



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ

MUSEU PARAENSE EMÍLIO GOELDI

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOLOGIA

Shirliane de Araújo Sousa

**ANÁLISE FILOGEOGRÁFICA E POPULACIONAL DO GÊNERO *CORYTHOPIS*
SUNDEVALL, 1936 (AVES: RHYNCHOCYCLIDAE)**

Dissertação de Mestrado Apresentada ao Programa
ao Programa de Pós-Graduação em Zoologia,
Curso de Mestrado, da Universidade Federal do
Pará e Museu Paraense Emílio Goeldi, como
requisito parcial para obtenção do título de mestre
em Zoologia.

Orientador: Dr. Marcos Pérsio Dantas Santos

Co-orientador: Dr. Alexandre Aleixo

Belém – Pará

2012

SHIRLIANE DE ARAÚJO SOUSA

**ANÁLISE FILOGEOGRÁFICA E POPULACIONAL DO GÊNERO *CORYTHOPIS*
SUNDEVALL, 1936 (AVES: RHYNCHOCYCLIDAE)**

Dissertação de Mestrado Apresentada ao Programa
ao Programa de Pós-Graduação em Zoologia,
Curso de Mestrado, da Universidade Federal do
Pará e Museu Paraense Emílio Goeldi, como
requisito parcial para obtenção do título de mestre
em Zoologia.

Orientador: Dr. Marcos Pérsio Dantas Santos

Co-orientador: Dr. Alexandre Aleixo

Belém – PA

2012

AGRADECIMENTOS

Agradecer é muito difícil, ainda mais quando se é rica de amigos e anjos da guarda como eu... Mas enfim, para não ser injusta e nem esquecer pessoas especiais, serei breve:

- Obrigada Senhor, por esta comigo em todos os momentos: nas alegrias, tristezas e dificuldades; e acima de tudo, por sempre me fortalecer e dar força para enfrentar os inúmeros problemas por que passei e os que ainda virão.
- Obrigada Marcos Pérsio (orientador), por acreditar em minha capacidade, pelas conversas e conselhos, pela primeira e continua orientação, pelas chamadas de atenção (pois elas só me fortaleceram ainda mais), pelas oportunidades e por ser meu “pai científico”.
- Obrigada Aleixo (co-orientador), pelo acolhimento, pelo conhecimento, pela paciência (que é indiscutível), pela educação com que trata seus alunos e principalmente por esta sempre disponível nos momentos fundamentais.
- Agradeço as instituições MZUSP, LEGEMA, UFMG, UFRJ (em especial ao amigo Luiz Gonzaga), pelo material cedido para a realização desse trabalho.
- Ao CNPq pela concessão da bolsa
- Agradeço a todos do Laboratório de Genética Aplicada de Bragança, em especial ao professor Péricles e a Joiciane (a moça do sorriso mais gostoso), que foram fundamentais no desfecho desse trabalho.
- Aos amigos do museu (que são muitos), pelo companheirismo, alegria e conhecimento.
- Aos meus amigos de Teresina/Piauí, que mesmo longe, sempre torcem pelo meu sucesso.
- Agradeço a Igor Soares, por ter sido durante quatro anos o meu pai, minha mãe, meu irmão, e acima de tudo o meu melhor amigo. Se alguém merece esse mérito comigo, esse alguém é você!
- Obrigada à todos os amigos que estão espalhados por esse Brasil, e que sempre se tornam presentes em minha vida por meio de algum meio de comunicação;
- E finalmente, mas não menos importante, a minha família, que é minha luz, minha fortaleza e minha razão de viver. Amo todos vocês!

Obrigada!

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	i
SUMÁRIO	ii
LISTA DE FIGURAS	iii
LISTA DE TABELAS	iv
RESUMO	v
ABSTRACT	vi
1. INTRODUÇÃO GERAL	1
1.1 A Filogeografia	5
REFERÊNCIAS	9
1. INTRODUÇÃO	12
2. MATERIAL E MÉTODOS	14
2.1 Análise Molecular	14
2.2 Análises Filogenéticas e Populacionais	16
3. RESULTADOS	18
3.1 Análises Filogenéticas	18
3.2 Análises populacionais	21
4. DISCUSSÃO	27
4.1 Taxonomia do gênero <i>Corythopis</i>	30
4.2 Filogeografia e Padrões de diversificação do gênero <i>Corythopis</i>	33
REFERÊNCIAS	40

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Mapa com a distribuição geográfica da espécie <i>Corythopis delalandi</i> (Fitzpatrick 2004)	2
Figura 2. Mapa da distribuição geográfica da espécie politípica <i>Corythopis torquatus</i> segundo (Peters 1951; Fitzpatrick 2004)	3
Figura 3. Foto ilustrativa de indivíduo da espécie <i>Corythopis torquatus</i>	4
Figura 4. Foto ilustrativa de indivíduo da espécie <i>Corythopis delalandi</i>	4
Figura 5. Árvore Filogenética de Inferência Bayesiana reconstruída com base nas sequências de ND2 para as populações do gênero <i>Corythopis</i>	20
Figura 6. Mapa com a distribuição geográfica das amostras de tecidos utilizadas neste estudo	21
Figura 7. Redes de haplótipos de ND2	26
Figura 8. Árvore de espécie (MUSK, β f5 e ND2) construída com base nos filogrupos estabelecidos pelas análises filogenéticas	27

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Lista de iniciadores utilizados e suas respectivas sequências	15
Tabela 2. Tabela com os haplótipos de ND2 divididos nos cinco filogrupos analisados ..	22
Tabela 3. Média da distância genética (%), Modelo Tamura-Nei, entre os cinco filogrupos de <i>Corythopis</i> a partir das sequências de ND2	23
Tabela 4. Índices de diversidade genética para o gene mitocondrial ND2 entre os filogrupos de <i>C. torquatus</i>	24
Tabela 5. Análise de Variância Molecular (AMOVA) entre os filogrupos de <i>Corythopis</i> , e entre os filogrupos de <i>C. torquatus</i> , a partir das sequências do mtDNA ND2	25
Tabela 6. Matriz com os valores de <i>Fst</i> par-a-par estimados a partir de sequências do gene ND2 para os diferentes filogrupos do gênero <i>Corythopis</i>	25
Tabela 7. Amostras de tecidos dos táxons utilizadas nas análises desse estudo (ML, IB e árvore de espécie)	37

RESUMO:

O gênero *Corythopsis* pertence à família Rhynchocyclidae e agrupa vários táxons sobre cujos limites e validade ainda deixam dúvidas, o que gera incertezas quanto a real quantidade de unidades evolutivas diagnosticáveis dentro do grupo. Esse gênero possui duas espécies reconhecidas: *Corythopsis delalandi*, monotípica e distribuída nos biomas Mata Atlântica e Cerrado; e *C. torquatus* (endêmica da Amazônia), na qual são reconhecidas três formas, caracterizadas e distinguíveis uma das outras pelo padrão de tons de marrom na cabeça: *C. t. torquatus* Tschudi, 1844; *C. t. anthoides* (Pucheran, 1855) e *C. t. sarayacuensis* Chubb, 1918. O objetivo deste estudo é tentar reconstruir os contextos temporais e espaciais do processo de diversificação das diferentes linhagens evolutivas de *Corythopsis*, possibilitando inferências sobre a história evolutiva e limites inter e intraespecíficos do grupo. Foram realizadas análises filogeográficas (ML e IB) e populacionais com base em um marcador mitocondrial (ND2), além de uma árvore de espécies com dois marcadores nucleares (MUSK e β f5) e um mitocondrial (ND2). De acordo com os resultados observados, existem cinco filogrupos principais em *Corythopsis*, endêmicos das seguintes regiões (áreas de endemismo): 1- Xingu, Tapajós e Rondônia (norte; a leste do rio Jiparaná); 2- Napo; 3- Guiana; 4- Inambari e Rondônia (sul, a oeste do rio Jiparaná) e 5- Mata Atlântica. Os resultados das análises filogenéticas e populacionais indicaram a existência de dois cladogramas reciprocamente monofiléticos sustentados por altos apoios de *bootstrap* (>80%) e probabilidades posteriores (> 0.95), concordando desse modo com a taxonomia atual para o gênero *Corythopsis*, que reconhece uma espécie biológica na Amazônia (*C. torquatus*) e outra na Mata Atlântica e Cerrado. A árvore de espécie concorda com as demais análises, mostrando que existem apenas duas linhagens reciprocamente monofiléticas em *Corythopsis* bem apoiadas estatisticamente: *C. torquatus* (F1, F2, F3 e F4) e *C. delalandi* (F5), reforçando o seu status como espécies biológicas independentes. O padrão biogeográfico de separação entre os diferentes filogrupos Amazônicos de *Corythopsis* é bem diferente daquele reportado até hoje para diferentes linhagens de aves Amazônicas, onde os eventos iniciais de separação envolveram populações dos escudos brasileiros e das Guianas.

Palavras – chaves: Amazônia, Mata Atlântica, *Corythopsis*, filogeografia, genética de populações, limites de espécies.

ABSTRACT:

The genus *Corythopsis*, family Rhynchocyclidae, has several taxa whose limits and validity are still doubtful, generating uncertainty about the actual amount of diagnosable evolutionary units within the group. This genus has two species: *Corythopsis delalandi*, monotypic and distributed in the Atlantic Forest and Cerrado biomes, and *C. torquatus* (endemic to Amazonia), in which three forms are recognized, characterized and distinguished from each other by the pattern of shades of brown on the head: *C. t. torquatus* Tschudi, 1844; *C. t. anthoides* (Pucheran, 1855), and *C. t. sarayacuensis* Chubb, 1918. The objective of this study is to reconstruct the temporal and spatial contexts of the diversification of the genus *Corythopsis*, allowing inferences about the evolutionary history and inter and intraespecific boundaries of the group. We performed phylogeographic (ML and IB) and population genetics analyzes based on a mitochondrial marker (ND2), and estimated a species tree for lineages within *Corythopsis* with two nuclear (MUSK and β f5) and mitochondrial (ND2) markers. According to the results observed, there are five main filogroups of *Corythopsis* endemic to the following regions (neotropical areas of endemism): 1- Xingu, Tapajós e Rondônia (north; east of the Jiparaná); 2- Napo; 3- Guiana; 4- Inambari e Rondônia (south, west of the river Jiparaná) e 5- Mata Atlântica. The results of phylogenetic and population genetics analyzes indicated the existence of two reciprocally monophyletic clades supported by high bootstrap support (>80%) and posterior probabilities (> 0.95), thus agreeing with the current taxonomy of the genus *Corythopsis*, which recognizes an Amazonian (*C. torquatus*) and an Atlantic Forest / Cerrado biological species. The species tree agrees with the other analyzes showing that there are only two reciprocally monophyletic lineages in *Corythopsis* with high statistical support: *C. torquatus* (F1, F2, F3 e F4) and *C. delalandi* (F5), reinforcing their status as independent biological species. The biogeographic pattern of separation between the different filogroups of *Corythopsis* in the Amazon is quite different from that reported to date for different lineages of Amazonian birds, whereby the initial separation events involved populations from the Brazilian and Guianan shields.

Key words: Amazonia, Atlantic Forest, *Corythopsis*, phylogeography, population genetics, species limits.

1. INTRODUÇÃO GERAL

A região neotropical possui a maior diversidade de aves do mundo. Inserida nessa região, a Amazônia é um exemplo desta diversidade, pois possui umas das mais ricas avifaunas dentre todas as florestas tropicais do planeta. Estima-se que em toda a Bacia Amazônica ocorram cerca de 1800 espécies, das quais mais de 265 são endêmicas (Mittermeier *et al.* 2003, Vale *et al.* 2008). No entanto, a real diversidade é pouco conhecida, e tem sido a base para estudos evolutivos sobre os processos que promoveram os altos níveis de especiação geográfica na região amazônica.

