



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ  
INSTITUTO DE ESTUDOS COSTEIROS  
FACULDADE DE CIÊNCIAS  
BIOLÓGICAS

GISELLE SILVA DOS SANTOS

**POSICIONAMENTO TAXONÔMICO DA POPULAÇÃO DE *Pyrrhura sp.*  
RESIDENTE NO MUNICÍPIO DE CONDE (BA) ATRAVÉS DE ANÁLISE  
MOLECULAR**

BRAGANÇA – PA  
2022

GISELLE SILVA DOS SANTOS

**POSICIONAMENTO TAXONÔMICO DA POPULAÇÃO DE *Pyrrhura* sp.  
RESIDENTE NO MUNICÍPIO DE CONDE (BA) ATRAVÉS DE ANÁLISE  
MOLECULAR**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Ciências Biológicas, Instituto de Estudos Costeiros, Universidade Federal do Pará - *Campus* de Bragança, como requisito parcial para obtenção do grau de Licenciada plena em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Péricles Sena do Rêgo

BRAGANÇA – PA  
2022

GISELLE SILVA DOS SANTOS

**POSICIONAMENTO TAXONÔMICO DA POPULAÇÃO DE *Pyrrhura sp.*  
RESIDENTE NO MUNICÍPIO DE CONDE (BA) ATRAVÉS DE ANÁLISE  
MOLECULAR**

Este trabalho foi julgado para obtenção do Grau de Licenciado em Ciências Biológicas do Curso de Licenciatura plena em Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará, Campus Bragança.

Data de aprovação: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Péricles Sena do Rêgo  
FaCiN / IECOS / UFPA (Orientador)

---

Dra. Juliana Araripe Gomes da Silva  
FaCiN / IECOS / UFPA (Titular)

---

Dra. Aurycéia Guimarães-Costa  
IECOS / UFPA (Titular)

BRAGANÇA – PA  
2022

À minha família, especialmente, ao meu amado  
filho Pedro Benício, meu leãozinho.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço à Deus pela vida e por, simplesmente, todas as coisas.

Ao meu orientador Prof. Dr. Péricles Sena do Rêgo por ter me orientado com muita dedicação e sabedoria e, principalmente, por toda confiança depositada em mim para o desenvolvimento deste trabalho.

À Professora Dra. Juliana Araripe que, juntamente com o professor Péricles, coordenam os alunos do Grupo de Genética e Conservação (GGC), conduzindo-os com muito empenho.

À todos do Laboratório de Genética e Conservação pela convivência, parceria e ajuda para a produção deste trabalho, em especial, à Natália Reis por toda dedicação e ajuda nos processos de bancada; ao Hipólito Xavier pelas informações relevantes concedidas ao meu trabalho, à Alice Rodrigues pela ajuda nas análises computacionais e à Gabryele Malcher, por sua amizade, conselhos, por seu espírito acolhedor e por suas importantes contribuições durante todas as etapas de desenvolvimento desta pesquisa.

Às minhas amigas do ensino superior Daniele Guedes e Thaís Viana que foram fundamentais para minha formação e, mesmo distante, tornaram esses anos de graduação mais leves, animados e compensadores.

Aos meus pais Iranilde França e Geú Rogrigues que sempre estiveram ao meu lado em qualquer circunstância. Impossível externar minha gratidão à vocês por todo amor, companheirismo, conselhos, dedicação e subsídio para que hoje eu pudesse galgar mais este degrau. Sem vocês este sonho não seria possível.

À minha irmã e melhor amiga Jéssica Santos, por seu ombro amigo e por partilhar comigo os bons e ruins momentos da vida.

Ao meu amado filho Pedro Benício, por preencher os meus dias com muita alegria, por ser minha maior motivação para continuar persistindo pelos meus sonhos e por me lembrar o lado bom da vida, que é o amor. É tudo por você, filho.

Ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico), por todo apoio e incentivo à pesquisa neste país, onde a atividade científica é marcada por grandes dificuldades e desvalorização.

À Faculdade de Ciências Biológicas da UFPA, Campus Bragança, e ao Instituto de Estudos Costeiros por democratizar o acesso ao ensino superior à tantos jovens, inclusive a mim.

Ao corpo docente do curso de Ciências Biológicas por ter contribuído grandemente com a minha formação profissional, em especial, a professora Sandra Bastos, por todo apoio no Programa Institucional de Bolsa de Iniciação à Docência (PIBID) e por seu excepcional

exemplo de conduta profissional.

À ONG AQUASIS, pelas amostras cedidas para realização desse trabalho.

À todos que contribuíram de maneira direta ou indireta para a minha formação, o meu mais sincero OBRIGADA!

“A alegria não chega apenas no encontro do achado,  
mas faz parte do processo da busca”.

(Paulo Freire)

## RESUMO

A espécie *Pyrrhura griseipectus*, endêmica do estado do Ceará, foi considerada durante quase 80 anos uma subespécie de *Pyrrhura leucotis*, só sendo reconhecida como unidade taxonômica independente em 2006. A espécie *P. leucotis* apresenta distribuição geográfica pela mata atlântica, com ocorrência comprovada nos estados da Bahia, Espírito Santo, Minas Gerais e Rio de Janeiro. Atualmente, ambas as espécies apresentam algum nível de ameaça a extinção, reconhecidas por entidades conservacionistas nacionais e internacionais. Recentemente, pesquisadores da Bahia registraram a ocorrência de uma pequena população de periquitos do gênero *Pyrrhura* no município de Conde, litoral leste da Bahia. Com base em registros fotográficos, filmagens, gravações de áudios e relatos das comunidades locais Félix *et al.* consideram que esses espécimes pertencem ao táxon *P. griseipectus*. Porém, nenhuma análise molecular que corrobore com essa afirmativa foi realizada com essa população recém encontrada. Diante disso, o presente estudo teve como objetivo avaliar geneticamente o grupo de periquitos (*Pyrrhura* sp.) encontrados no município do Conde, na Bahia, através de sequências do genoma mitocondrial (região controle), afim de definir a qual espécie do gênero *Pyrrhura* pertence esta população. Nossos resultados apontam que os exemplares da população baiana apresentam haplótipos exclusivos e mais proximamente relacionados a um haplogrupo da espécie *P. griseipectus*. Os resultados obtidos pela matriz de divergência e pela topologia também corroboram a proximidade dos indivíduos da Bahia com a espécie *P. griseipectus*, nos permitindo considerar que ambos formam uma única unidade taxonômica. A exclusividade haplotípica pode sugerir que estes exemplares configurem uma população relictual e disjunta de *P. griseipectus* presente no Estado da Bahia. Este resultado traz grandes implicações para o entendimento da biogeografia desta espécie, abrindo possibilidades de novas ações na busca de novas áreas de ocorrência.

