<https://doi.org/10.31533/pubvet.v15n11a961.1-10>

Sexagem molecular em araras vermelhas e Centros de Triagem de Animais Silvestres: Revisão

Edma Santos de Antonio^{1*} , Ricardo Evangelista Fraga² , Laize Tomazi²

¹Aluna de graduação em Ciências Biológicas pela Universidade Federal da Bahia, Instituto Multidisciplinar em Saúde, Campus Anísio Teixeira, Vitória da Conquista, Bahia, Brasil.

²Professor da Universidade Federal da Bahia, Instituto Multidisciplinar em Saúde, Campus Anísio Teixeira, Vitória da Conquista, Bahia, Brasil.

*Autor para correspondência, E-mail: edma.santos@ufba.br

Resumo. A sexagem de aves sem dimorfismo sexual, como as araras-vermelhas, é importante para o planejamento de estratégias de conservação. O objetivo deste estudo foi realizar revisão bibliográfica de aspectos relacionados à sexagem molecular de araras-vermelhas e aos Centros de Triagem de Animais Silvestres (CETAS). A presente revisão científica abordou os aspectos que seguem: (i) a ordem Psittaciformes; (ii) a formação de pares monogâmicos em psitacídeos; (iii) a espécie *A. chloropterus*; (iv) o tráfico de animais silvestres no Brasil; (v) os CETAS; (vi) a sexagem em aves; e (vii) aspectos diferenciais da sexagem molecular em aves. O presente trabalho reúne informações valiosas para trabalhos de pesquisas com araras-vermelhas.

Palavras-chave: *Ara chloropterus*, CETAS, pares sociais, PCR, psitacídeos, sexagem, tráfico de animais silvestres

Molecular sexing in green winged macaws and Wild Animal Screening Centers: Review

Abstract. The sexing of birds without sexual dimorphism, such as green-winged macaws, is important for planning conservation strategies. The aim of this study was to perform a bibliographic review of aspects related to the molecular sexing of green-winged macaws and the Wild Animal Screening Centers (CETAS). The present scientific review addressed the following aspects: (i) the order Psittaciformes; (ii) the formation of monogamous pairs in parrots; (iii) the species *A. chloropterus*; (iv) wild animal trafficking in Brazil; (v) CETAS; (vi) sexing in birds; and (vii) differential aspects of molecular sexing in birds. The present work gathers valuable information for research work with green-winged macaws.

Keywords: *Ara chloropterus*, CETAS, social peers, PCR, parrots, sexing, wild animal trafficking

Sexado molecular en guacamayos rojos y Centros de Triaje de Animales Silvestres: Revisión

Resumen. El sexado de aves sin dimorfismo sexual, como los guacamayos rojos, es importante para planificar estrategias de conservación. El objetivo de este estudio fue realizar una revisión bibliográfica de aspectos relacionados con el sexado molecular de guacamayos rojos y los Centros de Triaje de Animales Silvestres (CETAS). Esta revisión científica abordó los siguientes aspectos: (i) el orden Psittaciformes; (ii) la formación de parejas monógamas en los loros; (iii) la especie *A. chloropterus*; (iv) tráfico de animales silvestres en Brasil; (v) CETAS; (vi) sexado en aves; y (vii) aspectos diferenciales del sexado molecular en aves. El presente trabajo reúne información valiosa para trabajos de investigación con guacamayos rojos.

Palabras clave: *Ara chloropterus*, CETAS, pares sociales, PCR, loros, sexado, tráfico de animales salvajes

Introdução

O Brasil é reconhecido mundialmente por sua vasta biodiversidade ([IBGE, 2001](#); [Sick, 1997](#)), sendo o país com maior riqueza em fauna, o terceiro maior em diversidade de aves ([Andriguetto-Filho et al., 1998](#)) e o primeiro em avifauna da ordem Psittaciformes ([Sick, 1997](#)). Por consequência de condutas humanas, tal patrimônio natural é constantemente ameaçado ([Destro et al., 2012](#); [Develey & Phalan, 2021](#); [Vié et al., 2009](#)). Uma das atividades de maior impacto sobre a biodiversidade é o tráfico ilegal de animais silvestres ([Destro et al., 2012](#)). Na tentativa de reparar danos provocados pelo tráfico, foram criados no Brasil os Centros de Triagem de Animais Silvestres (CETAS). Dentre suas atividades, os CETAS recebem os animais apreendidos em ações fiscalizatórias, realizam avaliações sanitárias, tratamento, reabilitação e destinação dos animais aptos na natureza ([Brasil, 2015a](#)).

Os psitacídeos (aves da ordem Psittaciformes) comumente não apresentam dimorfismo sexual ([Allgayer & Cziulik, 2007](#)), são monogâmicos ([Sick, 1997](#)) e formam pares sociais hetero e homossexuais ([MacFarlane et al., 2010](#)). Diante destas características e visando desenvolver estratégias para a conservação da espécie, como a reprodução em cativeiro, torna-se importante a sexagem desses animais.

Atualmente, dentre as técnicas de sexagem, a sexagem molecular é considerada a de melhor custo/benefício. Dentre as vantagens desta metodologia estão: alta eficácia, baixo custo, pouca invasibilidade (desconforto) e baixo risco para os animais ([Vieira et al., 2009](#)).

Considerando o exposto, o objetivo do presente estudo foi realizar revisão bibliográfica da sexagem molecular em araras-vermelhas e dos CETAS. Acredita-se que tais informações possam incentivar a utilização dessa técnica na determinação sexual de aves em cativeiro.

Psittaciformes

A ordem Psittaciformes é composta por quatro famílias – Cacatuidae, Psittacidae, Psittaculidae e Strigopidae - que juntas somam 398 espécies ([Grespan & Raso, 2014](#)). Estas aves são caracterizadas por possuírem pés com disposição zigodáctila (dois dedos orientados cranialmente e dois dedos orientados caudalmente), bico alto e adunco (em forma de gancho, recurvado), mandíbula móvel e bastante articulada com o crânio e narinas abertas em região denominada como cera ([Sick, 1997](#)). O Brasil se destaca como o país com maior riqueza de psitacídeos ([Sick, 1997](#)), com 87 espécies, divididas em 26 gêneros, todas da família Psittacidae ([Piacentini et al., 2015](#)), dentre elas está a *Ara chloropterus*.

