

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 29/08/2021.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Botucatu



**Análises genéticas e ações educativas direcionadas a *Amazona vinacea*
(papagaio-de-peito-roxo): contribuições à conservação da espécie no Parque
Nacional das Araucárias**

Talita Roberto Aleixo de Almeida

Botucatu, SP

2019



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Botucatu



Análises genéticas e ações educativas direcionadas a *Amazona vinacea* (papagaio-de-peito-roxo): contribuições à conservação da espécie no Parque Nacional das Araucárias

Aluno: Talita Roberto Aleixo de Almeida

Orientador: Profa. Dra. Adriane Pinto Wasko

Coorientador: Dra. Flávia Torres Presti

Coorientador: Dra. Vanessa Paes da Cruz

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Genética) do Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor.

Botucatu/SP

2019

Ficha catalográfica

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Almeida, Talita Roberto Aleixo de.

Análises genéticas e ações educativas direcionadas a *Amazona vinacea* (papagaio-de-peito-roxo) : contribuições à conservação da espécie no Parque Nacional das Araucárias / Talita Roberto Aleixo de Almeida. - Botucatu, 2019

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: Adriane Pinto Wasko

Coorientador: Flávia Torres Presti

Coorientador: Vanessa Paes da Cruz

Capes: 20200005

1. Papagaio (Ave). 2. Aves - Proteção. 3. Características da população. 4. Variação Variação genética.

Palavras-chave: *Amazona vinacea*; conservação; estratégias educacionais; estrutura populacional; variabilidade genética.

*A todos os meus professores,
que desde os anos iniciais de ensino
foram fundamentais para eu chegar até aqui.*

Dedico

Agradecimentos

À Profa. Dra. Adriane Pinto Wasko, pelo acolhimento e oportunidade de desenvolver esse trabalho e por me orientar ao longo de sete anos.

À Dra. Flávia Torres Presti, pela coorientação, pelas discussões e confiança em desenvolver o presente trabalho.

À Dra. Vanessa Paes da Cruz, pela coorientação, pelas discussões, confiança e por sempre estar disposta a me ajudar ao longo desse trabalho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Genética) e seus funcionários, pelo auxílio na realização desse trabalho.

Ao Diogo, Daiana, Adauto, André e Luiz, pela colaboração nos materiais didáticos produzidos.

Aos professores e funcionários do Departamento de Genética, por toda colaboração e suporte oferecidos durante esse tempo de trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa concedida.

Ao Instituto Espaço Silvestre que concedeu as amostras biológicas de *Amazona vinacea* para o desenvolvimento desse trabalho.

Ao Prof. Dr. Cláudio Oliveira e ao Prof. Dr. Fausto Foresti, pelo apoio e pela infraestrutura cedida para que eu pudesse realizar uma parte desse trabalho.

Ao Rafael Takahiro, por todo o carinho, presença e apoio em todos os momentos.

À família Nakajima, por todo carinho e apoio nesses dois anos.

Aos meus amigos Bruna, Érica, Carol, Camila, Sabrina, July, Paty, Chokito e Akira, por toda amizade, carinho e apoio.

Às minhas crianças Lívia, Mimi, Gigio e Doninho que só enchem o coração de amor e alegria.

A toda minha família, pelo amor, apoio e incentivo. Muito obrigada pelos conselhos, ensinamentos, valores familiares e pelo exemplo de honestidade e trabalho.

Agradeço a todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização desse trabalho.

Resumo

Amazona vinacea (Kuhl, 1820) (papagaio-de-peito-roxo) é uma espécie de psitacídeo considerada ameaçada de extinção em consequência, principalmente, da perda de seu habitat e do intenso tráfico ilegal. Sua população original era distribuída desde a região do sul da Bahia ao Rio Grande do Sul no Brasil, incluindo ainda o sudeste do Paraguai e a província de Misiones na Argentina. Atualmente, sua distribuição encontra-se fragmentada e estima-se que o número de indivíduos em vida livre no Brasil esteja entre 1.000 a 2.500 animais. Diante do exposto, com o objetivo de estimar os níveis de diversidade genética de *A. vinacea* e o grau de parentesco, foram analisados indivíduos reintroduzidos no Parque Nacional das Araucárias no Estado de Santa Catarina e também de animais cativos de diferentes regiões do Brasil, por meio de marcadores moleculares microssatélites e da região controle D-loop do DNA mitocondrial. Foram genotipadas 160 amostras de *A. vinacea* para 7 locos microssatélites e 103 amostras foram sequenciadas para caracterização do DNA mitocondrial. Os resultados obtidos detectaram uma alta variabilidade genética em *A. vinacea*, quando comparada com outros psitacídeos. Uma maior variabilidade foi observada nos locos de microssatélites quando comparados com a região controle do DNA mitocondrial. As análises de diferenciação genética apontaram uma baixa estruturação entre os grupos amostrados, o que pode sugerir fluxo gênico ou expansão populacional / colonização recente. Nas comparações par-a-par entre os indivíduos, as análises de parentesco indicaram que mais de 80% destes não são relacionados. No presente trabalho, também foram desenvolvidos materiais didáticos relacionados à biologia e conservação de *A. vinacea*, como objetivo complementar. Os resultados e materiais gerados poderão melhor subsidiar programas e ações para conservação de populações reintroduzidas e de cativeiro de *A. vinacea*.

Palavras-chave: *Amazona vinacea*, conservação, estrutura populacional, variabilidade genética, estratégias educacionais.

Abstract

Amazona vinacea (Kuhl, 1820) (purple-breasted parrot) is a parrot species that is considered endangered, especially as a result of habitat loss and intense illegal traffic. Its original population was found from the south region of Bahia to Rio Grande do Sul in Brazil, and also included the southeastern Paraguay and the province of Misiones in Argentina. Its current distribution is fragmented and it is estimated that the number of free-living individuals in Brazil is around 1,000 to 2,500 animals. Due to this scenario, in order to estimate the levels of genetic diversity of *A. vinacea* and the kinship degree, animals that were reintroduced at the National Park of Araucárias at Santa Catarina State and also captive individuals from different regions of Brazil were analyzed throughout microsatellite molecular markers and the D-loop control region of the mitochondrial DNA. A total of 160 samples of *A. vinacea* were genotyped for 7 microsatellite locos and 103 samples were sequenced in order to characterize the mitochondrial DNA. The results indicated a high genetic variability in *A. vinacea*, when compared to other Psittacidae species. A higher variability was observed in microsatellite locos when compared to the mitochondrial DNA control region. Genetic differentiation analyzes indicated low structuring among the sampled groups, which could suggest gene flow or population expansion / recent colonization. In pairwise comparisons between the individuals, kinship analyzes indicated that more than 80% of these are unrelated. In the present work, educational materials related to the biology and conservation of *A. vinacea* were also developed, as an additional goal. The obtained results and materials could be used to subsidize programs and actions for the conservation of reintroduced and captive populations of *A. vinacea*.

Key words: *Amazona vinacea*, conservation, genetic structure, diversity index, education strategies.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Exemplos de <i>Amazona vinacea</i> (papagaio-de-peito-roxo)	26
Figura 2. Mapa de ocorrência de <i>Amazona vinacea</i>	27
Figura 3. Visualização da amplificação dos genes <i>CHD1-Z</i> e <i>CDH1-W</i> em indivíduos de <i>Amazona vinacea</i> em gel de agarose	47
Figura 4. Gráfico representativo da estimativa de grupos gênicos	53
Figura 5. Estimativa de estrutura populacional em <i>Amazona vinacea</i> com bases em inferências de <i>memberships</i> proporcionais (K=2)	53
Figura 6. Rede de relacionamento de haplótipos de um fragmento de 558 pb da região controle do DNA mitocondrial de exemplares de <i>Amazona vinacea</i> de quatro grupos amostrais	58
Figura 7. Gráfico de distribuição das diferenças nucleotídicas aos pares (<i>mismatch distribution</i>) para haplótipos encontrados em amostras de <i>Amazona vinacea</i> para a espécie como um todo	61
Figura 8. Exemplo de ilustração que compõem a cartilha educativa	88
Figura 9. Imagem da gravação do áudio-book: <i>Papagaio-de-peito-roxo: por que conservar?</i>	88

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Número amostral e origem das amostras	32
Tabela 2. Sequência dos <i>primers</i> dos microsatélites	34
Tabela 3. Análise de variabilidade por loco para indivíduos de <i>Amazona vinacea</i> de cada grupo amostral	49