**Palavras-chave:** Definição taxonômica, Dloop, *Pyrrhura griseipectus*, população disjunta, psitacídeos.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Espécie *Pyrrhura griseipectus*, exemplar adulto. Registro feito no município de Guaramiranga/CE. .... 10
- Figura 2 - Áreas de ocorrências atuais de *P. griseipectus* e distribuição histórica atuais de *P. griseipectus* circuladas em verde - 1 (Serra do Baturité/CE), 2 (Quixadá/CE) e 3 (Ibaretama/CE) – e distribuição histórica - 4 (Serra da Ibiapaba/CE), 5 (Serra de Uruburetama/CE), 6 (Serra do Machado/CE), 7 (Serra das Matas/CE), 8 (Serra de Maranguape/CE), 9 (Serra da Aratanha/CE), 10 (Serra Negra/PE), 11 (Serra Verde/PE), 12 (Brejo da Madre de Deus/PE), 13 (Serra de São Miguel/PB), 14 (Serra do Martins/RN) 15 (Serra do Ipu/CE) e 16 (Serra de Monte Horebe/PB)..... 12
- Figura 3 - A) Espécie *Pyrrhura leucotis*, indivíduo adulto, registro feito no município de Linhares/ES. B) Distribuição de *P. leucotis* no bioma Mata Atlântica delimitada pela linha tracejada vermelha (Adaptado de IUCN, 2022) ..... 13
- Figura 4 - Localidade amostrada de *Pyrrhura* sp. no município de Conde/BA (Ponto azul). ..... 15
- Figura 5 - Rede de haplótipos obtida a partir da Região Controle do mtDNA de *P. griseipectus* (cor verde), *P. leucotis* (cor vermelho) e *Pyrrhura* sp. (cor azul)..... 17
- Figura 6 - Topologia de Neighbor-joining (agrupamento de vizinhos), obtidas para os espécimes *Pyrrhura* sp. e as espécies *P. griseipectus* e *P. leucotis* ..... 18

## **LISTA DE TABELAS**

Tabela 1 - Dados de divergência genética entre os grupos moleculares encontrados.....18

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>9</b>
<b>2</b>	<b>JUSTIFICATIVA.....</b>	<b>14</b>
<b>3</b>	<b>OBJETIVO .....</b>	<b>14</b>
<b>4</b>	<b>MATERIAS E MÉTODOS .....</b>	<b>14</b>
<b>5</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>16</b>
<b>6</b>	<b>DISCUSSÃO .....</b>	<b>18</b>
<b>7</b>	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>20</b>
<b>8</b>	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>22</b>

## 1 INTRODUÇÃO

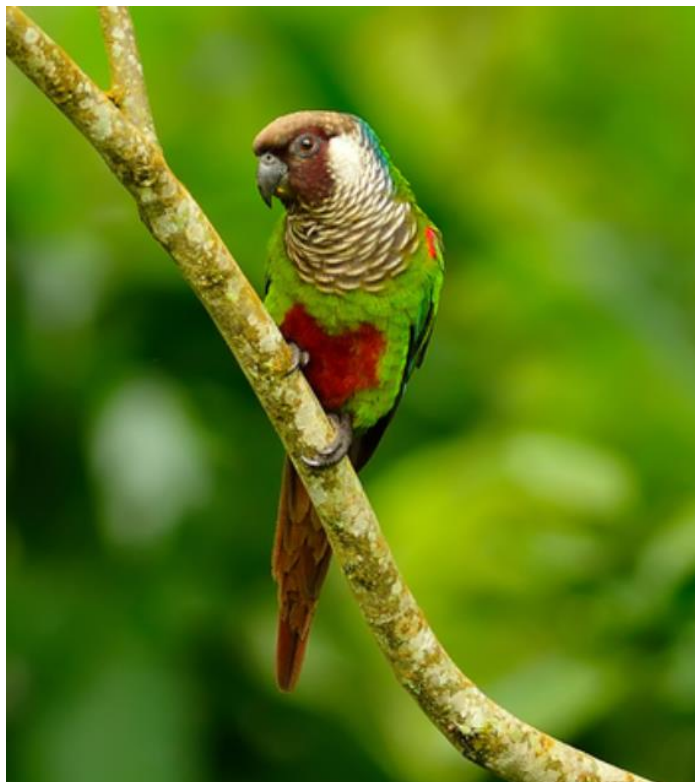
A região Neotropical abriga a maior riqueza de espécies do mundo e compreende uma extensa dimensão territorial, partindo do México Central ao Sul do Brasil (ANTONELLI & SANMARTIN, 2011; LIMA, 2018). O Brasil é um dos países que agrega a maior diversidade de aves do mundo, apresentando atualmente uma avifauna com 1.971 espécies de aves catalogadas (MITTERMEIER *et al.*, 2003; CBRO, 2021). A maioria das espécies de aves brasileiras distribuem-se, primordialmente, em cinco grandes regiões de biomas neotropicais: Amazônia, Mata Atlântica, Caatinga, Cerrado e Pantanal (SILVA *et al.*, 2003). Esses biomas são identificados como habitat natural e importantes centros de endemismo para várias espécies de aves (BENCKE *et al.*, 2006; SILVA, 1995; RIZZINI, 1997; SICK, 1997), o que evidencia a relevância desses ambientes tanto em termos ecológicos como biológicos (MYERS *et al.*, 2000).

O neotrópico agrega uma ampla diversidade de aves da família Psittacidae, que compreende as araras, papagaios, periquitos e afins. As aves dessa família são facilmente distinguíveis pelo característico bico curvo, com a maxila superior que se sobrepõe a maxila inferior e pelos pés zigodáctilos, com o quarto e primeiro dedos voltados para trás (FORSHAW, 1989). O Brasil é o país que mais registra espécies da Psitacidae, de forma que nos primeiros mapas, o país era chamado de “terra dos papagaios”, pois desde o século XVI já se ressaltava a abundância dessas aves no território brasileiro (PRESTI, 2006). Em contraste com esse passado, atualmente os psitacidae apresentam a maior proporção de espécies ameaçadas de extinção no Brasil e no mundo, com 16 espécies dessa família estando inclusas na Lista Vermelha da União Internacional para Conservação da Natureza (IUCN, 2021). Os principais fatores que levam a esse cenário são a perda de hábitat e o comércio ilegal, visto que esses indivíduos, por possuírem uma exuberante plumagem colorida e, em algumas espécies, a capacidade de imitar a voz humana, tornam-se atrativas e valiosas comercialmente (SNYDER *et al.*, 2000).

Dentro da família Psittacidae, destacamos o gênero *Pyrrhura*, que apresenta ampla distribuição na América do Sul (LOW, 2013). As espécies pertencentes a esse gênero apresentam, majoritariamente, um padrão de distribuição restrita a pequenas áreas geográficas, sendo as florestas de baixa altitude e as florestas subtropicais de 300 m a 1800 m o habitat característico de grande parte delas (LOW, 2013). Dentre as 32 espécies de aves que compõem o gênero *Pyrrhura*, 17 ocorrem no território brasileiro e 8 já apresentam algum grau de ameaça (IUCN, 2021), como *Pyrrhura griseipectus* Salvadori, 1900, conhecida

popularmente como periquito-cara-suja (Figura 1), que integra a lista de espécies ameaçadas, classificada como “Em perigo” tanto em plano nacional (MMA, 2022) quanto internacional (IUCN, 2018).

