

André Murilo Magro Freddi

Sistemática molecular e biogeografia
histórica do gênero *Aratinga* (Psittacidae,
Aves)

Molecular systematics and historical
biogeography of genus *Aratinga*
(Psittacidae, Aves)

São Paulo

2012

André Murilo Magro Freddi

Sistemática molecular e biogeografia
histórica do gênero *Aratinga* (Psittacidae,
Aves)

Molecular systematics and historical
biogeography of genus *Aratinga*
(Psittacidae, Aves)

Dissertação apresentada ao
Instituto de Biociências da
Universidade de São Paulo, para
a obtenção de Título de Mestre
em 2012, na Área de Genética e
Biologia Evolutiva.

Orientador(a): Cristina Yumi
Miyaki

São Paulo

2012

Ficha Catalográfica

Freddi, André Murilo Magro
Sistemática molecular e
biogeografia histórica do gênero
Aratinga (Psittacidae, Aves)
Número de páginas: 43

Dissertação (Mestrado) - Instituto
de Biociências da Universidade de São
Paulo. Departamento de Genética e
Biologia Evolutiva.

1. Gênero *Aratinga* 2. Sistemática
Molecular da tribo Arini 3. Biogeografia
4. Biogeografia neotropical
I. Universidade de São Paulo. Instituto
de Biociências. Departamento de
Genética e Biologia Evolutiva.

Comissão Julgadora:

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr.(a).

Orientador(a)

À Lu, eterna companheira de minha vida,
Aos meus pais, meu irmão e toda minha família.

“Nothing in Biology Makes Sense Except in the Light of Evolution”

Theodosius Dobzhansky, 1973.

Agradecimentos

À professora Dra. Cristina Yumi Miyaki pela orientação, toda a ajuda com discussões sobre o trabalho e por sempre estar disposta a ajudar.

Ao Fábio S. R. do Amaral por toda a ajuda com as filogenias, com as datações, com discussões enriquecedoras sobre sistemática, pela paciência para me ajudar no lab, responder mensagens tarde da noite no gtalk, assim como pela amizade e as muitas risadas.

À Erika S. Tavares por toda a ajuda com os métodos do trabalho, assim como com discussões sobre as datações moleculares.

Ao Henrique Batalha Filho pela ajuda com as datações moleculares, assim como discussões, assim como ajuda no sequenciamento e na purificação das PCRs e também pela amizade.

À Adriana R. Oliveira-Marques pela ajuda no laboratório, pela amizade e por nos trazer o Lino.

Ao Danilo A. Rufo pela ajuda no laboratório, pelas inúmeras PCRs tiradas dos termocicladores, assim como pelas muitas risadas e a amizade.

Ao Marcos M. Coelho pela ajuda a rodar as análises de Máxima Verossimilhança no RAxML e também pela amizade.

A todos os outros amigos e companheiros de laboratório: Ana Cris, Carol, Cibele, Ricardo, Tiago; pela ajuda no laboratório, discussões enriquecedoras e também pela amizade.

À Flávia Presti que me ajudou no momento em que entrei no laboratório, com paciência e atenção.

A todos que contribuíram com amostras para realizar o trabalho: Criadouro Stanislau, Criadouro de Aluísio, African Safari Zoo, Colina dos Aragaris, Rio Zoo, Zoológico de Sorocaba, professor Dr. Luís Fábio Silveira, Parque Zoológico Quinzinho de Barros, Criadouro Carlos Isoldi, Paulo Martuscelli e Carlos Yamashita, Edislane Barreiros de Souza, Ademar Marra, Michael Braun e o professor Dr. Michael Wink.

À Lynx Edicions pela permissão de uso das imagens de psitacídeos do Handbook.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) por me conceder a bolsa de mestrado para realizar esse projeto.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo financiamento desse trabalho.

À professora Dra. Maria Rita S. P. Bueno por permitir o uso de sua centrífuga de placas, assim como a todos os seus alunos, pelo auxílio no uso do equipamento.

A todos os professores e colegas do IB pelo enriquecimento de meus conhecimentos durante o mestrado.

A todos os funcionários do IB, pela sua atuação essencial para manter este Instituto funcionando.

O presente trabalho foi desenvolvido no âmbito do Núcleo de Apoio à Pesquisa em Biodiversidade e Computação da Universidade de São Paulo (NAP BioComp).

À Luana por todo o amor, o apoio, a ajuda com tudo e a paciência de ouvir sobre filogenias de aves.

Aos meus pais, meu irmão e toda a minha família pelo apoio e carinho durante todo o mestrado.

Índice

Resumo	01
Abstract	02
1. Introdução	03
1.1. Sistemática Filogenética	03
1.2. Métodos de Sistemática Molecular	04
1.3. Métodos de Datação Molecular	09
1.4. Família Psittacidae	10
1.5. Gênero <i>Aratinga</i>	12
1.6. Origem e biogeografia de Psittaciformes	24
1.7. Biogeografia neotropical	29
2. Objetivos	31
3. Conclusões	31
4. Referências Bibliográficas	33

Resumo

A família Psittacidae possui 332 espécies de papagaios, periquitos e afins, e os táxons Neotropicais formam um grupo monofilético (tribo Arini), dentro desta tribo está o gênero *Aratinga*. A sistemática deste gênero é mal resolvida, com poucos estudos morfológicos e algumas filogenias moleculares que apontam que não seja monofilético. Porém, é preciso destacar que esses estudos não amostraram uma quantidade representativa de espécies do gênero, o que deixa essas relações incertas. Para melhor compreender a história evolutiva do gênero *Aratinga*, realizamos uma análise filogenética com 21 das 22 espécies do gênero, o táxon monotípico *Nandayus nenday* que é proximamente relacionado a algumas espécies de *Aratinga* e representantes de outros gêneros da tribo Arini. Foram sequenciados cinco genes mitocondriais (12S, 16S, citocromo b, NADH2, COIII) e um nuclear (RAG-1). As filogenias obtidas por máxima verossimilhança e análise Bayesiana foram congruentes e indicam a ausência de monofilia do gênero *Aratinga*. A maioria das espécies do gênero foi posicionada em três clados com alto suporte, mas que não se apresentam agrupados em um clado monofilético. Estes três clados são congruentes com grupos previamente propostos com base em caracteres morfológicos. *Nandayus nenday* está dentro de um destes clados, que é grupo irmão de um clado que contém outros quatro gêneros da tribo Arini. A única espécie que não foi incluída em nenhum destes clados é *Aratinga acuticaudata*, que aparentemente é mais proximamente relacionada aos gêneros *Diopsittaca* e *Guarouba*. A maioria dos eventos de divergência das espécies do gênero *Aratinga* nesses diferentes clados parece ter ocorrido nos últimos 5 milhões de anos (Ma.). Enquanto as estimativas de datas de divergências entre os principais clados sugerem que elas ocorreram durante o Mioceno inicial. O padrão biogeográfico da diversificação dos clados de *Aratinga* foi complexo, possivelmente relacionado com o soergimento dos Andes, com múltiplas colonizações da América Central antes e depois do fechamento do Istmo do Panamá e com ciclos glaciais do Pleistoceno. Esses resultados refutam a monofilia do gênero e uma revisão taxonômica do táxon parece ser necessária.

Abstract

Family Psittacidae includes 332 species of parrots and all Neotropical taxa form a monophyletic group (tribe Arini), among those, is the parakeet genus *Aratinga*. This genus has an unresolved systematics, with few morphological studies and some molecular phylogenies suggest that it is not monophyletic. However, these phylogenies did not include a representative sample of species of the genus. To better understand the evolutionary history of genus *Aratinga*, we conducted a phylogenetic analysis that included 21 of 22 species of the genus, the monospecific taxon *Nadayus nenday* that is closely related to some *Aratinga* species, plus various taxa from tribe Arini. We sequenced five mitochondrial (12S, 16S, cytochrome b, NADH2, COIII) and one nuclear (RAG-1) genes. The phylogenies were reconstructed based on maximum likelihood analysis and Bayesian inference. Relaxed molecular clock estimates were conducted under a Bayesian analysis for inferring the divergence times of the phylogeny and to study the biogeographic history of these species. The phylogenies recovered by both methods were highly congruent and support the absence of monophyly for genus *Aratinga*. The majority of the species from the genus *Aratinga* was placed in three highly supported clades that did not group in a monophyletic clade. These three clades match previously suggested groups based on morphological characters. *Nandayus nenday* was included in one of these clades, that is closely related to a clade that contains four other Arini genera. The only species that was not included in any of these clades was *Aratinga acuticaudata*, that seems to be more closely related to the genera *Diopsittaca* and *Guarouba* with high support values. Most of the speciation within the *Aratinga* clades may have occurred during the last 5 Mya., but the divergence times between these clades seems to have occurred during the early Miocene. The biogeographic pattern of the diversification of the *Aratinga* clades was complex, possibly related to the history of the Andes, multiple colonization of Central America before and after the closure of the Panama Isthmus and also Pleistocene glacial cycles. These results further refute the monophyly of genus *Aratinga* and a taxonomical revision may be necessary for the taxon.

1. Introdução

1.1 Sistemática Filogenética

A idéia central da biologia evolutiva, introduzida por Darwin em 1859 em sua obra *The Origins of Species*, é que todas as espécies, apesar de suas diferenças, são geradas por descendência com modificação a partir de ancestrais comuns (Baum *et al.*, 2005). A árvore filogenética, ou filogenia, é o diagrama ramificado que representa as relações de ancestralidade entre diferentes espécies (Ridley, 2004) e o método usado na inferência dessas árvores, assim com a interpretação da informação que essas árvores nos trazem, é de suma importância. Para a sistemática filogenética, a classificação biológica deve refletir relações de parentesco entre as espécies, evidenciadas por uma hipótese filogenética explícita, uma filogenia (Amorim, 2002).

O grande marco do pensamento evolutivo da sistemática filogenética se deu com a publicação do livro *Phylogenetic Systematics* por Willi Hennig em 1966, em que o autor propõe um método de inferência de árvores filogenéticas, assim como uma base teórica para a interpretação das relações obtidas nas árvores inferidas (Amorim, 2002). Nesse contexto, o autor definiu o conceito de grupo monofilético, que é “um conjunto de espécies incluindo uma ancestral e todas as suas espécies descendentes”, que pode ser definido também como um agrupamento de espécies descendentes de uma espécie ancestral comum e exclusiva (Amorim, 2002), ou seja, uma linhagem evolutiva única, que possui uma história exclusiva. Logo, diversos tipos de agrupamentos taxonômicos feitos com base em morfologia, levaram à formação de diversos grupos não monofiléticos, que não refletem uma relação de parentesco mais próxima entre as espécies agrupadas. Por exemplo: “Pisces” representa um grupo não monofilético, visto que pelas análises filogenéticas mais recentes, os Sarcopterygii incluem os Tetrapoda, sendo a inclusão de Tetrapoda no táxon “Pisces” necessária para tornar este monofilético; “Reptilia” também é um grupo não monofilético, visto que Crocodylomorpha forma um grupo monofilético com Aves, os Archosauria, o que faria a inclusão de Aves em “Reptilia” necessária para tornar este monofilético (Amorim, 2002). Atualmente na sistemática filogenética, devem ser aceitos preferencialmente grupos monofiléticos na classificação e por causa disso, diversos trabalhos de

sistemática filogenética têm proposto alterações na classificação, com base nas filogenias encontradas (Helbig *et al.*, 2005; Amaral *et al.*, 2009; Benz e Robbins, 2011).

Em um artigo de 2008, Omland e colaboradores discutem a importância do pensamento evolutivo filogenético para toda a biologia. Deve-se tomar um cuidado especial no momento de interpretar uma análise filogenética com a noção de uma escala do progresso da vida. Os autores apontam que isso é verificado praticamente para todos os campos da biologia, em muitos trabalhos nos mais diversos tipos de revistas científicas, inclusive de alto impacto, o que torna esse um problema global da biologia. Os autores defendem que nenhum táxon vivo pode ser considerado ancestral ou derivado, pois isso inevitavelmente reflete à escala do progresso. Esses táxons são todos contemporâneos, logo, podemos somente definir estados ancestrais e derivados dos caracteres com base na filogenia, o que não implica que um organismo com um caractere ancestral ser “menos evoluído” que um organismo com a forma derivada, pois todas as espécies viventes são formadas por um misto de caracteres derivados e ancestrais.

A inferência filogenética foi feita inicialmente com base em dados morfológicos de espécies viventes e fósseis, porém atualmente emprega-se cada vez mais a análise de dados moleculares na construção de filogenias, com diversos métodos para encontrar a hipótese que melhor explica a história evolutiva de um determinado grupo de organismos (Ridley, 2004).

1.2 Métodos de Sistemática Molecular

Diversos métodos podem ser empregados na inferência filogenética a partir de um conjunto de dados. Dentre os principais métodos utilizados, estão a parcimônia, os métodos de distância e os métodos estatísticos (Nei e Kumar, 2000). Esses métodos podem ser aplicados a dados moleculares (sequências de DNA e de aminoácidos) e a dados morfológicos. Aqui vamos abordar somente o uso dessas metodologias com dados de sequências de DNA.

Os primeiros métodos de inferência de hipóteses filogenéticas foram os métodos de máxima parcimônia, devido a seu princípio simples e aplicável a sistemas biológicos em geral e também de sua rápida computação. Ele se baseia no princípio da parcimônia, pela qual a explicação mais aceita é a que

necessita do menor número de mudanças, ou seja, o menor número de alterações (no nosso caso, mudanças nucleotídicas; Felsenstein, 2004). Logo, quando utilizamos o método de parcimônia para inferir relações filogenéticas, o objetivo é encontrar a árvore com menor número de passos (mudanças nucleotídicas).

Nos métodos de distância, inicialmente as distâncias entre cada par de táxons analisados são calculadas assumindo um modelo evolutivo de substituição nucleotídica. Essa matriz de distância é então utilizada na obtenção da árvore (Nei e Kumar, 2000). Existem diversos métodos de agrupamento baseados em distância e, em geral, são relativamente eficientes na reconstrução de árvores (Felsenstein, 2004).