Vários estudos revelam que muitas espécies com ampla distribuição na Bacia Amazônica são na verdade compostas por um complexo de espécies (Bierregaard *et al.* 1997, Krabbe *et al.* 1999, Aleixo 2002, 2004, Zimmer 2002); ou seja, são populações alopátricas e parapátricas bastante diferenciadas vocal e geneticamente que se comportam evolutivamente como espécies independentes. Portanto, é certo que novos estudos taxonômicos deverão revelar uma diversidade muito maior do que aquela conhecida atualmente para a avifauna amazônica, como corroborado por estudos recentes (Patel *et al.* 2011, Ribas *et al.* 2012, Carneiro *et al.* 2012, Fernandes *et al.* 2012).

Nesse contexto, o gênero *Corythopsis* agrupa vários táxons cujos limites interespecíficos e validade ainda são dúvidas (Fitzpatrick 2004), gerando incertezas quanto a real quantidade e delimitação de unidades evolutivas diagnosticáveis dentro do grupo.

As espécies do gênero *Corythopsis* foram por muito tempo relacionadas ao gênero *Conopophaga* Vieillot, 1816, quando ambos os gêneros eram alocados na

família Conopophagidae Sclater e Salvin, 1873. Em 1968, Ames e colaboradores realizaram uma análise sistemática com a família Conopophagidae, utilizando caracteres anatômicos (com foco nas anatomias da siringe e do crânio, além da pterilose), e como resultado indicaram claramente que as duas espécies de *Corythopsis* possuíam maiores afinidades com a família Tyrannidae Vigors, 1825; alocando o gênero *Corythopsis* na família Tyrannidae. Recentemente, com o trabalho de Tello et al. (2009), as relações filogenéticas dos tiranídeos foram estudadas com base em sequências de genes nucleares (RAG-1 E RAG-2), onde o resultado foi a realocação filogenética do gênero *Corythopsis* em uma nova família chamada Rynchocyclidae.

Atualmente o gênero pertence à família Rynchocyclidae (Tello *et al.* 2009), no qual estão inseridas duas espécies reconhecidas atualmente (Fitzpatrick 2004):

- *Corythopsis delalandi*: uma espécie monotípica e distribuída nos biomas Mata Atlântica e Cerrado. Apresenta como características distintivas, em relação à segunda espécie do gênero, a cor da cabeça verde-oliva. Sua distribuição que vai desde o leste da Bolívia (leste de Santa Cruz), sul do Brasil (sul do Mato Grosso, sul do Maranhão, sul do Espírito Santo e Minas Gérias para o noroeste do Rio Grande do Sul), leste do Paraguai e nordeste da Argentina (Misiones, nordeste de Corrientes) (Fitzpatrick 2004; Figura 1).



Figura 1. Mapa da distribuição geográfica da espécie *C. delalandi* (Fitzpatrick 2004).

- *C. torquatus*: endêmica da Amazônia, onde são reconhecidas três formas, caracterizadas e distinguíveis umas das outras por suas variações em tons de marrom na cabeça: *C. t. torquatus* Tschudi, 1844, que ocorre na Bacia Amazônica e sudeste do Peru, oeste do Brasil e norte da Bolívia; *C. t. anthoides* (Pucheran, 1855), ocorrendo na bacia Amazônica e sul da bacia do Orenoco no sul da Venezuela, Guianas e no Brasil (leste do Maranhão, sul para o norte de Goiás, norte do Mato Grosso do Sul e Rondônia); e *C. t. sarayacuensis* Chubb, 1918, ocorrendo na Bacia Amazônica desde o sudeste da Colômbia, leste do Equador e nordeste do Peru (Fitzpatrick 2004; Figura 2).

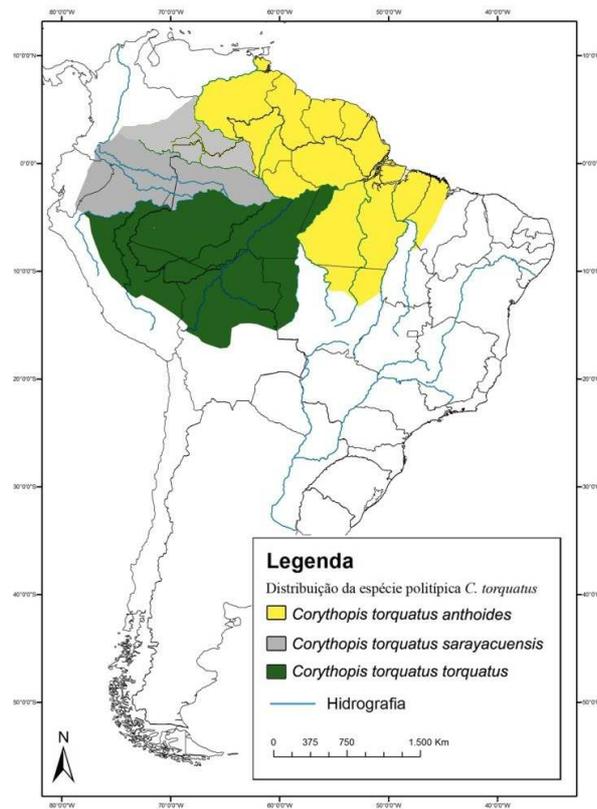


Figura 2. Mapa da distribuição da espécie politípica *C. torquatus* (Fitzpatrick 2004).

Os táxons do gênero *Corythopis* não possuem dimorfismo sexual, apresentando plumagem, tamanho e peso semelhantes. Por serem consideradas espécies crípticas, poderiam alternativamente ser tratadas como coespecíficas, mas diferenciam-se vocalmente e sutilmente na plumagem (Fitzpatrick 2004).

A espécie politípica *C. torquatus* possui aproximadamente de 13,5 a 14 cm e 15 a 18g e é encontrada em florestas tropicais úmidas, tanto de terra firme como em florestas sazonalmente inundadas, sendo menos comum em florestas secundárias que *C. delalandi* (Fitzpatrick 2004; Figura 3).



Figura 3. *Corythopsis torquatus*. Foto: Marcos Pésio.

A espécie *C. delalandi* possui aproximadamente de 13,5 a 14 cm e 14 a 18g, sendo encontrada em florestas tropicais úmidas secundárias e de galeria, até 1000m acima do nível do mar, mas principalmente abaixo de 800m. Ocorre mais frequentemente em capoeiras e pequenas manchas florestais do que *C. torquatus*. Atualmente é considerada uma espécie comum, sem risco de ameaça, e bastante tolerante a habitats perturbados, sendo encontrada até mesmo em fragmentos florestais pequenos e seriamente degradados (Fitzpatrick 2004; Figura 4).



Figura 4. *Corythopsis delalandi*. Foto: INFONATURA.

O tratamento de *C. delalandi* e *C. torquatus* como espécies independentes, apesar de aceito atualmente, pode ser considerado ainda duvidoso, visto que são espécies crípticas, o que também acontece com relação à validade das várias subespécies de *C.*

torquatus já descritas. Essas dúvidas são reflexos da ausência de trabalhos recentes de revisão taxonômica e sistemática do gênero *Corythopis*.

Estudos de revisão taxonômica e sistemática de espécies politípicas são de fundamental importância, pois são capazes de reconhecer novas espécies ao diagnosticar unidades evolutivas independentes dentro de espécies já descritas, mas tidas equivocadamente como representantes de uma única unidade evolutiva (Aleixo 2007).

1.1 A Filogeografia

O termo filogeografia foi primeiramente empregado por Avise *et al.* (1987). Este termo surgiu da integração de conhecimentos das áreas da biologia molecular, biogeografia, geologia e paleontologia, visando, principalmente, a identificação de padrões de diferenciação genética através das paisagens e a reconstrução da história evolutiva de táxons filogeneticamente relacionados em uma determinada região (Avise 2000).

Esta ciência, considerada um parâmetro de pesquisas para investigar as origens dos padrões de distribuição atual, vem possibilitando a compreensão dos processos geradores de biodiversidade e promovendo um elo entre os estudos de processos de micro e macro evolução (Avise 1987, Bermingham & Moritz 1998). A base inicial para essa ponte são as análises de sequências do DNA mitocondrial (mtDNA) e de microssatélites que permitem a construção de hipóteses genealógicas entre populações, espécies e níveis taxonômicos mais altos (Bermingham & Moritz 1998).

Estudos filogeográficos com aves amazônicas têm ajudado a esclarecer o contexto espacial e temporal da diversificação destes organismos. A delimitação de

espécies é essencial, pois elas são usadas como unidades básicas em análises e em várias disciplinas da biologia como: a biogeografia, biologia da conservação, ecologia e macro evolução (Sites & Marshall 2004). Portanto, pesquisas sobre a história evolutiva de populações agrupadas dentro de uma mesma espécie biológica são essenciais para assegurar que os limites interespecíficos formalmente reconhecidos para a espécie sejam consistentes com os padrões fundamentais de evolução do grupo (Watson 2005).

A história da filogeografia traça a história da popularidade que o DNA mitocondrial adquiriu neste ramo da ciência, que durante quase duas décadas foi o tipo de marcador mais utilizado em pesquisas filogeográficas, conforme observado também para a região neotropical (Patton *et al.* 1994, Aleixo 2002, Costa 2003, Cabanne *et al.* 2007, 2008, Patel *et al.* 2011).

Estes estudos continuam a fornecer fortes indícios de uma diversificação relativamente recente da avifauna neotropical (Derryberry *et al.* 2011, Patel *et al.* 2011, Ribas *et al.* 2012), embora ainda não esclareçam completamente quais foram os fatores responsáveis pelo padrão biogeográfico observado em diferentes espécies de vertebrados.

A análise combinada de diferentes marcadores tem se revelado uma ferramenta poderosa para o estudo da estrutura populacional e para a inferência da história evolutiva das espécies. Este tipo de análise, atualmente possível através do desenvolvimento recente de métodos baseados na teoria da coalescência, tem representado um avanço muito significativo neste domínio, permitindo, para além da estimativa do tempo de divergência entre populações, obter estimativas de tamanhos populacionais atuais e da população ancestral e, ainda, determinar a contribuição relativa do isolamento e fluxo gênico nos processos de divergência.

Em função de algumas críticas quanto ao uso exclusivo de marcadores mitocondriais em estudos filogeográficos, as quais alegam que estes não são suficientes para descrever a história biogeográfica das espécies de aves (Edwards 1993, Bensch & Hasselquist 1999, Edwards *et al.* 2005), o uso de marcadores nucleares tem aumentado.

A proposta deste estudo é utilizar marcadores nucleares (MUSK e β 5) e mitocondrial (ND2) com o objetivo de interpretar o padrão filogeográfico e reconstruir a história evolutiva do gênero *Corythopsis* em diferentes biomas, contrastando-os com algumas hipóteses de diversificação existentes para a região Neotropical.

REFERÊNCIAS

- Aleixo, A.** 2002. Molecular systematic and the role of the “várzea – terra-firme” ecotone in the diversification of *Xiphorhynchus* woodcreepers (Aves: Dendrocolaptidae). *Auk* **119**: 621-640.
- Aleixo, A.** 2004. Historical diversification of a “terra-firme” forest bird superspecies: a phylogeographic perspective on the role of different hypotheses of Amazonian diversification. *Evolution* **58**: 1303-1317.
- Aleixo, A.** 2007. Conceitos de espécies e o eterno conflito entre continuidade e operacionalidade: uma proposta de normatização de critérios para o reconhecimento de espécies pelo Comitê Brasileiro de Registros Ornitológicos. *Revista Brasileira de Ornitologia* **15** (2): 297-310.
- Ames, P. L., Heimerdinger, M. A., Warter, S. L.** 1968. The Anatomy and Systematic Position of the Antpipits *Conopophaga* and *Corythopis*. Peabody Museum of natural History Yale University. *Postilla* **114**: 31p.
- Avise, J.C.** 2000. *Phylogeography, the history and formation of species*. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts.
- Avise, J.C., Arnold, J., Ball, R.M., Bermingham, E., Lamb, T., Neigel, J.E., Reeb, C.A. & Saunders, N. C.** 1987. Intraspecific phylogeography: The mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics* **18**:489-522.
- Bensch, S., Hasselquist, D.** 1999. Phylogeographic population structure of great reed warblers: an analysis of mtDNA control region sequences. *Biol. Jour. Linnean Soc.* **66**: 171–185.
- Bermingham, E. & Moritz, C.** 1998. Comparative phylogeography: concepts and applications. *Molecular Ecology* **7**: 367-369.
- Bierregaard, R.O.Jr., Cohn-Haft, M., Stotz, D.F. e Teixeira, D.M.** 1997. Cryptic biodiversity: na overlooked species and new subspecies of antbird (Formicariidae) with revision of *Cercomacra tyrannina* in Northwestern South America. *Ornithological Monographs* **48**: 111-128.
- Cabanne, G.S., d’Horta, F.M., Sari, E.H.R., Santos, F.R., Miyaki, C.Y.** 2008. Nuclear and mitochondrial phylogeography of the Atlantic forest endemic *Xiphorhynchus fuscus* (Aves: Dendrocolaptidae): biogeography and systematics implications. *Mol. Phylogenet. Evol.* **49**: 760–773.
- Cabanne, G.S., Santos, F.R., Miyaki, C.Y.** 2007. Phylogeography of *Xiphorhynchus fuscus* (Passeriformes, Dendrocolaptidae): vicariance and recent demographic expansion in southern Atlantic forest. *Biol. J. Linn. Soc.* **91**: 73–84.