Segundo a Lista Vermelha da IUCN (União Internacional para a Conservação da Natureza) a ordem Psittaciformes ocupa a quarta posição em maior número de espécies de aves vulneráveis ou ameaçadas de extinção ([IUCN, 2020](#)). Das 87 espécies de psitacídeos presentes no Brasil, 16 correm risco de serem extintas ([Brasil, 2003](#)).

Formação de pares monogâmicos em psitacídeos

Psitacídeos são socialmente monogâmicos. Quando um par é formado, permanecem juntos até o final da vida. Essa característica é benéfica para a sobrevivência e conservação dessas aves na natureza, contando com atos de cuidado e proteção com o parceiro e com a prole ([Sick, 1997](#)). A determinação de pareamento em aves monogâmicas vai além da cópula, uma vez que os pares formam vínculos sociais de afiliação e permanecem juntos mesmo fora da estação reprodutiva ([Adkins-Regan, 2011](#)). Os comportamentos afiliativos relacionados com a formação de pares, envolvem alimentação conjunta, empoleiramento próximo e organização e limpeza das penas do parceiro (*allopreening*) ([Clayton, 1990](#)). A determinação de um par em aves, está relacionada com essas demonstrações de zelo, por esta razão são denominadas socialmente e não geneticamente monogâmicas; o acasalamento pode ocorrer extra-par ([Griffith et al., 2002](#)), geralmente com a fêmea copulando com um macho que não é o seu par social ([Beissinger, 2008](#)), e o cuidado com a prole, em todos os casos, é realizado pelo par social ([Caparroz et al., 2011](#)).

Um estudo de longo prazo (19 anos) com tuim-santo (*Forpus passerinus*; Psittacidae) de vida livre, mostrou formação de pares macho-fêmea reprodutivos, macho-fêmea não reprodutivos, macho-macho que cuidavam um do outro e machos solitários que não reproduziam. Observou-se que o divórcio era raro entre os pares heterossexuais reprodutivos e que, apesar de incomum, a fertilização extra-par ocorria em 14% das ninhadas, evidenciando a poligamia genética em psitacídeos. Especificamente sobre os

pareamentos macho-macho, foi observado que estes voavam juntos, cuidavam um do outro, nidificavam, eram jovens (1-2 anos de idade) e ficavam juntos de 2 meses até um ano, sendo o pareamento de um dos machos com uma fêmea, o principal motivo de separação (Beissinger, 2008).

A formação de pares sociais homossexuais já foi registrada em mais de 130 espécies de aves (MacFarlane et al., 2010). A palavra “casal” na zoologia tem sentido semântico de relação entre macho e fêmea (Michaelis, 2015), não possuindo o significado empregado para humanos. Desta forma, é utilizada a palavra “par” para referir-se a formação de vínculo entre essas aves, dado que a compatibilidade para formação do par independe do sexo do parceiro, podendo ocorrer entre macho e fêmea, macho e macho ou fêmea e fêmea (MacFarlane et al., 2010).

Ara chloropterus

A. chloropterus é considerada, historicamente, a primeira ave citada na Mata Atlântica, tendo sido descrita na carta de Pero Vaz de Caminha como “papagaios vermelhos, muito grandes e formosos” (Caminha, 1500). Conhecida como arara-vermelha, arara-vermelha-e-verde, arara-verde ou arara vermelha-grande, é o segundo maior psitacídeo do Brasil, perdendo apenas para a arara-azul (*Anodorhynchus hyacinthinus* Latham, 1790). Ela pode chegar a até 90 cm de comprimento e pesar até 1,5 kg (Sick, 1997). Possui na área dos olhos finas linhas de penas vermelhas, as penas do corpo têm coloração predominantemente vermelha, com algumas penas verdes na parte média das asas e outras de coloração azul na rabedilha (parte posterior do tronco onde se inserem as penas da cauda), na ponta da cauda e nas extremidades das asas (Rodríguez Mahecha et al., 2005). Assim como a maioria dos psitacídeos, *A. chloropterus* não possui dimorfismo sexual, ou seja, não existem características físicas evidentes capazes de distinguir macho e fêmea (Allgayer & Cziulik, 2007).

Atualmente a arara-vermelha encontra-se decrescendo em número na natureza; porém não é considerada ameaçada de extinção, pois possui ampla distribuição ao sul da América Central e ao norte da América do Sul, principalmente na região amazônica (IUCN, 2021; Rodríguez Mahecha et al., 2005). Entretanto, em algumas regiões do Brasil onde esta ave era recorrente, hoje encontra-se localmente ameaçada de extinção (Rodríguez Mahecha et al., 2005; Sick, 1997). A ocorrência desta espécie tem sido omitida em todo litoral leste do Brasil, podendo ser considerada extinta na área núcleo da Mata Atlântica (Lima, 2013), o que compreende estados como Rio de Janeiro, Espírito Santo, Paraná (Sick, 1997) e Bahia (Bahia, 2017). Neste último, segundo a Lista Oficial das Espécies da Fauna Ameaçadas de Extinção do Estado da Bahia (elaborada pela SEMA – Secretaria do Meio Ambiente do Estado da Bahia – e publicada via Portaria SEMA nº 37 de 15/08/2017). *A. chloropterus* encontra-se classificada como “Em Perigo” e deve ser protegida “de modo integral, incluindo, entre outras medidas, a proibição de captura, transporte, armazenamento, guarda, manejo, beneficiamento e comercialização” (Bahia, 2017).

O tráfico de animais silvestres no Brasil

A principal causa de extinção de aves na Mata Atlântica é a perda de habitat, o que comumente encontra-se relacionado à agricultura, urbanização e exploração madeireira (Develey & Phalan, 2021). Após a perda de habitat, tem-se o tráfico de fauna silvestre, como uma das grandes ameaças à conservação da avifauna nativa (Destro et al., 2012).