**Figura 1** - Espécie *Pyrrhura griseipectus*, exemplar adulto. Registro feito no município de Guaramiranga/CE.



**Fonte:** <https://www.wikiaves.com.br/mídias>. Foto: Romilson Junior.

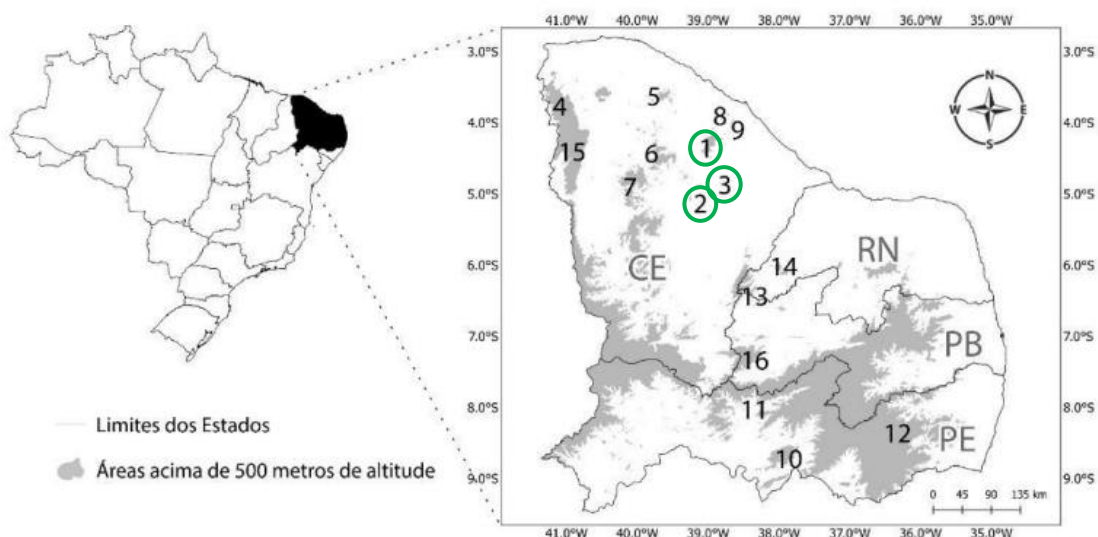
Mesmo sem uma avaliação detalhada, por mais de meio século *P. griseipectus* foi considerada como uma das subespécies de *Pyrrhura leucotis* (PETERS, 1937). Apesar de apresentar um elevado risco de extinção, a espécie só passou a ser assistida pelas ações de manejo e conservação de entidades internacionais em 2007, um ano após ter sido validada como um táxon independente por Ribas *et al.* (2006) por meio de análises genéticas. Segundo Marks (2014), o evento de especiação que separou *P. griseipectus* de *P. leucotis* (sua espécie irmã) ocorreu em um tempo muito recente (aproximadamente 90 mil anos, no Pleistoceno), sendo possível observar uma clara separação entre os táxons somente nas análises com a região controle do mtDNA, com a existência de grupos haplotípicos distintos. Na árvore filogenética proposta pela autora, as duas espécies apresentam-se como grupos parafiléticos, o que indica uma possível separação incompleta de linhagens. Contudo, embora não sejam

reciprocamente monofiléticas, as espécies em questão apresentam agrupamentos genéticos suficientes para serem consideradas unidades taxonômicas distintas (MARKS, 2014).

O periquito-cara-suja, *P. griseipectus*, é a única espécie do gênero *Pyrrhura* que ocorre no domínio morfoclimático da Caatinga, sendo endêmica do Estado do Ceará (RIBAS & MIYAKI, 2007). Seu habitat mais comum são os remanescentes arbóreos de florestas secas e úmidas, conhecidos como Brejos de Altitude, que se configuram como resquícios de “ilhas florestais” deixados pelas florestas mais úmidas durante as variações climáticas do pleistoceno, período em que os biomas Amazônia e Mata atlântica adentraram os domínios da Caatinga. (ANDRADE-LIMA, 1982). Contudo, apesar da espécie habitar preferencialmente ambientes úmidos, uma descoberta recente registrou a ocorrência de uma pequena população do periquito-cara-suja habitando em ambientes de clima árido e livre vegetação, como penhascos verticais de inselbergs, o que comprova uma eficaz plasticidade ecológica da espécie (GIRÃO *et al.*, 2010).

Nos últimos 50 anos, a área de distribuição do periquito-cara-suja sofreu intensa alteração (FERNANDES *et al.*, 2019). Atualmente, a espécie ocorre em três localidades do Estado do Ceará: a Serra de Baturité e os municípios de Quixadá e Ibaretama (GIRÃO *et al.*, 2010; NUNES *et al.*, 2015; CARMO, 2016). Contudo, publicações antigas, informações de museus, levantamentos de campo e etnobiológicos indicam que a espécie também já ocorreu em outros estados do nordeste, como Pernambuco, Paraíba e Alagoas, mas expedições recentes concluíram a extinção desses indivíduos nesses locais (Figura 2) (NUNES, 2015). Dentro deste cenário de distribuição restrita, a perda de habitat florestais no nordeste brasileiro e a caça ilegal, se configuram como um dos principais contribuintes para as condições de declínio populacional (FERNANDES *et al.*, 2019).

**Figura 2** - Áreas de ocorrências atuais de *P. griseipectus* e distribuição histórica atuais de *P. griseipectus* circuladas em verde - 1 (Serra do Baturité/CE), 2 (Quixadá/CE) e 3 (Ibaretama/CE) – e distribuição histórica - 4 (Serra da Ibiapaba/CE), 5 (Serra de Uruburetama/CE), 6 (Serra do Machado/CE), 7 (Serra das Matas/CE), 8 (Serra de Maranguape/CE), 9 (Serra da Aratanha/CE), 10 (Serra Negra/PE), 11 (Serra Verde/PE), 12 (Brejo da Madre de Deus/PE), 13 (Serra de São Miguel/PB), 14 (Serra do Martins/RN) 15 (Serra do Ipu/CE) e 16 (Serra de Monte Horebe/PB).



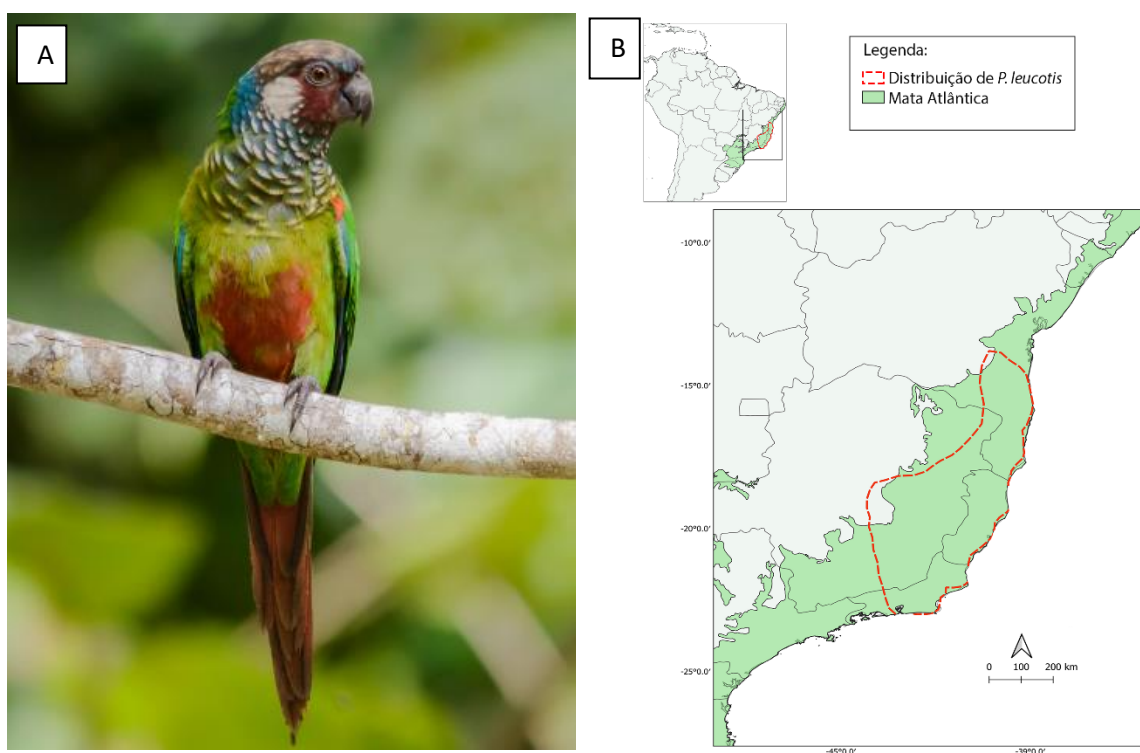
Fonte: Nunes, 2017.