Tabela 4. Índices de fixação FIS, FIT e F_{ST} baseados em locos microssatélites de <i>Amazona vinacea</i>	50
Tabela 5. Conteúdo de Informação Polimórfica (PIC) dos sete locos microssatélites para amostragens de <i>Amazona vinacea</i>	50
Tabela 6. Tamanho efetivo populacional em diferentes grupos amostrais de <i>Amazona vinacea</i>	50
Tabela 7. Sítios variáveis da região controle do DNA mitocondrial	51
Tabela 8. Valores de índices de diversidade genética	52
Tabela 9. Atribuição dos grupos através do <i>assignment test</i>	54
Tabela 10. Índices de fixação F_{ST} e R_{ST} a partir da análise de microssatélites	54
Tabela 11. Índices de fixação F_{ST} a partir da análise da região controle do DNA mitocondrial	55
Tabela 12. Valor de Φ_{ST} , calculado pela AMOVA	56
Tabela 13. Resultado da AMOVA para três grupos de <i>Amazona vinacea</i>	57
Tabela 14. Classificação do teste de <i>Wilcoxon signed-rank</i> do equilíbrio de mutação e deriva estimado para sete locos de microssatélites para cada grupo amostrado de <i>Amazona vinacea</i> e para a espécie como um todo	59
Tabela 15. Índices de neutralidade D de Tajima (D_T), F_s de F_u (F_s), D^* e F^* para cada grupo amostrado de <i>Amazona vinacea</i> e para a espécie como um todo	60
Tabela 16. Média e variância de valor de parentesco entre exemplares de <i>Amazona vinacea</i> calculadas a partir de sete estimadores	63
Tabela 17. Porcentagem das combinações par-a-par relacionada às categorias de parentesco entre os grupos amostrados de <i>Amazona vinacea</i>	63
Tabela 18. Análise dos estimadores de parentesco	64

Tabela 19. Probabilidade de parentesco 64

Tabela 20. Comparação dos níveis de diversidade genética entre diferentes espécies de psitacídeos do gênero *Amazona* 67

SUMÁRIO

Capítulo I	16
1 Introdução	17
1.1 Conservação Biológica e Genética	17
1.2 Marcadores moleculares	19
1.3 Análise de parentesco	22
1.4 Família Psittacidae	23
1.5 <i>Amazona vinacea</i>	25
1.6 Justificativa	29
2 Objetivo	30
3 Materiais e Métodos	31
3.1 Obtenção de material biológico	31
3.2 Extração de DNA total	32
3.3 Quantificação do DNA amostral	33
3.4 Sexagem molecular	33
3.5 Reação de amplificação dos locos de microsatélites	34
3.6 Reação de amplificação (PCR) e purificação da região controle do DNA mitocondrial	36
3.7 Reação de Sequenciamento	37
3.8 Análise dos dados	38

3.8.1	Microssatélites	38
3.8.2	DNA mitocondrial	39
3.8.3	Estrutura Genética Populacional	40
3.8.4	Inferência Demográfica	42
3.8.5	Análises de Parentesco	44
4	Resultados	46
4.1	Isolamento de DNA	46
4.2	Sexagem molecular	46
4.3	Caracterização dos locos de microssatélites e identificação de erros de genotipagem	47
4.4	Sequência da região controle do DNA mitocondrial	51
4.5	Diferenciação genética	52
4.6	Inferências Demográficas	58
4.7	Análise de Parentesco	62
5	Discussão	65
5.1	Sexagem molecular	65
5.2	Variabilidade Genética	67
5.3	Estrutura Genética	70
5.4	Inferências Demográficas	73
5.5	Microssatélites e Estimadores de Parentesco	75
5.6	Implicações para Conservação	78

5.6.1	Indivíduos cativos de <i>Amazona vinacea</i>	78
5.6.2	Reintrodução de <i>Amazona vinacea</i> no Parque Nacional das Araucárias	80
6	Considerações Finais e Conclusões	83
	Capítulo II	84
1	Introdução e Justificativa	85
2	Objetivos	86
3	Desenvolvimento	87
4	Resultados	88
5	Perspectivas	89
	Referências Bibliográficas	90
	Anexos	
	Anexo 1	108
	Anexo 2	115

Capítulo I

Análises genéticas em *Amazona vinacea*

1 INTRODUÇÃO

1.1 Conservação Biológica e Genética

Estima-se que, desde o século XVII, muitas espécies foram extintas na natureza de forma acelerada, a qual supera a taxa natural de extinção (Ceballos *et al.*, 2015). Muitas de suas perdas ocorrem devido ao desmatamento, conversão de paisagens naturais em reflorestamentos, pastagens e culturas agrícolas, ocasionados pela expansão industrial e urbana (Allendorf *et al.*, 2008; Ceballos *et al.*, 2015). Como consequência dessas intervenções, uma alteração global ainda não planejada está sendo testemunhada, com efeitos diretos sobre a diversidade biótica do planeta (Smith e Bernatchez, 2008).

Populações que apresentam diminuição no número de indivíduos são mais sujeitas aos fatores estocásticos ambientais, demográficos e genéticos e a perda de habitat pode diminuir o fluxo gênico entre populações, assim como pode redcarouzir ou eliminar a colonização por espécies presentes em áreas vizinhas (Pires *et al.*, 2006). É importante ressaltar também que espécies que são caracterizadas por longo período de geração, ou por estruturas populacionais fragmentadas, tornam-se menos capazes de se adaptar rápido o suficiente para acompanhar o ritmo das alterações humanas no meio ambiente. Tais características biológicas contribuem, juntamente com fatores não evolutivos, para o que tem sido chamada de perspectiva iminente da sexta extinção em massa da Terra (Carroll *et al.*, 2014).

A redução da diversidade genética diminui o potencial de adaptação das populações em resistir às variações ambientais via seleção natural (Primack & Rodrigues, 2002). Populações de espécies raras têm, em geral, menor variação genética em relação às mais comuns e, por isso, são mais vulneráveis à extinção em locais de baixa resistência ambiental (Ridley, 2006). Esses fatores atuam nas populações pequenas, acentuando ainda mais a redução no número de

indivíduos, tornando-as mais vulneráveis aos próprios fatores estocásticos e dirigindo-as à extinção, entrando em um ciclo conhecido como vórtex da extinção (Gilpin & Soulé, 1986).

Diante desse cenário, a área da Genética da Conservação emergiu para empregar teorias e técnicas da Genética em programas de conservação com o objetivo de reduzir os riscos de extinção, principalmente em espécies ameaçadas (Frankham *et al.*, 2008). Para minimizar essa problemática, diversas medidas para a conservação de espécies têm sido propostas e implementadas, especialmente por instituições acadêmicas e organizações não governamentais, com o objetivo de diminuir os riscos da perda da biodiversidade. Entre essas propostas, podem ser destacadas aquelas que apontam áreas e ações prioritárias para a conservação e ações que incluem desde o monitoramento de populações em ambiente naturais (*in situ*), manejo de populações cativas (*ex situ*) e programas de reintrodução que visam o restabelecimento de populações viáveis na natureza (Bencke *et al.* 2006; Haigh *et al.* 2016).

A reintrodução consiste em uma medida de manejo baseada na liberação de animais em um ambiente natural apropriado, desde que ocorra dentro da área original de abrangência da espécie e que já tenha existido uma população de vida livre no local escolhido (IUCN, 2014). Entretanto, em alguns casos, abordagens genéticas são desconhecidas ou negligenciadas em programas de reintrodução. Geralmente, as populações reintroduzidas possuem poucos indivíduos e estes podem estar sujeitos aos efeitos de deriva genética e endogamia (Frankham *et al.*, 2008).

O manejo de populações cativas desempenha um papel importante na conservação de espécies em condições artificiais atuando como ferramenta de gestão para garantir a segurança demográfica (Witzenberg & Hochkirch, 2011; Haigh *et al.* 2016). Segundo a União Internacional para Conservação da Natureza (IUCN), quando o número de indivíduos restantes

de uma determinada espécie ameaçada está em declínio, esta deve ser trazida para cativeiro como estratégia para atingir condições mais seguras a fim de restaurar o tamanho populacional. Entretanto, um dos desafios para a propagação em longo prazo de animais em cativeiros é amenizar a redução da diversidade genética e da heterozigose, uma vez que estas reduções ocorrem porque as populações de cativeiro são, geralmente, menores que as populações naturais e dessa forma estão mais expostas aos efeitos da deriva genética, endocruzamento e efeitos fundadores (Witzenberg & Hochkirch, 2011).