A procura por aves silvestres como animais de estimação pode ser considerada parte da cultura brasileira (Sick, 1997). Como consequência, as aves são o grupo mais afetado pelo tráfico de animais silvestres no país (Destro et al., 2012). No Brasil, dentre os indivíduos mais procurados para aquisição, estão as espécies da família Psittacidae (Sick, 1997), sendo em algumas regiões, como no Paraguaçu e no Sudoeste da Bahia, encontrada como a segunda família mais visada no comércio ilegal, perdendo apenas para Emberizidae (Souza & Soares Filho, 2005). A escolha de psitacídeos como *pet* é influenciada pelas cores vibrantes de sua exuberante plumagem e especialmente em muitas espécies por sua capacidade de vocalizar repetições semelhantes ao que lhe é dito, habilidade que têm forte apelo afetivo (Sick, 1997).

O comércio de espécies de animais silvestres é permitido no Brasil, através de criatórios comerciais, desde que estes sigam as determinações legais, dispostas nas portarias nº 005/91 de 25/04/1991, nº 117 de 15/10/1997 e nº 118 de 15/10/1997, publicadas pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos

Naturais Renováveis – IBAMA ([Brasil, 1991](#); [Brasil, 1997a](#); [Brasil, 1997b](#)).

Criminosos burlam as obrigações legais para o comércio de animais silvestres no Brasil, capturando e transportando estes animais em condições precárias. Os animais são alocados em caixas pequenas e superlotadas, com falta de água e comida, onde ficam estressados, resultando com frequência em brigas e ferimentos mútuos, e eventualmente morte. Em adição, para “acalmar” os animais, visando passarem despercebidos pela fiscalização ou aparentar mansidão ao comprador, os traficantes recorrem à estratégias de dopá-los com bebidas alcoólicas ou calmantes, cegar, cortar ou arrancar penas das asas e arrancar garras ([Jupiara & Anderson, 1991](#)).

Globalmente, o tráfico de animais silvestres é a terceira maior atividade ilegal, perdendo apenas para drogas e armas ([Nassaro, 2010](#)). Tal tráfico movimenta de 10 a 20 bilhões de dólares por ano ([Alvarenga, 2016](#)) e estima-se que o Brasil faça parte de 5 a 15% desse total ([Nassaro, 2010](#)).

CETAS

Para mitigar o impacto das perdas geradas pelo tráfico de animais silvestres em um país megadiverso, o Brasil criou os CETAS. A primeira regulamentação dessas unidades, foi realizada com a publicação da Instrução Normativa (IN) Ibama nº 169 de 20/02/2008 ([Brasil, 2008](#)), que mais tarde foi substituída pela IN Ibama nº 07 de 30/04/2015 ([Brasil, 2015b](#)), ambas instituíram e normatizaram o CETAS como uma, dentre outras categorias de unidades de manejo da fauna silvestre brasileira em cativeiro. Além disso, o CETAS recebeu ainda uma normativa exclusiva para detalhar como deveria proceder o funcionamento da instituição; publicada em janeiro de 2015, a IN ICMBio nº 23 de 31/12/2014 ([Brasil, 2015a](#)), definiu os CETAS como

unidades responsáveis pelo manejo de fauna silvestre com finalidade de prestar serviço de: recepção, identificação, marcação, triagem, avaliação, recuperação, reabilitação e destinação de animais silvestres provenientes de ação fiscalizatória, resgates ou entrega voluntária de particulares; e que poderá realizar e subsidiar pesquisas científicas, ensino e extensão ([Brasil, 2015a](#)).

Dados compilados por Destro et al. ([2012](#)), mostram que a média anual de animais recebidos nos CETAS é maior que 38.400 espécimes. Destes, mais de 80% são aves, sendo a maioria provenientes de apreensões de cargas de animais traficados ilegalmente.

Segundo a IN ICMBio nº 23/2014, devido ao estresse ao qual foram submetidos e a provável baixa imunidade, os animais recém-chegados à um CETAS devem passar por período de quarentena. Durante este período, os animais são avaliados e tratados antes de entrarem em contato com outros animais preexistentes nos viveiros do local. Um dos parâmetros de avaliação, instituído no Anexo IV da normativa citada, é a sexagem do animal ([Brasil, 2015a](#)).

Contudo, os CETAS são unidades institucionalmente negligenciadas. O baixo financiamento recebido não permite aos CETAS realizar todas as avaliações previstas nas normativas regulamentares ([Vilela, 2012](#)). Tendo em vista que o objetivo final dessas unidades é a destinação dos animais, preferencialmente via projetos de soltura (ex: reintrodução ou revigoramento populacional), em condições de sobrevivência e reprodução na natureza, torna-se importante a determinação do sexo. Os resultados da sexagem de animais não dimórficos, podem ser utilizados como ferramenta para a escolha de estratégias de formação de pares sociais heterossexuais e possíveis acasalamentos em cativeiro. Essas medidas são incentivadas para animais da fauna nativa ameaçados ([Brasil, 1991](#)).

Sexagem em aves

Dentre as técnicas mais conhecidas para a sexagem de aves estão (i) laparoscopia, (ii) tomografia por ressonância magnética nuclear (TRMN) e (iii) sexagem molecular.

A laparoscopia foi a primeira técnica de determinação sexual utilizada para aves, tendo sido empregada pela primeira vez na década de 1970 ([Murray et al., 2001](#); [Satterfield, 1990](#)). Esta consiste em técnica cirúrgica, envolvendo os passos que seguem: conter e anestesiá-lo o animal após algumas horas de jejum, retirar as penas no local da cirurgia, realizar incisão de aproximadamente 1cm na pele, perfurar a musculatura abdominal e introduzir a haste do endoscópio (tubo rígido, relativamente longo, com iluminação e estrutura óptica acoplada à extremidade, sua função é captar imagens dos órgãos internos