- Costa, L.P.** 2003. The historical bridge between the Amazon and the Atlantic forest of Brazil: a study of molecular phylogeography with small mammals. *J. Biogeogr.* **30**: 71–86.
- Derryberry, E.P., Claramunt, S., Derryberry, G., Chesser, R.T., Cracraft, J., Aleixo, A., Pérez-Emán, J., Remsen, J.V., Brumfield, R.T.** 2011. Lineage diversification and morphological evolution in a large-scale continental radiation: the neotropical ovenbirds and woodcreepers (Aves: Furnariidae). *Evolution* **65**: 2973–2986.
- Edwards, S.V.** 1993. Long-distance gene flow in a cooperative breeder detected in genealogies of mitochondrial DNA sequences. *Proc. Roy. Soc. (London): Biol. Sci.* **252**: 177–185.
- Edwards, S.V., Kingan, S.B., Calkins, J.D.** 2005. Speciation in birds: genes, geography, and sexual selection. *Proc. Natl Acad. Sci.* **102**: 6550–6557.
- Fernandes, M.A., Wink, M., & Aleixo, A.** 2012. Phylogeography of the chestnut-tailed antbird (*Myrmeciza hemimelaena*) clarifies the role of rivers in Amazonian biogeography. *J. Biogeogr.* **39**: 1–12.
- Fitzpatrick, J. W.** 2004. Family Tyrannidae (Tyrant Flycatchers). Em: J. del Hoyo, J. Elliot, A., Sargatal, J. (eds.). *Handbook of the Birds of the world. Cotingas to Pipits and Wagtails*. Lynx Edicions, Barcelona, Spain. **9**: 170–293.
- Infonatura: Birds, mammals, and amphibians of Latin America - web application** 2007. Version 5.0 Arlington, Virginia (USA): NatureServe. Disponível em: <<http://www.natureserve.org/infonatura/>> (Acessado em: 20 de novembro de 2010).
- Krabbe, N.K., Isler, M.L., Whitney, B.M., J.A. & Greenfield, P.J.** 1999. A new species in the *Myrmotherula haematonota* superspecies (Aves: Thamnophilidae) from the western Amazonian lowlands of Ecuador and Peru. *Wilson Bulletin* **111(2)**: 157–167.
- Mittermeier, R.A., Mittermeier, C.G., Brooks, T.M., Pilgrim, J.D., Konstant, W.R., Fonseca, G.A.B. & Kormos, C.** 2003. Wilderness and biodiversity conservation. *Proceedings of the National Academy of Science* **100**: 10309–10313.
- Patel, S., Weckstein, J.D., Bates, J.M.**, 2011. Molecular systematics and evolution of *Pteroglossus aracaris*: implications for Neotropical diversification. *Mol. Phylogenet. Evol.* **58**: 105–115.
- Patton, J.L., M.N.F. da Silva, Malcolm, J.R.** 1994. Gene genealogy and differentiation among arboreal spiny rats (Rodentia: Echimyidae) of the Amazon Basin: a test of the riverine barrier hypothesis. *Evolution* **48**: 1314–1323.

- Peters, J.L.** 1951. *Check-list of the world*. Museum of Comparative Zoology, Cambridge, Massachusetts. Vol. **VIII**.
- Ribas, C.C., Aleixo, A., Nogueira, A.C.R., Miyaki, C.Y., Cracraft, J.** 2012. A palaeobiogeographic model for biotic diversification within Amazonia over the past three million years. *Proceedings - Royal Society. Biological Sciences* **279**: 681-689.
- Sites, J.W. & Marshall, J.C.** 2004. Operational criteria for delimiting species. *Annual Review of Ecology and Systematics* **35**: 199-227.
- Tello, J.G., Moyle, R.G., Marchese, D.J. & Cracraft, J.** 2009. Phylogeny and phylogenetic classification of the tyrant flycatchers, cotingas, manikins, and their allies (Aves: Tyrannides). *Cladistics* **25**: 429-467.
- Vale, M.M., Cohn-Haft, M., Bergen, S. & Pim, S.L.** 2008. Effects of future infrastructure development on threat status and occurrence of Amazon birds. *Conservation Biology* **22(4)**: 811-1085.
- Watson, D. M.** 2005. Diagnosable versus Distinct: evaluating species limits in birds. Forum: American Institute of Biology Science. *BioScience* **55(1)**: 60-68.
- Zimmer, K. J.** 2002. Species limits in Olive-backed foliage-gleaners (*Automolus*: Furnariidae). *Wilson Bulletin* **114(1)**: 20-37.

**ANÁLISE FILOGEOGRÁFICA E POPULACIONAL DO GÊNERO
CORYTHOPIS SUNDEVALL, 1936 (AVES: RHYNCHOCYCLIDAE)**

SHIRLIANE DE ARAÚJO SOUSA¹, MARCOS PÉRSIO DANTAS SANTOS²,
ALEXANDRE ALEIXO³, PÉRICLES S. RÊGO⁴

¹*Curso de Pós-Graduação de Zoologia, Universidade Federal do Pará / Museu Paraense Emílio Goeldi, Belém, Pará, Brasil.*

²*Universidade Federal do Pará – ICB, Belém, Pará, Brasil.*

³*Museu Paraense Emílio Goeldi, Belém, Pará, Brasil.*

⁴*Instituto de Estudos Costeiros / Universidade Federal do Pará, Bragança, Pará, Brasil.*

(Submissão para a revista *The Ibis*)

INTRODUÇÃO

A região neotropical, conhecida por seus altos índices de diversidade biológica e espécies endêmicas, vem sendo alvo de um grande número de estudos evolutivos (Haffer 1969, Rasanen *et al.* 1990, Capparella 1991, Colivaux 1993, Patton *et al.* 1994, Coates & Obando 1996, Gascon *et al.* 2000, Ribas *et al.* 2012).

Entretanto, estudos recentes têm apontado que essa diversidade está subestimada, já que várias subespécies de numerosos grupos taxonômicos podem vir a ser elevadas à categoria de espécies após revisões taxonômicas mais detalhadas (Develey 2009). Essa insuficiência de informações é refletida no grande número de espécies de aves que continuam a ser descritas atualmente, especialmente no Brasil (Silveira & Olmos 2007).

Uma das principais maneiras de tentar compreender melhor a história das florestas Neotropicais é estudar a distribuição e as relações filogenéticas entre os organismos nas suas diferentes regiões geográficas. Isto pode fornecer informações acerca dos eventos de diversificação que originaram as espécies atuais (Ribas & Miyaki 2007). Análises filogenéticas de grupos de táxons próximos proporcionam uma base para a discussão dos eventos biogeográficos que influenciaram a sua diferenciação (Aleixo 2004, Cheviron *et al.* 2005, Aleixo & Rossetti 2007, Ribas & Miyaki 2007).

A filogeografia aparece nesse cenário com o propósito de subsidiar metodologicamente o incremento do conhecimento sobre a diversidade. Estudos filogeográficos com aves vêm possibilitando a compreensão dos processos geradores de biodiversidade e tem ajudado a esclarecer o contexto espacial e temporal da diversificação destes organismos (Avise *et al.* 1987, Bermingham & Moritz 1998). Portanto é importante o conhecimento sobre a história evolutiva dos organismos para

assegurar a veracidade dos limites interespecíficos atualmente reconhecidos para as espécies, e o entendimento dos processos de diversificação destas em diferentes biomas.

O uso do recurso da biologia molecular e suas vertentes atualmente constituem um passo importante para o conhecimento da história evolutiva das espécies (Walker & Ribeiro 2011, Daly-Engel *et al.* 2012, Fouquet *et al.* 2012), no entanto, a interpretação de dados moleculares por si só é sempre tarefa muito difícil e desafiadora por serem influenciados por diversos fatores, desde biológicos até forças evolutivas (Hewitt 2011, Patel *et al.* 2011, Ribas *et al.* 2012). Desta forma, inferir hipóteses sobre complexos biomas, tais como a Amazônia, sem os dados ecológicos e principalmente dados geológicos é bastante complicado (Aleixo & Rosseti 2007, Hoorn 2010).

O gênero *Corythopsis* pertence à família Rhynchocyclidae (Tello *et al.* 2009) e agrupa vários táxons cujos limites e validade ainda deixam dúvidas (Fitzpatrick 2004), gerando incertezas quanto à real quantidade de unidades evolutivas diagnosticáveis dentro do grupo. Esse gênero possui duas espécies reconhecidas: *Corythopsis delalandi*, monotípica e distribuída nos biomas Mata Atlântica e Cerrado, que apresenta como características distintivas cor da cabeça verde-oliva; e a outra espécie, *C. torquatus* (endêmica da Amazônia), na qual são reconhecidas três formas, caracterizadas e distinguíveis uma das outras pelo padrão de tons de marrom na cabeça: *C. t. torquatus* Tschudi, 1844; *C. t. anthoides* (Pucheran, 1855), e *C. t. sarayacuensis* Chubb, 1918 (Fitzpatrick 2004).

O tratamento de *C. delalandi* e *C. torquatus* como espécies independentes, apesar de aceito atualmente, deixa dúvidas, visto que são espécies crípticas, o que também acontece com a delimitação e a validade das várias subespécies de *C. torquatus* já descritas. Assim, este estudo tem como objetivo reconstruir os contextos temporais e

espaciais do processo de diversificação das diferentes linhagens evolutivas de *Corythopsis*, possibilitando inferências sobre a história evolutiva e limites interespecíficos do grupo, além da sua utilização como um estudo de caso do processo de diversificação de organismos nos biomas Amazônia, Mata Atlântica e Cerrado.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Análise molecular

Para as análises moleculares foram utilizados 57 amostras de tecidos musculares obtidos das seguintes instituições: Museu Paraense Emílio Goeldi (MPEG, n= 42), Laboratório de Genética e Evolução Molecular de Aves – Universidade de São Paulo (LGEMA, n=5), Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ, n= 5) e Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG, n= 5). Estas amostras incluem 13 indivíduos de *Corythopsis delalandi* e 44 indivíduos de *Corythopsis torquatus*. Para compor o grupo externo foram utilizadas sequências das espécies *Pseudotriccus simplex* (ND2 - DQ294566.1), *Mionectes oleagineus* (ND2 - FJ231711.1) e *Leptopogon amaurocephalus* (ND2 - DQ294547.1) retiradas do *GenBank Overview* da *National Center for Biotechnology Information* (NCBI) - (site: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>), de acordo com estudo mais recente para o grupo (Tello *et. al.* 2009) (Tabela 7).