Há vários modelos de substituição nucleotídica que podem ser organizados hierarquicamente com o aumento de parâmetros considerados. Dentre os mais simples, está o de Jukes e Cantor (1969) que considera que a taxa de substituição nucleotídica é a mesma para todas as alterações possíveis, havendo a mesma probabilidade de ocorrência para todos os nucleotídeos (Pereira *et al.*, 2001). Outros modelos, como o de Hasegawa e colaboradores (1984, 1985) e o de Felsenstein (1981), consideram que taxas de transição e transversão podem ser diferentes e que a frequência das bases não é igual, o que, em geral, é mais próximo da realidade (Pereira *et al.*, 2001). O modelo mais complexo é o Modelo Geral de Reversão ao Longo do Tempo (Rodriguez *et al.*, 1990), que considera taxas de substituição nucleotídica independentes para cada alteração, de acordo com a frequência e a taxa de substituição encontradas. O uso desses modelos pode ajudar a diminuir o efeito negativo de altas taxas de substituição nucleotídica que podem resultar em múltiplas substituições em um mesmo sítio. Assim, métodos de inferência filogenética que modelam substituições nucleotídicas podem superar esses problemas (Huelsenback *et al.*, 2001).

Os métodos estatísticos para inferência filogenética mais utilizados atualmente são: o de máxima verossimilhança e a análise Bayesiana. No método de máxima verossimilhança, é definido *a priori* um modelo evolutivo de substituição nucleotídica ao qual os dados melhor se adéquam, o que acomoda a variação encontrada na matriz de dados (Felsenstein, 2004). Esse método utiliza o cálculo da verossimilhança (L) segundo a fórmula: $L = \text{Prob}(D/T)$, que

calcula a probabilidade de os dados (D) explicarem a hipótese testada (a árvore, T), de acordo com o modelo de substituição nucleotídica selecionado. A análise é feita para cada um dos sítios separadamente, sendo que a somatória desses valores de toda a matriz corresponde à verossimilhança da árvore analisada. A árvore que maximiza a verossimilhança é então selecionada com base em buscas heurísticas, que utilizam rearranjos a partir de uma árvore inicial aleatória para acelerar o procedimento (Nei e Kumar, 2000). Como o número de árvores possíveis cresce de maneira exponencial com os táxons analisados (por exemplo, o número aproximado de árvores enraizadas bifurcantes para 20 táxons é de 10^{22} ; Felsenstein, 2004), inferir a árvore mais provável analisando todas as árvores possíveis é um procedimento matematicamente impraticável atualmente, principalmente quando são analisados muitos táxons, o que torna necessário o uso de algoritmos que aceleram o processo, com aproximações das estimativas que reduzem muito o tempo de computação (Felsenstein, 2004).

Além da reconstrução da hipótese filogenética, é necessário estimar o suporte estatístico das relações encontradas na árvore inferida. Uma maneira de avaliar o suporte de ramos de topologias obtidas por máxima parcimônia, distância e máxima verossimilhança é o uso de *bootstrap* não paramétrico (Felsenstein, 1985). O *bootstrap* se baseia na reamostragem aleatória dos sítios da matriz de sequência de dados original, sendo que alguns sítios podem ser amostrados mais de uma vez e outros podem não ser amostrados. A nova matriz de dados gerada, com o mesmo tamanho da matriz original, é então utilizada para inferir uma nova árvore filogenética, utilizando o mesmo método de inferência. Esse processo é repetido centenas de vezes, sendo que a cada repetição a árvore produzida é armazenada e com base nessas árvores é calculada a porcentagem de vezes que um ramo da árvore original se manteve nas réplicas. Esse é o valor de *bootstrap*, que indica o suporte estatístico da relação sustentada pelo nó, de acordo com a matriz de dados (Felsenstein, 2004). O processo de reamostragem por *bootstrap* não-paramétrico requer bastante tempo computacional, principalmente no caso do método de máxima verossimilhança, já que todo o processo de inferência da árvore que maximiza a verossimilhança é repetido centenas de vezes. Diversos métodos para acelerar o processo de inferência da árvore de máxima verossimilhança, assim

como as análises de *bootstrap* foram desenvolvidos nos últimos anos (*PHYML*: Guindon e Gascuel, 2003; Guindon *et al.*, 2010; e *RAxML* Stamatakis *et al.* 2005; Stamatakis, 2006). Um método de inferência rápida muito utilizado atualmente é o *Randomized Axelerated Maximum Likelihood* (RAxML), que utiliza um algoritmo com diversos mecanismos que aceleram em muito a inferência da árvore, sem prejudicar a precisão da análise (Stamatakis *et al.*, 2005). Para resolver o problema do tempo necessário para realizar o *bootstrap*, os autores desenvolveram um *bootstrap* heurístico (*rapid bootstrap*), que acelera até em 500 vezes o processo de reamostragem, quando comparado a métodos tradicionais (Stamatakis *et al.*, 2008). Esse algoritmo de inferência mais rápida de verossimilhança (RAxML) e o seu método de *rapid bootstrap* associado, também tem vantagens sobre outros métodos de inferência rápida, não só por ser mais rápido, mas também por executar uma análise mais exaustiva nas regiões com árvores mais prováveis do espaço probabilístico de árvores, o que resulta em uma árvore final com valores mais altos de verossimilhança (Stamatakis *et al.*, 2005).

O método Bayesiano de análise filogenética leva em conta os conceitos estatísticos de probabilidade primária e probabilidade posterior. A probabilidade primária é a probabilidade anterior à coleta dos dados de cada árvore ser a melhor. Como em geral não se conhece qual seria a melhor árvore, se assume a mesma probabilidade para todas as possíveis árvores. Já a probabilidade posterior é calculada baseada na probabilidade primária e na verossimilhança das árvores encontradas (Huelsenbeck *et al.*, 2001). A análise de cada árvore inclui o cálculo de todas as combinações de tamanho de ramo e valores de parâmetros do modelo de substituição nucleotídica ao qual os dados melhor se adequam e definido *a priori*.

Atualmente é impossível realizar esse processo analiticamente, logo é realizada uma aproximação da probabilidade posterior usando métodos como o a Cadeia Markov de Monte Carlo (MCMC), que utiliza o principal algoritmo utilizado para análises Bayesianas atualmente, o algoritmo Metropolis. Esse algoritmo inicia a análise com uma árvore aleatória (T_i), em seguida é sorteada uma árvore vizinha (T_j) no espaço probabilístico de árvores. As probabilidades de cada árvore são calculadas e a razão dessas probabilidades é estimada (T_j/T_i). Se esta razão for maior ou igual a 1, a nova árvore é aceita como árvore

atual. Caso o valor seja menor que 1, é sorteado um número entre 0 e 1, e se este for inferior ao valor da razão, a nova árvore é aceita como árvore atual. Caso o valor seja maior que a razão, a árvore vizinha é rejeitada e a árvore inicial é considerada novamente a árvore sob análise. A partir dessa árvore atual novamente se escolhe uma árvore vizinha no espaço de probabilístico de árvores e o processo se reinicia. A tendência desse processo é que árvores com probabilidades cada vez maiores serão escolhidas, porém, por eventualmente aceitar árvores com menores probabilidades, o processo não fica preso a em uma região subótima de probabilidade no espaço de árvores possíveis, o que permite que o método selecione com maior precisão as melhores árvores no espaço de árvores possíveis (Felsenstein, 2004).

Esse processo é infinito e segue em cadeia com milhões de gerações, até que um platô de árvores igualmente prováveis seja atingido. É preciso lembrar que as condições da análise são definidas pelo pesquisador: o número de gerações da cadeia, assim como o intervalo entre essas em que as árvores amostradas serão armazenadas para o universo de árvores finais selecionadas (por exemplo, normalmente se define uma análise com 10 milhões de gerações, em que a cada mil gerações as estatísticas da árvore analisada e a topologia da árvore são armazenadas, resultando em um universo de árvores finais de 10 mil árvores). Outro ponto importante é que geralmente a análise é feita em duas ou mais corridas independentes, cada uma com um número de cadeias de Markov executadas. É verificada se há uma convergência entre essas corridas independentes, que se originaram de diferentes pontos do espaço probabilístico de árvores possíveis, o que é um forte indicativo de que o platô de árvores de maior probabilidade foi atingido na análise. A partir desse universo de árvores selecionadas, é feito um *burnin* para excluir as primeiras árvores armazenadas (que correspondem ao início do processo, quando as probabilidades ainda não atingiram o platô) e, com o restante das árvores, é construída uma árvore consenso (Felsenstein, 2004).

A proporção de vezes (gerações) que um determinado ramo da árvore é observado no universo de árvores após a remoção do *burnin* é considerada como uma aproximação válida de sua probabilidade posterior. Essa probabilidade posterior, também encontrada para cada ramo da árvore consenso, é uma medida da sustentação dos ramos internos de uma filogenia

inferida pelo método Bayesiano, sendo assim, análoga à reamostragem de árvores pelo método de *bootstrap* (Huelsenbeck *et al.*, 2001).

Comparações entre os diferentes métodos de inferência filogenética mostram que, em geral, quando são utilizadas sequências de DNA longas (acima de 1000 pb) os resultados de todos os métodos de inferência filogenética tendem a convergir (Nei e Kumar, 2000). Porém, é preciso destacar que, para sequências curtas, com muitas amostras analisadas, o método de máxima parcimônia muitas vezes reconstrói a árvore incorretamente, problema este menos comum utilizando métodos de distância e estatísticos (Nei e Kumar, 2000). Possivelmente o fato de esses dois tipos de métodos de inferência permitirem incorporar modelos de substituição nucleotídica, pode corrigir diversos tipos de problemas (ex. substituições múltiplas; Huelsenbeck *et al.*, 2001).

1.3 Métodos de Datação Molecular

A sistemática molecular não apenas permite a inferência de árvores filogenéticas com base nas sequências moleculares, como também estimar os tempos de divergência entre linhagens dessas árvores, quando uma calibração está disponível para os táxons analisados. O princípio básico utilizado na datação molecular é a hipótese do relógio molecular, que propõe que a taxa de substituição de aminoácidos ou nucleotídeos é aproximadamente constante durante o período evolutivo das linhagens (Zuckermandl e Pauling, 1962). A presença de uma taxa aproximadamente constante de evolução foi inicialmente encontrada em estudos com hemoglobina, citocromo c e fibrinopeptídeos (Zuckermandl e Pauling, 1962; Margoliash, 1963; Doolittle e Blombäck, 1964; respectivamente).

O relógio molecular mais amplamente utilizado é a taxa de substituição de 2% de nucleotídeos por milhão de anos no DNA mitocondrial, que foi proposta inicialmente para mamíferos (Brown *et al.*, 1979). Essa taxa foi testada em aves (Shields e Wilson, 1987) e é muito utilizada em estudos filogenéticos (Ribas e Miyaki, 2004; Garcia-Moreno, 2004; Lovette, 2004). Em um teste feito para calibração do relógio molecular de aves, Weir e Schluter (2008) verificaram que apesar da taxa de 2% ter sido corroborada para diversas ordens de aves, em alguns grupos como Psittaciformes, ela foi

refutada e encontrar um relógio universal para esses grupos seria algo mais difícil.

Antes de aplicar uma taxa fixa de substituição para datar as divergências em uma filogenia é necessário testar se as sequências moleculares analisadas apresentam uma taxa homogênea e constante. O teste de razão de verossimilhança (*likelihood ratio test*) permite verificar se a hipótese de relógio molecular é rejeitada ou não estatisticamente, com base na comparação entre uma topologia sem relógio e uma topologia com relógio forçado, caso a diferença de probabilidade entre as duas árvores for significativa, a hipótese de existência de relógio molecular é rejeitada (Posada e Crandall, 1998).

Métodos mais recentemente desenvolvidos conseguem lidar com heterogeneidade na evolução de sequências, como o método de *penalized likelihood* (Sanderson, 2002) e os métodos Bayesianos (Thorne *et al.*, 1998; Kishino *et al.*, 2001; Drummond e Rambaut, 2007). Os métodos mais utilizados atualmente são os Bayesianos, principalmente executados no programa BEAST (*Bayesian evolutionary analysis by sampling trees*, Drummond e Rambaut, 2007), pois permitem estimar e incorporar diversos parâmetros como relógios moleculares estritos com taxa fixa definida, diferentes opções de relógios moleculares relaxados, que lidam com a heterogeneidade na evolução dos diferentes ramos, assim como calibração fóssil na análise. O programa utiliza cadeias Markov de Monte Carlo (MCMC) para estimar os parâmetros das árvores e testar hipóteses com as sequências moleculares analisadas (Drummond e Rambaut, 2007).

1.4 Família Psittacidae

Uma das mais antigas ordens de aves, Psittaciformes caracteriza-se pelo formato curvado do bico, em que a maxila superior apresenta-se curvada, envolvendo a maxila inferior, que apresenta uma curvatura para cima (Forshaw, 1989). A ordem Psittaciformes possui duas famílias, Cacatuidae e Psittacidae. Psittacidae é uma das mais importantes e diversas famílias de aves, representada pelas araras, periquitos, maracanãs, papagaios e afins. A família possui 332 espécies descritas, organizadas em 78 gêneros que ocorrem na região neotropical, na África, sul da Ásia e Oceania (Collar, 1997). De acordo com a *International Union for Conservation of Nature* (IUCN, 2009),

atualmente há 94 espécies da família Psittacidae sob algum nível de ameaça de extinção. Muitas das espécies ameaçadas da família Psittacidae sofreram com a perda de habitat (Collar, 1997) e, associado à isso, há captura por traficantes de animais silvestres (Sigrist, 2006), por causa da grande popularidade desses animais, com plumagens maravilhosas e a habilidade de imitar a voz humana.

Dentro da família Psittacidae há duas subfamílias, Loriinae (com distribuição na região da Australásia) e Psittacinae (que possui nove tribos de psitacídeos globalmente distribuídos). As relações entre os grupos da família Psittacidae foram estudadas em diversas filogenias, que indicam uma história complexa do grupo, sendo que diversas tribos não são monofiléticas e a subfamília Loriinae está relacionada em um clado com representantes da África, Australásia e Indo-Malásia de tribos da subfamília Loriinae (Wright *et al.*, 2008; Schweizer *et al.*, 2010; Schweizer *et al.*, 2011).

O táxon mais diverso da família Psittacidae é a tribo Arini, da subfamília Psittacinae, com 148 espécies descritas, representando todas as espécies neotropicais de psitacídeos (Collar, 1997). O estudo filogenético mais detalhado da tribo Arini incluiu 29 espécies, de 25 dos 30 gêneros da tribo (Tavares *et al.*, 2006), indicando sua monofilia, também encontrada em estudos com maior amostragem de psitacídeos não Arini (Wright *et al.*, 2008; Schweizer *et al.*, 2011). Nesse estudo a tribo apareceu dividida em três clados com alto suporte (figura 1): um clado de pequenos periquitos (*parrotlets*: Clado A), um clado com espécies de papagaios, caturritas curicas e afins (Clado B) e um clado com espécies de araras, marianinhas, tiribas e afins (Clado C). Nessa análise, três gêneros da tribo Arini apresentaram-se não monofiléticos, *Aratinga*, *Pionopsitta* e *Amazona*.