do animal); após a avaliação dos órgãos do sistema reprodutor, o endoscópio é retirado e a pele é suturada com pontos simples; o tempo entre anestesia e liberação do animal é de 25 minutos por indivíduo (Raso & Werther, 2004). Apesar desta técnica fornecer sexagem imediata, várias complicações podem surgir durante e após a operação: (i) a obesidade, a presença de líquido celomático na cavidade ou o excesso de sangue dos cortes podem inviabilizar a visualização das gônadas (Raso & Werther, 2004; Ritchie et al., 1997; Satterfield, 1990); (ii) os indivíduos podem apresentar apneia (parada dos pulmões) devido a sensibilidade a anestesia, estes precisarão de oxigênio para voltarem à respiração espontânea, exigindo assim uma maquinaria de respiração a disposição (Raso & Werther, 2004); (iii) pode ocorrer enfisema subcutâneo difuso decorrente de possíveis danos aos sacos aéreos (Ritchie et al., 1997); (iv) contusões hepáticas e renais podem ser causadas pela ponta do endoscópio; (v) os órgãos internos podem ser acidentalmente atingidos nas incisões abdominais, podendo romper e causar hemorragias (Ritchie et al., 1997) e (vi) infecções cirúrgicas, por má esterilização do aparelho ou da pele, também são uma possibilidade (Ritchie et al., 1997), que pode ser mais recorrente em aves traficadas, considerando as suas imunidades comprometidas por altos níveis de estresse (Vieira et al., 2015).

A TRMN é um método não invasivo para visualização de órgãos internos, se utilizando de tomógrafo – equipamento que emite radiação não ionizante e gera imagens a partir da captação de núcleos de hidrogênio (^1H); sendo que a formação das imagens e distinção dos órgãos decorre da diferença na concentração de água (H_2O) nos tecidos. O procedimento para a visualização das gônadas em aves ocorre seguindo os seguintes passos: o animal é contido e imobilizado com fármaco, geralmente posicionado na bandeja em decúbito ventral, inserido no tomógrafo e as imagens são captadas, em planos sagital e coronal; todo o procedimento pode chegar a 84 minutos por indivíduo e após a obtenção das imagens o resultado é concluído em média em 30 minutos (Bernardes Filho et al., 2000). A TRMN para sexagem aviária exige um tomógrafo de alta resolução, devido às gônadas serem pequenas (Bernardes Filho et al., 2000). Tal exigência encarece esta técnica de sexagem, ficando ainda mais oneroso do que o envolvendo tomógrafo hospitalar. Grando (2002) ao pesquisar sexagem por TRMN em *Aratinga leucophthalmus* (periquitão-maracanã), não conseguiu identificar as gônadas nestes psitacídeos em imaturidade sexual. A TRMN envolve desvantagens consideráveis, como: (i) alto custo, (ii) longo tempo de manuseio dos animais; (iii) necessidade de anestesia, com risco de problemas associados e (iv) ineficiência para a sexagem de indivíduos jovens.

A sexagem molecular, consiste em um método de determinação sexual a partir da análise de porções específicas de DNA capazes de revelar a composição dos cromossomos sexuais (Z ou W); sendo em aves fêmeas Z e W e em machos apenas Z (Griffiths et al., 1998). Os passos mais usuais da sexagem molecular em aves são: imobilizar o animal fisicamente, coletar o material biológico, extrair o DNA, amplificar os genes de interesse por PCR e visualizar as bandas geradas por eletroforese (Pereira, 2018). Comparativamente às outras técnicas, a sexagem molecular envolve menos tempo de manipulação por animal. O processamento da amostra para obtenção da sexagem, considerando os passos citados, leva em média três dias. O material biológico utilizado pode ser sangue de um pequeno corte da unha (Pereira, 2018), sangue retirado por punção da veia braquial (Barros et al., 2017), bulbo de uma pena arrancada (Vieira et al., 2012), swab oral (Wellbrock et al., 2012) ou cloacal e fezes (Asawakarn et al., 2018). Apesar de não apresentar algumas vantagens de outras técnicas, como o resultado imediato associado a laparoscopia e nenhuma remoção de material do animal como a TRMN, a sexagem molecular apresenta vantagens significativas. Tal técnica é altamente assertiva, apresenta baixo custo (quando comparada com outros métodos), não sofre influência da idade e maturação sexual da ave e traz baixo desconforto e risco aos animais. A coleta da amostra biológica, não envolve anestesia, a manipulação do animal é indolor e rápida, sendo que o tempo de manipulação chega a ser quase três vezes menor que na laparoscopia e até oito vezes menor que na TRMN. Após a contenção o animal pode ser solto e voltar imediatamente à sua mobilidade comum, o que não ocorre com o emprego das outras duas técnicas onde o animal fica total ou parcialmente imobilizado até que o efeito anestésico passe.

Aspectos diferenciais da sexagem molecular em aves

As aves podem ser divididas em dois grandes grupos. O primeiro, denominado Paleognathae, engloba espécies conhecidas como “ratitas”; são aves com asas atrofiadas, característica que não lhes propicia o voo (Pough et al., 2003), os representantes do grupo são avestruzes (Struthioniformes), emas (Rheiformes), emus e casuares (Casuriiformes), kiwis (Apterygiformes) e tinamídeos (Tinamiformes).

O segundo grupo, Neognathae, que pode ter suas espécies referidas como “não-ratitas”, é composto por todas as demais aves viventes ([Romer & Parsons, 1985](#)).

Para a maioria das aves viventes, que se tratam das não-ratitas, o marcador molecular normalmente utilizado para a sexagem é o CHD (do inglês *chromo-helicase-DNA-binding*; gene codificador de proteína remodeladora de cromatina). Este gene é utilizado para a sexagem por ser evolutivamente conservado em aves e por existirem, nas não-ratitas, dois genes relacionados ao CHD, CHD-Z e CHD-W, um em cada cromossomo (Z e W), sendo distinguíveis pelo tamanho dos íntrons, o que permite a diferenciação entre os sexos ([Griffiths et al., 1996](#)). A determinação sexual nas aves ratitas, não pode ser realizada pelo marcador citado anteriormente. Apesar do CHD também ser conservado neste grupo, os cromossomos sexuais são praticamente idênticos morfológicamente (homomórficos) ([Takagi et al., 1972](#)), sendo que a única diferença entre eles é a ausência do gene DMRT1 (*Doublesex and Mab-3 Related Transcription Factor 1*) no cromossomo W; sendo esse considerado um possível determinante sexual nesse grupo ([Shetty et al., 2002](#)). A sexagem molecular em ratitas é desafiadora. Entretanto, Huynen et al. (2002) desenvolveram iniciadores baseados em um fragmento de DNA específico do cromossomo W de kiwi (kW1) e obtiveram sexagem conclusiva para todos os indivíduos avaliados, o que corresponde a todas as ordens de aves ratitas, exceto Tinamiformes.