Programas que visam a reprodução em cativeiro e a reintrodução de animais na natureza podem ser beneficiados por dados de diversidade genética, por intermédio da identificação de populações e/ou indivíduos potenciais para evitar a depressão endogâmica e exogâmica (Frankham *et al.*, 2008). Tais informações genéticas são atualmente obtidas por meio de diferentes marcadores moleculares, associados tanto ao genoma nuclear quanto ao genoma mitocondrial. O uso desses marcadores, associado a análises estatísticas, tem se mostrado extremamente eficiente em estudos direcionados à conservação e uso de recursos genéticos.

1.2 Marcadores moleculares

Com o advento das técnicas de biologia molecular, tornou-se possível a manipulação de ácidos nucleicos, o que levou à análise de diferentes tipos de marcadores moleculares desde a década de 1980. Tais marcadores moleculares podem corresponder a qualquer loco gênico, ou seu próprio produto, que apresente polimorfismos inerentes e que possam ser aplicados em estudos que buscam compreender um aspecto biológico. De maneira mais ampla, marcadores moleculares podem ser definidos como todo e qualquer fenótipo molecular oriundo de um gene expresso ou de qualquer outro segmento específico de DNA (Awise, 2004).

Os dados resultantes de análises genéticas embasadas em diferentes tipos de marcadores moleculares representam ferramentas poderosas e informativas para ecólogos e geneticistas da conservação definirem, por exemplo, a escala geográfica e a área adequada para realização de monitoramento e manejo das populações (Feral, 2002; Caparroz *et al.*, 2013), a estrutura genética entre populações de uma mesma espécie (Presti *et al.*, 2015; Almeida *et al.*, 2019), identificar o sexo de espécies que não apresentam dimorfismo sexual aparente (Bantock *et al.*, 2007), verificar a origem geográfica de um indivíduo e dar suporte ao controle do tráfico ilegal de animais (Presti *et al.*, 2015). Dentre os marcadores utilizados em análises genéticas com tais enfoques, destacam-se a região controle do DNA mitocondrial (DNAMt) e os microssatélites, por serem altamente polimórficos e possuírem altas taxas de mutação (Collet, 2004).

O genoma mitocondrial em animais é constituído de uma molécula circular covalentemente fechada de pequeno tamanho, que possui em média 16 kb de comprimento, sendo herdado maternalmente e geralmente não apresentando recombinação gênica (Avisé *et al.*, 1994). Este está organizado em 37 genes codificantes, dos quais 22 resultam em RNAs transportadores, 2 são para RNAs ribossomais e 13 são transcritos em RNAs mensageiros e traduzidos, principalmente, nos complexos proteicos responsáveis pela dinâmica da cadeia transportadora de elétrons (Avisé, 2000). O tamanho efetivo populacional, calculado baseando-se no DNA mitocondrial é quatro vezes menor quando comparado ao calculado para o genoma nuclear (Haavie *et al.*, 2000) e a variabilidade encontrada no DNA mitocondrial é menor do que a encontrada para os microssatélites (Avisé, 2000). Embora o DNA mitocondrial seja relativamente bem conservado entre distintas espécies animais, sua ordem e estrutura gênica têm mostrado variação em diferentes grupos de aves e um exemplo dessas diferenças está relacionado à região controle, denominada de D-loop. A região controle é caracterizada por apresentar alta variabilidade devido, principalmente, a substituições de nucleotídeos, presença

de curtas deleções e inserções e variação no número de repetições em *tandem* (Hartl & Clark, 1997).

A região controle do DNA mitocondrial vem sendo analisada para identificar o nível da variabilidade genética em diversas espécies de aves, como *Dendroica petechia* (mariquita-amarela) (Browne *et al.*, 2008), *Phalacrocorax auritus* (biguá de crista dupla) (Mercer *et al.*, 2013), *Larus dominicanus* (gaivotão) (Dantas, 2012), em espécies diversas das famílias Phasianidae (Huang & Ke, 2016), Anatidae (Warzecha, *et al.*, 2018) e Psittacidae (Eberhard *et al.*, 2001; Caparroz, 2009; Fernandes *et al.*, 2013). Tais informações mostram-se úteis na proposição e desenvolvimento de estratégias conservacionistas e planos de manejo populacional, especialmente aquelas associadas a espécies e/ou populações ameaçadas de extinção.

Outra técnica que tem sido muito utilizada para estudos biológicos envolve a aplicação de marcadores nucleares do tipo microssatélites (SSRs – *Simple Sequence Repeats*), os quais são compostos por unidades de sequências de 1 a 6 pares de bases (pb) repetidas *em tandem* e apresentam repetições di, tri, tetra e hexanucleotídicas. Sendo as di, tri, e tetra mais comuns em estudos genéticos (Tautz, 1989; Selkoe & Toonen, 2006). O número das unidades de repetição é altamente variável entre SSRs localizados no mesmo loco e em locos distintos. Isso confere elevado nível de polimorfismo, a ponto de a probabilidade de dois indivíduos compartilharem os mesmos SSRs ser praticamente nula. Um microssatélite possui tipicamente cerca de 100 pares de bases (pb) no total (Bruford *et al.*, 1996) e, por isso, é facilmente amplificado por PCR (*Polymerase Chain Reaction*), não necessitando de grande quantidade inicial de DNA molde. Além disso, os SSRs apresentam ampla distribuição no genoma e comumente possuem herança codominante, o que permite diferenciar indivíduos heterozigotos de indivíduos homozigotos e

apresentam alta taxa de mutação, cerca de 10^{-4} a 10^{-6} , por loco por geração - quando comparada à taxa estimada de mutação pontual de cerca de 10^{-10} no genoma nuclear (Hancock, 1999).

Uma das limitações para o uso de SSRs é a quantidade de tempo e de recursos financeiros necessários para o desenvolvimento dos *primers* utilizados na amplificação. Entretanto, o uso de *primers* heterólogos, isto é, desenvolvidos para uma espécie filogeneticamente próxima da espécie de interesse, pode reduzir o custo e o tempo das pesquisas (Parker *et al.*, 1998). Atualmente, diversos *primers* para amplificação de locos SSRs têm sido descritos para psitacídeos e testados em espécies proximalmente relacionadas, como para o papagaio de São Vicente (*Amazona guildingii*) (Russello *et al.*, 2001; Russello *et al.*, 2005), arara canindé (*Ara ararauna*) (Caparroz *et al.*, 2009), caturrita ou periquito-monge (*Myiopsitta monachus*) (Russello *et al.*, 2007), papagaio cubano (*Amazona leucocephala*) (Taylor & Parkin, 2007) e papagaio verdadeiro (*Amazona aestiva*) (Fernandes *et al.*, 2019). Dessa forma, o uso de *primers* heterólogos tem sido uma ferramenta importante para acessar os níveis de variabilidade genética em espécies filogeneticamente próximas.

Tanto os segmentos da região controle do DNA mitocondrial como SSRs podem ser analisados como indicadores de variabilidade genética populacional e, portanto, mostram-se úteis na proposição e desenvolvimento de estratégias conservacionistas e planos de manejo populacional associados a espécies e/ou populações ameaçadas de extinção.

1.3 Análise de parentesco

O conhecimento sobre grau de parentesco entre indivíduos em uma população é útil em várias áreas de pesquisa como em estudos de evolução e comportamento, ecologia e conservação biológica e tem se tornado um dos principais temas no campo da “ecologia

molecular” (Awise, 2004). O parentesco entre indivíduos tem auxiliado diferentes áreas da biologia como, por exemplo, para inferir: (i) sistemas de acasalamento, (ii) padrões de dispersão sexo-diferencial e (iii) processos populacionais históricos-demográficos (Awise, 2004).

O grau de parentesco pode ser inferido diretamente de heredogramas (Ballou & Lacy, 1995), através de cálculos ou do registro genealógico da espécie (*studbook*). Entretanto, o completo *pedigree* dos indivíduos não pode ser determinado devido a algumas limitações, como dificuldade na captura de indivíduos adultos, casos em que a família social não se configura como a família biológica (De Castele *et al.*, 2001) ou quando dados do heredograma não são completos ou são duvidosos (Pemberton, 2004; Boakes *et al.*, 2007). Por essas razões, estudos genéticos através da utilização de marcadores moleculares podem ser bastante úteis nessa abordagem.

Além disso, análises de parentesco têm sido utilizadas na área da genética da conservação a fim de minimizar acasalamentos entre indivíduos proximalmente relacionados e minimizar a perda da diversidade genética por depressão endogâmica (Lynch & Ritland, 1999; Witzenberg & Hochkirch, 2011). Um exemplo de tal aplicação refere-se à escolha de casais fundadores para reprodução em cativeiro, para que a população manejada possa reter o máximo de variação genética a fim de gerar uma população viável a longo prazo.