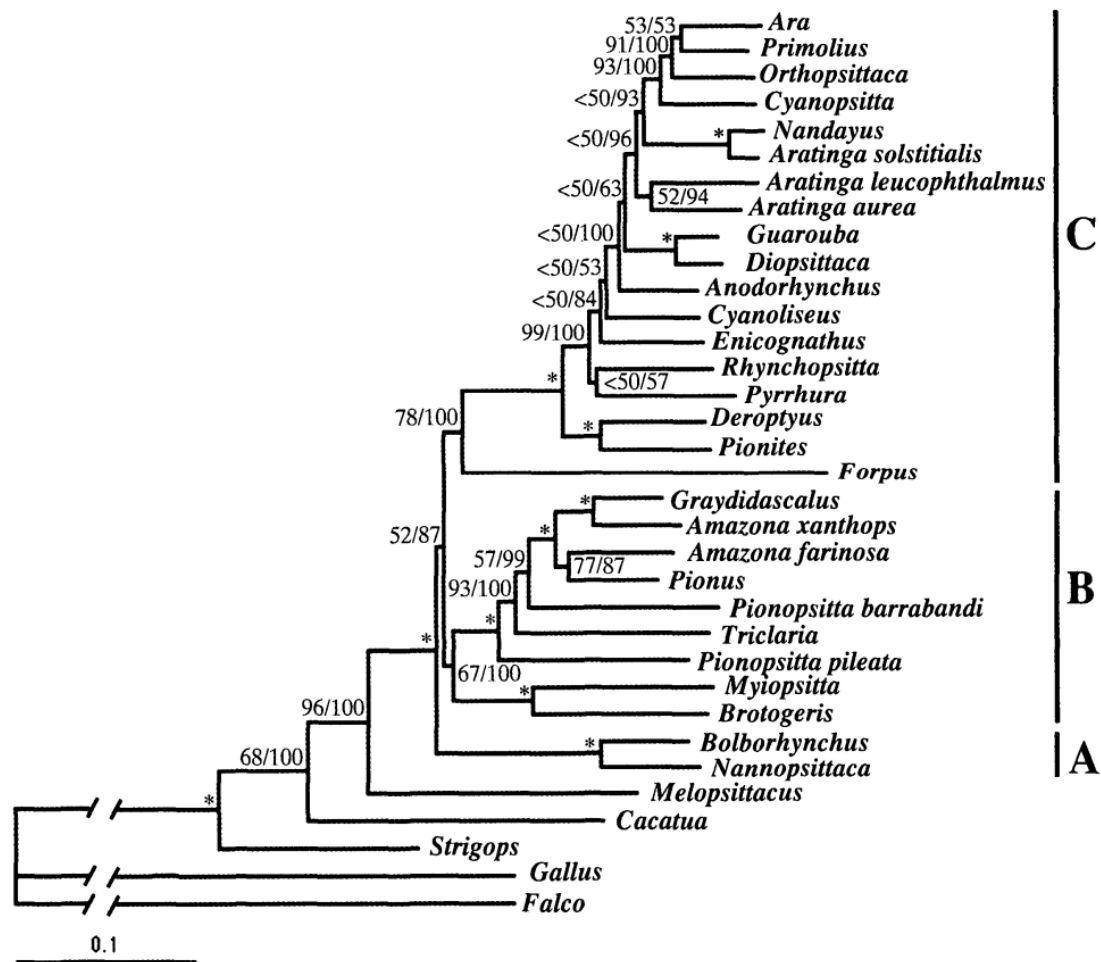


Figura 1: Análise Bayesiana de gêneros da tribo Arini. Valores ao lado dos nós referentes aos *bootstrap* da análise de verossimilhança e probabilidades posteriores da análise Bayesiana. Modificado de Tavares *et al.* (2006).

1.5 Gênero *Aratinga*

O gênero *Aratinga*, pertencente à tribo Arini e presente no registro fóssil há ao menos dois milhões de anos (Collar, 1997), tem distribuição neotropical e engloba atualmente 22 espécies (para detalhes morfológicos de cada espécie, ver abaixo), sendo o táxon *Nandayus nenday* considerado proximamente relacionado às espécies do gênero *Aratinga* (Collar, 1997):

***Aratinga acuticaudata*:** Descrita originalmente como *Psittacus acuticaudatus* Vieillot, 1818, Paraguai. Possui distribuição ampla e disjunta na América do Sul (nordeste da Colômbia; norte da Venezuela; interior do nordeste, sul e sudoeste do Brasil; leste da Bolívia; Paraguai; norte da Argentina e oeste do Uruguai). Encontrada em habitats secos em geral, como cerrado, savanas,

chaco, florestas não inundáveis e florestas de galeria. Distribui-se de 400 a 2650 metros de altitude, alimenta-se de frutos e sementes, inclusive invadindo cultivares de milho e leguminosas. Não é considerada globalmente ameaçada pelo CITES II (Collar, 1997).

Aratinga aurea: Descrita originalmente como *Psittacus aureus* J. F. Gmelin 1788, Bahia. Essa espécie, segundo alguns autores, forma uma super-espécie com *A. canicularis*, tem distribuição ampla na América do Sul (sul do Suriname; norte, centro e interior do sul do Brasil; sudeste do Peru; leste da Bolívia; Paraguai e norte da Argentina). Ocorre em geral em habitats secos, como savanas, cerrado, palmerais, florestas de galeria, campos rupestres com muitos arbustos, se movendo de áreas campestres e florestadas para forragear. Distribui-se de 0 a 600 metros de altitude, alimentando-se de sementes, folhas, ocasionalmente de cupins e larvas de insetos. Não é considerada globalmente ameaçada pelo CITES II (Collar, 1997).

Aratinga auricapilla: Descrita originalmente como *Psittacus auricapillus* Kuhl, 1820, Bahia, geralmente considerada formando uma super-espécie com *A. maculata*, *A. solstitialis* e *A. jandaya*, endêmica do Brasil (da Bahia ao Paraná). Comum em bordas de florestas semi-decíduas, forrageando em regiões de vegetação mais aberta, explorando até pastos e campos agrícolas. Distribui-se de 0 a 2180 metros de altitude, alimentando-se de frutos e sementes, peste agrícola durante o século XIX, quando era mais comum. Considerada vulnerável pelo CITES II, devido à degradação de seus habitats e possivelmente o tráfico de animais silvestres (Collar, 1997).

Aratinga brevipes: Descrita originalmente como *Conurus holochlorus* var. *brevipes* Lawrence, 1871, Ilha de Socorro. É endêmica dessa ilha do oeste do México. Proximamente relacionada e muitas vezes considerada como subespécie de *A. holochlora*. Presente em florestas de *Bumelia socorrensis*, *Ilex socorrensis* e *Guettarda insularis*, geralmente acima de 500 metros de altitude. Alimenta-se de sementes e da polpa dos frutos dessas espécies de plantas, considerada vulnerável pelo CITES II, devido à sua distribuição restrita (Collar, 1997).

Aratinga cactorum: Descrita originalmente como *Psittacus cactorum* Kuhl, 1820, sudeste do Brasil. Geralmente considerada como parte de uma super-espécie com *A. pertinax* e como sendo um representante de regiões áridas desse táxon. É endêmica do Brasil (nordeste do Brasil). Reside em vegetações secas da caatinga, ricas em arbustos e plantas suculentas, matas abertas e também regiões agrícolas e pastos abandonados. Há pouca informação sobre sua dieta, porém, pode eventualmente causar danos a certos cultivares da região, como arroz e milho. Não é considerada globalmente ameaçada pelo CITES II (Collar, 1997).

Aratinga canicularis: Descrita originalmente como *Psittacus canicularis* Linnaeus, 1789, noroeste da Costa Rica. É considerada como parte de uma super-espécie com *A. aurea*. Distribui-se na costa oeste da América Central (oeste do México a oeste da Costa Rica). Reside em bordas de florestas, florestas decíduas, pântanos do Pacífico, savanas e áreas de vegetação aberta árida. Distribui-se principalmente em regiões de baixa altitude, porém chegando até 1500 metros de altitude, alimenta-se de frutos, flores e sementes. Não é considerada globalmente ameaçada pelo CITES II (Collar, 1997).

Aratinga chloroptera: Descrita originalmente como *Psittacara chloroptera* Souancé, 1856, Ilha de São Domingos. É morfológicamente similar a *A. leucophthalmus*, possivelmente forma uma super-espécie com *A. euops*, é endêmica da Ilha de São Domingos. Habita desde planícies áridas até formações montanhosas úmidas, onde é mais comum. Há pouca informação sobre sua dieta, com indícios de consumo de frutos como figo e relatos de ser uma praga de plantações de milho. Considerada vulnerável pelo CITES II, devido à sua distribuição limitada e perda de habitat (Collar, 1997).

Aratinga erythrogenys: Descrita originalmente como *Psittacara (psittacus) erythrogenys* Lesson, 1844, Guayaquil. Distribui-se a oeste dos Andes (oeste do Equador e noroeste do Peru). Reside principalmente em florestas decíduas e habitats adjacentes, encontrada em terras cultivadas e bordas de cidades, e também explora florestas mais úmidas e mesmo desertos com vegetação

esparça. Com alimentação bastante variável, principalmente de frutos e flores. Não é considerada globalmente ameaçada pelo CITES II (Collar, 1997).

Aratinga euops: Descrita originalmente como *Sittace euops* Wagler, 1832, Cuba. É endêmica de Cuba e, segundo alguns autores, forma uma super-espécie com *A. chloroptera*. Habita principalmente savanas, também explorando áreas cultivadas com árvores e bordas de florestas, aparentemente necessita da proximidade de áreas grandes de floresta original. Alimenta-se de frutos e sementes, tendo sido considerada uma peste agrícola no passado. Considerada uma das mais abundantes espécies endêmicas da ilha no passado, sofreu perseguição por ser uma peste agrícola e também por perda de habitat, o que fez sua população cair drasticamente no século XX. Atualmente é considerada vulnerável pelo CITES II (Collar, 1997).

Aratinga finschi: Descrita originalmente como *Conurus finschi* Salvin, 1871, Bugaba, Chiriquí, Panamá. É considerada por alguns autores como parte de uma super-espécie com *A. leucophthalmus*. Distribui-se pela América Central (sudeste da Nicarágua; Costa Rica e oeste do Panamá), habitando principalmente matas abertas e bordas de florestas, também explorando regiões agrícolas com árvores esparsamente distribuídas e também entrando em cidades. Distribui-se de 0 a 1650 metros de altitude e se alimenta de frutos e sementes, por vezes sendo uma peste agrícola de plantações de milho e leguminosas. Não é considerada globalmente ameaçada pelo CITES II (Collar, 1997).

Aratinga holochlora: Descrita originalmente como *Conurus holochlorus* P. L. Sclater, 1859, Jalapa, Vera Cruz. Por vezes considerada coespecífica com *A. brevipes* e *A. rubritorquis*. Apresenta uma distribuição disjunta com duas populações, uma no noroeste e outra no nordeste do México. Seus principais habitats são florestas decíduas, semi-decíduas, perenes e de galeria, também pântanos do Pacífico, vegetações tropicais rasteiras áridas e bordas de florestas de pinheiros, distribuindo-se de 0 a 2000 metros de altitude. Há poucos detalhes da alimentação dessa espécie, como sementes e frutos, por

vezes sendo pestes agrícolas. Ambas as espécies não são consideradas globalmente ameaçadas pelo CITES II (Collar, 1997).

Aratinga strenua: A espécie *A. strenua* é muitas vezes considerada uma subespécie de *A. holochlora*, como em Collar (1997). No entanto, no presente estudo estamos adotando a nomenclatura de Clements (2000), que considera esse táxon como uma espécie diferente de *A. holochlora*. *A. strenua* é morfologicamente muito similar a *A. holochlora*, tendo um tom mais oliváceo nas penas e um bico geralmente maior. *A. strenua* distribui-se do sul do México até o norte da Nicarágua. Seus principais habitats são florestas decíduas, semi-decíduas, perenes e de galeria, também pântanos do Pacífico, vegetações tropicais rasteiras áridas e bordas de florestas de pinheiros. Essa espécie atinge até 2600 metros de altitude na Guatemala. Há poucos detalhes da alimentação dessa espécie, como sementes e frutos, por vezes sendo pestes agrícolas. Ambas as espécies não são consideradas globalmente ameaçadas pelo CITES II (Collar, 1997).

Aratinga jandaya: Descrita originalmente como *Psittacus jandaya* J. F. Gmelin, 1788, Brasil. É considerada parte de uma super-espécie contendo *A. maculata*, *A. solstitialis* e *A. auricapilla*. É endêmica do Brasil (nordeste do Brasil, do leste do Pará e Goiás até Alagoas). Necessita de cobertura florestal, habitando regiões como bordas de florestas úmidas, vegetações do topo de morros, plantações de coqueiros, florestas não inundáveis e áreas abertas adjacentes, como áreas agropastoris, evitando vegetações mais áridas. Alimenta-se de frutos como manga e caraná, além de milho e arroz cultivados. Não é considerada globalmente ameaçada pelo CITES II (Collar, 1997).

Aratinga leucophthalmus: Descrita originalmente como *Psittacus leucophthalmus* P. L. S. Müller, 1776, Guiana. É considerada por alguns autores como parte de uma super-espécie com *A. finschi*. Tem ampla distribuição na América do Sul (leste e sudeste da Colômbia; leste do Equador; Noroeste do Peru; leste da Venezuela; Guianas; norte e leste da Bolívia; Paraguai; norte da Argentina; norte do Uruguai e praticamente todo o Brasil). Habita bordas de florestas e savanas adjacentes, matas abertas, florestas de

crescimento secundário, florestas decíduas e de galeria, florestas de várzea, até em mangues. Distribui-se principalmente em baixas altitudes, mas chega até 2500 metros na Bolívia. Alimenta-se de diversos frutos, algumas flores, sementes e inclusive alguns insetos. Não é considerada globalmente ameaçada pelo CITES II (Collar, 1997).