Por sua vez, a espécie *P. leucotis* (KUHL, 1820), também conhecida como tiriba-de-orelha-branca (Figura 3A), apresenta um padrão de distribuição naturalmente fragmentado ao longo de toda Mata Atlântica, com ocorrência comprovada nos estados da Bahia, Espírito Santo, Minas Gerais e Rio de Janeiro (FORSHAW, 2010) (Figura 3B). Seu habitat característico são as copas das fragmentadas florestas úmidas das baixadas litorâneas e matas de tabuleiro, sendo sensível até as menores alterações destas condições (JUNIPER & PARR, 1998). Esse táxon também sofre graves ameaças quanto a perda de habitat e caça ilegal e, assim como sua espécie-irmã, *P. griseipectus*, também está incluso na lista das espécies ameaçadas de extinção, sendo classificado como vulnerável pela IUCN e pela Lista Vermelha de Espécies Ameaçadas do Brasil (MMA, 2022; IUCN, 2018).

Além da alopatria, algumas características morfológicas marcantes distinguem *P. griseipectus* e *P. leucotis*, comprovando a rápida atuação da seleção sexual entre ambas as espécies (MARKS, 2014). A coloração da plumagem do peito (cinza em *P. griseipectus* e branco em *P. leucotis*), a cor da cabeça (coroa inteiramente cinza com azul somente nas laterais do pescoço em *P. griseipectus* e a testa, nuca e laterais do pescoço em tons azuis em *P. leucotis*), a mancha auricular (branco puro a creme e notavelmente maior em *P.*

*griseipectus* e creme a amarelada em *P. leucotis*) e o anel perioftálmico (esbranquiçado a xistoso em *P. griseipectus* e azul escuro em *P. leucotis*) destacam-se como as principais diferenças morfológicas entre as mesmas (OLMOS *et al.*, 2005; LOW, 2013).

**Figura 3** – A) Espécie *Pyrrhura leucotis*, indivíduo adulto, registro feito no município de Linhares/ES. B) Distribuição de *P. leucotis* no bioma Mata Atlântica delimitada pela linha tracejada vermelha (Adaptado de IUCN, 2022).



**Fonte:** <https://www.wikiaves.com.br/mídias>. Foto: Ronaldo Kolozuk.

Recentemente, pesquisadores da Bahia registraram a ocorrência de uma pequena população de periquitos do gênero *Pyrrhura* habitando em áreas de manguezais e restinga no município do Conde, litoral norte da Bahia (WIKIAVES, 2020). Após essa nova descoberta, surgiram questionamentos quanto a classificação taxonômica dessas aves recém encontradas. A priori, os pesquisadores envolvidos no registro identificaram os indivíduos dessa população como pertencentes a espécie *P. leucotis*. Posteriormente, baseados em arquivos fotográficos, filmagens, gravações de áudios e relatos das comunidades locais, Félix *et al.* (2022) descreveram que a população de periquitos encontradas nessa região pertencem ao táxon *P. griseipectus*. Porém, até o momento, nenhuma análise molecular que sustente essa afirmativa foi realizada com essa população.

Dessa forma, as hipóteses levantadas quanto a real taxonomia desses periquitos da população do estado da Bahia são: 1) essas aves tratam-se de uma população disjunta da espécie *P. griseipectus*, atualmente endêmica do Ceará, 2) são indivíduos pertencentes a espécie *P. leucotis*, endêmica da Mata Atlântica ou 3) são um táxon independente, se tratando de uma espécie desconhecida até então pela ciência. Portanto, torna-se necessário definir geneticamente a real classificação taxonômica dos periquitos recém encontrados na Bahia, sendo este o principal debate deste estudo.

## **2 JUSTIFICATIVA**

Segundo Faleiro (2007), o estudo com os marcadores genéticos permite gerar grande quantidade de informações sobre a identidade genética, variabilidade, a estrutura genética e relações filogenéticas. Assim, a análise com marcadores genéticos é uma ferramenta imprescindível para elucidar incertezas taxonômicas. Estudos realizados previamente com a Região Controle do genoma mitocondrial indicaram que as espécies *P. griseipectus* e *P. leucotis* não compartilham haplótipos, sendo este um marcador informativo e perspicaz para avaliar os limites específicos entre os três grupos em questão: *Pyrrhura griseipectus*, *Pyrrhura leucotis* e *Pyrrhura* sp., definindo, assim, o status taxonômico da população de periquitos recentemente encontrada.

## **3 OBJETIVO**

Avaliar geneticamente o grupo de periquitos (*Pyrrhura* sp.) encontrados no município do Conde, estado da Bahia, afim de verificar o status taxonômico da população.

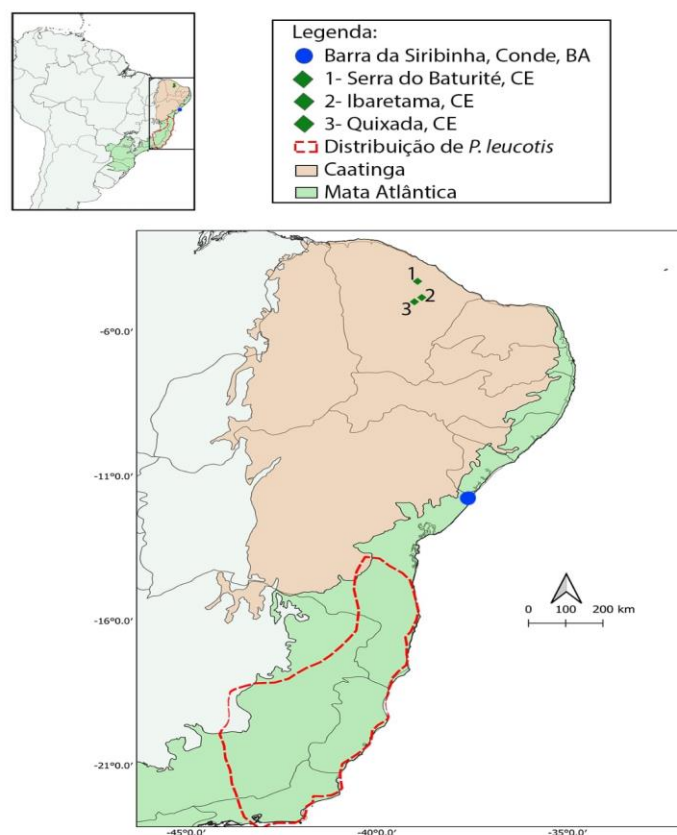
## **4 MATERIAS E MÉTODOS**

### **4.1 Amostragem**

Para a realização desse estudo foram utilizadas cinco amostras de penas de indivíduos do município do Conde, litoral leste do Estado da Bahia (Figura 4). Todas as amostras foram cedidas pela ONG AQUASIS (Associação de Pesquisa e Preservação de ecossistema Aquáticos). As amostras foram tombadas, adicionadas em tubos com álcool 70% e armazenadas no Laboratório do Grupo de Genética e Conservação (GGC) da Universidade Federal do Pará - *Campus* de Bragança. Para completar o banco de dados, foram utilizadas sequências moleculares da Região Controle do mtDNA das espécies *P. griseipectus* e *P. leucotis* disponibilizadas pelo grupo de pesquisadores do INPA - Instituto Nacional de