O DNA genômico foi extraído usando a técnica de fenol-clorofórmio (Sambrook *et al.* 1989) e os kits de extração *Wizard Genomic DNA Purifications Kit* (Promega) e *DNeasy Blood & Tissue Kit* (QIAGEN Biotecnologia Brasil Ltda). A visualização do DNA total extraído foi realizada através da técnica de eletroforese em gel de agarose a 1%. As sequências dos genes selecionados foram amplificadas por meio da técnica de

Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) utilizando-se iniciadores L5215 e H6313, L5215 e H5766, L5758 e H6313 para ND2, FIB5L e FIB5H para β f5 e 13F e 13R para MUSK (Tabela 1).

Tabela 1. Lista de iniciadores utilizados e suas respectivas sequências.

Gene	Primer	Sequência 5' →3'	Referência
ND2	L5215	TAT CGG GCC CAT ACC CCG AAA T	Hackett 1996
ND2	H6313	CTC TTA TTT AAG GCT TTG AAG GC	Sorenson <i>et al.</i> 1999
ND2	L5758	GGN GGN TGR RBH GGN YTD AAY CAR AC	Johnson & Sorenson 1998
ND2	H5766	DGA DGA RAA DGC YAR RAY YTT DCG	Johnson & Sorenson 1998
β f5	FIB5L	CGC CAT ACA GAG TAT ACT GTG ACA T	Prychitko & Moore 1997
β f5	FIB5H	GCC ATC CTG GCG ATC TGA A	Prychitko & Moore 1997
MUSK	13F (F)	CTT CCA TGC ACT ACA ATG GGA AA	Clark, Witt 2006
MUSK	13F (R)	CTC TGA ACA TTG TGA TCC TCA A	Clark, Witt 2006

Para cada reação de PCR foi utilizado cerca de 10ng de DNA, obtendo um volume final de 25 μ l, juntamente com as concentrações dos seguintes reagentes: tampão para PCR 10X (200 μ l Tris-HCl, pH 8.4; 500 μ l KCl), 1,25 μ l de dNTP, 1,5 μ l MgCl₂, 0,5 μ l de cada iniciador e 0,2 μ l de Taq DNA polimerase (Invitrogen). As PCRs para as regiões selecionadas foram efetuadas em um termociclador automático da marca Amplitem modelo TX-96, com o seguinte perfil de ciclo: uma desnaturação inicial de 5 min. a 95°C; seguidos de 35 ciclos com desnaturação de 1 min. a 95°C; 1 minuto com temperatura de anelamento de 61,5°C (para os primers dos fragmentos de ND2), 53,4°C (para os primers de MUSK) e 50°C (para os primers de β f5); extensão de 1 minuto a 72°C; e uma extensão final 5 minutos a 72°C. Para a amplificação dos fragmentos menores de ND2 (L5215/ H5766, L5758/H6313) foram utilizadas as

mesmas sequências de temperaturas, reportadas acima, havendo alterações somente na quantidade de ciclos (30) e temperatura de anelamento (1 min à 55,2°C).

O produto resultante da PCR foi purificado através do Protocolo de purificação com Polietileno Glicol (PEG). Os fragmentos gênicos resultantes da reação de PCR tiveram suas sequências nucleotídicas determinadas utilizando-se o kit *BigDye® X Terminator v3.1 cycle sequencing* (Applied Biosystems) de acordo com as especificações do fabricante, em Sequenciador Automático 3130 Genétic Analyzer (Applied Biosystems).

2.2 Análises Filogenéticas e Populacionais

As sequências obtidas foram alinhadas com o auxílio do aplicativo CLUSTAL-W (Thompson *et al.* 1994) e editadas manualmente utilizando o programa BIOEDIT (Hall 1999). O programa *Data Analysis and Molecular Biology and Evolution - DAMBE* (Xia & Xie 2001) foi utilizado para checagem de possíveis códons de parada e evidencia de saturação de bases, com parâmetros sugeridos por Schneider (2007).

As filogenias foram estimadas com base nas sequências dos genes selecionados sob os critérios de Máxima Verossimilhança (ML) e Inferência Bayesiana (IB). Para a construção da árvore de ML, foi utilizado o programa RAxML v7.0.4 (Stamatakis 2006); e para a análise de IB foi utilizado o programa MrBayes 3.1.2 (Huelsenbeck & Ronquist 2001, Ronquist & Huelsenbeck 2003).

O modelo apropriado para ML foi selecionado usando o Akaike Information Criterion - AIC do programa jModelTest v 0.1 (Posada 2008). Para as análises de IB, foram calculados valores do Bayesian Information Criterion – BIC (Posada & Buckley 2004, Sullivan & Joyce 2005).

As análises foram feitas inicialmente para 10.000.000 de gerações, com a amostragem de uma árvore a cada 1.000 gerações. Os apoios aos ramos das filogenias produzidas foram estimados por 1.000 pseudoréplicas. Foram descartadas árvores obtidas antes da corrente de Markov atingir valores de verossimilhança estáveis e convergentes (aproximadamente 25% do total de árvores selecionadas), segundo Huelsenbeck & Hall (2001).

No programa BEAST v1.4.8 (Drummond & Rambaut, 2007) foi construída uma árvore de espécie utilizando um marcador mitocondrial e dois nucleares (ND2, MUSK e β 5), com base nos filogrupos formados a partir das filogenias geradas pelas árvores de ML e IB do marcador mitocondrial (ND2). As populações da Mata Atlântica (*C. delalandi*) foram utilizadas como grupo externo. O arquivo utilizado foi criado no aplicativo BEAUti (distribuído no pacote junto com o BEAST). Os modelos de cada marcador foram determinados pelo JModeltest (Posada 2008), aplicando-se o relógio molecular relaxado e modelo Yule process (Drummond et al. 2007); foi utilizada uma taxa de calibração (para ND2) de 2,1% de substituições nucleotídicas por milhão de anos (Weir & Schluter 2008), onde para os marcadores nucleares (MUSK e β 5) as taxas foram estimadas. Corridas preliminares foram realizadas para avaliar as cadeias e determinar os parâmetros apropriados. Foi realizada uma corrida de 50 milhões de gerações, com árvores e parâmetros estimados a cada 1000 gerações. Os resultados para a convergência foram verificados no Tracer v. 1.4 (Rambaut & Drummond 2008). As topologias das árvores foram avaliadas no TreeAnnotator v.1.4.6 (distribuído no pacote junto com o BEAST) e visualizadas no FigTree v.1.2.2 (Rambaut 2009).

Com o programa DnaSP v.5.10 (Rozas *et al.* 2010) foram criados os arquivos usados nos programas MEGA, Arlequin e Network, além de computado o número de haplótipos. No programa MEGA 5.0 (Tamura *et al.* 2011) foram computados os

valores de divergência genética entre e dentro das populações analisadas, utilizando o modelo Tamura-Nei (Tamura & Nei 1993), que segundo Schneider (2007) é o modelo mais apropriado para este tipo de análise. No Arlequin v.3.11 (Excoffier *et al.* 2007) foram calculados os índices de diversidade haplotípica (h) e nucleotídica (π) para todas as populações analisadas, bem como realizadas análises de Variância Molecular (AMOVA) e calculados os valores do índice de fixação - F_{ST} (Weir & Hill 2002), respectivamente. As redes de haplótipos para os três marcadores utilizados foram geradas no programa Network v. 4.6.1.0 (Bandelt *et al.* 2005).

3. RESULTADOS

3.1 Análises Filogenéticas

De um total de 57 amostras (Tabela 7), foi sequenciado um fragmento de 1037 pares de bases (pb) de ND2 (49 amostras), 577 pb de $\beta F5$ (52 amostras) e 579 pb de Musk (41 amostras), totalizando um banco de dados com o total de 2193 pb. Neste banco encontram-se seqüências das duas espécies do gênero *Corythopis*: *C. delalandi* (Musk - 7 seq., $\beta f5$ e ND2 - 11 seq.) e *C. torquatus* (Musk - 34 seq., $\beta f5$ - 41 seq. e ND2 - 38 seq.).

Para as análises filogenéticas de ML e IB foi utilizado um banco de dados composto apenas pelo marcador mitocondrial (ND2), o único marcador também utilizado nas análises populacionais.

O programa jModelTest v 0.1, para o banco de ND2, selecionou o modelo de substituição HKY+G (-lnL = 4348.7945) com as seguintes frequências de bases (A = 0.3233, C = 0.3264, G = 0.0869, T = 0.2633), modelo de substituição kappa = 17.3942 ($t_i/t_v = 8.2007$) e parâmetro de distribuição gamma = 0.2700.

Nas árvores de ML e IB construídas a partir do banco de dados formado pelo marcador mitocondrial (ND2), observamos que existe monofiletismo entre os grupos formados por populações de *Corythopsis* da Mata Atlântica e da Amazônia, com forte apoio estatístico. As árvores de ML e IB também apontam para uma divisão interna do complexo de populações da Amazônia (*C. torquatus*) em dois grandes clados ou filogrupos: 1) indivíduos distribuídos em ambas às margens do rio Amazonas, para leste dos rios Negro e Ji-Paraná / Tapajós, nas áreas de endemismo Xingu, Tapajós, Rondônia (norte), Napo e Guiana (sensu Silva et al. 2005); e 2) indivíduos distribuídos ao sul do rio Amazonas e oeste dos rios Ji-Paraná / Madeira, compreendendo as áreas de endemismo Inambari e Rondônia (sul) (Figura 5 e 6). Esta subdivisão apresenta-se fortemente apoiada por valores de *bootstrap* e probabilidade *a posteriori* maiores que 80% e 0.95, respectivamente. No entanto, nem todos os clados internos, de cada um dos dois clados principais de *C. torquatus*, apresentam apoio estatístico significativo (Figura 5).

De acordo com os resultados observados nas análises filogenéticas, existem cinco filogrupos principais em *Corythopsis* endêmicos das seguintes regiões (áreas de endemismo sensu Silva et al. 2005 & Cracraft 1985): 1) Xingu, Tapajós e Rondônia (norte; a leste do rio Jiparaná); 2) Napo; 3) Guiana; 4) Inambari e Rondônia (sul, a oeste do rio Ji-paraná) e 5) Mata Atlântica (Figura 5).