1.4 Família Psittacidae

A Família Psittacidae compreende um grupo de aves popularmente conhecidas como araras, papagaios e periquitos (Collar, 1997; Sick, 1997). É composta por aproximadamente 390 espécies distribuídas em 82 gêneros (Handbook of the Birds of the World and BirdLife International, 2017) - com distribuição global, concentrando-se principalmente nas zonas

tropicais (Sick, 1997) - e são reconhecidas pela morfologia de seus bicos curvos e arredondados, suas plumagens coloridas, habilidade mímica e caráter carismático (Forshaw, 1989; Wright *et al.*, 2001). O Brasil é o país mais rico do mundo em aves dessa família, onde são encontradas 84 espécies distribuídas em 24 gêneros. Desde o ano 1500 essa riqueza já era reportada, sendo o Brasil designado pelos portugueses como “Terra dos Papagaios” (Sick, 1997).

Aproximadamente 17% das espécies de psitacídeos são endêmicas do território brasileiro, sendo encontrados em todos os principais ecossistemas do país. Embora a região de maior endemismo seja a Floresta Atlântica, existem espécies que não são endêmicas, mas apresentam atualmente uma distribuição bastante restrita, como é o caso da arara-azul-grande (*Anodorhynchus hyacinthinus*). Várias outras espécies apresentam distribuição ampla, ocorrendo em grande parte do território nacional, como a arara-vermelha (*Ara chloroptera*) e o papagaio-verdadeiro (*Amazona aestiva*). A Floresta Amazônica é a região mais rica, tanto em número de indivíduos como em número de espécies. O papagaio-galego (*Salvatoria xanthops*) e o periquito-da-catinga (*Eupsittula cactorum*) ocorrem, exclusivamente, nas regiões secas do cerrado e da catinga, enquanto as florestas de Araucária (*Araucaria angustifolia*) do sul do Brasil constituem uma fonte importante de alimento para uma espécie de papagaio (*Amazona petrei*, papagaio charão) (Sick, 1997).

Segundo Wright *et al.* (2001), a família Psittacidae está entre as mais ameaçadas dentre as famílias de aves - cerca de 31%, das espécies de psitacídeos neotropicais encontram-se sob risco de extinção em nível global. No Brasil, 16 espécies estão vulneráveis ou ameaçadas de extinção e constam na Lista Vermelha da União Internacional para Conservação da Natureza (IUCN). Além destas apresentarem baixas taxas de reprodução, ninhadas pequenas, baixa sobrevivência de indivíduos juvenis e maturidade sexual tardia (Wright *et al.*, 2001), a

interferência antrópica nos ecossistemas naturais tem levado a um acentuado declínio de suas populações e ainda, o tráfico ilegal de animais também tem causado grande impacto sobre as populações de psitacídeos (Wright *et al*, 2001).

Com o objetivo de proteger e recuperar espécies ameaçadas de extinção, o Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio) desenvolveu o Plano de Ação Nacional (PAN) para Conservação dos Papagaios da Mata Atlântica, que abrange a conservação de quatro espécies do gênero *Amazona* em diferentes níveis de ameaça de extinção, sendo elas: *Amazona brasiliensis* (papagaio-de-cara-roxa), *A. rhodocorytha* (papagaio-chauá), *A. petrei* (papagaio-charão) e *A. vinacea* (papagaio-de-peito-roxo), espécie foco do presente estudo. Segundo a IUCN, *A. vinacea* é classificada como “em perigo” e suas populações tendem a decrescer (IUCN, 2017). O PAN tem como objetivo melhorar o estado de conservação das espécies-alvo através da **redução da perda**, fragmentação e degradação do habitat, do aumento do conhecimento científico das espécies-alvo, atuando na implementação de diversas medidas de manejo e na ampliação do envolvimento da sociedade na conservação das mesmas.

1.5 *Amazona vinacea*

A espécie *Amazona vinacea* (Kuhl, 1820) (Figura 1), conhecida popularmente como papagaio-de-peito-roxo, é um representante neotropical da família Psittacidae, pertencente à ordem Psittaciformes (Sick, 1997). Os indivíduos de *A. vinacea* caracterizam-se por apresentar coloração verde na maior parte do seu corpo, colorido roxo nas penas do peito, maxila vermelha com a extremidade branca e a base do bico vermelha (Figura 1). Indivíduos adultos chegam a medir 35 centímetros de comprimento da ponta do bico à ponta da cauda (Sick, 1997).



Figura 1. Exemplos de *Amazona vinacea* (papagaio-de-peito-roxo) (Fonte: www.espacosilvestre.org.br).

A espécie é endêmica da Mata Atlântica e estima-se que, atualmente, existam cerca de 1.000 a 2.500 indivíduos em vida livre no Brasil (Cockle *et al.*, 2007). Sua distribuição original abrangia a região do sul da Bahia ao Rio Grande do Sul no Brasil, incluindo a região do sudeste do Paraguai e a província de Misiones na Argentina (Sick, 1997; Cockle *et al.*, 2007) (Figura 2). Entretanto, sua distribuição atual encontra-se fragmentada, devido principalmente as ações antrópicas, ocasionando a perda de seu habitat (Collar *et al.*, 1997; Urban-Filho *et al.*, 2008) (Figura 2).

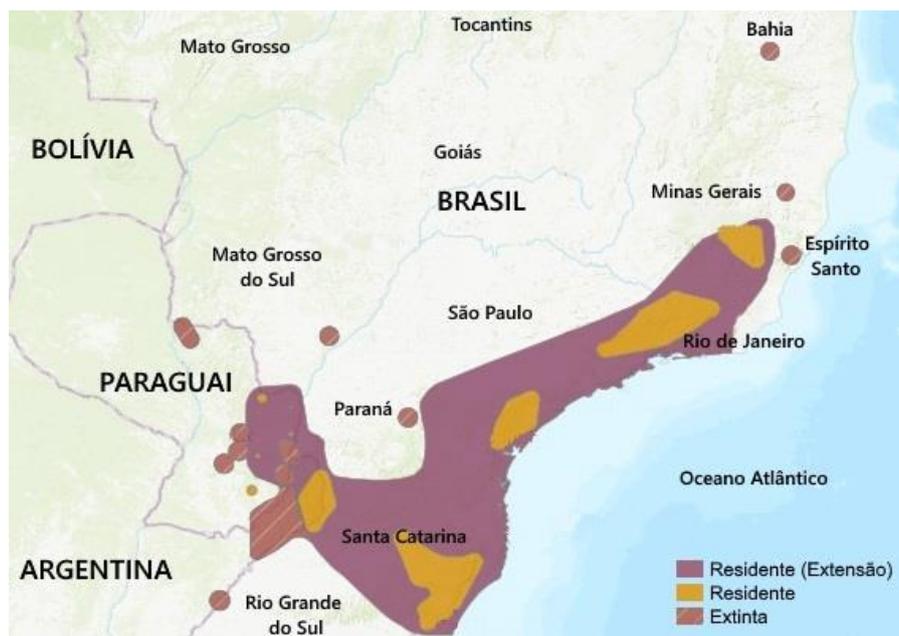


Figura 2. Mapa de ocorrência de *Amazona vinacea*. Em roxo contínuo: área total de extensão de distribuição; em laranja: regiões de ocorrência da espécie; e em listrado: regiões onde a espécie foi extinta.

A espécie *A. vinacea* é considerada predominantemente monogâmica, com o casal permanecendo juntos mesmo após a estação reprodutiva (Sick, 1997), a qual se estende de agosto a janeiro, sendo o período de incubação dos ovos de 25 a 26 dias. A postura varia de dois a quatro ovos arredondados, brancos e pequenos, chocados principalmente pela fêmea, a qual é alimentada pelo macho. Tanto o macho quanto a fêmea apresentam dispendioso cuidado parental. Após dois meses, o filhote pode abandonar o ninho, contudo, estes só se separam realmente dos pais apenas quando começam um acasalamento, geralmente após seis a oito meses de vida (Sick, 1997).

Os papagaio-do-peito-roxo nidificam em ocos de árvores normalmente secas, sendo estes ocupados somente na estação reprodutiva. *Apuleia leiocarpa* (garapeira ou amarelinho), *Araucaria angustifolia* (araucária), *Cabrelea canjerana* (cedro-canjerana), *Nectandra lanceolata* (canela-amarela), *Ocote puberula* (canela-guaicá), *Ocote pulchella* (canela-

lageana), *Parapiptadenia rígida* (angico), *Prunus myrtiflorus* (abrunheiro) e *Ruprechtia laxiflora* (marmeleiro-do-mato) (Cockle, *et al.* 2007) representam as principais espécies em que *A. vinacea* faz seus ninhos (Abe, 2004). A espécie utiliza dormitórios coletivos para pernoitar, que podem reunir mais de 100 aves (Prestes & Martinez, 1996).