Pesquisas da Amazônia (dados não publicados), totalizando 27 sequências do *P. griseipectus* e 8 de *P. leucotis* e, para compor o grupo externo, foram obtidas duas sequências da região controle do mtDNA da espécie *Pyrrhura picta* no Genbank (Código de acesso: AY751694.1.)

**Figura 4** - Pontos de ocorrência atuais da espécie *P. griseipectus* no Ceará (Losangos verdes) (adaptado de Nunes, 2017). Localidade amostrada de *Pyrrhura* sp. no município de Conde/BA (Ponto azul). Área de distribuição da espécie *P. leucotis* (área tracejada em vermelho) (adaptado de IUCN, 2022).



## 4.2 Procedimentos laboratoriais

A extração do DNA total foi realizada a partir de amostras de pena utilizando o Kit Wizard® *Genomic DNA Purification* da Promega, segundo instruções do fabricante. A avaliação da integridade do material genético foi realizada através de eletroforese em gel de agarose 1,5%. A quantificação do DNA extraído foi realizada em um Nanodrop (BIO-5000-BI) e, posteriormente, as amostras foram diluídas para aproximadamente 45 ng/μl.

A amplificação da Região Controle do mtDNA foi realizada através da reação em cadeia da polimerase (PCR), utilizando os iniciadores (primers): LGlu 16737 5' - GCC CTG AAA ARC CAT CGT TG - 3' (EBERHARD *et al.*, 2001) e HPhe 1028 5' - GCC CTG AAA ARC

CAT CGT TG - 3' (TAVARES, 2001). A reação teve um volume final de 25 µl, sendo 13,75 µl de água; 4 µl de dNTP (1,25mM); 2,5 µl de Buffer (10X); 2 µl de MgCl<sub>2</sub> (25 mM); 1 de BSA (20Mg); 0,5 µl de cada primer (10 pmol/µl); 0,5 µl de Taq *platinum* (5 U/ µl); e 1 µl de DNA (45 ng/µl).

O programa de amplificação consistiu em: desnaturação inicial a 94° C por 4 minutos; seguido por 30 ciclos de 95° C por 1 minuto; 55.3° C por 1 minuto; 72° C por 2 minutos; com extensão final de 72° C por 10 minutos. Após a amplificação, os produtos foram submetidos à eletroforese em gel de agarose a 1,5% e visualizadas sob luz ultravioleta. Os produtos obtidos a partir desse primeiro processo de amplificação foram submetidos a técnica *nested*-PCR (nPCR), que consiste em uma amplificação secundária do fragmento do genoma previamente amplificado e que confere maior sensibilidade e especificidade (MARTINS *et al.*, 2000; MIYAZAKI *et al.*, 1993). Essa segunda reação foi realizada com as mesmas condições de amplificação da anterior (mesmo programa e volumes de reagentes), diferenciando-se por utilizar no lugar do DNA a solução final da primeira PCR. As amostras positivas foram purificadas com PEG 8000 20% utilizando o protocolo de Paithankar & Prasad (1991) e submetidas a reação de sequenciamento utilizando o Kit Big Dye (*Applied Biosystems*). O produto dessa reação foi precipitado em álcool 70%, ressuspendidos em formamida e injetados no sequenciador automático ABI 3500XL (*Applied Biosystems*).

#### 4.3 Análises computacionais

As sequências de nucleotídeos obtidas foram visualizadas e corrigidas no programa BioEdit 7.2 (HALL, 1999) e alinhadas automaticamente no aplicativo Clustal-W (THOMPSON *et al.* 1997). A partir dos fragmentos obtidos, foi produzida uma rede de haplótipos baseado em máxima verossimilhança no *software* Haploview (SALZBURGER *et al.* 2011). As matrizes de divergência (distância-p) genética entre os grupos haplótípicos encontrados e a árvore filogenética (agrupamento de vizinhos) foram geradas no programa Mega 6 (TAMURA *et al.*, 2013), utilizando o modelo Kimura 2 parâmetros, 1000 réplicas de brootstrap.

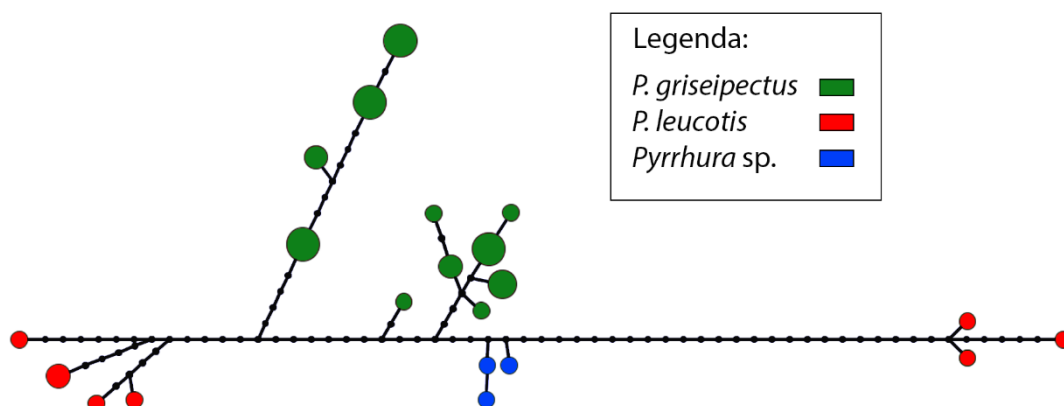
## 5 RESULTADOS

Das cinco amostras iniciais provenientes da Bahia, três tiveram as sequências da Região Controle geradas de forma satisfatória. O banco de sequências final foi composto por 40

exemplares, sendo 3 das amostras da Bahia, 27 da espécie *P. griseipectus*, 8 de *P. leucotis* e 2 de *P. picta*, totalizando 1220 pares de base (pb).

Nesse conjunto de dados, identificamos a presença de 4 grupos haplotípicos, dos quais dois são formados pelos indivíduos da espécie *P. leucotis* e os outros dois formados por *P. griseipectus*. Ressaltamos que as sequências da espécie *P. picta* não fizeram parte desta análise. A partir destes 4 haplogrupos, observamos que os haplótipos dos espécimes da Bahia estão inclusos em um dos haplogrupos da espécie *P. griseipectus*, mas com exclusividade haplotípica evidente entre os mesmos (Figura 5).