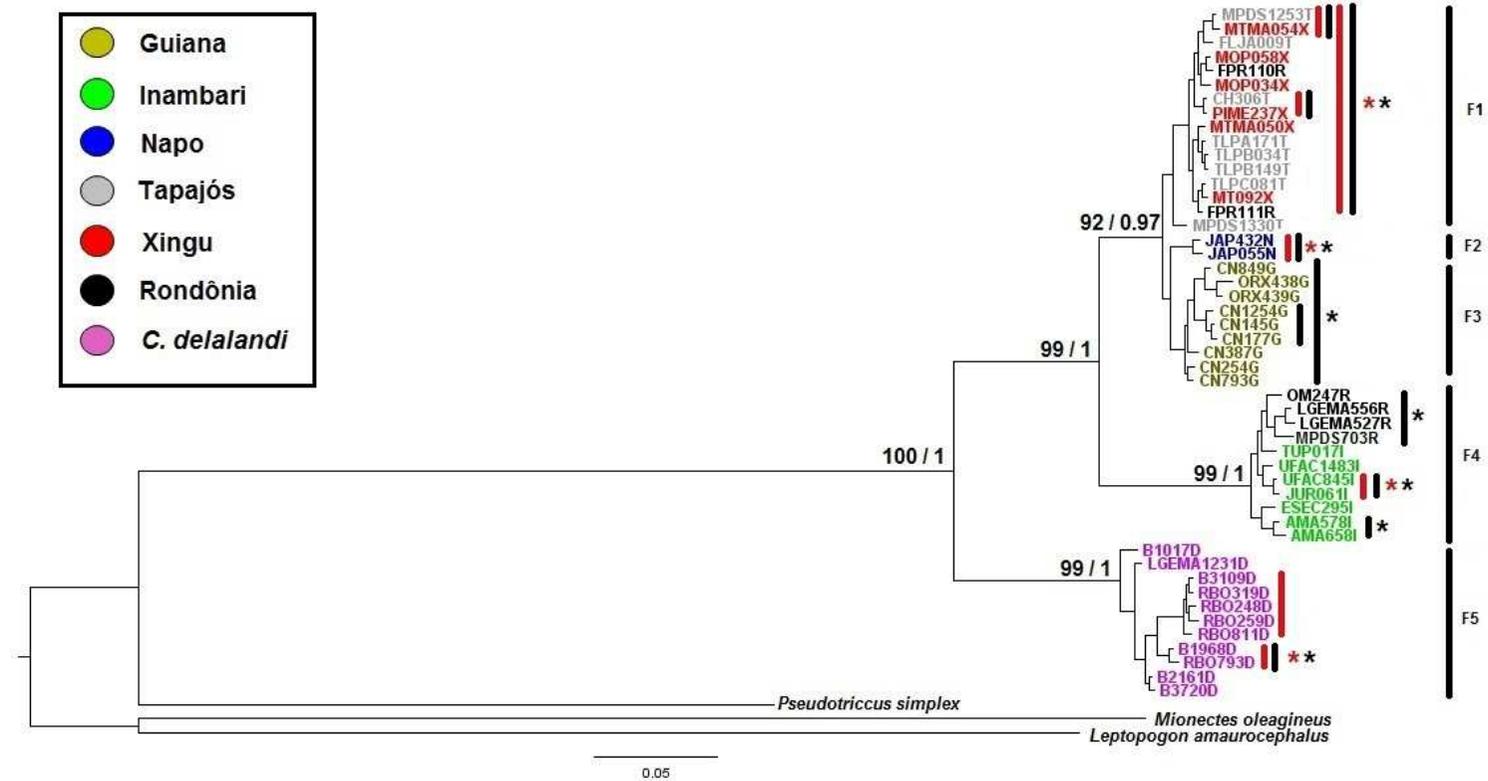


Figura 5. Árvore Filogenética de Inferência Bayesiana reconstruída com base nas sequências de ND2 para as populações do gênero *Corythopis*. Nos principais clados estão representados acima dos nós os valores de *bootstrap* (ML) e *probabilidade a posteriori* (IB), respectivamente. Os clados internos com valores de *bootstrap* (>80%) estão representados por barras e asteriscos vermelhos e os valores de *probabilidade a posteriori* (>0.95) estão representados por barras e asteriscos pretos. Os filogrupos denominados neste estudo estão representados por suas siglas e números sequenciais (F1 – filogrupo 1, F2 – filogrupo 2, F3 – filogrupo 3, F4 – filogrupo 4, F5 – filogrupo 5). As amostras estão coloridas de acordo com sua distribuição para as diferentes áreas de endemismo na Amazônia (Silva *et al.* 2005).

Com base nas sequências de ND2, foi recuperado um total de 31 haplótipos. Destes, oito estão restritos ao filogrupos 1, definido acima, dois ao filogrupos 2, sete ao filogrupos 3, oito haplótipos do filogrupos 4 e seis ao filogrupos 5 (Tabela 2).

Tabela 2. Tabela com os haplótipos de ND2 divididos nos cinco filogrupos analisados (F1- filogrupos 1, F2- filogrupos 2, F3- filogrupos 3 e F5- filogrupos 5).

Filogrupos	F1	F2	F3	F4	F5
Haplótipos	(Tapajós, Xingu e Rondônia – norte)	(Napo)	(Guiana)	(Inambari e Rondônia - sul)	(Mata Atlântica)
H_01				x	
H_02				x	
H_03				x	
H_04				x	
H_05				x	
H_06				x	
H_07			x		
H_08			x		
H_09			x		
H_10			x		
H_11			x		
H_12			x		
H_13			x		
H_14		x			
H_15		x			
H_16	x				
H_17	x				
H_18				x	
H_19				x	
H_20	x				
H_21	x				
H_22	x				
H_23	x				
H_24	x				
H_25	x				
H_26					x
H_27					x
H_28					x
H_29					x
H_30					x
H_31					x

A diversidade haplotípica variou de 0,87 a 1, para os filogrupos 1, 5 e 2, respectivamente, e a diversidade nucleotídica de 0,2% a 0,9%, para os filogrupos 2 e 5, respectivamente (Tabela 4). A distância genética entre os filogrupos variou de 1,6%, entre F1 e F3, a 11,8%, entre F4 e F5. Dentro dos grupos, a distância genética variou entre 0,3% a 0,8%, sendo o menor valor observado dentro de F2 e o maior dentro de F1 e F5. A distância genética entre os grupos das populações amazônicas (*C. torquatus*) e os grupos externos *Pseudotriccus simplex* e *Leptopogon amaurocephalus*, variou entre 18,2% a 26,3%, respectivamente. Entre as populações da Mata Atlântica (*C. delalandi*) e os grupos externos *Mionectes oleagineus* e *L. amaurocephalus*, a divergência média variou de 21,9% a 27%, respectivamente (Tabela 3).

Tabela 3. Média da distância genética (%), modelo Tamura-Nei, entre os cinco filogrupos de *Corythopsis* a partir das sequências de ND2. Em vermelho encontra-se a distância média dentro de cada filogrupo. Os táxons utilizados como grupo externo seguem as seguintes abreviações (*Pseudotriccus simplex* – *P.s.*, *Leptopogon amaurocephalus* – *L.am.*, *Mionectes oleagineus* – *M. ole.*).

	<i>P. s.</i>	<i>L. am.</i>	<i>M. ole.</i>	F1	F3	F4	F2	F5
F1	20.8%	24.6%	24.8%	0.8%				
F3	20.8%	23.7%	23.7%	1.6%	0.6%			
F4	18.2%	26.3%	25.6%	7.1%	6.8%	0.6%		
F2	21.7%	24.7%	23.8%	2.5%	1.8%	7.0%	0.3%	
F5	24.0%	27.0%	21.9%	10.7%	9.4%	11.8%	10.8%	0.8%

Altos valores de diversidade haplotípica (h) são observados em todos os filogrupos, juntamente com moderados e baixos valores de diversidade nucleotídica (π) (Tabela 4).

Tabela 4. Índices de diversidade genética para o gene mitocondrial ND2 entre os filogrupos de *C. torquatus*. (h = diversidade haplotípica; π = diversidade nucleotídica; sd = desvio padrão).

Grupos	Nº de amostras	Nº de haplótipos	h \pm sd	$\pi\pm$ sd
F1	16	8	0.87 +/-0.53	0.003 +/-0.002
F3	9	7	0.94 +/- 0.07	0.005 +/- 0.003
F4	11	8	0.94 +/-0.05	0.007 +/- 0.0044
F2	2	2	1 +/- 0.50	0.002 +/-0.033
F5	11	6	0.87 +/-0.07	0.009 +/- 0.005

Devido às redes de haplótipos dos marcadores nucleares selecionados (MUSK e β f5) apresentarem pouca e difícil resolução, decidimos utilizar nesse estudo apenas a rede de haplótipos para ND2. Esta também corroborou os resultados das análises filogenéticas, ao demonstrar a grande presença de haplótipos únicos e exclusivos dentro dos filogrupos. Houve compartilhamento de haplótipos apenas entre as áreas de endemismo que compõem o filogrupo 1 (Tapujós, Xingu e Norte de Rondônia) (Figura 7).

A análise de variância molecular (AMOVA) realizada com base nos filogrupos estabelecidos obteve que a maior parte da variação se encontra particionada entre estes cinco filogrupos revelados pelas filogenias de ML e IB (89%, $p = 0.0000$, $\square_{st} = 0.89$.) Os valores de F_{st} par-a-par entre os cinco filogrupos foram elevados e altamente significativos (Tabela 5 e 6).

Tabela 5. Análise de Variância Molecular (AMOVA) entre os filogrupos de *Corythopsis*, e entre os filogrupos de *C. torquatus*, a partir das sequências do mtDNA ND2. (* = $p < 0,01$).

TIPOS DE VARIAÇÃO	% DA VARIAÇÃO	Φ_{st}
Filogrupos (F1, F2, F3, F4, F5)		
Entre os filogrupos	89.52	0.89*
Dentro dos Filogrupos	10.48	
Filogrupos do complexo <i>C. torquatus</i> (F1, F2, F3, F4)		
Entre os filogrupos	86.34	0.86*
Dentro dos Filogrupos	13.66	

Tabela 6. Matriz com os valores de F_{st} par-a-par estimados a partir de sequências do gene ND2 para os diferentes filogrupos do gênero *Corythopsis*, revelados pelas análises filogenéticas de ML e IB (* $p < 0,01$, ** $p < 0,05$).

	F1	F3	F2	F4	F5
F1					
F3	0.6382*				
F2	0.6666**	0.75355**			
F4	0.8908*	0.90301*	0.89222**		
F5	0.9151*	0.91041*	0.90502**	0.91941*	

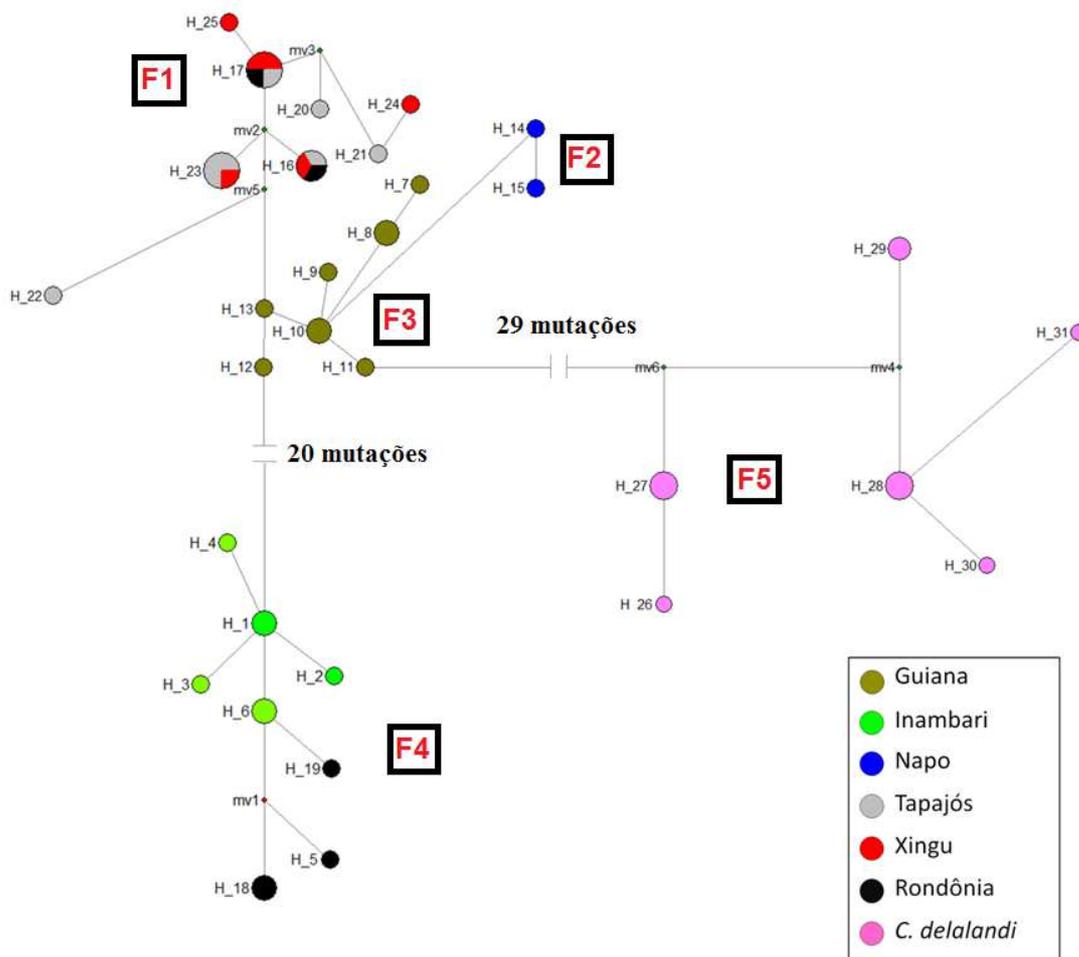


Figura 7. Redes de haplótipos de ND2. Dentro dos quadrados encontram-se os filogrupos analisados e definidos de acordo com os principais clados encontrados nas análises filogenéticas. Os haplótipos estão coloridos de acordo com sua distribuição para as diferentes áreas de endemismo na Amazônia (Silva *et al.* 2005).