Atualmente, os cinco iniciadores ou pares de *primers* para o gene CHD utilizados para a sexagem de aves não-ratitas são: (i) P2 (5'-TCTGCATCGCTAAATCCTT-3') ([Griffiths & Tiwari, 1995](#)) e P8 (5'-CTCCCAAGGATGAGRAAYTG-3') ([Griffiths et al., 1998](#)); (ii) 1237L (5'-GAGAACTGTGCAAAACAG-3') e 1272H (5'-TCCAGAATATCTTCTGCTCC-3') ([Kahn et al., 1998](#)); (iii) 2550F (5'-GTTACTGATTCGTCTACGAGA-3') e 2718R (5'-ATTGAAATGATCCAGTGCTTG-3') ([Fridolfsson & Ellegren, 1999](#)); (iv) CHD1-i9F (5'-CAGCAGAAATCAATCCAAGAC-3') e CHD1-i9R (5'-CAGCCCATTAACTGATAATCTC-3') ([Suh et al., 2011](#)) e (v) CHD1-i16F (5'-GTCCTGATTTTCTCACAGATGG-3') e CHD1-i16R (5'-ATGATCCAGTGCTTGTTC-3') ([Suh et al., 2011](#)). A performance destes *primers* foi testada para diferentes grupos de aves. Os parágrafos que seguem mostram os resultados do uso dos cinco pares de *primers*, em ordem decrescente, de aves de grupos filogeneticamente afastados até chegar à espécie *A. chloropterus*.

Sulandari & Zein (2012) compararam na sexagem molecular de aves os pares de *primers* P2/P8 e 2550F/2718R envolvendo diferentes ordens de aves, incluindo Psittaciformes. Tal estudo concluiu que o uso dos *primers* 2550F/2718R gerou bandas diagnósticas com maior distância entre si, o que permitiu a utilização, com assertividade, de gel de agarose - atóxico e menos oneroso quando comparado ao gel de poliacrilamida. Esses mesmos autores relatam que as bandas diagnósticas geradas por P2/P8 nem sempre são distinguíveis entre si no gel de agarose, muitas vezes se sobrepondo e sendo visíveis como uma banda única mais intensa.

Ágh et al. (2018) compararam a performance de quatro dos pares de *primers* aqui citados (P2/P8; CHD1-i9F/R; CHD1-i16F/R; 2550F/2718R) para diversas aves, incluindo espécies do gênero *Ara*, e concluíram o que segue: (i) o iniciador P2/P8 necessita de maior tempo de eletroforese que os demais para a separação das bandas e deve ser evitado quando a diferença de tamanho entre os dois fragmentos é pequena, com este par de *primers* para *Ara* spp. eles observaram fragmentos de 390 e 380 pb, sendo difícil a visualização das bandas em gel de agarose; (ii) o iniciador CHD1-i9 teve problemas para a sexagem em 14,5% das amostras de pena e em 4% das amostras de sangue; (iii) para o iniciador CHD1-i16 foram obtidas bandas inespecíficas que dificultavam a assertividade do diagnóstico; e (iv) para as amostras utilizando o par de *primers* 2550F/2718R não foi possível observar bandas em sete espécies, porém nenhuma delas pertencia ao gênero *Ara*.

Pereira (2018) comparou a utilização de três pares de *primers* (P2/P8; 1237L/1272H; 2550F/2718R) na sexagem de *Ara ararauna* (arara-canindé), espécie filogeneticamente próxima a *A. chloropterus* ([Oliveira-Marques, 2006](#)). Comparando os resultados obtidos nos géis o autor concluiu que o par de *primers* que melhor amplificou as sequências de interesse foi 2550F/2718R.

Ong & Vellayan (2008) também compararam a utilização de P2/P8, 1237L/1272H e 2550F/2718R para a sexagem de 9 ordens de aves, dentre elas Psittaciformes, sendo uma das espécies *A. chloropterus*, e concluíram que o par de *primers* 2550F/2718R forneceu alto nível de confiança a sexagem, mesmo

sem o uso de gel de poliacrilamida. Este tipo de gel foi necessário para amostras de algumas espécies usando P8/P2 e 1237L/1272H.

Franco-Gutiérrez et al. (2017) compararam a utilização dos *primers* P2/P8 e 2550F/2718R, para sexagem de seis espécies do gênero *Ara*, incluindo *A. chloropterus* e concluíram que na amplificação por P2/P8 não foi possível distinguir machos e fêmeas, mesmo após a execução da eletroforese em gel de agarose a 3% durante seis horas; enquanto o par de *primers* 2550F/2718R foi eficaz para a visualização de bandas em todas amostras por gel de agarose.

Trabalhos utilizando o par de *primers* 2550F/2718R para a sexagem de *A. chloropterus* registraram eficácia da utilização dos mesmos neste psitacídeo (Bosnjak et al., 2013; Del Puerto et al., 2018; Franco-Gutiérrez et al., 2017; Maheshkumar et al., 2017; Ong & Vellayan, 2008; Vucicevic et al., 2013). Outros três trabalhos com espécies do gênero *Ara*, excluindo *A. chloropterus*, também demonstraram o sucesso do emprego dos iniciadores 2550F/2718R para a sexagem de araras (Ágh et al., 2018; Monge et al., 2020; Pereira, 2018).

Considerações finais

A. chloropterus é um psitacídeo em perigo de extinção em algumas regiões do Brasil. Essa ave é afetada pelo tráfico de animais silvestres. Os CETAS são unidades importantes na mitigação dos danos causados pelo tráfico. *A. chloropterus* não possui dimorfismo sexual e apresenta relações monogâmicas, formando pares sociais hetero e homossexuais. A determinação sexual desta espécie é importante para o desenvolvimento de medidas de conservação da espécie. Dentre as técnicas de sexagem de aves, a sexagem molecular é considerada a mais assertiva, menos onerosa, mais segura e menos estressante para os animais. O melhor par de *primers* disponível para a sexagem molecular da maioria das aves não-rativas, incluindo as araras-vermelhas, é o 2550F/2718R. O presente trabalho reúne materiais valiosos para futuras pesquisas com araras-vermelhas.