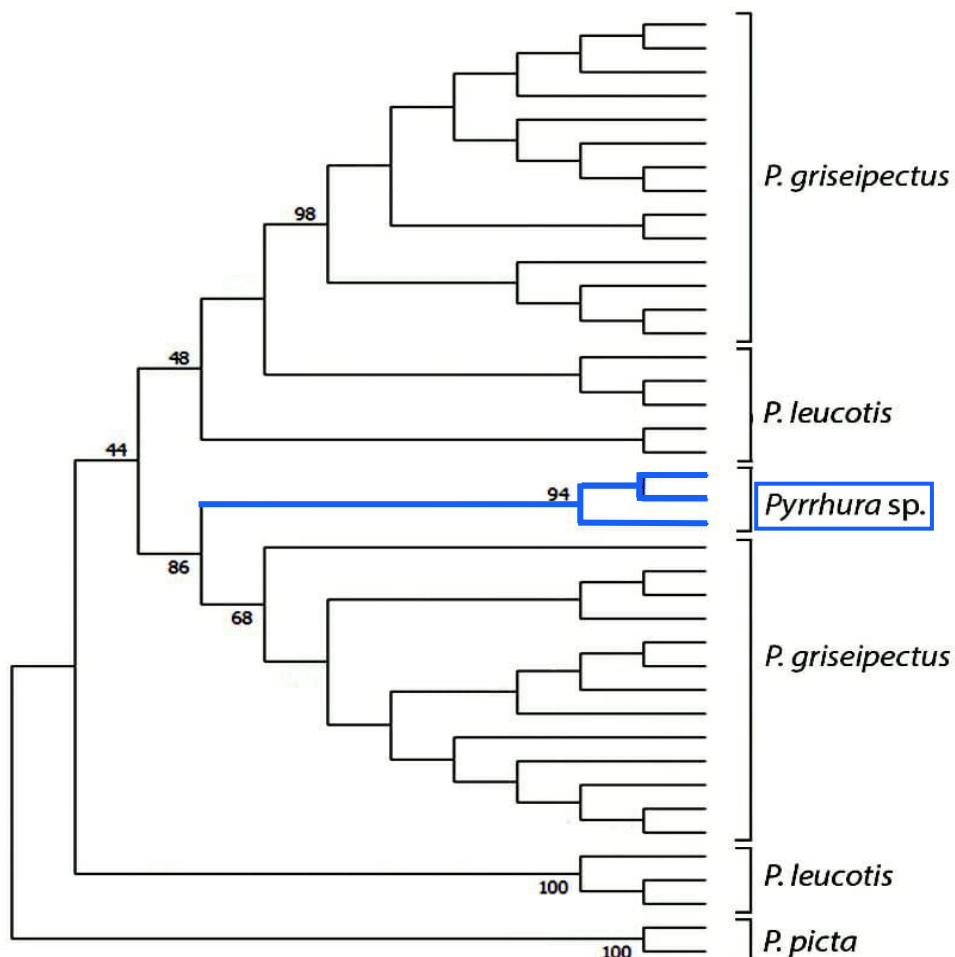
**Figura 5** - Rede de haplótipos obtida a partir da Região Controle do mtDNA de *P. griseipectus* (cor verde), *P. leucotis* (cor vermelho) e *Pyrrhura* sp. (cor azul).



Os valores da matriz de divergência genética entre *Pyrrhura* sp. e as espécies *P. griseipectus* e *P. leucotis* revelaram uma menor taxa de divergência entre *P. griseipectus* e os espécimes da Bahia (1,36%); enquanto que, uma maior taxa de divergência é observada quando se compara estes últimos a *P. leucotis* (2,01%), sendo esta taxa de divergência similar a encontrada quando comparamos as duas espécies (*P. griseipectus* versus *P. leucotis* = 2,09%) (Tabela 1). Na topologia de *Neighbor-joining* (agrupamento de vizinhos) gerada, observamos o agrupamento dos espécimes da Bahia com alguns exemplares da espécie *P. griseipectus* e a relação mutuamente parafilética entre as espécies-irmãs em evidência, *P. leucotis* e *P. griseipectus*.

**Tabela 1** - Dados de divergência genética entre os grupos moleculares encontrados.

Grupos analisados	% de divergência
<i>P. griseipectus</i> vs. <i>Pyrrhura</i> sp.	1,36%
<i>P. leucotis</i> vs. <i>Pyrrhura</i> sp.	2,01%
<i>P. griseipectus</i> vs. <i>P. leucotis</i>	2,09%

**Figura 6** - Topologia de *Neighbor-joining* (agrupamento de vizinhos), obtidas para os espécimes *Pyrrhura* sp. e as espécies *P. griseipectus*, *P. leucotis* e *P. picta*.

## 6 DISCUSSÃO

Para Frankham *et al.* (2008) a definição do status taxonômico dos organismos é imprescindível para a biologia da conservação, sendo as análises moleculares uma das principais ferramentas utilizadas em trabalhos que buscam a resolução destas questões.

Nossos resultados nos revelaram que a população de periquitos encontrados no município de Conde, na Bahia, está mais proximamente relacionada com a espécie *P. griseipectus*. Dessa forma, concluímos que os indivíduos da Bahia são uma população disjunta de *P. griseipectus* que ocorre no domínio morfoclimático da Mata Atlântica, ampliando, assim, a área de distribuição da espécie que até o momento era restrita ao domínio morfoclimático da Caatinga (NUNES *et al.*, 2015; CARMO *et al.*, 2016). Além disso, a exclusividade haplotípica da população da Bahia sugere que o estabelecimento desses indivíduos nessa região não se originou a partir de uma introdução/soltura acidental, o que nos permite propor que esses indivíduos constituem uma população relictual, pois persistem em apenas alguns locais da distribuição geográfica originalmente ocupada pela espécie em tempos passados.

No trabalho realizado por Nunes (2015), constatou-se a extinção do periquito-cara-suja nos estados de Alagoas, Paraíba e Pernambuco, evidenciando a possibilidade de no passado a espécie ter apresentado ampla ocorrência pelo nordeste brasileiro. Essa evidência de distribuição anterior da espécie corrobora com a hipótese levantada no presente trabalho de que as atuais populações do periquito-cara-suja são populações disjuntas e relictuais, e devido à extinção na maior parte da sua antiga distribuição, tornaram-se restritas apenas à algumas localidades do estado do Ceará e, como agora comprovado pelo nosso estudo, também no município de Conde, no estado da Bahia.

Uma vez constatado que a população da Bahia pertence a espécie *P. griseipectus*, observamos a existência de três *pools* gênicos dentro da espécie, sendo um deles formado apenas pelos indivíduos da Bahia. Marks (2014) também afirma a existência de dois *pools* gênicos em *P. griseipectus* e outros dois em *P. leucotis*, reforçando que para *P. griseipectus* esses agrupamentos genéticos não apresentam coerência geográfica dentro das localidades avaliadas no Ceará. Com a descoberta dessa nova população disjunta na Bahia, destacamos a necessidade de uma nova avaliação da diversidade genética e estrutura populacional em *P. griseipectus*, informações que podem contribuir com ações de manejo e conservação da espécie, principalmente dos periquitos de Conde que possuem um tamanho populacional reduzido (FÉLIX *et al.*, 2022).