A alimentação de *A. vinacea* é constituída de sementes, frutos e flores, como a corticeira *Erythrina falcata*, por folhas jovens de eucalipto e pinho, além de folhas e brotos de bambu. Há registros da espécie se alimentando em pomares de frutas e plantações comerciais, como as de laranja e milho (Collar, 1997; Urben-Filho *et al.*, 2008). Segundo o Ministério do Meio Ambiente (MMA, 2011), indivíduos de *A. vinacea* procuram seu alimento tanto nas copas das árvores mais altas como em arbustos frutíferos, onde se alimentam principalmente de sementes, embora não haja muita contribuição da espécie para a dispersão destas. Durante o inverno, essas aves se alimentam das sementes (pinhão) de *Araucaria angustifolia*, fonte altamente calórica que contribui para a manutenção da temperatura corpórea nesse período (Collar, 1997; Urben-Filho *et al.*, 2008). A espécie parece realizar migrações regionais em busca de alimentação (Collar *et al.*, 1997).

Devido principalmente à degradação ambiental que leva à perda de habitat (locais de alimentação e nidificação) e à captura de indivíduos para comercialização ilegal, o número de exemplares de *A. vinacea* tem decaído nos últimos anos (Cockle, *et al.* 2007). A espécie consta como ameaçada de extinção, na categoria “em perigo” nos estados do Rio Grande do Sul e Minas Gerais (Marques *et al.*, 2002; Urben-Filho *et al.*, 2008), “criticamente em perigo” em São Paulo e Espírito Santo e “vulnerável” no estado do Rio de Janeiro (Urben-Filho *et al.*, 2008). A nível mundial, consta na lista vermelha das espécies ameaçadas da União Internacional para Conservação da Natureza, na categoria “em perigo” (IUCN, 2017).

Embora estudos ecológicos e etológicos já realizados para a espécie *A. vinacea* possam subsidiar ações para sua conservação (Sick, 1997; Cockle *et al.*, 2007; Prestes *et al.*, 2014), ainda não existem dados genéticos, baseados em marcadores moleculares, para este psitacídeo ameaçado. A ampliação de informações sobre a espécie poderá permitir o desenvolvimento mais efetivo de ações para sua conservação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abe, L.M. 2004. *Caracterização do habitat do papagaio-de-peito-roxo Amazona vinacea (Kuhl, 1820) no município de Tunas do Paraná, região metropolitana de Curitiba, Paraná*. Dissertação de Mestrado. Curitiba: Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná. 87 p.
- Albagli, S. 1996. *Divulgação Científica: informação científica para a cidadania?* Ciência e Informação 25: 396-404.
- Allendorf, W.A. & Luikart, G.H. 2007. *Conservation and Genetic of Populations*. Blackwell Publishing, Malden, Massachussets.
- Allendorf, F. W., England, P. R., Luikart, G., Ritchie, P. A., & Ryman, N. (2008). *Genetic effects of harvest on wild animal populations*. Trends in ecology & evolution, 23(6), 327-33.
- Almeida, T.R.A., Presti, F.T., Cruz, V.P., Wasko, A.P. 2019. *Genetic analysis of the endangered Hyacinth Macaw (Anodorhynchus hyacinthinus) based on mitochondrial markers: different conservation efforts are required for different populations*. Journal of Ornithology. 1 – 10
- Almeida, C.S., Freire, M., Bento, L., Jardim, G., Ramalho, M., Dahmouche, M. 2018. *Ciência e teatro: um estudo sobre as artes cênicas como estratégia de educação e divulgação da ciência em museus*. Ciência & Educação. 24: 375 – 393.
- Altschul, S.F., Gish, W., Miler, W., Myers, E.W., Lipman, D.J. 1990. *Basic local alignment search tool*. Journal of Molecular Biology, 403-410 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>).
- Alves, R., Lima, J., Araujo, H. .2013. *The live bird trade in Brazil and its conservation implications: An overview*. Bird Conservation International. 23: 53 – 65.

- Anciães, M. & Del Lama, S.N. 2002. *Sex identification of pin-tailed manakins (Ilicura militaris: pipridae) using the polymerase chain reaction and its application to behavioral studies.* Ornitologia Neotropical. 13: 159 – 165.
- Azevedo, N.H. & Scarpa, D.L. 2017. *O contato com materiais de divulgação científica pode influenciar as concepções de natureza da ciência?* In XI Encontro Nacional de Pesquisa em Educação em Ciências. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Santa Catarina.
- Avise, J.C. 1994. *Molecular Markers, Natural History and Evolution.* Chapman and Hall, New York, 511 pp.
- Avise, J.C. 2000. *Phylogeography: the History and Formation of Species.* Harvard University Press. Cambridge, 447 pp.
- Avise, J.C. 2004. *Molecular Markers, Natural History, and Evolution (Second Edition).* Sinauer, Sunderland, MA, 684 pp.
- Ballou, J.D. & Lacy, R.C. 1995. *Identifying genetically important individuals for management of genetic diversity in pedigree populations.* In: Ballou J.D.; Gilpin, M.; Foose, T.J. (eds). Population Management for Survival and Recovery. Analytical Methods and Strategies in Small Population Conservation. Columbia University Press, New York.
- Balloux, F. & Lugon-Moulin, N. 2002. *The estimation of population differentiation with microsatellite markers.* Molecular Ecology. 11: 155 – 165.
- Bandelt, H., Forster, P., & Röhl, A. 1999. *Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies.* Molecular Biology and Evolution, 16(1), 37–48.
- Beaumont, M.A. & Balding, D.J. 2004. *Identifying adaptive genetic divergence among populations from genome scans.* Molecular Ecology 13: 969-980.

- Bencke, G.A., Maurício, G.N., Develey, P.F., Goerck, J.M. 2006. *Áreas importantes para a conservação das aves no Brasil: parte I- estados do domínio da Mata Atlântica*. São Paulo, SAVE Brasil, 492p.
- Bergner, L.M., Jamieson, I.G., Robertson, B.C. 2014. *Combining genetic data to identify relatedness among founders in a genetically depaupered parrot, the Kakapo (Strigops habroptilus)*. Conservation Genetics 15: 1013-1020.
- Blouin, M.S. 2003. *DNA-based methods for pedigree reconstruction and kinship analysis in natural populations*. Trends in Ecology and Evolution 10: 503 – 511.
- Branco, M.A. 2008. *Políticas públicas e serviços públicos de gestão e manejo da fauna silvestre nativa resgatada. Estudo de caso*. Prefeitura da Cidade de São Paulo. São Paulo, SP, Brasil.
- Browne, R.A., Collins, E., Anderson, D.J. 2008. *Genetic structure of Galapagos population of the yellow warbler*. The Condor, 549-553.
- Bruford, M.W., Hanotte, O., Brookfield, J.F.Y., Burke, T. 1992. *Single loco and multiloco DNA fingerprint*. In: Hoebel, A.R. (ed.). Molecular Genetics Analysis of Population. A Practical Approach. Oxford University Press, New York, 225-269.
- Bruford, M. W., Cheesman, D.J., Coote, T., Green, H.A.A., Haines, S.A., O’Ryan, C., Williams, T.R. 1996. *Microsatellite and their application to conservation genetics*. In: Smith, T.B., Wayne, R.K (Eds.). Molecular Genetic Approaches in Conservation. Oxford University Press, New York. Pp: 278 - 297.
- Candotti, E. 1999. *Ciência na educação popular. O papel do cientista na educação científica*. Jornal da ciência, Rio de Janeiro. 407: 15 – 23.
- Caparroz, R., Miyaki, C., Baker, A.J. 2009. *Contrasting phylogeographic patterns in mitochondrial DNA and microsatellite: evidence of female philopatry and male-biased gene flow among*

- regional populations of the blue-and-yellow macaw (Psittaciformes: Ara ararauna) in Brazil.*
The Auk, 359-370.
- Carrara, L.A., Faria, L.C.P., Matos, J.R., Antas, P.T.Z. 2008. *Papagaio-de-peito-roxo Amazona vinacea (Kuhl) (Aves: Psittacidae) no norte do Espírito Santo: redescoberta e conservação.* Revista Brasileira de Zoologia 25: 154-158.
- Carroll, S. P., Jørgensen, P. S., Kinnison, M. T., Bergstrom, C. T., Denison, R. F., Gluckman, P., Tabashnik, B.E. (2014). *Applying evolutionary biology to address global challenges.* Science, 346(6207), 1245993.
- Ceballos, G., Ehrlich, P., Barnosky, A.D., Garcia, A., Pringle, R.M., Palmer, T.M. 2015. *Accelerated modern human-induced species losses: Entering the sixth mass extinction.* Science Advances 1: 1 – 5.
- Cockle, K., Capuzzi, G., Bodrati, A., Clay, R., Castilho, H., Velázquez, M., Areta, J.I., Fariña, N., Fariña, R. 2007. *Distribution, abundance, and conservation of Vinaceous Amazon (Amazona vinacea) in Argentina and Paraguay.* Journal of Field Ornithology, 78: p. 21-39
- Collar, N.J. 1997. *Family Psittacidae (Parrots).* In: del Hoyo, J., Elliot, A.E. & Sargatal, J. (Eds.) Handbook of the Birds of the World, vol. 4. Sandgrouse to Coochos. Lynx Edicions, Barcelona, 280-477.
- Cournet, J.M. & Luikart, G. 1996. *Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data.* Genetics 144: 2001 – 2014.
- Costa-Urrutia, P., Abub, C., Secchi, R., Lessa, E.P. 2012. *Population genetic structure and social kin associations of Franciscana Dolphin, Pontoporia blainvillei.* Journal of Heredity, 103, 92-102.