Referências bibliográficas

- Adkins-Regan, E. (2011). Neuroendocrine contributions to sexual partner preference in birds. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 32(2), 155–163. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2011.01.003>.
- Ágh, N., Kovács, S., Nemesházi, E., & Szabó, K. (2018). Univerzális, ivarhatározáshoz használt CHD1 markerek alkalmazhatósága különböző madárrendekben. *Univerzális, Ivarhatározáshoz Használt CHD1 Markerek Alkalmazhatósága Különböző Madárrendekben. Magyar Állatorvosok Lapja*, 14(1), 47–59.
- Allgayer, M. C., & Cziulik, M. (2007). Reprodução de psitacídeos em cativeiro. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, 31(3), 344–350.
- Alvarenga, L. J. (2016). Tráfico de animais silvestres: historiografia e lógicas de continuidade. *MPG Jurídico: Revista Do Ministério Público de Minas Gerais*, 1, 33–39.
- Andriguetto-Filho, J. M., Krüger, A. C., & Lange, M. B. R. (1998). Caça, biodiversidade e gestão ambiental na Área de Proteção Ambiental de Guaraqueçaba, Paraná, Brasil. *Biotemas*, 11(2), 133–156.
- Asawakarn, S., Teeranuwat, I., Watcharaprapapong, N., Siriwatchaiporn, N., Somsai, P., Kuldee, M., Suriyaphol, G., & Dhitavat, S. (2018). Comparison of dried blood spot, buccal swab, cloacal swab and feces as DNA sources to identify avian sexes by PCR. *The Thai Journal of Veterinary Medicine*, 48(3), 325–330.
- Bahia. (2017). Portaria SEMA nº 37 de 15 de agosto de 2017. Torna pública a Lista Oficial das Espécies da Fauna Ameaçadas de Extinção do Estado da Bahia. *Diário Oficial do Estado da Bahia*, Salvador, BA, 16 ago. 2017.
- Barros, T. B., Fraga, R. E., Ramos, C. N., & Tomazzi, L. (2017). Improvement of the Molecular Sexing of Parrots in the State of Bahia. *Acta Biológica Paranaense*, 46(1–4), 89–107.
- Beissinger, S. R. (2008). Long-term studies of the green-rumped parrotlet (*Forpus passerinus*) in Venezuela: hatching asynchrony, social system and population structure. *Ornitologia Neotropical*, 19, 73–83.
- Bernardes Filho, R., Franco, R. W. A., Novaes, A. P., Magnani, F. S., Felipe, P. A. N., & Santos, E. F. (2000). Sexagem de aves silvestres sem dimorfismo sexual via tomografia por ressonância magnética nuclear. *Embrapa Instrumentação-Circular Técnica*, 11, 1–12.

- Bosnjak, J., Stevanov-Pavlovic, M., Vucicevic, M., Stevanovic, J., Simeunovic, P., Resanovic, R., & Stanimirovic, Z. (2013). Feasibility of non-invasive molecular method for sexing of parrots. *Pakistan Journal of Zoology*, 45(3), 715–720.
- Brasil. (1991). Portaria Ibama nº 005/91 de 25 de abril de 1991. Estabelece a obrigatoriedade do acasalamento de animais da fauna nativa, mantidos em cativeiro, solteiros, constantes da Lista Oficial de Espécies Ameaçadas de Extinção. *Diário Oficial da União*, seção 1, Brasília, DF, (80), 7796, 26 abr. 1991.
- Brasil. (1997a). Portaria Ibama nº 117 de 15 de outubro de 1997. Normaliza a comercialização de animais vivos, abatidos, partes e produtos da fauna silvestre brasileira provenientes de criadouros com finalidade econômica e industrial e jardins zoológicos registrados junto ao IBAMA. *Diário Oficial da União*, seção 1, Brasília, DF, (200), 23489-23490, 16 out. 1997.
- Brasil. (1997b). Portaria Ibama nº 118 de 15 de outubro de 1997. Normaliza o funcionamento de criadouros de animais da fauna silvestre brasileira com fins econômicos e industriais. *Diário Oficial da União*, seção 1, Brasília, DF, (200), 23490-23491, 16 out. 1997.
- Brasil. (2003). Instrução Normativa MMA nº 3, de 26 de maio de 2003. Elabora a lista nacional de espécies da fauna brasileira ameaçadas de extinção. *Diário Oficial da União*, seção 1, Brasília, DF, 88-97, 28 maio 2003.
- Brasil. (2008). Instrução Normativa do Ibama nº 169, de 20 de fevereiro de 2008. Institui e normatiza as categorias de uso e manejo da fauna silvestre em cativeiro em território brasileiro e dá outras providências. *Diário Oficial da União*, seção 1, Brasília, DF, (80), 57, 21 fev. 2008.
- Brasil. (2015a). Instrução Normativa ICMBio nº 23, de 31 de dezembro de 2014. Define as diretrizes e os procedimentos para a destinação de animais silvestres apreendidos, resgatados por autoridade competente ou entregues voluntariamente pela população, bem como para o funcionamento dos Centros de Triagem de Animais Silvestres do IBAMA - CETAS. *Diário Oficial da União*, seção 1, Brasília, DF, 115-118, 02 jan. 2015.
- Brasil. (2015b). Instrução Normativa IBAMA nº 07, de 30 de abril de 2015. Institui e normatiza as categorias de uso e manejo da fauna silvestre em cativeiro, e define, no âmbito do IBAMA, os procedimentos autorizativos para as categorias estabelecidas. *Diário Oficial da União*, seção 1, Brasília, DF, 75, 01 maio 2015.
- Caminha, P. V. (1500). *A carta de Pero Vaz de Caminha*. Ministério da Cultura, Fundação Biblioteca Nacional, Departamento Nacional do Livro. Disponível em: http://objdigital.bn.br/Acervo_Digital/livros_eletronicos/carta.pdf. Acesso em: 09 jun. 2021.
- Caparroz, R., Miyaki, C. Y., & Baker, A. J. (2011). Genetic evaluation of the mating system in the blue-and-yellow macaw (*Ara ararauna*, Aves, Psittacidae) by DNA fingerprinting. *Genetics and Molecular Biology*, 34, 161–164. <https://doi.org/10.1590/S1415-47572010005000112>.
- Clayton, N. S. (1990). Mate choice and pair formation in Timor and Australian mainland zebra finches. *Animal Behaviour*, 39(3), 474–480. [https://doi.org/10.1016/S0003-3472\(05\)80411-7](https://doi.org/10.1016/S0003-3472(05)80411-7).
- Del Puerto, F., Pésole, D., Molina, S., Vera, K., Arias, M., Sosa, J., Ortiz, M. L., Fernández, J., & Garay, A. (2018). Identificación molecular del sexo en 9 especies de aves del Centro de Investigación en Animales Silvestres de la hidroeléctrica de ITAIPU, lado paraguayo. *Memorias Del Instituto de Investigaciones En Ciencias de La Salud*, 15(3), 89–92.
- Destro, G. F. G., Pimentel, T. L., Sabaini, R. M., Borges, R. C., & Barreto, R. (2012). Efforts to combat wild animals trafficking in Brazil. *Biodiversity Enrichment in a Diverse World*, 1, 421–436. <https://doi.org/10.5772/48351>.
- Develey, P. F., & Phalan, B. T. (2021). Bird extinctions in Brazil's Atlantic Forest and how they can be prevented. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 9, 1–8. <https://doi.org/10.3389/fevo.2021.624587>.
- Franco-Gutiérrez, L. J., Álvarez-Cardona, J., & Soto-Calderón, I. D. (2017). Sex identification of neotropical macaws (*Ara* spp.) from invasive and non-invasive samples. *Ornitología Colombiana*, 16.
- Fridolfsson, A.-K., & Ellegren, H. (1999). A simple and universal method for molecular sexing of non-ratite birds. *Journal of Avian Biology*, 30(1), 116–121. <https://doi.org/10.2307/3677252>.
- Grando, A. P. (2002). *Utilização de tomografia por ressonância magnética nuclear para sexagem de aves silvestres sem dimorfismo sexual*. Universidade de São Paulo.