A árvore de espécie, que foi construída a partir de marcadores nucleares (MUSK e $\beta f5$) e mitocondrial (ND2), corrobora os resultados encontrados nas análises filogenéticas e populacionais, no qual observamos a monofilia recíproca bem apoiada (1) entre as populações da Mata Atlântica (F5) e as populações de *Corythopis* para a Amazônia (F1,F2,F3 e F4); um alto apoio (0.99) no clado formado pelas populações Amazônicas (F1,F2,F3 e F4); e um baixo apoio (0.80) para a monofilia recíproca das populações de *C. torquatus* representadas entre F1 +F3 e F2, e entre F1 e F3 (0.39) (Figura 8).

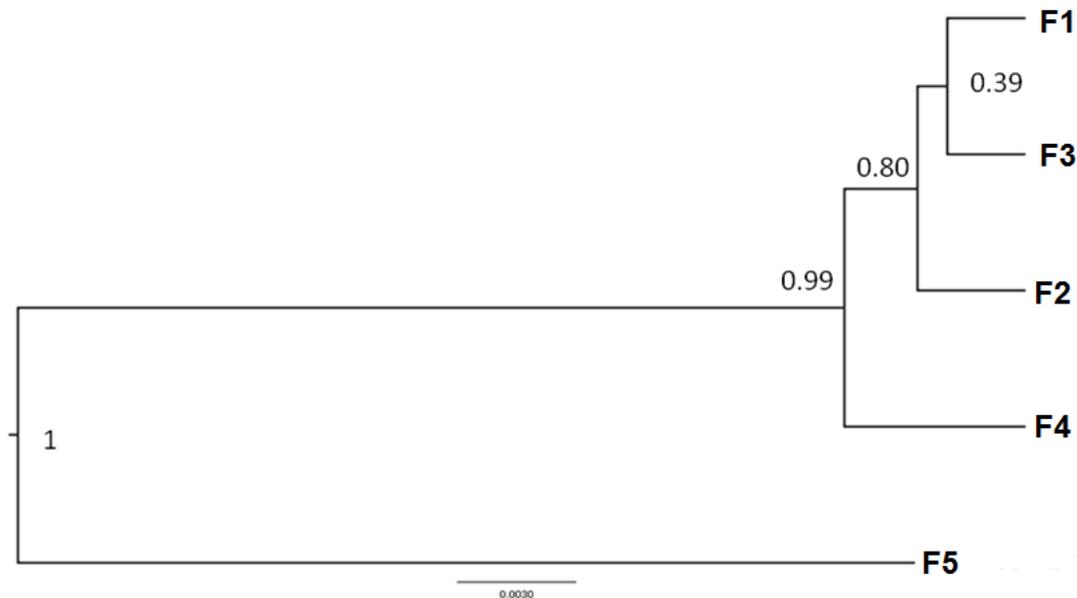


Figura 8. Árvore de espécie (MUSK, β f5 e ND2) construída com base nos filogrupos estabelecidos pelas análises filogenéticas: F1- Xingu, Tapajós e Rondônia (norte; a leste do rio Jiparaná); F2- Napo; F3- Guiana; F4- Inambari e Rondônia (sul, a oeste do rio Ji-paraná) e F5- Mata Atlântica.

4. DISCUSSÃO

Nesse trabalho, baseado em informações moleculares, os resultados das análises filogenéticas e populacionais para o marcador mitocondrial ND2 indicaram a existência de dois clados reciprocamente monofiléticos sustentados por altos apoios de *bootstrap* e probabilidades posteriores, concordando desse modo com a taxonomia atual para o gênero *Corythopis*, que reconhece uma espécie Amazônica (*C. torquatus*) e outra da Mata Atlântica e Cerrado (*C. delalandi*; Fitzpatrick 2004).

Padrão semelhante é observado na árvore de espécie, construída com dois marcadores nucleares (MUSK e β f5) e um mitocondrial (ND2), e cujo padrão de divisão dos filogrupos seguiu o mesmo observado pela árvore de ND2. A árvore de espécie mostra que existem apenas duas linhagens reciprocamente monofiléticas com

probabilidades posteriores significativas (> 0.95) em *Corythopsis*: *C. torquatus* (F1, F2, F3 e F4) e *C. delalandi* (F5), reforçando o seu status como espécies independentes. Por outro lado, baixas probabilidades posteriores foram recuperadas para a monofilia recíproca entre as linhagens de *C. torquatus* F2 e F1+F3 (0.80) e entre F3 e F1 (0.39), causadas por uma coalescência ainda incompleta entre estes filogrupos para os dois marcadores nucleares utilizados, o que não ocorre com relação ao único marcador mitocondrial sequenciado (ND2), que por sua vez recuperou a monofilia recíproca entre todos estes clados com altas probabilidades posteriores (Figura 5).

Pela sua maior variabilidade, marcadores mitocondriais foram melhores quando comparados aos genes nucleares na resolução das relações filogenéticas entre os filogrupos de *Corythopsis*, fato explicado principalmente pelo menor tempo de coalescência dos marcadores mitocondriais, o que permite um acúmulo mais rápido de mutações do que loci nucleares. Esse mesmo padrão já foi inferido em estudos anteriores (Gibbs *et al.* 2000, Roeder *et al.* 2001, Ritchie *et al.* 2004, Cabanne *et al.* 2008), como em *Corythopsis*, além mais bem resolvida, os apoios estatísticos obtidos pela árvore mitocondrial para a monofilia recíproca entre os diferentes clados foram maiores do que aqueles da árvore de espécie.

As análises populacionais foram realizadas também baseadas nos padrões obtidos pelas análises filogenéticas, que recuperaram cinco filogrupos principais. Os níveis médios das distâncias genéticas entre os filogrupos analisados corroboram os resultados filogenéticos. As maiores divergências encontradas entre os filogrupos foram aquelas entre F5 (*C. delalandi*) e os demais (*C. torquatus*), variando de 9.4% a 11.8%. As divergências entre os filogrupos que compõem os clados do complexo *C. torquatus* variaram bastante (1.6% a 7.1%), com a obtenção de alguns valores próximos àqueles

obtidos entre *C. delalandi* e *C. torquatus* (entre os filogrupos F5 e os demais – F1, F2, F3, F4)

Vários estudos têm demonstrado que este padrão de elevados níveis de divergência genética é comum e geralmente encontrado em boa parte das populações alopátricas e parapátricas de espécies endêmicas da bacia amazônica. Por exemplo, Bates *et al.* (1999) obtiveram níveis de divergência não corrigidos entre 5% e 6% entre populações de *Hypocnemis cantator* de margens distintas do rio Amazonas; Marks *et al.* (2002) observaram divergências não corrigidas que variaram de 1% a 8% em populações de *Glyphorhynchus spirurus*. Armenta *et al.* (2005) não encontraram níveis de divergência não corrigidos menores que 6% entre três táxons do complexo *Capito niger*; e Fernandes *et al.* (2012) encontraram valores não corrigidos que variaram de 0,8% a 3,1% entre populações de *Mymerciza hemimelaena*.

Apesar da maioria dos filogrupos de *Corythopis* apresentarem altos valores de diversidade haplotípica (h) e baixos valores de diversidade nucleotídica (π), estes valores para o filogrupo 2 pode ser explicado pelo pequeno número de indivíduos sequenciados ($n=2$).

O compartilhamento de haplótipos encontrado na rede de ND2 apenas entre as áreas de endemismo que compõem o filogrupo 1 (Tapajós, Xingu e Rondônia-norte), sugere um intenso fluxo gênico entre estas áreas, o que não foi observado entre as demais.

A análise de variância molecular (AMOVA) revelou que a maior parte da variação genética está particionada geograficamente entre os cinco filogrupos ($\Phi_{st} = 0.89$), resultado similar ao obtido para apenas quando os filogrupos do complexo *C. torquatus* (F1, F2, F3 e F4) são considerados, com valores altamente significativos ($\Phi_{st} = 0.86$). De modo similar, os valores de *Fst* par-a-par obtidos também apontaram para

uma grande estruturação e diferenciação populacional entre os filogrupos de *Corythopsis* distribuídos alopátrica e parapatricamente (Tabela 5 e 6).

4.1 Taxonomia do gênero *Corythopsis*

O gênero *Corythopsis* pertence atualmente à família Rhynchocyclidae (Tello *et al.* 2009), onde são reconhecidas duas espécies válidas: *C. delalandi* (Lesson, 1830) e *C. torquatus* Tschudi, 1844, com três subespécies reconhecidas: *Corythopsis torquatus torquatus* Tschudi, 1844; *Corythopsis torquatus sarayacuensis* Chubb, 1918 e *Corythopsis torquatus anthoides* (Pucheran, 1855) (Fitzpatrick 2004). O fato de serem espécies morfológicamente crípticas e a pequena quantidade de trabalhos taxonômicos e filogenéticos para *Corythopsis* tornam incertos o estabelecimento de limites interespecíficos e a validade de alguns de seus táxons.

O estabelecimento de limites interespecíficos entre táxons / unidades evolutivas proximamente relacionadas requer análises criteriosas, notadamente filogenéticas e o contraste dos padrões observados com diferentes conceitos de espécies existentes na literatura (Johnson *et al.* 1999). Em aves, dois conceitos de espécie têm sido amplamente utilizados, o biológico e o filogenético, ambos com suas características e limitações próprias (Aleixo 2007).

Considerando o conceito biológico de espécie (Mayr 1942, 1982, 1963), não é possível falsificar a hipótese de que a não completa coalescência verificada entre os diferentes filogrupos de *C. torquatus* (filogrupos 1, 2, 3 e 4) implica que os mesmos ainda não adquiriram um completo isolamento reprodutivo, não justificando o seu tratamento como espécies biológicas independentes. Em contraste, a monofilia recíproca apoiada por uma alta probabilidade posterior (0.99) entre *C. torquatus* (filogrupos 1, 2, 3 e 4) e *C. delalandi* (filogrupo 5) revelada pela árvore de espécies, é

indicativo de um processo de coalescência mais adiantado e já bastante significativo para os marcadores analisados, permitindo inferir que estes filogrupos já tem *pools* genéticos bem diferenciados, com uma menor chance de fundirem caso entrem em contato, justificando, portanto, o seu tratamento como espécies biológicas independentes.

Alternativamente, quando o conceito filogenético ou evolutivo de espécie é considerado (Cracraft 1983, 1989, De Queiroz 1998) é possível inferir, com base nos dados mitocondriais (Figuras 5,7 e 8; Tabelas 3, 4, 5 e 6), uma forte diferenciação genética e monofilia recíproca e estatisticamente significativa entre todos os quatro filogrupos de *C. torquatus*, possibilitando o seu tratamento como espécies filogenéticas e evolutivas independentes, elevando, portanto, o número de espécies reconhecidas dentro do gênero para cinco. Nesse contexto, a não coalescência significativa ou completa para os marcadores nucleares entre os filogrupos de *C. torquatus* seria interpretada como polimorfismo ancestral simplesmente, já que o marcador mitocondrial mostra diferenciação e monofilia recíproca entre essas linhagens, satisfazendo plenamente as condições para delimitação de espécies independentes sob esse conceito de espécie.

