, alinhado à esquerda e suas páginas devidamente numeradas. A página de rosto deve conter: 1) título do artigo, mencionando o (s) nome (s) da (s) categoria (s) superior (es) à qual o (s) animal (ais) pertence (m);

2) nome (s) do (s) autor (es) com endereço (s) completo (s), exclusivo para recebimento de correspondências, e com respectivos algarismos arábicos para remissões;

3) resumo em inglês, incluindo o título do artigo se o mesmo for em outro idioma

4) palavras-chave em inglês, no máximo cinco, em ordem alfabética e diferentes daquelas utilizadas no título;

5) resumo e palavras-chave na mesma língua do artigo, ou em português se o artigo for em inglês, e equivalentes às do resumo em inglês. O conjunto de informações dos itens 1 a 5 não deve exceder a 3500 caracteres considerando-se espaços.

Os nomes de gênero (s) e espécie (s) são os únicos do texto em itálico. A primeira citação de um taxon no texto, deve vir acompanhada do nome científico por extenso, com autor e data, e família.

Citações bibliográficas devem ser feitas em caixa alta reduzida (Versalete) e da seguinte forma: Smith (1990), Smith (1990: 128), Lent & Jurberg (1965), Guimarães et al. (1983), artigos de um mesmo autor ou sequências de citações devem ser arrolados em ordem cronológica.

## **ILUSTRAÇÕES E TABELAS**

Fotografias, desenhos, gráficos e mapas serão denominados figuras. Desenhos e mapas devem ser feitos a traço de nanquim ou similar. Fotografias devem ser nítidas e contrastadas e não misturadas com desenhos. A relação de tamanho da figura, quando necessária, deve ser apresentada em escala vertical ou horizontal.

As figuras devem estar numeradas com algarismos arábicos, no canto inferior direito e chamadas no texto em ordem crescente, devidamente identificadas no verso, obedecendo a proporcionalidade do espelho (17,0 por 21,0 cm) ou da coluna (8,3 por 21,0 cm) com reserva para a legenda.

Legendas de figuras devem ser digitadas logo após à última referência bibliográfica da seção Referências Bibliográficas, sendo para cada conjunto um parágrafo distinto.

Gráficos gerados por programas de computador, devem ser inseridos como figura no final do texto, após as tabelas, ou enviados em arquivo em separado. Na composição dos gráficos usar fonte Arial. Não utilizar caixas de texto.

Figuras em formato digital devem ser enviadas em arquivos separados, no formato TIF com compactação LZW. No momento da digitalização utilizar as seguintes definições mínimas de resolução: 300 ppp para fotos coloridas ou em tons de cinza; 600 ppp para desenhos a traço. Não enviar desenhos e fotos originais quando da submissão do manuscrito.

Tabelas devem ser geradas a partir dos recursos de tabela do editor de texto utilizado, numeradas com algarismos romanos e inseridas após a última legenda de figura. O cabeçalho de cada tabela deve constar junto à respectiva tabela.

Figuras coloridas poderão ser publicadas com a diferença dos encargos custeada pelo (s) autor (es).

## **AGRADECIMENTOS**

Agradecimentos, indicações de financiamento e menções de vínculos institucionais devem ser relacionados antes do item Referências Bibliográficas.

## **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

As Referências Bibliográficas, mencionadas no texto, devem ser arroladas no final do trabalho, como nos exemplos abaixo.

Periódicos devem ser citados com o nome completo, por extenso, indicando a cidade onde foi editado.

### **Periódicos**

Nogueira, M.R.; A.L. Peracchi & A. Pol. 2002. Notes on the lesser white-lined bat, *Saccopteryx leptura* (Schreber) (Chiroptera, Emballonuridae), from southeastern Brazil. *Revista Brasileira de Zoologia*, Curitiba, 19 (4): 1123-1130.

Lent, H. & J. Jurberg. 1980. Comentários sobre a genitália externa masculina em *Triatoma* Laporte, 1832 (Hemiptera, Reduvinidae). *Revista Brasileira de Biologia*, Rio de Janeiro, 40 (3): 611-627.

Smith, D.R. 1990. A synopsis of the sawflies (Hymenoptera, Symphita) of America South of the United States: Pergidae. *Revista Brasileira de Entomologia*, São Paulo, 34 (1): 7-200.

### **Livros**

Hennig, W. 1981. *Insect phylogeny*. Chichester, John Wiley, XX+514p.

### **Capítulo de livro**

Hull, D.L. 1974. Darwinism and historiography, p. 388-402. In: T.F. Glick (Ed.). *The comparative reception of Darwinism*. Austin, University of Texas, IV+505p.

### **Publicações eletrônicas**

Marinoni, L. 1997. Sciomyzidae. In: A. Solís (Ed.). Las Familias de insectos de Costa Rica. Disponível na World Wide Web em: <http://www.inbio.ac.cr/papers/insectoscr/Texto630.html> [data de acesso].