- Grespan, A., & Raso, T. F. (2014). Psittaciformes (Araras, Papagaios, Periquitos, Calopsitas e Cacatuas). In Z. S. Cubas, L. C. R. Silva, & J. L. Catão-Dias (Eds.), *Tratado de animais selvagens: Medicina Veterinária* (pp. 550–589). Roca, Brasil.
- Griffith, S. C., Owens, I. P. F., & Thuman, K. A. (2002). Extra pair paternity in birds: a review of interspecific variation and adaptive function. *Molecular Ecology*, 11(11), 2195–2212. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294X.2002.01613.x>.
- Griffiths, R., Daan, S., & Dijkstra, C. (1996). Sex identification in birds using two CHD genes. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 263(1374), 1251–1256. <https://doi.org/10.1098/rspb.1996.0184>.
- Griffiths, R., Double, M. C., Orr, K., & Dawson, R. J. G. (1998). A DNA test to sex most birds. *Molecular Ecology*, 7(8), 1071–1075. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294x.1998.00389.x>.
- Griffiths, R., & Tiwari, B. (1995). Sex of the last wild Spix's macaw. *Nature*, 375(6531), 454. <https://doi.org/10.1038/375454a0>.
- Huynen, L., Millar, C. D., & Lambert, D. M. (2002). A DNA test to sex ratite birds. *Molecular Ecology*, 11(4), 851–856. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294X.2002.01483.x>.
- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. (2001). *Fauna ameaçada de extinção*. IBGE, Centro de Documentação e Disseminação de Informações, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.
- IUCN – União Internacional para a Conservação da Natureza. (2020). *The IUCN Red List of Threatened Species*, 2020-2. Disponível em: <https://www.iucnredlist.org>. Acesso em: 10 jul. 2020.
- IUCN – União Internacional para a Conservação da Natureza. (2021). *The IUCN Red List of Threatened Species*, 2020-3. Disponível em: <https://www.iucnredlist.org/species/22685566/93080287>. Acesso em: 22 mar. 2021.
- Jupiara, A. & Anderson, C. (1991). Rio é o centro internacional de traficantes de animais. *O Globo*, (21060), 28-29.
- Kahn, N. W., St. John, J., & Quinn, T. W. (1998). Chromosome-specific intron size differences in the avian CHD gene provide an efficient method for sex identification in birds. *The Auk*, 115(4), 1074–1078. <https://doi.org/10.2307/4089527>.
- Lima, L. M. (2013). *Aves da Mata Atlântica: riqueza, composição, status, endemismos e conservação*. Universidade de São Paulo.
- MacFarlane, G. R., Blomberg, S. P., & Vasey, P. L. (2010). Homosexual behaviour in birds: frequency of expression is related to parental care disparity between the sexes. *Animal Behaviour*, 80(3), 375–390. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.anbehav.2010.05.009>
- Maheshkumar, G., Saravanan, R., Mani, K., & Murali, N. (2017). Molecular marker based sex identification in ratite and non-ratite type of birds: A comparative study. *Indian Veterinary Journal*, 94(05), 11–13.
- Michaelis. (2015). *Dicionário Brasileiro da Língua Portuguesa*. Editora Melhoramentos, São Paulo SP, Brasil. Disponível em: <https://michaelis.uol.com.br/moderno-portugues/busca/portugues-brasileiro/casal/>. Acesso em: 11 abr. 2021.
- Monge, O., Dumas, D., & Baus, I. (2020). Environmental DNA from avian residual saliva in fruits and its potential uses in population genetics. *Conservation Genetics Resources*, 12(1), 131–139. <https://doi.org/10.1007/s12686-018-1074-4>.
- Murray, M. J., Schildger, B., & Taylor, M. (2001). *Endoscopy in birds, reptiles, amphibians and fish*. Endo-Press.
- Nassaro, A. L. F. (2010). O tráfico de animais silvestres no brasil. *Periódico Eletrônico Fórum Ambiental Da Alta Paulista*, 6(5), 1–10.
- Oliveira-Marques, A. R. (2006). *Filogenia molecular das espécies do gênero Ara (Psittaciformes, Aves)*. Dissertação de mestrado, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.
- Ong, A. H. K., & Vellayan, S. (2008). An evaluation of CHD-Specific primer sets for sex typing of birds from feathers. *Zoo Biology*, 27(1), 62–69. <https://doi.org/10.1002/zoo.20163>.
- Pereira, D. C. (2018). *Sexagem molecular de araras-canindé (Ara ararauna Linnaeus, 1758) alocadas em um Centro de Triagem de Animais Silvestres*. Trabalho de Conclusão de Curso, Instituto