- Dantas, G.P., Meyer, D., Godinho, R., Ferrand, N., Morgante, J.S. 2012. *Genetic variability in mitochondrial and nuclear genes of Larus dominicanus (Charadriiformes, Laridae) from the Brazilian coast*. Genetics and Molecular Biology. 874-885.
- Davanço, P.V., Francisco, M.R. 2012. *Utilização de locos de microssatélites para a identificação de híbridos e manejo genético de uma espécie de ave brasileira extinta na natureza: o mutum-de-alagoas, Pauxi mitu (Aves, Cracidae)*. Dissertação, Universidade Federal de São Carlos.
- Diegues, S. & Galetti, P.M.J. 2011. *Variação genética em uma população cativa de mutum-do-sudeste (Crax blumenbachii, Spix 1825) (Cracidae) como subsídio para manejo e conservação*. Dissertação de mestrado, Universidade Federal de São Carlos
- Drummond AJ, Ashton B, Cheung M, Heled J, Kearse M, Moir R, Stones-Havas S, Thierer T, Wilson A. 2009: *Geneious*. Available from <http://www.geneious.com>
- Earl, D.A. & vonHoldt, B.M., 2012. *STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method*. Conservation Genetics Resources. 359 - 361
- Eberhard, J.R., Wright, T.F. & Bermingham, E. 2001. *Duplication and Concerted Evolution of the Mitochondrial Control Region in the Parrot Genus Amazona*. Molecular Biological Evolutionary, 1330–1342.
- Edgar, R.C. 2004. *MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput*. Nucleic Acids Research, 1792-1797.
- Ellegren, H. 2000. *Microsatellite mutations in the germline: implicatins for evolutionary inference*. Trends in Genetics 16:551 – 558.

- Ellegran, H. 2004. *Microsatellites: simple sequences with complex evolution*. Nature Reviews Genetics 5: 435 – 445.
- Evanno, G., Regnaut, S., Goudet, J. 2005. *Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study*. Molecular Ecology 14:2611-2620.
- Excoffier, L., Smouse, P. & Quattro, J. 1992. *Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data*. Genetics, 479-491.
- Excoffier L., Laval G. & Schneider S. 2005. *Arlequin (version 3.0): An integrated software package for population genetics data analysis*. Evolutionary Bioinformatics, 47-50.
- Faria, L.P., Carrara, L.A., Rodrigues, M. 2007. *Sexual size dimorphism in henna-capped foliage-gleaner Hylocryptus restirostris (Wied) (Aves, Furnariidae)*. Revista Brasileira de Zoologia 24: 207-212.
- Flanagan, S.P & Jones, A.G. 2019. *The future of parentage analysis: From microsatellites to SNPs and beyond*. Molecular Ecology. 28: 544 – 567.
- Frankham, R., Briscoe, D.A., Ballou, J.D. 2002. *Introduction to Conservation Genetics*. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Frankham, R., Ballou, J.D., Briscoe, D.A. 2008. *Fundamentos da genética da conservação*. Sociedade Brasileira de Genética, Ribeirão Preto, 262 pp.
- Feral, J.P. 2002. *How useful are the genetic markers in attempts to understand and manage marine biodiversity?* Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 121-145.

- Fernandes, G.A., Caparroz, R. 2013. *DNA sequence analysis to guide the release of blue-and-yellow macaws (Ara ararauna, Psittaciformes, Aves) from the illegal trade back into the wild*. *Molecular Biology* 40: 2757 – 2762.
- Fernandes, G.A., Dobkowski-Marinho, S., Santos, V.F., Lima-Resende, C.A., Silva, H.E., Rodrigues, F.P., Caparroz, R. 2019. *Development and characterization of novel microsatellite locos for the Blue-fronted Amazon (Amazona aestiva, Psittaciformes, Aves) and cross-species amplification for other two threatened Amazona species*. *Molecular Biology Reports* 1377 – 1382.
- Forshaw, J.M. 1989. *The Parrots of the World*, 3 ed., Lansdowne Press, Willoughby.
- Fu, X.Y. 1997. *Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection*. *Genetics* 147: 915-925
- Fu, X. Y. & Li, W.H. 1993. *Statistical tests of neutrality of mutations*. *Genetics* 133: 693-709.
- Galbusera, P., Dongen, S.V., Mathysen, E. 2000. *Cross-species amplification of microsatélites primers in passerine birds*. *Conservation genetics* 1: 163-168.
- García-Navas, V., Ferrer, E.S., Cáliz-Campal, C., Bueno-Enciso, J., Barrientos, R., Sanz, J.J., Ortego, J. 2015. *Spatiotemporal and genetic contingency of extrapair behavior in a songbird*. *Animal Behaviour*. 106: 157 – 169.
- Gilpin, M.E. & Soulé, M.E. 1986. *Minimum viable populations: the processes of species extinctions*. In: Soulé, M. E. (ed.) *Conservation Biology: the Science of Scarcity and Diversity*. Sinauer Associates, Sunderland 13–34.
- Grando, A.P. 2002. *Utilização de tomografia por ressonância magnética nuclear para sexagem de aves silvestres sem dimorfismo sexual*. Dissertação (Mestrado em Bioengenharia) – Universidade de São Paulo, Instituto de Química de São Carlos, São Carlos, SP.

- Griffiths, R., Double, M., Orr, K.C.Y., Dawson, R.J.G. 1998. *A DNA test to sex most birds*. *Molecular Ecology* 7: 1071-1075.
- Guimarães, E. 2009. *Linguagem e Conhecimento: Produção e Circulação da Ciência*. *Revista do Laboratório de Estudos Urbanos do Núcleo de Desenvolvimento da Criatividade* 2: 5 – 14.
- Haavie, J., Saetre, G.P., Moum T. 2000. *Discrepancies in population differentiation at microsatellites, mitochondrial DNA and plumage colour in the pied flycatcher – inferring evolutionary processes*. *Molecular Ecology* 9: 1137 – 1148.
- Haig, S.M., Miller, M.P., Bellinger, R., Draheim, H.M., Mercer, D.M., Mullins, T.D. 2016. *The conservation genetics juggling act: integrating genetics and ecology, science and policy*. *Evolutionary applications* 9(1): 181 – 195.
- Hancock, J.M. 1999. *Microsatellite and other simple sequences: genomic context and mutational mechanisms*. In: Goldstein, D.B., Schlotterer, C. (eds.). *Microsatellites: Evolution and Applications*. Oxford University Press, Oxford. Pp: 1-9.
- Harpending, R.C. 1994. *Signature of ancient population growth in a low-resolution mitochondrial DNA mismatch distribution*. *Human Biology*, 561-600.
- Harrison, H.B., Saenz-Agudelo, P., Planes, S., Jones, G.P., Berumen, M.L. 2013. *Relative accuracy of three common methods of parentage analysis in natural population*. *Molecular Ecology*. 22: 1158 – 1170.
- Hartl, D.L., Clark, A.G. 1997. *Principles of Population Genetics*. Sinauer Associates, Sunderland.
- Handbook of the Birds of the World and BirdLife International. 2017. *Handbook of the Birds of the World and BirdLife International digital checklist of the birds of the world*, version 9.1. <https://datazone.birdlife.org/species/taxonomy>. Accessed 17 Jan 2019.