Aratinga maculata: Descrita originalmente como *Psittacus maculatus* Statius Müller, 1776, Brasil. Foi considerada como um sinônimo mais recente de *A. solstitialis* devido a uma série de erros históricas da posição taxonômica dessa espécie. Em 2005 *A. pintoi* foi descrita por Silveira e colaboradores e considerada a vigésima segunda espécie do gênero *Aratinga*, porém, como sugerido por Nemésio e colaboradores (2009), essa espécie corresponde à anteriormente descrita *Psittacus maculatus*, sendo posicionada dentro do gênero *Aratinga*, com uma nova nomenclatura, *A. maculata*. A espécie é endêmica do Brasil (noroeste do Pará). Habita áreas abertas com solo arenoso e com época moderadamente seca, vegetação com árvores esparsamente distribuídas e arbustos. Alimenta-se de frutos e sementes, também com registros de flores não identificadas. É uma espécie muito comum na região e não sofre nenhuma pressão aparente, porém ainda são necessários estudos detalhados para determinar o estado de conservação dessa espécie (Silveira *et al.*, 2005).

Aratinga mitrata: Descrita originalmente como *Conurus mitratus* Tschudi, 1844, Peru. É considerada como possível coespecífica com *A. wagleri*. Distribui-se pela região sul dos Andes (centro do Peru; centro da Bolívia e noroeste da Argentina). Reside em florestas perenes de montanhas, bordas de florestas decíduas, florestas secundárias, matagais semi-úmidos ou úmidos de montanha, nas regiões do interior serrano árido. Distribui-se de 1000 a 3000 metros de altitude, sem informação detalhada sobre a dieta. Não é considerada globalmente ameaçada pelo CITES II (Collar, 1997).

Aratinga nana: Descrita originalmente como *Psittacara nana* Vigors, 1830, Jamaica. Possui populações com distribuição disjunta na Jamaica e na América Central continental, o que levou alguns autores a considerá-las como

espécies distintas. Distribui-se pela América Central (do nordeste do México até o oeste do Panamá e Jamaica), principal habitat são florestas decíduas, residindo também em florestas densas e úmidas e suas bordas, florestas de pinheiros, vegetação ribeirinha, matagais, plantações, áreas abertas com árvores, planícies costeiras e encostas de morros. Alimenta-se de frutos como figos, flores de *Cannabis sativa*, também causando danos em cultivares na Jamaica, principalmente de milho. Não é considerada globalmente ameaçada pelo CITES II, porém com reduções locais, como na subespécie da América Central, perseguida por ser peste agrícola e por perda de habitat com a remoção de cobertura vegetal (Collar, 1997).

Aratinga pertinax: Descrita originalmente como *Psittacus pertinax* Linnaeus, 1758, Curaçao. Alguns autores consideram que ela forma uma super-espécie com *A. cactorum*. É a espécie com maior variação geográfica do gênero, com 14 subespécies reconhecidas. Distribui-se pela região norte da América do Sul (Panamá; Colômbia; Venezuela; Antilhas; Guianas; Brasil), residindo em savanas e matagais abertos áridos com cactos e acácias, encontradas em mangues também, florestas tropicais decíduas, bordas de florestas úmidas perenes, explorando plantações e pastos com árvores como palmeiras presentes. Distribui-se de 0 a 1200 metros de altitude, se alimentando principalmente de sementes cultivadas, sendo uma peste agrícola de milho. Não é considerada globalmente ameaçada pelo CITES II (Collar, 1997).

Aratinga rubritorquis: Descrita originalmente como *Conurus rubritorquis* P. L. Sclater, 1887, América Central. Por vezes considerada coespecífica com *A. holochlora*, apesar de apresentar morfologia, habitat e comportamento distintos. Distribui-se pela América Central (leste da Guatemala; El Salvador; Honduras e norte da Nicarágua), residindo em habitats semi-áridos e semi-úmidos como florestas de pinheiro e carvalho de planaltos e florestas adjacentes semi-decíduas. Distribui-se de 600 a 1800 metros de altitude, ou elevações superiores, sem informações específicas sobre a alimentação. Não é considerada globalmente ameaçada pelo CITES II (Collar, 1997).

Aratinga solstitialis: Descrita originalmente como *Psittacus solstitialis* Linnaeus, 1758, Cayenne. É considerada por alguns autores formando uma super-espécie com *A. jandaya*, *A. auricapilla* e *A. maculata*. Distribui-se pelo norte da América do Sul (Guiana, Suriname e norte do Brasil), habitando savanas abertas e matas de savanas, vales florestados, florestas de várzea e vegetação secundária. Há pouca informação sobre a alimentação, algumas frutas leguminosas, cactos, entre outros. Não é considerada globalmente ameaçada pelo CITES II (Collar, 1997).

Aratinga wagleri: Descrita originalmente como *Conurus wagleri* G. R. Gray, 1845, Bogotá. É considerada como possivelmente coespecífico com *A. mitrata*. Distribui-se na região norte dos Andes (Colômbia; Venezuela; Equador e Peru). Reside em bordas de florestas perenes de montanhas, florestas decíduas tropicais, florestas de galeria, matagais de montanha úmidos e semi-úmidos, inclusive formações com cactos e parques de cidades, aparentemente necessita de proximidade de encostas de montanhas para nidificar. Distribui-se de 350 a 3000 metros de altitude, sem informações detalhadas sobre a alimentação, apenas relatos de danos a plantações de milho. Não é considerada globalmente ameaçada pelo CITES II (Collar, 1997).

Aratinga weddellii: Descrita inicialmente como *Conurus weddellii* Deville, 1851, Pebas. Se distribui a leste do norte dos Andes (sudeste da Colômbia; leste do Equador; leste do Peru; noroeste do Brasil e nordeste da Bolívia). Habita floresta de várzea, vegetação ribeirinha, matas pantanosas secundárias, matagais e áreas abertas, evitando florestas de terra firme. Distribui-se de 0 a 750 metros de altitude, com pouca documentação de sua alimentação, como frutos de palmeiras e algumas flores. Não é considerada globalmente ameaçada pelo CITES II (Collar, 1997).

Nandayus nenday: Gênero monotípico, descrito inicialmente como *Psittacus nenday* Vieillot, 1823, Paraguai. É considerado próximo de espécies do gênero *Aratinga*, por vezes posicionado dentro do gênero. Distribui-se ao sul da América do Sul (sudeste da Bolívia; sudoeste do Brasil; Paraguai até o norte da Argentina), habitando florestas de galeria, matas decíduas isoladas e

palmeirais no Pantanal, também em savanas abertas, pastos, chaco úmido e matagais rasteiros e secos. Distribui-se até 800 metros de altitude, ou mais, alimentando-se de sementes de plantas como palmeiras, frutos, geralmente obtidos no chão. Não é considerada globalmente ameaçada pelo CITES II (Collar, 1997).

Nenhuma filogenia morfológica foi realizada com as espécies do gênero *Aratinga* e o estudo das relações filogenéticas entre os táxons foi realizado em trabalhos moleculares, com amostragem incompleta do gênero (Ribas e Miyaki, 2004; Tavares *et al.*, 2004, 2006). O trabalho mais detalhado com um grupo do gênero foi um estudo realizado por Ribas e Miyaki (2004), no qual foram amostradas sete espécies do gênero *Aratinga*, o táxon monoespecífico *Nandayus nenday* e outros sete gêneros de psitacídeos relacionados (figura 2). Nesta análise, baseada em sequências de genes mitocondriais (12S, 16S, citocromo B, região controladora, total de 2029 pb) *Nandayus nenday* se apresentou dentro de um grupo monofilético bem suportado, sendo grupo-irmão de um clado com três espécies do gênero *Aratinga* (*A. solstitialis*, *A. jandaya* e *A. auricapilla*), sendo que *A. weddellii* seria a espécie irmã desse grupo (figura 2). Esse resultado apontou para a inclusão de *Nandayus nenday* no gênero *Aratinga*, além de ter levantado uma forte evidência contra a monofilia do gênero devido ao posicionamento filogenético de *Nandayus nenday* e pela longe posição de *A. leucophthalmus*.

Em outro trabalho feito com uma amostragem menor do gênero *Aratinga* (Tavares *et al.*, 2006), porém com uma grande amostragem de gêneros da tribo Arini e uma matriz de dados maior com cinco genes mitocondriais e um nuclear (6388 pb), foi encontrado um alto suporte para a relação entre *Nandays nenday* e *A. solstitialis*, relação já encontrada em Ribas e Miyaki (2004). O posicionamento de outras espécies do gênero foi incerto, porém com forte evidência de ausência de monofilia do gênero *Aratinga* (figura 1).

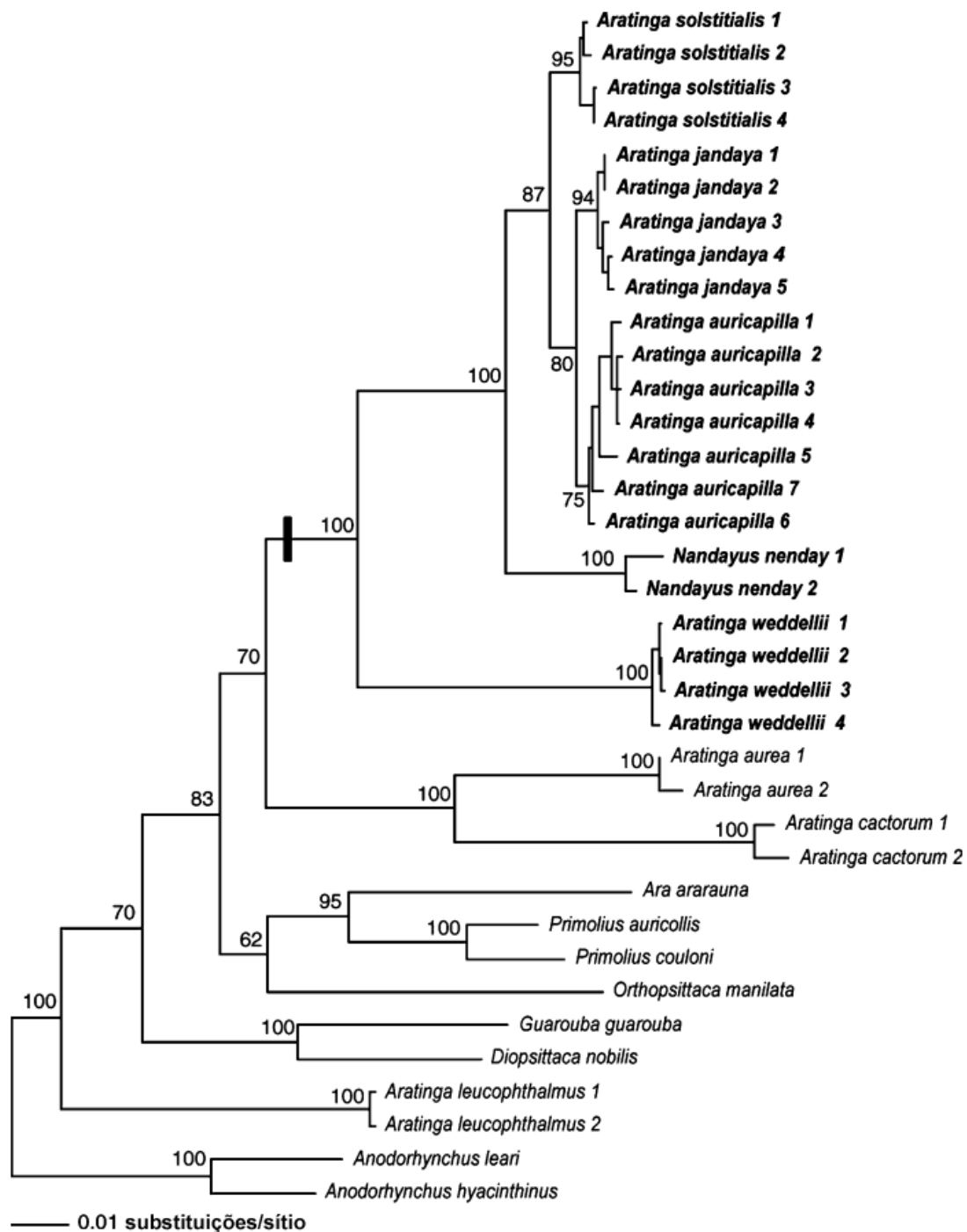


Figura 2: Análise filogenética feita por máxima verossimilhança de espécies do gênero *Aratinga*. Valores ao lado dos nós referentes aos *bootstrap*. Modificado de Ribas e Miyaki, 2004.

Em um estudo com caracteres morfológicos de plumagem, Silveira e colaboradores (2005) descreveram uma nova espécie do gênero *Aratinga* (*A. pinto*, depois verificada como sinônimo mais recente de *A. maculata*) e propuseram três grupos de espécies para o gênero:

1) **Grupo *Aratinga solstitialis***: Inclui as espécies *A. solstitialis*, *A. maculata*, *A. jandaya*, *A. auricapilla*, *A. weddellii* e o táxon monoespecífico *Nandayus nenday* (figura 3). Espécies de tamanho mediano (de 28 a 30 cm) com bico preto. As rêmiges são dorsalmente verdes, com a porção média azul e a distal preta; ventralmente são pretas, sendo as maiores das asas geralmente azul marinho. As rectrizes apresentam coloração na porção dorsal geralmente verde, com a ponta em azul marinho; sendo a porção ventral de coloração predominantemente preta.