Portanto, são dois os arranjos taxonômicos possíveis para o gênero *Corythopis*, um com base no conceito biológico (2 espécies) e outro com base no conceito filogenético (5 espécies). Com base no conceito biológico, o tratamento seria o seguinte:

- *C. delalandi* (Lesson, 1830), equivalente ao filogrupo 5, endêmico da Mata Atlântica e florestas de galeria Brasil central;
- *C. torquatus* Tschudi, 1844, equivalente aos filogrupos 1, 2, 3 e 4, endêmicos da Amazônia. Cada um destes quatro clados poderia ser

considerado uma subespécie pelo conceito biológico de espécie com base nos seus níveis de diferenciação genética (Johnson *et al.* 1999), havendo os seguintes nomes disponíveis (atribuídos a cada filogruppo com base na suas localidades-tipo (Peters 1951): *torquatus* (filogruppo 4), *anthoides* (filogruppo 3), *sarayacuensis* (filogruppo 2) e um táxon ainda não nomeado (filogruppo 1). Os resultados moleculares (ND2) confirmam que *Corythopsis torquatus subtorquatus* Todd, 1927 (descrita das proximidades da Santa Cruz na Bolívia, portanto, nome aplicado ao filogruppo 4) não pode ser completamente diagnosticada da forma nominal (nome também aplicado ao filogruppo 4), conforme também demonstrado através de caracteres de plumagem (Fitzpatrick 2004). Na verdade, dentro do filogruppo 4 há dois clados principais separados pelo Rio Madeira, mas estes ainda não adquiriram monofilia recíproca, embora haja uma estrutura filogeográfica incipiente aparentemente delimitada pelo rio. O conceito biológico de espécie pode reconhecer como subespécie, populações com esse nível de diferenciação e não aquisição de monofilia recíproca completa, portanto os nomes *torquatus* e *subtorquatus* podem ser aplicados às populações do filogruppo 4 situadas nas margens oeste e leste do Rio Madeira, respectivamente. No entanto, recomenda-se uma melhor amostragem do filogruppo 4, acoplada a um estudo mais amplo das séries de espécimes deste clado, para que se possa chegar a uma conclusão mais sólida sobre a magnitude do fluxo gênico entre as populações separadas pelo Rio Madeira e a diagnose do táxon *subtorquatus*.

Alternativamente, com base no conceito filogenético / evolutivo de espécie, o tratamento seria o seguinte:

- *C. delalandi* (Lesson, 1830), equivalente ao filogrupo 5;
- *C. torquatus* Tschudi, 1844, equivalente aos filogrupo 4;
- *C. anthoides* (Pucheran, 1855), equivalente ao filogrupo 3;
- *C. sarayacuensis* Chubb, 1918, equivalente ao filogrupo 2;
- *C. taxon novum*, equivalente ao filogrupo 1. Nenhum nome disponível parece ser aplicável às populações geneticamente diferenciadas e isoladas de *C. torquatus* entre a margem esquerda do rio Jiparaná para leste até a área de endemismo Belém.

Por fim, é importante lembrar que está além do escopo deste trabalho fornecer diagnoses morfológicas e vocais para cada uma das espécies filogenéticas enumeradas acima, o que certamente facilitaria a implementação do arranjo taxonômico proposto com base no conceito filogenético de espécie. No entanto, independentemente dos caracteres morfológicos e vocais terem evoluído em concerto ou não com os marcadores moleculares utilizados neste trabalho, o arranjo proposto aqui com base no conceito filogenético de espécie delimita com propriedade as unidades evolutivas significativas dentro do gênero *Corythopis*.

4.2 Filogeografia e padrões de diversificação do gênero *Corythopis*.

A região neotropical é conhecida por seus altos índices de diversidade biológica, o que justifica a quantidade de estudos gerados com propósito de conhecer, desvendar e formular hipóteses acerca dos padrões de diversificação de sua biota (Wallace 1852, Haffer 1997a, Moritz *et al.* 2000, Bates 2001, Aleixo 2002, 2006, Noonan & Wray 2006, Cabanne *et al.* 2008, Vallinoto *et al.* 2010, Ribas *et al.* 2012).

O gênero *Corythopis* é um bom modelo para fazer inferências acerca do processo de diversificação de organismos nos biomas Amazônia, Mata Atlântica e Cerrado, uma vez que ele é constituído por várias linhagens com diferentes níveis de diferenciação amplamente distribuídas nestes três biomas da América do Sul cis-Andina.

A primeira separação no gênero foi aquela entre as populações da Mata Atlântica e florestas de galeria do Cerrado (*delalandi*; filogrupos 5) e as amazônicas (*torquatus*; filogrupos de 1 e 4).

Dentro do clado amazônico, a primeira separação foi aquela entre o filogrupo 4 (endêmico das áreas de endemismo Inambari e Rondônia – sul) e os demais das outras áreas de endemismo amazônicas. Aparentemente, o filogrupo 4 é separado dos demais pelos rios Solimões (ao norte) e pela maior parte do Madeira (a leste), mas na porção sudeste da sua distribuição é o Rio Jiparaná que delimita estes clados (Figura 6). O fato de existirem dois clados não aparentados na área de endemismo Rondônia, reflete um padrão igual ao verificado para *Myrmeciza hemimelaena* por Fernandes *et al.* (2012), no qual o rio Jiparaná também delimitou linhagens bastante diferenciadas genética e morfologicamente daquela espécie politípica .

A leste do rios Jiparaná e Madeira, as populações de *C. torquatus* da área de endemismo Rondônia formam um grupo monofilético (filogrupo 1), com altos apoios de bootstrap (80%) e probabilidade posterior (> 0.95), onde se encontram também indivíduos das áreas de endemismo Tapajós e Xingu, sem qualquer estruturação entre elas, cortadas por grandes rios, como o Tapajós e o Xingu. Este filogrupo é mais aparentado às populações ao norte dos rios Amazonas e Solimões do que às populações situadas no mesmo interflúvio Madeira – Tapajós. Já as populações a oeste do rio Jiparaná (filogrupo 4) se agrupam com aquelas da área de endemismo Inambari,

também com altos apoios de bootstrap (99%) e probabilidade posterior (> 0.95) (Figura 5).

A segunda separação no clado Amazônico (*C. torquatus*), envolveu os filogrupos 1 (endêmico das áreas de endemismo Rondônia-norte, Tapajós e Xingu) e 2 e 3 (endêmicos, respectivamente, das áreas de endemismo Napo e Guiana), que se excluem ao longo do rio Amazonas. Finalmente, o último episódio de separação ocorreu entre os filogrupos 2 e 3, separados pelo rio Negro. Na verdade, dentro do filogrupo 1 (endêmico das áreas de endemismo Rondônia-norte, Tapajós e Xingu), há divergências até mais antigas que aquela separando os filogrupos 2 e 3, mas sem estruturação completa entre as diferentes áreas de endemismo habitadas por esse filogrupo, provavelmente por fluxo gênico passado ou ainda existente.

O padrão biogeográfico de separação entre os diferentes filogrupos Amazônicos de *Corythopsis* é bem diferente daquele reportado até hoje para diferentes linhagens de aves Amazônicas, principalmente por conta da separação recente e a pequena distância genética entre as populações dos escudos brasileiro (filogrupo 1) e das Guianas (filogrupos 2 e 3) separadas pelo rio Amazonas, ao contrário do verificado em linhagens como *Psophia* (Ribas *et al.* 2012), *Capito* (Armenta *et al.* 2005), *Ramphastos* (Patané *et al.* 2009), *Hylopezus* (Carneiro *et al.* 2012), *Glyphorhynchus* (Marks *et al.* 2002), *Xiphorhynchus pardalotus / ocellatus* (Aleixo 2002), onde os eventos iniciais de separação envolvem populações separadas pelo rio Amazonas, mas especificamente aquelas da área de endemismo Guiana.

Alternativamente, o padrão de diferenciação de *Corythopsis* na Amazônia se aproximaria daquele reportado para *Myrmeciza hemimelaena* (Fernandes *et al.* 2012), uma espécie com tamanho, peso e hábitos similares, em que os eventos iniciais de cladogênese aconteceram nas bacias sedimentares da Amazônia ocidental e estiveram

possivelmente correlacionados com a formação do rio Solimões. Nesse caso, o surgimento do rio Solimões ou de um grande rio no alto Amazonas teria causado o primeiro evento de cladogênese nas linhagens Amazônicas de *Corythopsis*, separando o filogrupo 4 ao sul dos demais, distribuídos então no restante da Amazônia, principalmente ao norte deste rio. Esse evento foi acompanhado pela formação do rio Madeira, quase ao mesmo tempo, terminando de isolar as populações do filogrupo 4, análogo ao reportado para *Myrmeciza hemimelaena* (Fernandes *et al.* 2012). Posteriormente, a diversificação em *Corythopsis* aconteceu de duas maneiras alternativas: o rio Amazonas passou a separar populações dos filogrupos 1 daquelas do ancestral dos filogrupos 2 e 3 via vicariância ou dispersão a partir das populações do escudo guianense rumo ao escudo brasileiro ao sul do rio, que, a partir de então, passaram a se diferenciar nessa região. O baixo nível de divergência genética e estruturação filogeográfica no filogrupo 1 fornece apoio para essa suposta entrada recente na porção leste do escudo brasileiro a partir de uma origem no escudo Guianas. No entanto, isso só pode ser rigorosamente testado, bem como qualquer cenário alternativo, a partir de um estudo genético populacional mais intenso, que possa recuperar sinais robustos de expansões populacionais em um determinado sentido.

Tabela 7. Amostras de tecidos dos táxons utilizadas nas análises desse estudo (ML, IB e árvore de espécie), com seus respectivos códigos adotados para nomear as amostras nas análises filogenéticas.

Código	Táxon	Localidade	Estado
1- CH 306	<i>Corythopsis torquatus</i>	Novo Progresso, Base Aeronáutica Serra do Cachimbo, Torre II (09o16'S, 54o56'W)	PA
2- CN 1254	<i>Corythopsis torquatus</i>	Óbidos, ESEC Grão-Pará (00o37'50"N;55o43'40"W)	PA
3- CN 145	<i>Corythopsis torquatus</i>	FLOTA de Faro, ca 70 km NW de Faro (01o42'S;57o12'W)	PA
4- CN 254	<i>Corythopsis torquatus</i>	Óbidos, Flota do Trombetas (ca 00o57'S;55o31'W)	PA
5- CN 387	<i>Corythopsis torquatus</i>	Alenquer, ESEC Grão-Pará (00o09'S;55o11'W)	PA
6- CN 793	<i>Corythopsis torquatus</i>	Oriximiná, ESEC Grão Pará (01o17'N;58o41'W)	PA
7- CN 849	<i>Corythopsis torquatus</i>	Almeirim, REBIO Maicuru (00o49'N;53o55'W)	PA
8- CUJ 179	<i>Corythopsis torquatus</i>	RDS Cujubim, margem W Baixo Rio Mutum (04o56'05"S,68o10'21"W)	AM
9- ESEC 295	<i>Corythopsis torquatus</i>	ESEC Rio Acre, ca. 78 km W Assis Brasil (11o03'24,5"S,70o16'16,6"W)	AC
10- FLJA 009	<i>Corythopsis torquatus</i>	Novo Progresso, Flona Jamanxim, Igarapé Engano (07o42'45,4"S;55o39'38,1"W)	PA
11- FPR 110	<i>Corythopsis torquatus</i>	Maués, Flona do Pau Rosa, Comunidade Sta. Teresa (03o54'52"S;58o17'41"W)	AM
12- FPR 111	<i>Corythopsis torquatus</i>	Maués, Flona do Pau Rosa, Comunidade Sta. Teresa (03o54'52"S;58o17'41"W)	AM
13- JAP 055	<i>Corythopsis torquatus</i>	Japurá, Rio Mapari (02o02'31,5"S;67o17'16,6"W)	AM
14- JAP 432	<i>Corythopsis torquatus</i>	Japurá, Rio Acanauí (01056'12,4"S;66o36'18,8"W)	AM
15- JUR 061	<i>Corythopsis torquatus</i>	Feijó, Rio Jurupari, margem esquerda, Novo Oriente (08o13'17,1"S;69o51'18,6"W)	AC
16- MOP 034	<i>Corythopsis torquatus</i>	Ourilandia do Norte, Serra do Puma	PA
17- MOP 058	<i>Corythopsis torquatus</i>	Ourilandia do Norte, Serra do Puma	PA
18- MPDS 1253	<i>Corythopsis torquatus</i>	Jacareacanga, FLONA do Crepori, Rio das Tropas, Cotovelo (06°31'8,23"S;57°26'40,4"W)	PA
19- MPDS 1330	<i>Corythopsis torquatus</i>	Jacareacanga, FLONA Crepori, Porto Seguro, Serra Grande	PA