- Huang, Z., & Ke, D. (2016). *Structure and evolution of the Phasianidae mitochondrial DNA control region*. *Mitochondrial DNA Part A*, 27(1), 350-354.
- IBAMA - Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. 2006. *Lista das espécies da fauna ameaçada de extinção*. Relatório de atividades das ASM - Áreas de Soltura e Monitoramento de Animais Silvestres.
- IUCN. 2014. *Comissão para a Sobrevivência de Espécies IUCN Diretrizes de Manejo Ex situ para a Conservação de Espécies*. Disponível em: <https://portals.iucn.org/library/sites/library/files/documents/2014-064-Pt.pdf>
- IUCN - *Red List of Threatened Species*. 2017. Disponível em: <www.iucnredlist.org>. Acesso em: 25 de agosto, 2017.
- Ivy, J.A., Lacy, R.C. 2012. *A comparison of strategies for selecting breeding pairs to maximize genetic diversity retention in managed populations*. *Journal of Heredity* 103: 186 – 196.
- Jones, A.G., Small, C.M., Paczolt, K.A. 2010. *A practical guide to methods of parentage analysis*. *Molecular Ecology Resources*. 10: 6:30.
- Kalinowski, S.T., Wagner, A.P., Taper, M.L. 2006. *ML-RELATE: a computer program for maximum likelihood estimation of relatedness and relationship*. *Molecular Ecology Notes*.
- Kalinowski, S.T., Taper, M.L., Marshall, T.C. 2007. *Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment*. *Molecular Ecology*. 1099 – 1106.
- Kimura, M. & Crow J.F. 1964. *The number of alleles than can maintained in a finite population*. *Genetics*. 49: 725 – 738.

- Kimura, M. & Ohta, T. 1978. *Stepwise mutation model and distribution of allelic frequencies in a finite populations*. Proceedings of Natural Academy of Sciences of the USA. 75: 2868 – 2872.
- Kuhnen, V.V, Remor, J.O., Lima, R.E.M. 2012. *Breeding and trade of wildlife in Santa Catarina state, Brazil*. Brazillian Journal of Biology.
- Leite, K.C.E., Seixas, G.H.F., Berkunsky, I., Collevatti, R.G., Caparroz, R. 2008. *Population genetic structure of the blue-fronted Amazon (Amazona aestiva, Psittacidae: Aves) based on nuclear microsatellite locos: implication for conservation*. Genetics and Molecular Research 7: 819:829.
- Librado, P. & Rozas, J. 2009. *DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data*. Bioinformatics, 1451-1452.
- Lima, P.C., & Santos, S.S. 2005. *Reprodução de uma população reintroduzida de Aratinga auricapilla (Kuhl, 1820) Aves: Psittacidae, em área de Cerrado no Leste da Bahia, Brasil*. Ornithologia 1: 13-18.
- Lima, G.S. 2016. *O professor e a divulgação científica: apropriação e uso em situações formais de ensino*. Tese de doutorado. Faculdade de Educação, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Lippe, C., Dumont, P., Bernatchez, L. 2006. *High genetic diversity and no inbreeding in the endangered Copper Redhorse, Moxostoma hubbsi (Catostomidae, Pisces): the positive sides of a long generation time*. Molecular Ecology 15: 1769-1780.
- Lynch, M., Walsh, B. 1998. *Genetics and Analysis of Quantitative Traits*. Sinauer Associates: Sunderland, MA, USA.

- Lynch, M., Ritland, K. 1999. *Estimation of pairwise relatedness with molecular markers*. Genetics 152: 1753 – 1766.
- Luikart, G., Allendorf, F.W., Cornuet, J.M., Sherman, W.B. 1998. *Distortion of allele frequency distributions provides a test for recent population bottlenecks*. Journal of Heredity 89: 238-247.
- Küpper, C., Edwards, S.V., Kosztolányi, A., Alrashidi, M.A., Burke, T., Herrmann, P., Amat, J.A., Amezian, M., Rocha, A., Hötter, H., Inanov, A., Chernicko, J., Szekely, T. 2012. *High gene flow on a continental scale in the polyandrous Kentish plover Charadrius alexandrinus*. Molecular Ecology 21: 5864-5879.
- Marshall, T.C., Slate, J., Kruuk, L.E.B., Pemberton, J.M. 1998. *Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations*. Molecular Ecology 7: 639 – 655.
- Meeûs, T.D. 2018. *Revisiting FIS, FST, Wahlund Effects, and Null Alleles*. Journal of Heredity 446 – 456.
- Miyaki, C.Y., Griffiths, R., Orr, K., Nahum, L.A., Pereira, S.L., Wjntal, A. 1998. *Sex identification of parrots, toucans and curassows by PCR: perspectives for wild and captive population studies*. Zoo Biology. 17: 415 – 423.
- Mercer, D.M., Haig, S.M., Roby, D.D. 2013. *Phylogeography and population genetic structure of double-crested cormorants (Phalacrocorax auritus)*. Conservation Genetics, 823-836.
- Milligan, B.C. 2003. *Maximum-likelihood estimation of relatedness*. Genetics. 163: 1153 – 1167.
- Miño, C.I., Sawyer, R.C.B., Del Lama, S.N. 2009. *Parentage and relatedness in captive and natural populations of the Roseate Spoonbill (Aves: Ciconiiformes) based on microsatellite data*. Journal of Experimental Zoology 311: 453-464.

- Monceau, K., Cézilly, F., Moreau, J., Montreuil, S., Wattier, R. 2013. *Colonisation and Diversification of the Zenaida Dove (Zenaida aurita) in the Antilles: Phylogeography, Comtemporary Gene Flow and Morphological Divergence*. Plos One 8 (12): e82189.
- Montgomery, M.E., Ballou, J.D., Nurthen, R.K., England, P.R., Briscoe, D.A., Frankham, R. 1997. *Minimizing kinship in captive breeding programs*. Zoo Biology. 16: 377 – 389.
- MMA, ICMBio. 2011. *Plano Nacional para Conservação de Papagaios da Mata Atlântica*. Disponível em: <http://www.icmbio.gov.br/portal/images/stories/docs-plano-de-acao/pan-papagaios/pan-papagaios.pdf> . Acesso em: 25 de agosto, 2015.
- Oliveira-Marques, A. R. 2010. *Caracterização da estrutura genética populacional das araras vermelhas Ara chloropterus e Ara macao (Psittaciformes, Aves)*. Tese de doutorado, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Oliveira-Junior, P.R.R. 2012. *Monitoramento Genético da População ex situ de jacutinga (Aburria jacutinga, Aves, Cracidae) como subsídio para a conservação da espécie*. Dissertação de mestrado, Universidade Federal de São Carlos.
- Parker, P.G., Snow, A.A., Schug, M.D., Booton, G.C., Fuerst, P.A. 1998. *What molecules can tell us about populations: choosing and using a molecular marker*. Ecology 79: 361-382.
- Peakall, R. & Smouse P.E. 2012. *GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update*. Bioinformatics 28, 2537-2539.
- Peel, D., Ovenden J.R., Peel S.L. 2004. *NEESTIMATOR: Software for Estimating Effective Population Size, Version 1.3*. Queensland Government: Department of Primary Industries and Fisheries, Brisbane, Queensland.

- Pellegrino, I., Cucco, M., Follestad, A., Boos, M. 2015. *Lack of genetic structure in greylag goose (Anser anser) populations along the European Atlantic flyway*. PeerJ 3e1161: DOI 107717/peerj.1161.
- Pemberton, J. 2004. *Measuring inbreeding depression in the wild: the old ways are then best*. Trends in Ecology and Evolution. 613 - 615
- Piry, S., Luikart, G., Cornuet, J.J. 1999. *Bottleneck: a computer program for detecting recent reductions in the effective population size using allele frequency data*. The Journal of Heredity 90: 502- 503.
- Pough, F.H, Janis, C.M. & Heiser, J.B. 2008. *A vida dos vertebrados*. 4ª ed. São Paulo: Atheneu Editora, 718 pp.
- Prestes, N.P., Martinez, J., Kilpp, J.C., Batistela, T., Turkievicz, A., Rezende, E., Gaboardi, V.T.R. 2014. *Ecologia e Conservação de Amazona vinacea em áreas simpátricas com Amazona petrei*. Ornithologia 6: 109-120.
- Presti, F.T., Guedes, N.M.R., Antas, P.T.Z., Miyaki, C.Y. 2015. *Population genetic structure in hyacinth macaws (Anodorhynchus hyacinthinus) and identification of the probable origin of confiscated individuals*. Journal of Heredity.
- Prichard, J.K., Stephens, M., Donnelly, P. 2000. *Inference of population structure using multilocus genotype data*. Genetics 155: 170-181.
- Primack, R.B., Rodrigues, E. 2002. *Biologia da conservação*. Londrina: E. Rodrigues, 83 pp.
- Queller, D.C., Goodnight, K.F. 1989. *Estimating relatedness using genetic markers*. Evolution 43: 258 – 275.