- Multidisciplinar em Saúde, Universidade Federal da Bahia, Vitória da Conquista, BA, Brasil.
- Piacentini, V. Q., Aleixo, A., Agne, C. E., Maurício, G. N., Pacheco, J. F., Bravo, G. A., Brito, G. R. R., Naka, L. N., Olmos, F., & Posso, S. (2015). Annotated checklist of the birds of Brazil by the Brazilian Ornithological Records Committee. *Revista Brasileira de Ornitologia*, 23(2), 91–298. <https://doi.org/10.1007/BF03544294>.
- Pough, F. H., Heiser, J. B., & McFarland, W. N. (2003). *A vida dos vertebrados* (Vol. 3). Atheneu Editora.
- Raso, T. F., & Werther, K. (2004). Surgical sexing in birds. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 56(2), 188–192. <https://doi.org/10.1590/S0102-09352004000200008>.
- Ritchie, B. W., Hsarrison, G. J., Zantop, D., & Harrison R, L. (1997). *Avian medicine: principles and application, abridged edition*. Idaho Falls, ID: Wingers Publishing.
- Rodríguez Mahecha, J. V., Rojas Suárez, F., Arzuza, D. E., & González Hernández, A. (2005). *Loros, pericos & guacamayas neotropicales*. Fundaciones:(PROVITA; OMACHA; ECOCIENCIA; APECO; PUMA).
- Romer, A. S., & Parsons, T. S. (1985). *Anatomia comparada dos vertebrados*. Atheneu.
- Satterfield, W. C. (1990). Avian endoscopy. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 20(5), 1353–1367. [https://doi.org/10.1016/S0195-5616\(90\)50309-5](https://doi.org/10.1016/S0195-5616(90)50309-5).
- Shetty, S., Kirby, P., Zarkower, D., & Graves, J. A. M. (2002). DMRT1 in a ratite bird: evidence for a role in sex determination and discovery of a putative regulatory element. *Cytogenetic and Genome Research*, 99(1–4), 245–251. <https://doi.org/10.1159/000071600>.
- Sick, H. (1997). *Ornitologia Brasileira*. Nova Fronteira.
- Souza, G. M., & Soares Filho, A. O. (2005). O comércio ilegal de aves silvestres na região do Paraguaçu e Sudoeste da Bahia. *Enciclopédia Biosfera*, 1(10).
- Suh, A., Kriegs, J. O., Brosius, J., & Schmitz, J. (2011). Retroposon insertions and the chronology of avian sex chromosome evolution. *Molecular Biology and Evolution*, 28(11), 2993–2997. <https://doi.org/10.1093/molbev/msr147>.
- Sulandari, S. R. I., & Zein, M. S. A. (2012). Application of two molecular sexing methods for indonesian bird species: Implication for captive breeding programs in indonesia. *HAYATI Journal of Biosciences*, 19(4), 183–190. <https://doi.org/10.4308/hjb.19.4.183>.
- Takagi, N., Itoh, M., & Sasaki, M. (1972). Chromosome studies in four species of Ratitae (Aves). *Chromosoma*, 36(3), 281–291. <https://doi.org/10.1007/BF00283247>.
- Vié, J.-C., Hilton-Taylor, C., & Stuart, S. N. (2009). *Wildlife in a changing world: an analysis of the 2008 IUCN Red List of threatened species*. IUCN.
- Vieira, D. V. G., Alves, C. F., Alves, F. L., & Parente, I. P. (2015). Principais aspectos da inter-relação nutrição e imunidade em aves sob estresse. *Nutritime Revista Eletrônica*, 12(6), 4400–4410.
- Vieira, J. N., Coelho, E. G. A., & Oliveira, D. A. A. (2009). Sexagem molecular em aves silvestres. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, 33(2), 66–70.
- Vieira, J. N., Coelho, E. G. A., Teixeira, C. S., & Oliveira, D. A. A. (2012). PCR as technique for molecular sexing in birds. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, 36(3), 199–201.
- Vilela, D. A. R. (2012). *Diagnóstico da situação dos animais silvestres recebidos nos CETAS brasileiros e chlamydomydia psittaci em papagaios Amazona aestiva no CETAS de Belo Horizonte*. Universidade Federal de Minas Gerais.
- Vucicevic, M., Stevanov-Pavlovic, M., Stevanovic, J., Bosnjak, J., Gajic, B., Aleksic, N., & Stanimirovic, Z. (2013). Sex determination in 58 bird species and evaluation of CHD gene as a universal molecular marker in bird sexing. *Zoo Biology*, 32(3), 269–276. <https://doi.org/10.1002/zoo.21010>.
- Wellbrock, A. H. J., Bauch, C., Rozman, J., & Witte, K. (2012). Buccal swabs as a reliable source of DNA for sexing young and adult Common Swifts (*Apus apus*). *Journal of Ornithology*, 153(3), 991–994. <https://doi.org/10.1007/s10336-012-0843-1>.

Histórico do artigo:**Recebido:** 21 de julho de 2021**Aprovado:** 30 de agosto de 2021

Licenciamento: Este artigo é publicado na modalidade Acesso Aberto sob a licença Creative Commons Atribuição 4.0 (CC-BY 4.0), a qual permite uso irrestrito, distribuição, reprodução em qualquer meio, desde que o autor e a fonte sejam devidamente creditados.