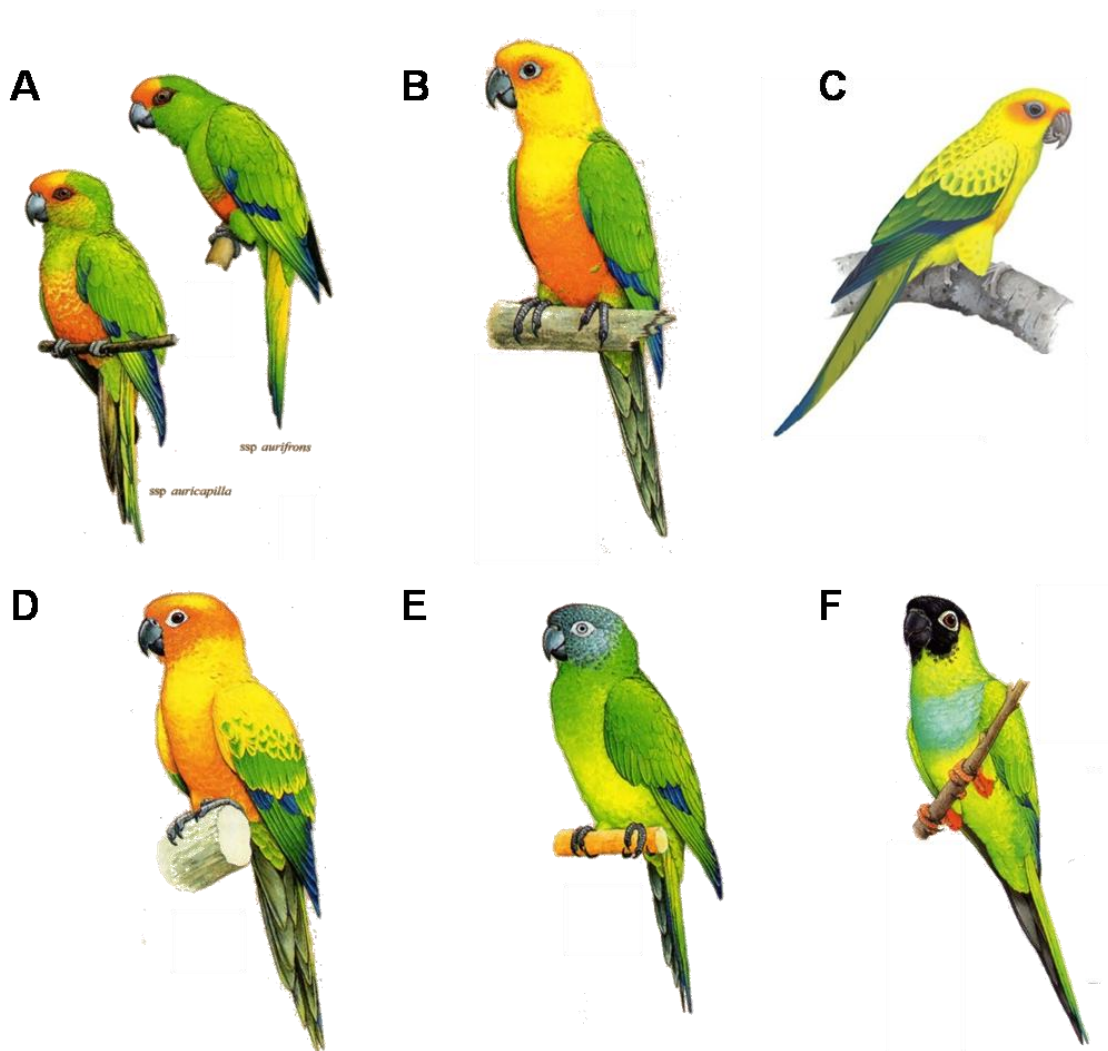


Figura 3: Espécies do grupo *Aratinga solstitialis*. A- *A. auricapilla*, B- *A. jandaya*, C- *A. maculata*, D- *A. solstitialis*, E- *A. weddellii* e F- *Nandayus nenday*. Figuras modificadas de Collar (1997) e Silveira *et al.* (2005). Fora de escala.

2) **Grupo *Aratinga pertinax***: Inclui as espécies *A. pertinax*, *A. aurea*, *A. nana*, *A. canicularis* e *A. cactorum* (figura 4). Espécies com tamanho

relativamente pequeno (de 23 a 26 cm); bico com coloração amarelada ou cinza; coloração das penas da parte superior do peito marrom oliva ou acinzentada; rêmiges dorsalmente verde-azuladas e ventralmente cinza-escuro, retrizes dorsalmente verdes, com a ponta azulada e ventralmente oliváceas.

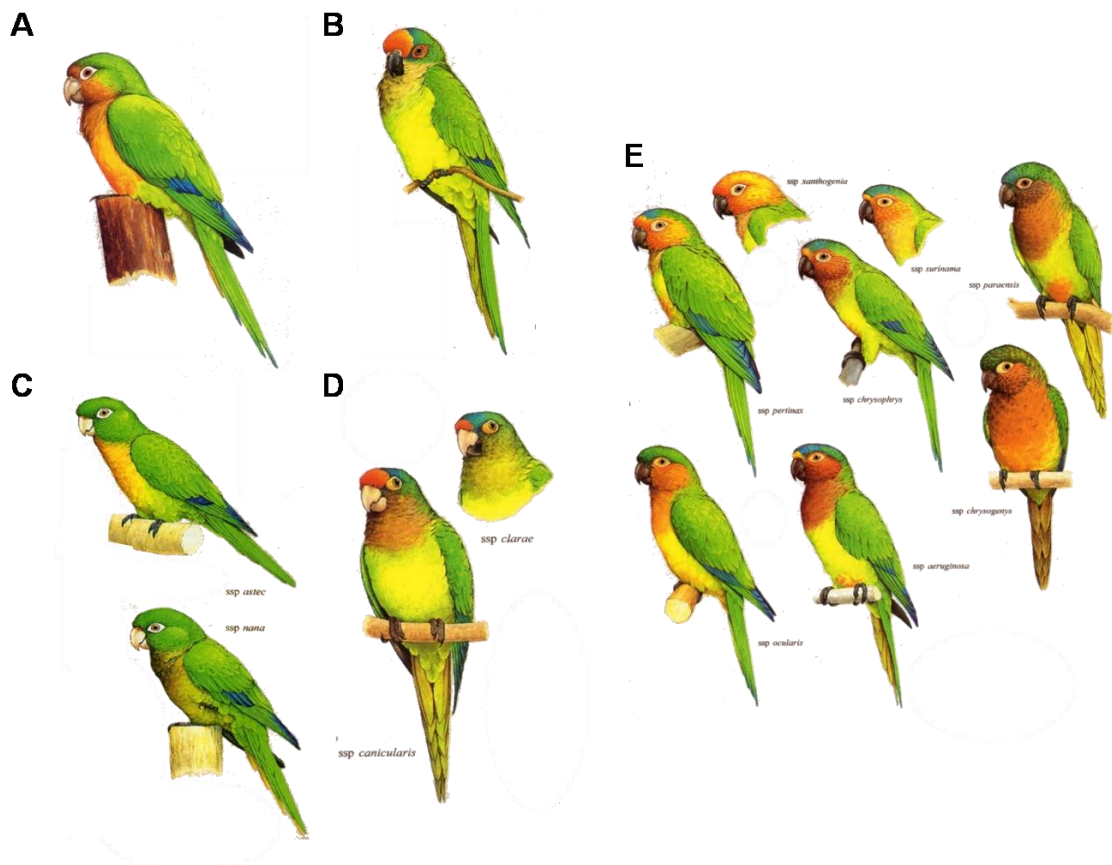


Figura 4: Espécies do grupo *Aratinga pertinax*. A- *A. cactorum*, B- *A. aurea*, C- *A. nana*, D- *A. canicularis* e E- *A. pertinax*. Figuras modificadas de Collar (1997). Fora de escala.

3) Grupo *Aratinga leucophthalmus*: Inclui as espécies *A. leucophthalmus*, *A. acuticaudata*, *A. mitrata*, *A. wagleri*, *A. erythrogenys*, *A. finschi*, *A. euops*, *A. chloroptera*, *A. holochlora*, *A. rubritorquis* e *A. brevipes* (figura 5). Espécies com tamanho relativamente grande (de 25 a 38 cm); bico com coloração amarelada; plumagem predominantemente verde, geralmente com traços vermelhos no rosto, pescoço e na parte ventral das asas; anel periorbital branco conspícuo; rêmiges ventralmente amareladas e retrizes dorsalmente verdes e ventralmente oliváceas. *A. strenua* foi considerada como subespécie de *A. holochlora* no trabalho de Silveira e colaboradores (2005).

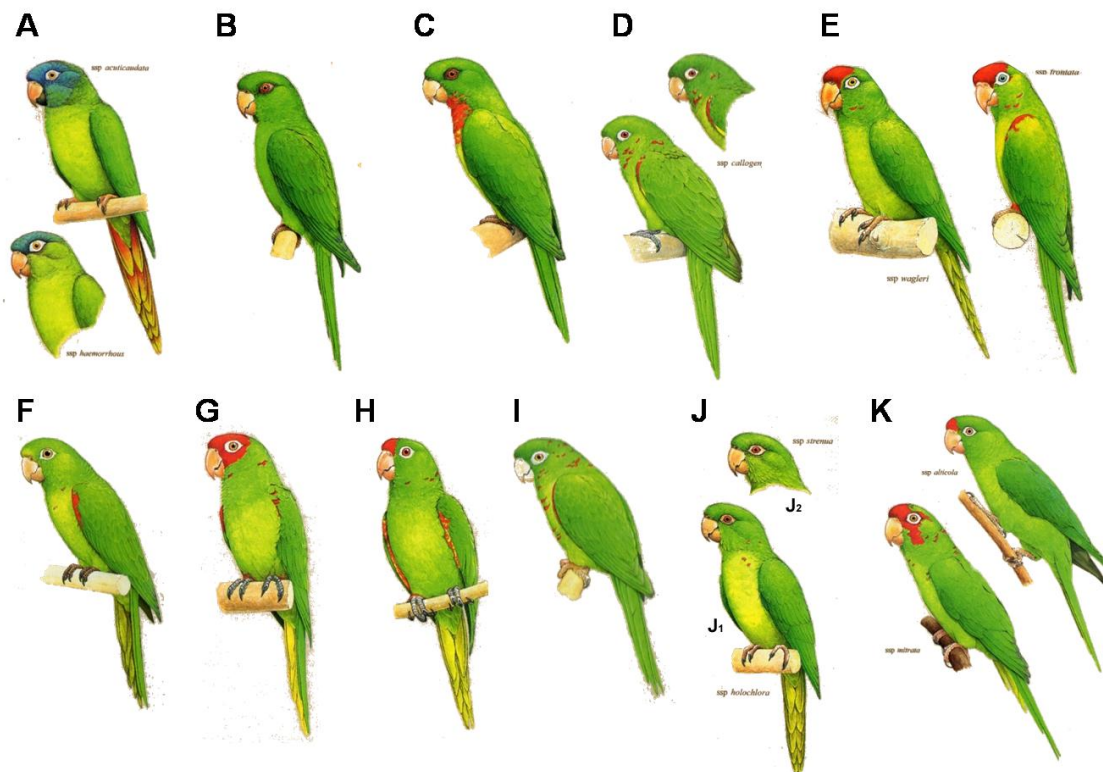


Figura 5: Espécies do grupo *Aratinga leucophthalmus*. A- *A. acuticaudata*, B- *A. brevipes*, C- *A. rubritorquis*, D- *A. leucophthalmus*, E- *A. wagleri*, F- *A. chloroptera*, G- *A. erythrogegens*, H- *A. finschi*, I- *A. euops*, J₁- *A. holochlora*, J₂- *A. strenua*. e K- *A. mitrata*. Figuras modificadas de Collar (1997). Fora de escala.

1.6 Origem e biogeografia de Psittaciformes

A origem da ordem Psittaciformes e a história evolutiva de seus grupos têm sido alvos de bastante discussão. Baseando-se na distribuição das espécies viventes e no registro fóssil, Glenny (1954) sugeriu a origem de Psittaciformes no continente Antártico após o limite Cretáceo/Terciário, com subsequentes eventos de dispersão para a América do Sul, Nova Zelândia e Austrália, sendo que a colonização da África se deu por múltiplas migrações trans-oceânicas. Assumindo uma data de origem mais antiga para o grupo e também com base no registro fóssil e na distribuição atual de Psittaciformes, Cracraft (1973 e 2001) propôs que o grupo originou-se ainda no Cretáceo, no continente da Gondwana. Além disso, ele propôs que a tectônica de placas que levou à separação dos continentes teve um papel importante nas primeiras diversificações de Psittaciformes, assim como outras ordens de aves com distribuição similar.

O registro fóssil de Psittaciformes não é congruente com esse cenário, visto que a maior parte dos fósseis data do Terciário e do Quaternário, inclusive com representantes modernos, como em depósitos de 2 milhões de anos atrás (Ma.) que continham representantes dos gêneros *Aratinga* e *Cyanoliseus*. O fóssil mais antigo conhecido, atribuído a um psitacídeo é uma maxila inferior que data de aproximadamente 65 Ma. (Stidham, 1998), porém houve críticas sobre sua identificação (Dyke e Mayr, 1999).

Mais recentemente, diversos estudos que incluem datação molecular têm suportado uma origem antiga da ordem, congruente com a hipótese de origem na Gondwana, no Cretáceo entre 110 e 80 Ma. (Hedges *et al.*, 1996; Cooper e Peny, 1997; van Tuinen e Hedges, 2001; Paton *et al.*, 2002). Filogenias moleculares de Psittaciformes mais recentemente inferidas têm suportado uma separação inicial entre a linhagem que inclui os gêneros da Nova Zelândia e a linhagem que contém o restante dos grupos da ordem, sendo que a diversificação de grande parte destes grupos se deu de forma relativamente congruente com o padrão de separação dos continentes, o que reforça a possível origem na Gondwana (Barrowclough *et al.*, 2004; de Kloet e de Kloet, 2005; Wright *et al.*, 2008; Schweizer *et al.*, 2010).

Um dos estudos que destacamos abrange grande parte dos gêneros da tribo Arini assim como outros gêneros de Psittaciformes (Tavares e colaboradores, 2006). Nesse artigo foi encontrado um padrão concordante com a origem na Gondwana e vicariância subsequente. Nesse trabalho, a análise de datação das divergências entre as espécies da tribo Arini (figura 6) foi calibrada com a data do isolamento da Nova Zelândia (82 Ma.) correspondendo à divergência entre o gênero *Strigops*, endêmico dessa região e incapaz de voar, como o restante dos Psittaciformes. Nesse cenário, a divergência entre as linhagens que originaram a tribo Arini (neotropical) e o grupo australasiático data entre 67-51 Ma., o que sugere que a separação da Austrália da Antártica ocorrida nesse período pode ter tido alguma influência. A divergência entre os três principais clados da tribo Arini ocorreu em um intervalo de tempo relativamente curto, por volta 50 Ma., sendo que na época da separação entre a América do Sul e a Antártica, os três principais clados já haviam sofrido divergência. A diversificação do clado B ocorreu praticamente de maneira constante após a sua formação (figura 6), porém, a grande diversificação do

clado C ocorreu de maneira abrupta entre 30-20 Ma, o que corresponde à formação de diversos ambientes secos na América do Sul.