Além disso, a topologia gerada recupera uma parafilia entre as espécies *P. leucotis* e *P. griseipectus*, fato já abordado por Marks (2014). Segundo a autora, essa ausência de monofiletismo recíproco entre as espécies é resultado de vicariância recente a partir de uma população ancestral que já estava estruturada. Em análises da história evolutiva das aves

neotropicais, Myiaki (2009) ressalta que parte das espécies que ocorrem nos biomas florestais da região neotropical se agrupam em linhagens parafiléticas, podendo esta ser uma característica relacionada a complexidade da história dessas formações florestais. Marcadores moleculares com maior poder de resolução na diferenciação entre espécies recentemente separadas (Amaral *et al.*, 2018) poderão esclarecer de forma mais adequada a atual situação encontrada entre estas espécies de periquitos.

A classificação taxonômica dos indivíduos da Bahia como uma população da espécie *P. griseipectus* reitera a ampla plasticidade ecológica deste táxon, visto que essa população recém encontrada coloniza áreas de manguezais e restinga, um habitat muito destoante dos típicos ambientes úmidos onde a espécie é majoritariamente encontrada (OLMOS *et al.*, 2005; FÉLIX *et al.*, 2022). Booy *et al.* (2000) reforçam que a variabilidade genética confere maior capacidade de adaptação aos organismos, logo, maior plasticidade para suportar diferenças no ambiente. Tal capacidade ecológica da espécie já havia sido registrada por Girão *et al.* (2010), quando contemplaram a ocorrência de uma população de *P. griseipectus* colonizando ambientes áridos no município de Quixadá, no Ceará.

Os resultados aqui obtidos destacam a necessidade de realização de novas buscas em áreas de manguezais e restinga, em outros pontos do litoral nordestino, pois, uma vez confirmada o estabelecimento dos indivíduos desse táxon nesses ecossistemas costeiros, podemos supor que outras populações da espécie podem habitar em diferentes localidades do mesmo ecossistema ao longo desta região litorânea.

## 7 CONCLUSÃO

Os dados deste trabalho permitiram evidenciar que o grupo de periquitos do gênero *Pyrrhura* encontrados no município do Conde (BA), estão mais proximamente relacionados com a espécie *P. griseipectus*. Dessa forma, consideramos uma população disjunta deste táxon ocorrendo na Bahia. Além disso, devido a exclusividade haplotípica, sugerimos que a população da Bahia se caracteriza como uma população relictual da espécie que outrora apresentava distribuição abundante pelos estados do nordeste. O pertencimento da população da Bahia a espécie *P. griseipectus* também indica uma eficaz plasticidade ecológica apresentada pelo táxon, devido ocupar um ambiente não comumente descrito para a espécie. Desse modo, sugerimos a realização de novas buscas em ecossistemas costeiros do litoral nordestino, afim de verificar a possibilidade de ocorrência de outras populações da espécie que estejam colonizando habitats semelhantes aos da população do Conde (BA).



## REFERÊNCIAS

- ALBANO, C.; GIRÃO, W. **Aves das matas úmidas das serras de Aratanha, Baturité e Maranguape, Ceará.** Revista Brasileira de Ornitologia, v. 16, n. 2, p. 142-154, 2008.
- ANDRADE-LIMA, D. **Present-day Forest refuges in northeastern Brazil.** Biological diversification in the tropics. Columbia Univ. p. 245–251, 1982.
- ANTONELLI, A.; SANMARTIN, I. **Why are there so many plant species in the Neotropics?.** p. 403-414, 2011.
- BENCKE, G. A., MAURÍCIO, G. N., DEVERLEY, P. F., GOERK, J. M. **Áreas importantes para a conservação de aves no Brasil.** Parte I - Estados do Domínio da Mata Atlântica. SAVE Brasil, São Paulo, 2006.
- BIRDLIFE INTERNACIONAL. *Pyrrhura griseipectus*. **The IUCN Red List of Threatened Species 2018.** 2018. Disponível em: <https://www.iucnredlist.org/species/22733968/132181930>. Acessado em 28 de junho de 2022.
- BOOY, G.; HENDRIKS, R. J. J.; SMULDERS, M. J. M.; GROENENDAEL, J. M.; VOSMAN, B. **Genetic Diversity and the Survival of Populations.** Plant Biology. p. 379-395, 2000.
- CARMO C. C.; FILHO, N. M. P.; OLIVEIRA, F. R.; TEIXEIRA, R. S. C.; NETO, T. M.; NUNES, F. P.; MACIEL, W. C. **Registro de avifauna da localidade de serra azul, Ibaretama, Ceará, Brasil.** XXI Semana Universitária da UECE. Univerisdade Estadual do Ceará. 2016.
- FALEIRO, F. G. **Marcadores genético-moleculares aplicados a programas de conservação e uso de recursos genéticos.** Planaltina, DF: Embrapa Cerrados. p. 102, 2007.
- FÉLIX, R. & SAMPAIO, S. & EL-HANI, C. The Endangered Grey-breasted Parakeet *Pyrrhura griseipectus* occurs in Bahia, Brazil. **Cotinga 44.** Cotinga. 44. p. 2-8, 2022.
- FERNANDES, K. C.; BOSSO, P.; FARIA, A. R. G.; KANAAN, V. T.; MARTINEZ, J.; MIYAKI, C.; NUNES, F.; OLIVA, L. R.; PRESTES, N. P.; RASO, T. F.; SCHERER-NETO, P.; SEIXAS, G. H. F.; SERAFINI, P. P.; SOMENZARI, M.; SIPINSKI, E. A.; TRAYLOR-HOLZER, K. **Avaliação de Conservação Ex Situ para a Conservação Integrada do PAN Papagaios e Periquito-cara-suja no Brasil.** UICN CSE Grupo Especialista em Planejamento de Conservação – Brasil. Foz do Iguaçu, Paraná. 2019.
- FORSYTH, J. M. **The Parrots of the World**, 3 ed., Lansdowne Press, Willoughby. 1989.
- FRANCISCO, L. R.; MOREIRA, N. **Manejo, reprodução e conservação de psitacídeos brasileiros.** Rev Bras Reprod, 2012.