- Ramirez-Soriano, A., Ramos-Onsins, S.E., Rozas, J., Calafell, F. 2008. *Statistical Power Analysis of Neutrality Tests Under Demographic Expansions, Contractions and Bottlenecks With Recombination*. *Genetics*. 179 (1): 555 – 567.
- Raso, T.F., Werther, K. 2004. *Sexagem cirúrgica em aves silvestres*. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 56: 187 – 192.
- Raymond, M., Rousset, F. 1995. *GENEPOP: Population genetic software for exact tests and ecumenicism*. *Journal of Heredity* 86: 248-249.
- RENTAS - Rede Nacional de Combate ao Tráfico de Animais Silvestres. 2002. *1º. Relatório Nacional sobre o Tráfico de Fauna Silvestre*. Brasília, Brasil. Disponível em <http://www.rentas.org.br/trafico-de-animais/>
- Rice, W.R. 1989. *Analyzing tables of statistical tests*. *Evolution* 43: 223-225.
- Ridley, M. 2006. *Evolução*. 3. ed. Porto Alegre: Artmed. 752 pp.
- Ritland, K. 1996. *Estimators for pairwise relatedness and inbreeding coefficients*. *Genetics Research* 67: 175-186.
- Ritland, K. 1999. *Estimators for pairwise relatedness and individual inbreeding*. *Genetical Research* 67: 175-185.
- Robert, L & Simmons, B. 2010. *The History and Philosophy of Environmental Education*. In Bodzin, A.M., Klein, B.S., Weaver, S. (Eds). *The inclusion of Environmental Education in Science Teacher Education*. 3 - 16. New York, NY: Springer.
- Rollins, L.A., Browning, L.E., Holleley, C.E., Savage, J.L., Russel, A.F., Griffith, S.C. 2012. *Building genetic networks using relatedness information: a novel approach for the estimation*

- of dispersal and characterization of group structure in social animals*. *Molecular Ecology* 21: 1727-1740.
- Ruiz-Lopes, M., Roldan, E.R.S., Espeso, G., Gomendio, M. 2009. *Pedigrees and microsatellites among endangered ungulates: what do they tell us?* *Molecular Ecology* 18: 1352-1364.
- Russello, M.A., Calcagnotto, R., DeSalle, R., Amato, G. 2001. *Characterization of microsatellite locos in the endangered St. Vicent Parrot, Amazona guildingii*. *Molecular Ecology Notes* 1: 162-164.
- Russello, M.A., Lin, K., Amato, G., Caccone, A. 2005. *Additonal microsatellite locos for the endangered St. Vicente Parrot, Amazona guildingii*. *Conservation Genetics* 6: 643-645.
- Russello, M.A., Saranathan, V., Buhrman-Deever, S., Eberhard, J., Caccone, A. 2007. *Characterization of polymorphic microsatellite locos for the invasive monk parakeet (Myiopsitta manachus)*. *Molecular Ecology Notes* 7: 990-992.
- Schuelke, M. 2000. *An economic method for the fluorescent labeling of PCR fragments*. *Nature Biotechnology*. 18: 233 – 234.
- Saidenberg, A.B. 2010. *Soltura e Reprodução de Amazona aestiva em Tremedal – BA*. Reintrodução de Psitacídeos 28-31.
- Seixas, S.G.H.F. & Mourão, G.M. 2000. *Assessment of restocking blue-fronted amazona (Amazona aestiva) in the Pantanal of Brazil*. *Revista Brasileira de Ornitologia* 8:73-78.
- Selkoe, K.A. & Toonen, R.J. 2006. *Microsattelites for ecologists: A practical guide to using and evaluating microsattelites markers*. *Ecology Letters*. 9(5): 615 – 629.
- Sick, H. 1997. *Ornitologia Brasileira*. Nova Fronteira, Rio de Janeiro, 912 pp.
- Silva, H.C. 2006. *O que é divulgação científica?* *Ciência & Ensino*, v 1, n.1.

- Smith, T. B., & Bernatchez, L. 2008. *Evolutionary change in human-altered environments*. *Molecular Ecology*, 17(1), 1-8.
- Slatkin, M. 1995. *A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequency*. *Genetics*. 139: 457 – 462.
- Souza, P.H.R. & Rocha, M.B. 2017. *Análise da linguagem de textos de divulgação científica em livros didáticos: contribuições para o ensino de biologia*. *Ciência & Educação*. 23: 321 – 340.
- Städele, V. & Vigilant, L. 2016. *Strategies for determining kinship in wild populations using genetic data*. *Ecology and Evolution*. 6 (17): 6107 – 6120.
- Straube, F.C., Uber-Filho, A., Kajiwarra, D. 2004. *Livro vermelho da fauna ameaçada no estado do Paraná*. In: S.B. Mikichi & Bérnilis (Eds). Curitiba, Instituto Ambiental do Paraná.
- Suzigan, W. & Albuquerque, E.M. 2011. *The underestimated role of universities for the Brazilian system of innovation*. *Brazilian Journal of Political Economy*, 1 (121): 3 – 30.
- Taylor, T.D., Parkin, D.T. 2007. *Characterization of 13 microsatellite locos for the Moluccan cockatoo, *Cacatua moluccensis*, and Cuban Amazon, *Amazona leucocephala*, and their conservation and utility in other parrot species (*Psittaciformes*)*. *Conservation Genetics* 8: 991-994.
- Tajima, F. 1989. *Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism*. *Genetics* 585-595.
- Tautz, D. 1989. *Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers*. *Nucleic Acids Research* 17: 6463-6471.
- Urban-Filho, A., Straube, F.C., Carrano, E. 2008. *Papagaio-de-peito-roxo (Amazona vinacea)*. In: Machado, A.B.M., Drummond, G.M., Paglia, A.P. *Livro Vermelho da Fauna Brasileira*

Ameaçada de Extinção. Brasília/Belo Horizonte: Ministério do Meio Ambiente e Fundação Biodiversitas. v. 2.

Van de Casteele, T., Galbusera, P., Matthysen, E. 2001. *A comparison of microsatellite based pairwise relatedness estimators*. *Molecular Ecology*. 1539 – 1549.

Van Oosterhout, C., Hutchinson, W.F., Wills, D.P.M., Shipley, P. 2004. *Microchecker: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data*. *Molecular Ecology Notes*: 4: 535-538.

Vargas, F.C., Faria, P.J., Guedes, N.M.R. 2001. *Incubação artificial, translocação e reintrodução de ninhegos de arara-azul (Anodorhynchus hyacinthinus) no Pantanal de Miranda – MS*. Em F.C. Straube, editor. *Ornitologia sem fronteiras*. Curitiba.

Wang, J. 2002. *An estimator for pairwise relatedness using molecular markers*. *Genetics*. 1203 – 1215.

Wang, J. & Santure, A.W. 2009. *Parentage and sibship inference from multilocus genotype data under polygamy*. *Genetics*. 181(4): 1579 – 1594.

Wang, J. 2011. *Coancestry: a program for simulating, estimating and analysing relatedness and inbreeding coefficients*. *Molecular Ecology Resources* 11:141-145.

Warzecha, J., Fornal, A., Oczkiewicz, M., Bugno-Poniewierska, M. 2018. *A molecular characteristic of the Anatidae mitochondrial control region – a review*. *Annals of Animal Science*, 18(1), 3-15.

Weir, B.S., Anderson, A.D., Hepler, A.B. 2006. *Genetic relatedness analysis: modern data and new challenges*. *Nature Reviews Genetics*. 7: 771 – 780.

- Witzenberg, K.A. & Hochkirch, A. 2011. *Ex situ conservation genetics: a review of molecular studies on the genetic consequences of captive breeding programmes for endangered animal species*. *Biodiversity and Conservation*. 20: 1843 - 1861.
- Witzenberg, K.A. & Hochkirch, A. 2013. *Evaluating ex situ conservation projects: genetic structure of the captive population of the Arabian sand cat*. *Mammal Biology* 78: 379 – 382.
- Wright, S. 1978. *Variability Within and Among Natural Populations. Evolution and the Genetics of Populations*. University of Chicago Press, Chicago, IL.
- Wright, T.F., Toft, C.A., Hoeflich, E.E., Elizondo, J.G., Albornoz, M., Ferraro, A.R., Surez, F.R., Sanz, V., Trujillo, A., Beissinger, S.R. 2001. *Nest poaching in neotropical parrots*. *Conservation Biology*. 710-720.