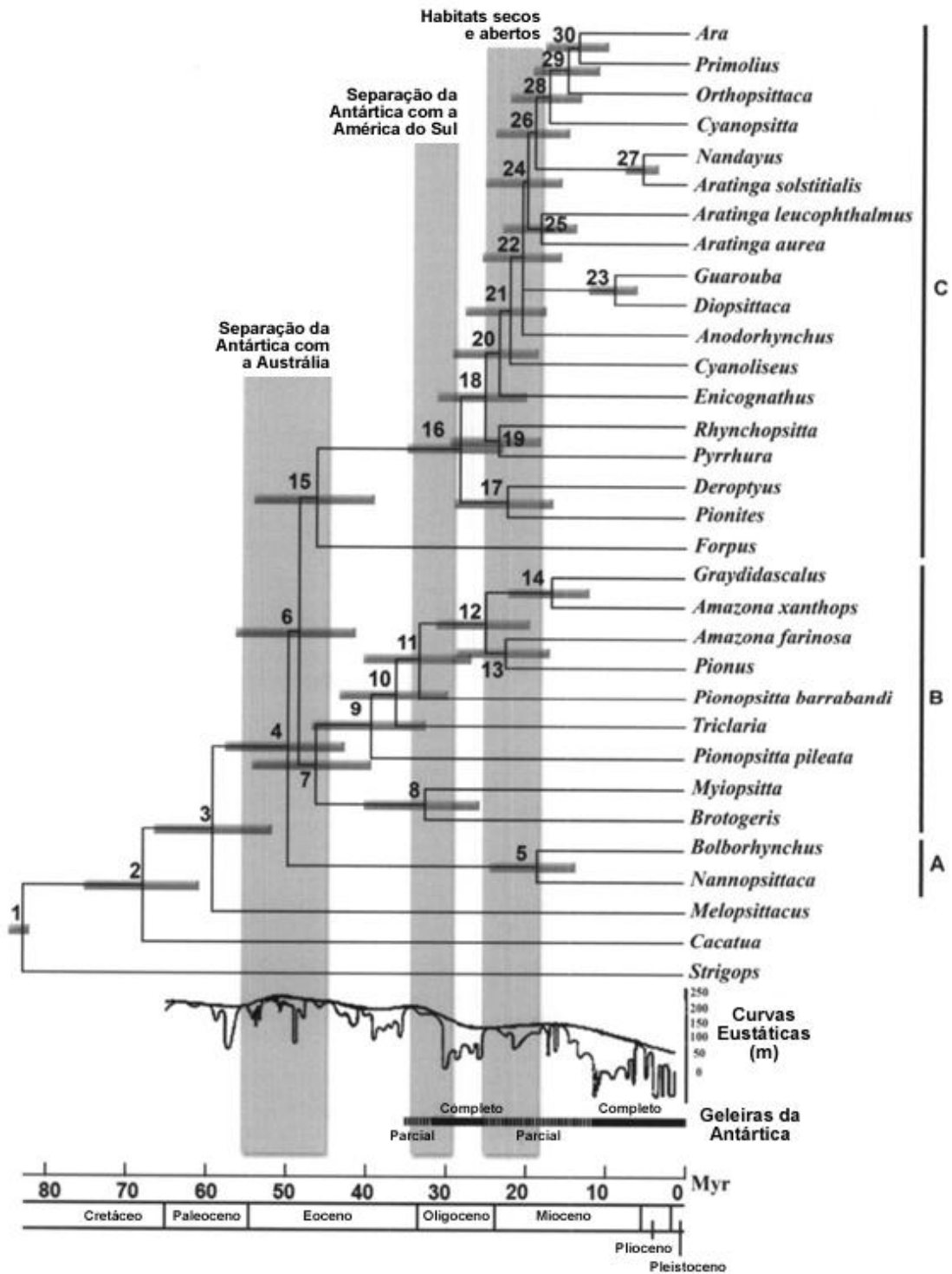


Figura 6: Cronograma mostrando as datas de divergência estimadas entre as linhagens de psitacídeos da tribo Arini. Modificado de Tavares *et al.* (2006).

Em geral, outros autores que analisaram a origem dos Psittaciformes e seus táxons atuais (Barrouclough *et al.*, 2004; de Kloet e de Kloet, 2005) utilizaram o mesmo tipo de calibração usada em Tavares e colaboradores (2006). Porém, alguns estudos sugeriram uma origem mais recente para Neoaves, e, conseqüentemente, para Psittaciformes (Mayr, 2002; Feducia, 2003) com base no registro fóssil tanto da ordem, quanto de outros táxons de Neoaves. Em um estudo de 2008, Wright e colaboradores, testaram duas hipóteses de origem da ordem: 1) origem no Cretáceo (Figura 7b) com a separação do ramo de gêneros endêmicos da Nova Zelândia (*Nestor* e *Strigops*) causada por um evento vicariante há cerca de 82 Ma., que corresponde à data mínima do isolamento da Nova Zelândia da Gondwana (McLoughlin, 2001); 2) origem mais recente e de acordo com o registro fóssil (Mayr, 2002) no Terciário (Figura 7a), ou seja, os Psittaciformes modernos se originaram há no mínimo 50 Ma.. As datas de divergência obtidas com a calibração baseada na hipótese de origem no Cretáceo (Figura 7b) são concordantes com as datas encontradas por Tavares e colaboradores (2006) e sustentam uma história evolutiva marcada por vicariâncias devido à deriva continental, seguidas por dispersões, principalmente da Ásia para a África. As datas de divergência obtidas com a hipótese de origem no Terciário sugerem diversos eventos de dispersão entre continentes, com grandes deslocamentos por oceanos, o que foi considerado pouco provável pelos autores, apesar de ser um padrão encontrado em outro trabalho mais recente (Schweizer *et al.*, 2011). Seja qual for a origem do grupo, a história evolutiva dos Psittaciformes foi complexa e envolveu eventos de vicariância e também alguns casos de dispersão trans-oceânica, principalmente na origem dos psitacídeos do continente africano (Wright *et al.*, 2008).

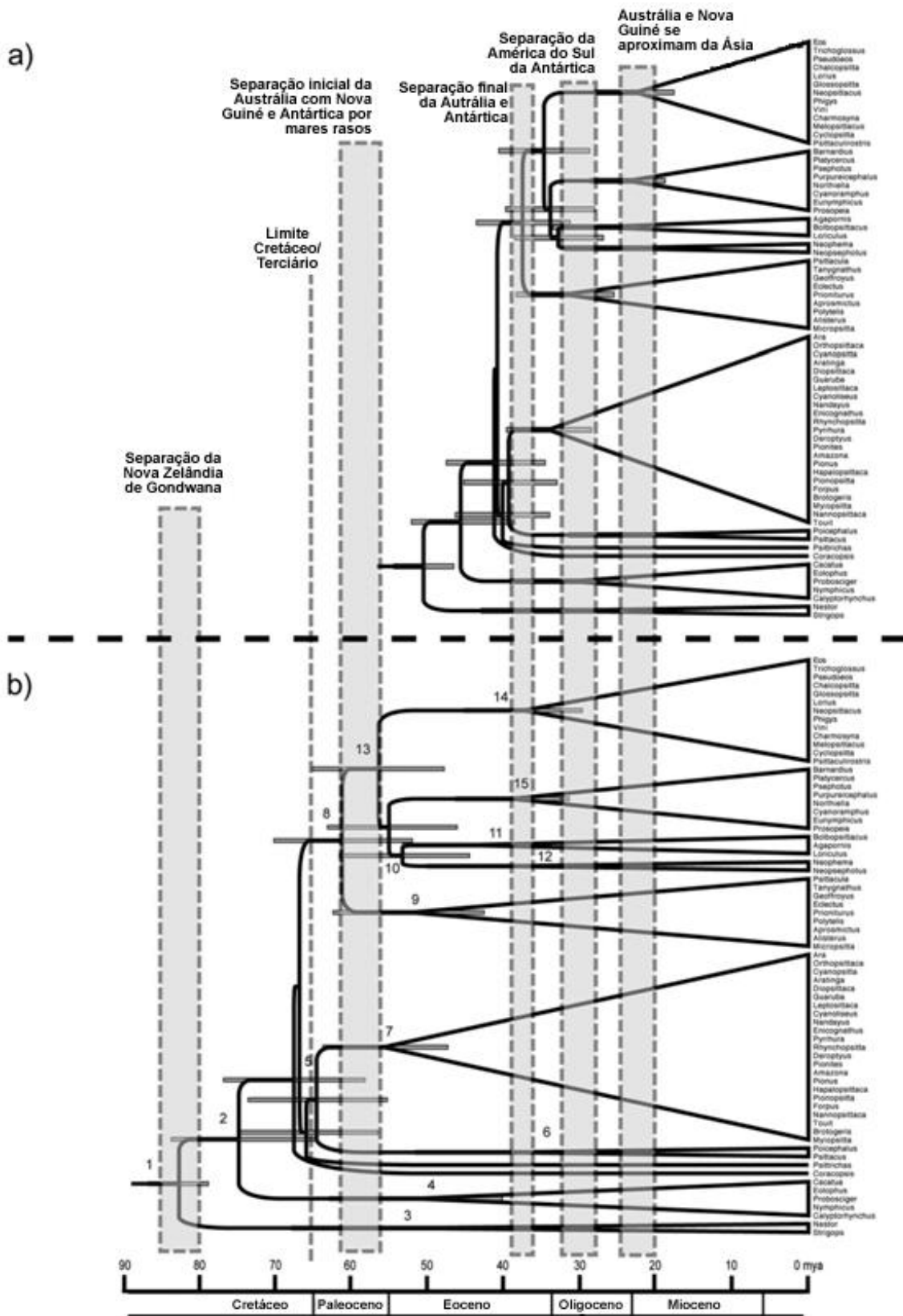


Figura 7: Cronogramas mostrando diversificações de Psittaciformes utilizando duas datas diferentes de origem do grupo: a) Cronograma com nó da raiz datado em 50 Ma.; e b) Cronograma com nó datado de 82 Ma. Modificado de Wright *et al.* (2008).

1.7 Biogeografia da região neotropical

A história da região neotropical é complexa e envolve diversos eventos tectônicos, separações e conexões. Depois da inicial quebra da Gondwana, a separação do bloco continental América do Sul/Antártica da Austrália ocorreu no Eoceno, entre 55 e 45 Ma. (Woodbourne e Case, 1996). Já a separação da América do Sul em relação à Antártica ocorreu no início do Oligoceno, quando essa última foi coberta por gelo (entre 35 e 30 Ma.; Dingle e Lavelle, 1998; Shevenall *et al.*, 2004). A partir daí, a América do Sul se tornou um “continente ilha”, completamente isolado do restante das massas continentais por um longo período de tempo, até a conexão com a América do Norte por volta de 3,1 Ma. com o fechamento do Istmo do Panamá (Coates e Obando, 1996). Esse isolamento parece ter permitido a diversificação de diversos grupos de organismos por um grande intervalo de tempo, o que foi denominado para mamíferos de “isolamento explêndido” por Simpson (1980).

Durante seu isolamento, a América do Sul passou por grandes transformações, devido a mudanças climáticas e principalmente à tectônica de placas. O soerguimento dos Andes alterou drasticamente a dinâmica dos rios e o clima e influenciou a distribuição atual de espécies, assim como parece ter sido responsável por diversos eventos de especiação em diversos táxons (Antonelli *et al.*, 2009, Chaves *et al.*, 2011). Talvez a região mais afetada pelo soerguimento dos Andes foi a Amazônia, que durante o Paleoceno e o Eoceno (65 a 33 Ma.) tinha seus principais rios fluindo do leste para o oeste com um baixo regime sedimentar, denominado de Amazônia “Cratônica” (Hoorn *et al.*, 2010). A região central dos Andes começou a soerguer no Paleogeno (65 a 34 Ma.) devido à subducção da margem da placa do Pacífico (Poulsen *et al.*, 2010). O soerguimento da região norte dos Andes se intensificou a por volta de 23 Ma., coincidente com diversificações de gêneros de animais e plantas (Hoorn *et al.*, 2010). Paralelamente ao soerguimento do norte dos Andes, no oeste da Amazônia se formou uma grande região pantanosa com lagos rasos, denominada “Sistema Pebas”, com grande diversidade de invertebrados, crocodilianos e tartarugas (Wesselingh e Salo, 2006; Riff *et al.*, 2010). Porém o soerguimento de montanhas mais intenso ocorreu durante o Mioceno médio (12 Ma.) e o Plioceno inicial (4,5 Ma.; Hoorn *et al.*, 2010). Durante esse período a Amazônia oeste mudou de um sistema lacustre para um sistema fluvial, a

dinâmica dos rios foi alterada e a partir de 10 Ma. os rios passaram a fluir do oeste para o leste com consequente entrada de nutrientes dos Andes e o atual rio Amazonas se torna completamente estabelecido a partir de 7 Ma. (Figueiredo *et al.*, 2009). Essas modificações da topografia e do ambiente amazônico causaram uma grande diversificação em toda a região, porém com altos níveis de diversidade concentrados na região oeste da Amazônia, que sofreu grande influência do soerguimento dos Andes (Hoorn *et al.*, 2010).

Outro evento que certamente foi importante na diversificação neotropical foi o fechamento do Istmo do Panamá, estimado entre 4 Ma. e 3 Ma. (Kirby *et al.*, 2008; Coates e Obando, 1996; respectivamente). Essa conexão que surgiu entre a América do Sul e a América do Norte levou ao evento conhecido como “*Great American Biotic Interchange*” (GABI), que foi uma grande troca de organismos entre os dois continentes, que gerou grande diversificação na região neotropical (Weir *et al.*, 2009; Hoorn *et al.*, 2010). Estudos indicam que a presença da conexão entre os continentes facilitou a dispersão de diversos grupos de aves como Passeriformes (Weir *et al.*, 2009) e Columbiformes (Johnson e Weckstein, 2011), o que gerou muitas especiações trans-istmo nesses grupos, com a maior frequência após o fechamento do Istmo, por volta de 3,1 Ma. (Coates e Obando, 1996; Johnson e Weckstein, 2011). Aparentemente a dispersão de aves foi assimétrica entre as regiões neártica e neotropical, visto que a fauna neártica pôde se adaptar na América Central a condições similares às da América do Sul antes de a conexão se completar, o que facilitou a entrada de espécies do norte para o sul. Porém, o contrário não foi verificado, sendo que a avifauna da América do Sul conseguiu colonizar efetivamente regiões da América Central, mas não na América do Norte, pois aparentemente não teve tempo de se adaptar às novas condições (Johnson e Weckstein, 2011).