- FRANCISCO, L. R.; VALDUGA, M. O.; MOREIRA, N. **Resposta reprodutiva à retirada de ovos e filhotes de psitacídeos neotropicais em cativeiro.** Rev. Bras. Reprod. Anim, v. 38, p. 25-31, 2014.
- FRANKHAM, R.; BALLOU, J. D.; BRISCOE, D. A. **Fundamentos de genética da conservação.** Sociedade Brasileira de Genética, Ribeirão Preto. 2008.
- GIRÃO, W.; ALBANO, C.; CAMPOS, A. A. **Inselbergs as habitat to the Critically Endangered Grey-breasted Parakeet (*Pyrrhura griseipectus*), an endemic species from northeastern Brazil.** Revista Brasileira de Ornitologia, 18(2), p. 130-132, 2010.
- HAFER, J. **Alternative models of vertebrate speciation in Amazonia: an overview.** Biodiversity and Conservation, p. 15-45, 1997.
- HALL, T. A. **BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT.** In: Nucleic acids symposium series, London: Information Retrieval Ltd., c1979-c2000., p. 95-98, 1999.
- HELLMAYR, C. E. **A contribution to the ornithology of northeastern Brazil. Publ. Field Mus. Nat. Hist.; Zool. 12:** p. 235–526, 1929.
- ICMBIO. Ministério Do Meio Ambiente Instituto Chico Mendes De Conservação Da Biodiversidade Diretoria De Pesquisa, Avaliação E Monitoramento Da Biodiversidade Coordenação Geral De Manejo Para Conservação Roteiro Metodológico Para Avaliação Do Estado De Conservação. Seção 1. p. 1–74, 2022.
- JOSEPH, L. **Beginning an end to 63 years of uncertainty: The Neotropical parakeets known as *Pyrrhura picta* and *P. leucotis* comprise more than two species.** Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia 150: p. 279-292, 2000.
- JUNIPER, T. & PARR, M. **Parrots, A Guide to Parrots of the World.** Yale University Press. 1998.
- LIMA, N. E. **Caracterização e história biogeográfica dos ecossistemas secos neotropicais.** Rodriguésia, v. 69, p. 2209-2222, 2018.
- LOW, R. ***Pyrrhura Parakeets (Conures): Aviculture, Natural History, Conservation.*** Mansfield, United Kingdom. Insignis Publications. p. 262, 2013.
- MARKS, C. F. Biogeografia histórica e conservação em *Pyrrhura griseipectus* e *P. leucotis* (Aves; Psittacidae): **variabilidade genética, história demográfica e limites específicos.** Dissertação (mestrado). Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia. 2014.
- MARTINS, L. C.; PASCHOAL, I. A.; NOWAKONSKI, A.V.; SILVA, S. A. B.; COSTA, F. F.; WARD, L. S.; Nested-PCR using MPB64 fragment improves the diagnosis of pleural and meningeal tuberculosis. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 33:** p. 253-257, 2000.

- MIYAZAKI, Y.; YOGA, H.; KOHNO, S.; KAKU, M. Nested polymerase chain reaction for detection of *Mycobacterium tuberculosis* in clinical samples. **Journal of Clinical Microbiology** 31: p. 2228-2232, 1993.
- MITTERMEIER, C. G; BROOKS, T. M; PILGRIM, J. D; KONSTANT, W.R; FONSECA, G.A.B. & KORMOS, C. **Wilderness and biodiversity conservation**. Proceedings of the National Academy of Science, 100, p.10309-10313, 2003.
- MYERS, N.; MITTERMEIER, R. A; MITTERMEIER, C. G; DA FONSECA, G. A. B; KENT, J. **Biodiversity hotspots for conservation priorities**. *Nature*. 403, p. 853–858, 2000.
- MYIYAKI, C. Y. Filogeografia e a descrição da diversidade genética da fauna brasileira. **Megadiversidade**, 5 (1-2): p. 96-100, 2009.
- NUNES, F. P.; LOPES, I. T. **Aves da Serra de Baturité**: Guia Fotográfico. Ceará. Aquasis. p. 180, 2015.
- OLMOS, F.; GIRÃO, W.; ALBANO, C. **Grey-breasted Conure *Pyrrhura griseipectus*, an overlooked endangered species**. *Cotinga*, 24, 77–83, 2005.
- PACHECO, J. F. **As aves da Caatinga: uma análise histórica do conhecimento**, p. 189-250. Em: Silva, J. M. C.; Tabarelli M.; Fonseca M. T. e Lins, L. V. (Orgs.). *Biodiversidade da Caatinga: áreas e ações prioritárias para a conservação*. Brasília: MMA/UFPE. 2004.
- PAITHANKAR, K.; PRASAD, S. **Precipitation of DNA by polyethylene glycol and ethanol**. *Nucleic acid research*, v. 19, n. 6, p. 1346, 1991.
- PETERS, J. L. **Check-list of Birds of the World**, vol. 3. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts. 1937.
- PRESTI, F. T. **Caracterização da variabilidade genética em espécies de psitacídeos ameaçados**. Tese de Doutorado. Dissertação de Mestrado, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2006.
- RIZZINI, C. T. **Tratado de fitogeografia do Brasil**. 2ª ed. Editora Âmbito Cultural Ltda, Rio de Janeiro, 1997.
- RIBAS, C. C.; MIYAKI, C. Y. Análise comparativa de padrões de diversificação em quatro gêneros de psitacídeos neotropicais. **Revista Brasileira de Ornitologia**, 15(2), p. 245–252, 2007.
- RIBAS C. C.; JOSEPH, L.; MIYAKI, C. Y. **Molecular systematics and patterns of diversification in *Pyrrhura* (Psittacidae), with special reference to the *picta*–*leucotis* complex**. *The Auk*, 123(3), 660–680, 2006.
- SALZBURGER, W; EWING, G.; HAESLER, A. **The performance of phylogenetic algorithms in estimating haplotype genealogies with migration**. *Mol. Ecol.* 20, p. 1952-1963, 2011.

SIBLEY, C. G., ALQUIST, J. E. **Phylogeny classification of birds: a study in molecular evolution**. Yale University Press, New Haven. 1990.

SICK, H. **Ornitologia Brasileira**, edição revista e ampliada por José Fernando Pacheco. Rio de Janeiro: Nova Fronteira, 1997.

SILVA, J. M. C. **Birds of the Cerrado region, South America**. *Steenstrupia*. 21, p. 69-92, 1995.

SILVA, J. M. C.; SOUZA, M. A.; BIEBER, A. G.; CARLOS, C. J. **Aves da caatinga: status, uso do habitat e sensibilidade**. Em: I. R. Leal, M. Tabarelli e J. M. C. Silva (eds.) *Ecologia e Conservação da caatinga*. Recife: Ed. Universitária da UFPE. p. 237-273, 2003.

SILVA, J. M. C.; SOUZA, A. G. D.; BIEBER, C. J.; CARLOS. **Aves da Caatinga: status, uso do habitat e sensibilidade**. In: I.R. Leal, M. Tabarelli & J.M.C. Silva (eds.). *Ecologia e conservação da Caatinga*. Editora Universitária, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brasil. p. 237-273. 2003.

SMITH, G. A., **Systematics of parrots**. *Ibis* 117, p. 18-6, 1975.

SNYDER, N.; P. MCGOWAN; J. GILARDI, A.; GRAJAL. **Parrots: status survey and conservation action plan**. International Union for the Conservation of Nature, Cambridge, UK, 1999.

TABARELLI, M.; SANTOS, A. M. M. Uma breve descrição sobre a história natural dos brejos nordestinos. **Brejos de Altitude em Pernambuco e Paraíba, História Natural, Ecologia e Conservação**, v. 9, p. 17-24, 2004.

THOMPSON J. D. The CLUSTAL\_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic acids research*, v. 25, p. 4876-4882, 1997.

WEGE, D. C. & LONG, A.D. **Key Areas for Threatened Birds in the Neotropics**. Washington: Birdlife International. p. 311, 1995.

XAVIER, H. D. F. **Avaliação da extensão de ocorrência e do risco de extinção de *Pyrrhura griseipectus* Salvadori 1900**. Orientador: Vicente Vieira Faria. 2019. 42 f. TCC (Graduação) – Curso Ciências Biológicas. Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2019. Disponível em: <https://repositorio.ufc.br/handle/riufc/48335> . Acesso em 05/06/2022.