As oscilações climáticas do Pleistoceno também parecem ter papel importante na formação da biota atual da América do Sul. A redução da umidade devido ao resfriamento durante os máximos glaciais do Pleistoceno causou retração em diversos ambientes florestais úmidos, gerando fragmentação destes, o que causaria a redução da área de distribuição de populações de espécies dependentes de florestas e o isolamento dessas populações, que poderia acarretar em diversificação (Haffer, 1997; Newton,

2003). Essa hipótese dos refúgios pleistocênicos foi inicialmente postulada por Haffer (1969) e Vanzolini e Willians (1970) para explicar a grande diversidade da região amazônica. Estudos recentes têm indicado que a maioria das especiações na Amazônia é mais antiga que os ciclos glaciais do Pleistoceno (Nores, 1999; Santos *et al.*, 2009; Fuchs *et al.*, 2011), o que torna a explicação dos refúgios insuficiente para explicar a grande diversificação nesse ambiente, que tem uma história bastante complexa. Porém a hipótese dos refúgios é bastante consistente com muitas diversificações na Mata Atlântica, que possui três regiões de possíveis refúgios florestais identificadas, com base no padrão de estruturação das populações de diversas espécies, assim como em modelagens de nicho ecológico (Carnaval e Moritz, 2008; Carnaval *et al.*, 2009).

2. Objetivos

O objetivo do presente estudo foi obter uma filogenia bem sustentada do gênero *Aratinga* (Aves, Psittacidae) com base em dados moleculares. Essa filogenia e a datação dos eventos de diversificação permitiram discutir aspectos biogeográficos da história evolutiva do grupo. Com essas informações procuramos contribuir para a caracterização do complexo processo de origem da tão exuberante biodiversidade no neotrópico. Dentro desse contexto, foi testada a monofilia do gênero, dos grupos de espécies propostos por Silveira e colaboradores (2005) e as relações filogenéticas tanto dentro dos grupos como entre eles.

3. Conclusões

As análises filogenéticas do presente estudo são as primeiras a indicarem que as espécies do gênero *Aratinga* estão organizadas em quatro clados, cada um deles com alto suporte estatístico; mas estes clados não se agrupam em um único grupo monofilético. O clado A do presente trabalho é completamente congruente com o grupo *A. solstitialis* proposto por Silveira e colaboradores (2005) baseado em dados morfológicos. O táxon monotípico *Nandayus nenday* faz parte deste grupo, tendo posição mais interna que *A. weddellii* que é irmã do restante do grupo (figura 14). O clado A é irmão de um

clado que contém representantes dos gêneros *Ara*, *Primolius*, *Orthopsittaca* e *Cyanopsitta* (figura 14), com alto suporte estatístico em todas as análises, o que corrobora a ausência de monofilia do gênero *Aratinga*. O clado B também é completamente congruente com o grupo *A. pertinax* (Silveira *et al.*, 2005) e parece ser o grupo irmão do clado que contém o clado A e o clado dos representantes dos gêneros *Ara*, *Primolius*, *Orthopsittaca* e *Cyanopsitta* (figura 14). O clado C apresenta grande congruência com o grupo *A. leucophthalmus* (Silveira *et al.*, 2005), exceto pela exclusão da espécie *A. acuticaudata* (figura 14). Essa espécie parece ser irmã de *Diopsittaca nobilis* e, por sua vez, esse grupo deve ser irmão de *Guarouba guarouba*, compondo o clado D com suportes máximos (figura 14).

Essas evidências sugerem fortemente que o táxon *Aratinga* não seja monofilético, logo, consideramos necessária uma revisão taxonômica do gênero. A relação próxima de *Nandayus nenday* e espécies do complexo *Aratinga solstitialis* já havia sido sugerida anteriormente (Ribas e Miyaki, 2004). O Comitê Brasileiro de Registros Ornitológicos indicou que *Nandayus nenday* deveria ser denominada como *Aratinga nenday* (CBRO, 2010). A ausência de relação próxima entre *A. leucophthalmus* e *A. solstitialis* também já havia sido observada (Tavares *et al.*, 2006). No entanto, o resultado de que *A. acuticaudata* parece não ter relação próxima com nenhuma outra espécie do gênero só foi observado no presente estudo. A proximidade de relação entre *A. acuticaudata* e *D. nobilis* nunca havia sido sugerida antes. Com base nas relações filogenéticas encontradas seria possível organizar as espécies do gênero *Aratinga* em pelo menos quatro táxons. Como tal proposta é relativamente ousada por envolver muitas mudanças, o ideal é que estudos baseados em dados independentes dos aqui apresentados (ex. filogenias baseadas em dados morfológicos e morfométricos) sejam realizados testando os mesmos táxons aqui analisados.

A análise da biogeografia dos clados com espécies de *Aratinga* encontrados sugere uma complexa história com eventos de colonização e vicariância, possivelmente relacionados a eventos como o soerguimento dos Andes, o fechamento do Istmo do Panamá e oscilações climáticas do Pleistoceno. A colonização da América Central parece ter ocorrido ao menos três vezes independentemente, com um evento possivelmente relacionado ao

fechamento do Istmo do Panamá e outros anteriores a este, possivelmente devidos a oscilações no nível do mar. Estudos com amostragem populacional geográfica representativa, dentro desses clados encontrados, podem auxiliar a elucidar o padrão complexo de diversificação desses táxons de psitacídeos, assim como agregar mais detalhes à rica história da avifauna da região Neotropical.

4. Referências Bibliográficas

Amaral, F.S.R.; Miller, M.J.; Silveira, L.F.; Bermingham, E. e Wajntal, A. (2006) Polyphyly of the hawk genera *Leucopternis* and *Buteogallus* (Aves, Accipitridae): multiple habitat shifts during the Neotropical buteonine diversification. *BMC Evolutionary Biology*, 6: 10.

Amaral, F.R.; Sheldon, F.H.; Gamauf, A.; Haring, E.; Riesing, M.; Silveira, L.F. e Wajntal, A. (2009) Patterns and processes of diversification in a widespread and ecologically diverse avian group, the buteonine hawks (Aves, Accipitridae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 53: 703–715.

Amorin, D. S. (2002) *Fundamentos de Sistemática Filogenética*. Editora Holos, Ribeirão Preto.

Antonelli, A.; Nylander, J.A. A.; Persson, C. e Sanmartín, I. (2009) Tracing the impact of the Andean uplift on Neotropical plant evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 106: 9749–9754.

Barrowclough, G.F.; Groth, J.G. e Mertz, L.A. (2004) Phylogenetic relationships among parrots. One Hundred and Twenty-Second Stated Meeting of the American Ornithologist's Union. Laval, Quebec.

Baum, D.A.; Smith, S.D. e Donovan S.S.S. (2005) The tree-thinking challenge. *Science*, 310: 979-980.

Benz, B.W. e Robbins, M.B. (2011) Molecular phylogenetics, vocalizations, and species limits in *Celeus* woodpeckers (Aves: Picidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 61: 29-44.

Bintanja, R. e van de Wal, R.S.W. (2008) North American ice-sheet dynamics and the onset of 100,000-year glacial cycles. *Nature*, 14: 869-872.

BLAST disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/guide/>

Brown, W.M.; George, M.J. e Wilson, A.C. (1979) Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 361: 119-134.

Bruford, M.W.; Hanotte, O.; Brookfield, J.F.Y. e Burke, T. (1992) Single-locus and multilocus DNA fingerprinting. In: Hoelzel, A. R. *Molecular Genetic Analysis of Populations — A Practical Approach*. IRL Press, Oxford University Press, New York.

Carnaval, A.C. e Moritz, C. (2008) Historical climate modelling predicts patterns of current biodiversity in the Brazilian Atlantic forest. *Journal of Biogeography*, 35: 1187-1201.

Carnaval, A.C.; Hickerson, M.J.; Haddad, C.F.B.; Rodrigues, M.T. e Moritz, C. (2009) Stability predicts genetic diversity in the Brazilian Atlantic Forest hotspot. *Science*, 323: 785-789.

Chaves, J.A.; Weir, J.T. e Smith, T.B. (2011) Diversification in *Adelomyia* hummingbirds follows Andean uplift. *Molecular Ecology*, 20: 4564-4576.

Clements, J.F. (2000) *Birds of The World: A Checklist*. Fifth Edition. Ibis Publishing Company, Vista.

Coates, A.; Jackson, J.B.C.; Collins, L.S.; Cronin, T.M.; Dowsett, H.J.; Bybell, L.M.; Yung, P. e Obando, J. (1992) Closure of the Isthmus of Panama: The near-shore marine record of Costa Rica and western Panama. *Geological Society of America Bulletin*, 104: 814-828.

Coates, A. e Obando, J. (1996) The geologic evolution of the Central American Isthmus. In: Jackson, J. *et al.*, *Evolution and Environment in Tropical America*. University of Chicago Press, Chicago.

Collar, N.J. (1997). Family Psittacidae (Parrots). In: del Hoyo, J; Elliot, A. e Sagartal, J. *Handbook of the Birds of the World*. Vol. 04, Sandgrouse to Cuckoos. Lynx Edicions, Barcelona.

CBRO: Comitê Brasileiro de Registros Ornitológicos (2010) Listas das aves do Brasil. 9ª Edição. Disponível em: <http://www.cbro.org.br>.

Cooper, A. e Penny, D. (1997) Mass survival of birds across the Cretaceous-Tertiary boundary: molecular evidence. *Science*, 275: 1109-1113.

Cracraft, J. (1973) Continental drift, palaeoclimatology, and the evolution and biogeography of birds. *Journal of Zoology*, 169: 455-545.

Cracraft, J. (2001) Avian evolution, Gondwana biogeography and the Cretaceous–Tertiary mass extinction event. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B, Biological Sciences*, 268: 459-469.

de Kloet, R.S. e de Kloet, S.R. (2005) The evolution of the spindlin gene in birds: sequence analysis of an intron of the spindlin W and Z gene revealed four major divisions of the Psittaciformes. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 36: 706-721.

Dingle, R.V. e Lavelle, M. (1998) Late Cretaceous-Cenozoic climatic variations of the northern Antarctica peninsula: new geochemical evidence and review. *Paleogeography, Paleoclimatology and Paleoecology*, 141: 215-232.

Doolittle, R.F e Blombäck, B. (1964) Amino-acid sequence investigations of fibrinopeptides from various mammals: evolutionary implications. *Nature*, 202: 147-152.

Drummond, A.J. e Rambaut, A. (2007) BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC Evolutionary Biology*, 7: 214. Disponível em: <http://beast-mcmc.googlecode.com/>

Dunn, I.S. e Blattner, F.R. (1987) Charons 36 to 40: Multi enzyme, high capacity, recombinant deficient replacement vectors with polylinkers and polystuffers. *Nucleic Acids Research*, 15: 2677.

Dyke, G.J. & Mayr, G. (1999) Did parrots exist in the Cretaceous? *Nature*, 399: 317-318.

Eberhard, J. R.; Wright, T. F. e Bermingham, E. (2001) Duplication and concerted evolution of the mitochondrial control region in parrot genus *Amazona*. *Molecular Biology and Evolution*, 18: 1330–1342.

Feduccia, A. (2003) 'Big bang' for tertiary birds? *Trends in Ecology and Evolution*, 18: 172-176.

Felsenstein, J. (1981) Evolutionary trees from DNA sequences: a maximum likelihood approach. *Journal of Molecular Evolution*, 17: 368-376.

Felsenstein, J. (1985) Confidence limits on phylogenies: an approach using bootstrap. *Evolution*, 39: 783-791.

Felsenstein, J. (2004) Inferring Phylogenies. Sinauer Associates, Inc. Publishers, Sunderland.

Figueiredo, J.; Hoorn, C.; van der Ven, P. e Soares, E. (2009). Late Miocene onset of the Amazon River and the Amazon deep-sea fan: evidence from the Foz do Amazonas basin. *Geology*, 37: 619-622.

Figueiredo, J.; Hoorn, C.; van der Ven, P. e Soares, E. (2010) Late Miocene onset of the Amazon River and the Amazon deep-sea fan: evidence from the Foz do Amazonas basin: Reply. *Geology*, 38: e213.

Fleischer, R.C.; Mcintosh, C.E. e Tarr, C.L. (1998) Evolution on a volcanic conveyor belt: using phylogeographic reconstructions and K–Ar-based ages of the Hawaiian Islands to estimate molecular evolutionary rates. *Molecular Ecology*, 7: 533-545.

Forshaw, J. (1989) *Parrots of the World*. Third edition. Landsdowne Editions, Melbourne.

Fuchs, J.; Chen, S.; Johnson, J.A. e Mindell, D.P. (2011) Pliocene diversification within the South American forest falcons. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 60: 398-407.

Galbreath, K.E.; Hafner, D.J. e Zamudio, K.R. (2009) When cold is better: Climate-driven elevation shifts yield complex patterns of diversification and demography in an alpine specialist (American Pika, *Ochotona princeps*). *Evolution*, 63: 2848–2863.

Garcia-Moreno, J. (2004) Is there a universal mtDNA clock for birds? *Journal of Avian Biology*, 35: 465-468.

Glenny, F.H. (1954) Antarctica as a center of origins of birds. *Ohio Journal of Science*, 54: 307-314.

Guindon, S. e Gascuel, O. (2003). A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood. *Systematic Biology*, 52: 696-704.

Guindon, S.; Dufayard, J.F.; Lefort, V.; Anisimova, M.; Hordijk, W. e Gascuel, O. (2010) New algorithms and methods to estimate maximum-likelihood phylogenies: assessing the performance of phylml 3.0. *Systematic Biology*, 59: 307–321.

Groth, J.G. e Barrowclough, G.F. (1999) Basal divergence in birds and the phylogenetic utility of the nuclear RAG-1 gene. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 12: 115–123.

Haffer, J. (1969) Speciation in Amazonian forest birds. *Science*, 165: 131-137.

Haffer, J. (1997) Alternative models of vertebrate speciation in Amazonia: an overview. *Biodiversity and Conservation*, 6: 451-477.

Hall, T.A. (1999) BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, 41: 95-98.

Harrison, G. L.; McLenachan, P. A.; Phillips, M. J.; Slack, K. E.; Cooper, A. e Penny, D. (2004) Four new avian mitochondrial genomes help get to basic evolutionary questions in the Late Cretaceous. *Molecular Biology and Evolution*, 21: 974-983.

Huybers, P. e Wunsch, C. (2005) Obliquity pacing of the late Pleistocene glacial terminations. *Nature*, 434: 491-493.

Hasegawa, M.; Kishino, e H. Yano, T. (1985) Dating of the human-ape splitting by a molecular clock of mitochondrial DNA. *Journal of Molecular Evolution*, 2: 1-5.

Hasegawa, M.; Yano, T. e Kishino, H. (1984) A new molecular clock of mitochondrial DNA and the evolution of hominoids. *Proceedings of the Japanese Academy B*, 60: 95-98.

Hedges, S.B.; Parker, P.H.; Sibley, C.G. e Kumar, S. (1996) Continental breakup and the ordinal diversification of birds and mammals. *Nature*, 381: 226-229.

Helbig, A.J.; Kocum, A.; Seibold, I. e Braun, M.J. (2005) A multi-gene phylogeny of aquiline eagles (Aves: Accipitriformes) reveals extensive paraphyly at the genus level. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 35: 147-164.

Hennig, W. (1966) *Phylogenetic Systematics*. University of Illinois Press. Urbana.

Hoorn, C.; Wesselingh, F. P.; ter Steege, H.; Bermudez, M. A.; Mora, A.; Sevink, J.; Sanmartín, I.; Sanchez-Meseguer, A.; Anderson, C. L.; Figueiredo, J. P.; Jaramillo, C.; Riff, D.; Negri, F. R.; Hooghiemstra, H.; Lundberg, J.; Stadler, T.; Särkinen, T. e Antonelli, A. (2010) Amazonia through time: Andean uplift, climate change, landscape evolution, and biodiversity. *Science*, 330: 927-931.

Huelsenbeck, J.P.; Ronquist, F.; Nielsen, R. e Bollback, J.B. (2001) Bayesian inference of phylogeny and its impact on evolutionary biology. *Science*, 294: 2310-2314.

IUCN: *International Union for Conservation of Nature*. Lista de espécies em perigo de 2009. Disponível em: <http://www.iucnredlist.org/>

Johnson, K.P. e Weckstein, J.D. (2011) The Central American land bridge as an engine of diversification in New World doves. *Journal of Biogeography*, 38: 1069-1076.

Jukes, T.H. e Cantor, C.R. (1969) Evolution of protein molecules. In: Munro, H.M. *Mammalian Protein Metabolism*. Academic Press, New York.

Kirby, M. X.; Jones, D.S. e MacFadden, B.J. (2008) Lower Miocene stratigraphy along the Panama Canal and its bearing on the Central American Peninsula. *PLoS ONE*, 3: e2791.

Kishino, H.; Thorne, J.L. e Bruno, W.J. (2001) Performance of a divergence time method under a probabilistic model of rate evolution. *Molecular Biology and Evolution*, 18: 352-361.

Kocher, T.D.; Thomas, W.K.; Meyer, A.; Edwards, S.V.; Paabo, S.; Villablanca, F.X. e Wilson, A.C., (1989) Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: amplification and sequencing with conserved primers. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 86: 6196-6200.

Kumar, S.; Skjæveland, A.; Orr, R.J.S.; Enger, P.; Ruden, T.; Mevik, B.H.; Burki, F.; Botnen, A. e Shalchian-Tabrizi, K. (2009) AIR: A batch-oriented web program package for construction of supermatrices ready for phylogenomic analyses. *BMC Bioinformatics*, 10: 357. Disponível: <http://www.bioportal.uio.no/>

Lovette, I.J. (2004) Mitochondrial dating and mixed-support for the '2% rule' in birds. *Auk*, 121: 1–6.

Maddison, W. P. e Maddison, D.R. (2010) Mesquite: a modular system for evolutionary analysis. Version 2.73. Disponível em: <http://mesquiteproject.org>.

Margoliash, E. (1963) Primary structure and evolution of cytochrome c. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 50: 672-679.

Mayr, G. (2002) On the osteology and phylogenetic affinities of the Pseudasturidae—lower Eocene stem-group representatives of parrots (Aves, Psittaciformes). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 136: 715-729.

McLoughlin, S. (2001) The breakup history of Gondwana and its impact on pre-Cenozoic floristic provincialism. *Australian Journal of Botany*, 49:271–300.

Miller, K.G.; Kominz, M.A.; Browning, J.V.; Wright, J.D.; Mountain, G.S.; Katz, M.E.; Sugarman, P.J.; Cramer, B.S.; Christie-Blick, N. e Peka, S.F. (2005) The Phanerozoic record of global sea-level change. *Science*, 310: 1293-1298.

Miller, M.A.; Pfeiffer, W. e Schwartz, T. (2010) "Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees" in Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop (GCE), New Orleans, LA pp 1 - 8. Disponível em: <http://www.phylo.org/portal2/>

Miyaki, C.; Matioli, S.R.; Burke, T. e Wajntal, A. (1998) Parrot evolution and paleogeographical events: mitochondrial DNA evidence. *Molecular Biology and Evolution*, 15: 544-551.

Mora, A.; Baby, P.; Roddaz, M.; Parra, M.; Brusset, S.; Hermoza, W. e Espurt, N. (2010) Tectonic history of the Andes and sub-Andean zones: implications for the development of the Amazon drainage basin. In: Hoorn, C. e Wesselingh, F. P. (Eds.). *Amazonia, Landscape and Species Evolution*. Wiley, Oxford. Pp: 38–60.

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

Nemésio, A. e Rasmussen, C. (2009) The rediscovery of Buffon's "Guarouba" or "Perriche jaune": two senior synonyms of *Aratinga pintoii* Silveira, Lima & Höfling, 2005 (Aves: Psittaciformes). *Zootaxa*, 2013: 1-16.

Newton, I. (2003) *The Speciation and Biogeography of Birds*. Academic Press, San Diego.

Nores, M. (1999) An alternative hypothesis for the origin of Amazonian bird diversity. *Journal of Biogeography*, 26: 475-485.

Omland, K.E.; Cook, L.G. e Crisp, M.D. (2008) Tree thinking for all biology: the problem with reading phylogenies as ladders of progress. *BioEssays*, 30: 854-867.

Paton, T.; Haddrath, O. e Baker, A.J. (2002) Complete mitochondrial DNA genome sequences show that modern birds are not descended from transitional shorebirds. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B, Biological Sciences*, 269: 839–846.

Pereira, S.L.; Miyaki, C.Y. e Russo, C.A.M. (2001) Reconstrução filogenética: Métodos probabilísticos. In: Matioli, S.R. *Biologia Molecular e Evolução*. Editora Holos, Ribeirão Preto.

Posada, D. e Crandall, K.A. (1998) Modeltest: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics*, 14: 817-818.

Poulsen, C. J.; Ehlers, T. A. e Insel, N. (2010) Onset of convective rainfall during gradual Late Miocene Rise of the Central Andes. *Science*, 328: 490-493.

Quinn, T.W. (1997) Molecular evolution of the mitochondrial genome. In: Mindell, D. P. *Avian Molecular Evolution and Systematics*. Academic Press, San Diego.

Rambaut, A. e Drummond, A.J. (2009) Tracer v1.5, Disponível em: <http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer>

Randi, E. (1996) A mitochondrial cytochrome b phylogeny of the *Alectoris* partridges. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 6: 214-227.

Ribas, C. C. (2004) *Filogenias Moleculares e Biogeografia Histórica em Psitacídeos (Aves; Psittacidae): Padrões e Processos de Diversificação no Neotrópico*. Tese de Doutorado. Instituto de Biociências. Universidade de São Paulo, Brasil.

Ribas, C.C. e Miyaki, C.Y. (2004) Molecular systematics in *Aratinga* parakeets: species limits and historical biogeography in the *solstitialis* group, and the systematic position of *Nandayus nenday*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 30: 663-675.

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

Ridley, M. (2004) *Evolução* (3 Edição). Artmed, Porto Alegre.

Riff, D.; Romano, P.S.P.R.; Oliveira, G.R. e Aguilera, O.A. (2010) Neogene crocodile and turtle fauna in northern South America. In: Hoorn, C. e Wesselingh, F.P. *Amazonia, Landscape and Species Evolution*. Wiley, Oxford.

Rodriguez, F.; Oliver, J.L.; Marín, A. e Medina, R. (1990) The general stochastic model of nucleotide substitution. *Journal of Theoretical Biology*, 142: 485-501.

Ronquist, F. (1997) Dispersal-vicariance analysis: A new approach to the quantification of historical biogeography. *Systematic Biology*, 46: 195–203.

Ronquist F.R. e Huelsenbeck, J.P. (2003) MRBAYES 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics*, 19: 1572-1574.

Sanderson, M.J. (2002) Estimating absolute rates of molecular evolution and divergence times: a penalized likelihood approach. *Molecular Biology and Evolution*, 19: 101-109.

Santos, J.C.; Coloma, L.A.; Summers, K.; Caldwell, J.P.; Ree, R. e Cannatella, D.C. (2009) Amazonian amphibian diversity Is primarily derived from Late Miocene Andean lineages. *PLOS Biology*, 7: 0448-0461.

Schweizer, M.; Seehausen, O.; Güntert, M. e Hertwig, S.T. (2010) The evolutionary diversification of parrots supports a taxon pulse model with multiple trans-oceanic dispersal events and local radiations. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 54: 984–994.

Schweizer, M.; Seehausen, O. e Hertwig, S.T. (2011) Macroevolutionary patterns in the diversification of parrots: effects of climate change, geological events and key innovations. *Journal of Biogeography*, 38: 2176-2194.

Shevenall, A.E.; Kennett, J.P. e Lea, D.W. (2004) Middle Miocene Southern ocean cooling and Antarctica cryosphere expansion. *Science*, 305: 1766-1770.

Shields, G.F. e Wilson, A.C. (1987) Calibration of mitochondrial DNA evolution in geese. *Journal of Molecular Evolution*, 24: 212-217.

Sigrist, T. (2006) *Aves do Brasil – Uma visão artística*, Birds of Brazil – An artistic view. Editora: Tomas Sigrist, São Paulo.

Silveira, L.F.; Lima, F.C.T. e Höfling, E. (2005) A new species of *Aratinga* parakeet (Psittaciformes:Psittacidae) from Brazil, with taxonomic remarks on the *Aratinga solstitialis* complex. *The Auk*, 122: 292-305.

Simpson, G.G. (1980) *Splendid Isolation: the Curious History of South American Mammals*. Yale University Press, New Haven.

Smith, B.T. e Klicka, J. (2010) The profound influence of the Late Pliocene Panamanian uplift on the exchange, diversification, and distribution of New World birds. *Ecography*, 33: 333-342.

Sorenson, M.D.; Ast, J.C.; Dimcheff, D.E.; Yuri, T. e Mindell, D.P. (1999) Primers for a PCR-based approach to mitochondrial genome sequencing in birds and other vertebrates. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 12: 105-111.

Stamatakis, A.; Ludwig, T. e Meier, H. (2005) Raxml-iii: a fast program for maximum likelihood-based inference of large phylogenetic trees. *Bioinformatics*, 21: 456-463.

Stamatakis, A. (2006) Raxml-vi-hpc: maximum likelihood-based phylogenetic analyses with thousands of taxa and mixed models. *Bioinformatics*, 22: 2688-2690.

Stamatakis, A.; Hoover, P. e Rougemont, J. (2008) A rapid bootstrap algorithm for the raxml web servers. *Systematic Biology*, 57: 758-771.

Stidham, T.A. (1998) A lower jaw from a Cretaceous parrot. *Nature*, 39: 29-30.

Tamura, K. e Nei, M. (1993) Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Molecular Biology and Evolution*, 10: 512-526.

Tamura, K.; Peterson, D.; Peterson, N.; Stecher, G.; Nei, M. e Kumar, S (2011) MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Molecular Biology and Evolution* (no prelo).

Tavares, E.S. (2005) *Relações Filogenéticas, Biogeografia Histórica e Evolução da Organização de Genes Mitocondriais dos Psitacídeos Neotropicais (Tribo Arini: Psittacidae: Psittaciformes)*. Tese de Doutorado, Instituto de Biociências. Universidade de São Paulo, Brasil.

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

Tavares, E.S.; Yamashita, C. e Miyaki, C.Y. (2004) Phylogenetic relationships among some Neotropical parrot genera (Psittacidae, Aves) based on mitochondrial sequences. *The Auk*, 121: 230-242.

Thorne, J.L.; Kishino, H. e Painter, I.S. (1998) Estimating the rate of evolution of the rate of molecular evolution. *Molecular Biology and Evolution*, 15: 1647-1657.

van Tuinen, M. e Hedges, S.B. (2001) Calibration of avian molecular clocks. *Molecular Biology and Evolution*, 18: 206-213.

Vanzolini, P. E. e Williams, E. E. (1970) South American anoles: the geographic differentiation and evolution of the *Anolis chrysolepis* species group (Sauria, Iguanidae). *Arquivos de Zoologia*, 19: 298.

Weir, J.T.; Bermingham, E. e Schluter, D. (2009) The great American biotic interchange in birds. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 106: 21737-21742.

Weir, J.T. e Schluter, D. (2008) Calibrating the avian molecular clock. *Molecular Ecology*, 17: 2321-2328.

Wesselingh, F.P. e Salo, J.A. (2006) Miocene perspective on the evolution of the Amazonian biota. *Scripta Geologica*, 133: 439-458.

Wiens, J.J. (2003) Missing data, incomplete taxa, and phylogenetic accuracy. *Systematic Biology*, 52: 528-538.

Wiens, J.J. (2006) Missing data and the design of phylogenetic analyses. *Journal of Biomedical Informatics*, 39: 34-42.

Wiens, J.J. e Moen, D.S. (2008) Missing data and the accuracy of Bayesian phylogenetics. *Journal of Systematics and Evolution*, 46: 307-314.

Woodburne, M.O. e Case, J.A. (1996) Dispersal, vicariance, and the late Cretaceous to early Tertiary land mammal biogeography from South America to Australia. *Journal of Mammalian Evolution*, 3: 121-161.

Wright, T.F.; Schirtzinger, E.E.; Matsumoto, T.; Eberhard, J.R.; Graves, G.R.; Sanchez, J.J.; Capelli, S.; Müller, H.; Scharpegge, J.; Chambers, G.K. e Fleischer, R.C. (2008) A multilocus molecular phylogeny of the parrots (Psittaciformes): support for a Gondwanan origin during the Cretaceous. *Molecular Biology and Evolution*, 25: 2141-2156.

Yu, Y.; Harris, A.J.; He, X.J. (2011) A novel Bayesian method for reconstructing geographic ranges and ancestral states on phylogenies. (Submetido).

Zuckerkandl, E. e Pauling, L. (1962) Molecular disease, evolution, and genetic heterogeneity. In: Kasha, M. e Pullman, B. *Horizons in Biochemistry*. Academic Press, New York.