20- MPDS 703	<i>Corythopis torquatus</i>	Município de Humaitá, T. Indígena Parintintin, Aldeia Traíra-Chororó (07o33'S, 62o33'W)	AM
21- MTMA 050	<i>Corythopis torquatus</i>	Canarana, Fazenda Tanguro (12o53'29,8"S,52o22'26,7"W)	MT
22- MTMA 054	<i>Corythopis torquatus</i>	Canarana, Fazenda Tanguro (12o53'29,8"S,52o22'26,7"W)	MT
23- PIME 237	<i>Corythopis torquatus</i>	Altamira, RESEX Riosinho do Anfrísio	PA
24- RUR 068	<i>Corythopis torquatus</i>	Coari, Rio Urucu, Trilha do Papagaio (04o51'S;65o04'W)	AM
25- TLP(A) 147	<i>Corythopis torquatus</i>	Paranaíta, margem direita Rio Paranaíta, Fazenda Rio Paranaíta	MT
26- TLP(A) 171	<i>Corythopis torquatus</i>	Paranaíta, margem esquerda Rio Paranaíta, Fazenda Aliança	MT
27- TLP(B) 034	<i>Corythopis torquatus</i>	Paranaíta, margem esquerda Rio Teles Pires (9o28'302"S;56o28'359"W)	MT
28- TLP(B) 149	<i>Corythopis torquatus</i>	Paranaíta, Rio Teles Pires, margem esquerda (09o28'302"S;56o28'359"W)	MT
29- TLP(C) 081	<i>Corythopis torquatus</i>	Paranaíta, Rio Teles Pires, Fazenda João Carvalho	MT
30- TUP 017	<i>Corythopis torquatus</i>	Careiro, Br 319 km 158, Tupana Lodge (04o05'0,02"S;60o39'37,8"W)	AM
31- TUP 020	<i>Corythopis torquatus</i>	Careiro, Br 319 km 158, Tupana Lodge (04o05'0,02"S;60o39'37,8"W)	AM
32- UFAC 1483	<i>Corythopis torquatus</i>	Santa Rosa, margem esquerda Rio Purus, foz do Chandless (09o06'57,4"S;69o49'53,9"W)	AC
33- UFAC 845	<i>Corythopis torquatus</i>	Rio Branco, Transacrea (AC-090) km 70, Ramal Jarinal km 11 (09o54'02,1"S,68o28'32,1"W)	AC
34- LGEMA527	<i>Corythopis torquatus</i>	Vila Bela da Santíssima Trindade	MT
35- LGEMA556	<i>Corythopis torquatus</i>	Juruena	MT
36- AMA 578	<i>Corythopis torquatus</i>	Estirão do Equador, Atalaia do norte (04° 31' 49" S / 71° 36' 58.5" W)	AM
37- AMA 658	<i>Corythopis torquatus</i>	Estirão do Equador, Atalaia do norte (04° 31' 49" S / 71° 36' 58.5" W)	AM
38- OM 247	<i>Corythopis torquatus</i>	Machadinho d'oeste, margem direita do rio Jirapaná	RO
39- MT 092	<i>Corythopis torquatus</i>	Querência, Fazenda Tanguro (MT)- (12° 53' 29.5" / 52° 22' 26" W)	MT
40- MT 096	<i>Corythopis torquatus</i>	Querência, Fazenda Tanguro (MT)	MT
41- ORX 438	<i>Corythopis torquatus</i>	Oriximiná – Pará	PA
42- ORX 439	<i>Corythopis torquatus</i>	Oriximiná – Pará	PA
43- LGEMA 410	<i>Corythopis torquatus</i>	Fazenda Ipé, Vila Rica	MT
44- CN 177	<i>Corythopis torquatus</i>	FLOTA de Faro, ca 70 km NW de Faro (01o42'S;57o12'W)	PA
45- B1017	<i>Corythopis delalandi</i>	Mun. São Bartolomeu, Grande Mata (20°18'S 43°35'W)	MG
46- B1968	<i>Corythopis delalandi</i>	Mun. Bocaiúva, Fazenda Corredor (17°23'S 43°53'W)	MG
47- B2161	<i>Corythopis delalandi</i>	Mun. Bocaiúva, Fazenda Corredor (17°23'S 43°53'W)	MG
48- B3720	<i>Corythopis delalandi</i>	Mun. Bocaiúva, Fazenda Corredor (17°23'S 43°53'W)	MG
49- B3109	<i>Corythopis delalandi</i>	Mun. Viçosa, Mata do Paraíso (20°45' 42°52'W)	MG

50- B3720	<i>Corythopis delalandi</i>	Mun. Bocaiúva, Fazenda Corredor (17°23'S 43°53'W)	MG
51- LGEMA2368	<i>Corythopis delalandi</i>	P.E. Morro do Diabo	SP
52- LGEMA1231	<i>Corythopis delalandi</i>	Buri	SP
53- RBO 248	<i>Corythopis delalandi</i>	Faz. São Matheus, Mun. Varre –Sai	RJ
54- RBO 259	<i>Corythopis delalandi</i>	Faz. São Matheus, Mun. Varre –Sai	RJ
55- RBO 319	<i>Corythopis delalandi</i>	Faz. São Matheus, Mun. Varre –Sai	RJ
56- RBO 793	<i>Corythopis delalandi</i>	Centro Marista, Mun. Mendes	RJ
57- RBO 811	<i>Corythopis delalandi</i>	Centro Marista, Mun. Mendes	RJ

REFERÊNCIAS

- Aleixo, A.** 2002. Molecular systematic and the role of the “várzea – terra- firme” ecotone in the diversification of *Xiphorhynchus* woodcreepers (Aves: Dendrocolaptidae). *Auk* **119**: 621-640.
- Aleixo, A.** 2004. Historical diversification of a terra-firme forest bird superspecies: a phylogeographic perspective of the role of different hypotheses of Amazonian diversification. *Evolution* **58**: 1303–1317.
- Aleixo, A.** 2006. Historical diversification of floodplain forest specialist species in the Amazon: a case study with two species of the avian genus *Xiphorhynchus* (Aves: Dendrocolaptidae). *Biol. Jour. Linnean Soc.* **89**: 383-395.
- Aleixo, A.** 2007. Conceitos de espécies e o eterno conflito entre continuidade e operacionalidade: uma proposta de normatização de critérios para o reconhecimento de espécies pelo Comitê Brasileiro de Registros Ornitológicos. *Revista Brasileira de Ornitologia* **15 (2)**: 297-310.
- Aleixo, A. & Rossetti, D.F.** 2007. Avian gene trees, landscape evolution, and geology: towards a modern synthesis of Amazonian historical biogeography? *Journal of Ornithology* **148**: 443-453.
- Armenta, J.K., Weckstein, J.D. & Lane, D.F.** 2005. Geographic variation in mitochondrial dna sequences of an Amazonian nonpasserine: the black-spotted barbet complex. *The condor* **107**: 527-536.
- Avise, J.C., Arnold, J., Ball, R.M., Bermingham, E., Lamb, T., Neigel, J.E., Reeb, C.A., Saunders, N.C.** 1987. Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Ann.Rev. Ecol. Syst.* **18**: 489–522.
- Bates, J.M.** 2001. Avian diversification in Amazonia: evidence for historical complexity and a vicariance model for a basic diversification pattern. *Bol. Mus. Para. Emilio Goeldi, Sér. Zoologia.*
- Bates, J.M., Hackett, S.J. & Goerck, J.M.** 1999. High levels of mitochondrial DNA differentiation in two lineages of antbirds (*Drymophila* and *Hypocnemis*). *Auk* **116**: 1093–1106.
- Bermingham, E. & Moritz, C.** 1998. Comparative phylogeography: concepts and applications. *Molecular Ecology* **7**: 367-369.
- Brandley, M.C., Schmitz, A., Reeder, T.W.** 2005. Partitioned Bayesian analysis, partition choice, and the phylogenetic relationships of scincid lizards. *Syst. Biol.* **54**:373–390.

- Cabanne, G.S., d'Horta, F.M., Sari, E.H.R., Santos, F.R., Miyaki, C.Y.** 2008. Nuclear and mitochondrial phylogeography of the Atlantic forest endemic *Xiphorhynchus fuscus* (Aves: Dendrocolaptidae): biogeography and systematics implications. *Mol. Phylogenet. Evol.* **49**: 760–773.
- Capparella, A.P.** 1991. Neotropical avian diversity and riverine barriers. *XX Acta Congr. Int. Ornithol.* **1**: 307-316
- Carneiro, L.S., Gonzaga, L.P., Rêgo, P.S., Sampaio, I., Schneider, H., Aleixo, A.** 2012. Systematic revision of the Spotted Antpitta (Grallariidae), with description new species from Brazilian Amazonia. *The Auk* **129**: 338-351.
- Cheviron, Z.A., Hackett, S. J. & Capparella, A.P.** 2005. Complex evolutionary history of a Neotropical lowland forest bird (*Lepidothrix coronata*) and its implications for historical hypotheses of the origin of Neotropical avian diversity. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **36**: 338–357.
- Clark, W.S., Witt, C.C.** 2006. First known specimen of a hybrid Buteo: Swainson's Hawk (*Buteo swainsoni*) _ Rough-legged Hawk (*B. Lagopus*) from Louisiana. *Wilson J. Ornithol.* **118**: 42–52.
- Coates, A.G. & Obando, J.A.** 1996. *The geological evolution of the Central American Isthmus. Evolution and environment in tropical America.* In: Jackson, J.B.C., Budd, A.F., Coates, A.G. (Eds.), *Evolution and Environment in Tropical America.* The University of Chicago Press, Chicago, 21–56.
- Colinvaux, P.A.** 1993. *Pleistocene biogeography and diversity in tropical forests of South America.* In: Goldblatt, P. (Ed.), *Biological relationships between Africa and South America.* Yale University Press, New Haven, 473-499. *Congr. Int. Ornithol.* **1**: 307-316.
- Cracraft, J.** 1983. Species concepts and speciation analysis. *Current Ornithol.* **1**: 159-187.
- Cracraft, J.,** 1985. Historical biogeography and patterns of differentiation within the southamerican avifauna: areas of endemism. *American Ornithological Union Ornithology Monographs*: 49–84.
- Dayle-Engel, T.S., Seraphin, K.D., Holland, K.N., Coffey, J.p., Nance, H.A., Toonen, R.J., Bowen, B.W.** 2012. Global Phylogeography with Mixed-Marker Analysis Reveals Male-Mediated Dispersal in the Endangered Scalloped Hammerhead Shark (*Sphyrna lewini*). *Plos One* **7**: 1-15.
- De Queiroz, K.** 1998. *The general lineage concept of species, species criteria, and the process of speciation: a conceptual unification and terminological recommendations,* Em: D. J. Howard e S. H. Berlocher (eds.) *Endless forms: species and speciation.* Oxford: Oxford University Press. : 57-75.

- Develey, P.F.** 2009. Bird Conservation in Brazil: Considerations for Amazonia, the Cerrado and Pantanal Biomes. In: A. C. De Luca; P. E. Develey; G. A. Bencke; J. M. Goerck. (Org.). Áreas importantes para a Conservação das Aves no Brasil. Parte II. Amazônia, Cerrado e Pantanal. *Save Brasil*: 55-69.
- Drummond, A.J., Ho, S.Y.W., Rawlence, N. & Rambaut, A.** 2007. BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC Evolutionary Biology* **7**: 214-221.
- Excoffier, L., Laval, G. & Schneider, S.** 2005. ARLEQUIN (version 3.0): An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online* **1**: 47-50.
- Fernandes, M.A., Wink, M., & Aleixo, A.** 2012. Phylogeography of the chestnut-tailed antbird (*Myrmeciza hemimelaena*) clarifies the role of rivers in Amazonian biogeography. *J. Biogeogr.* **39**: 1-12.
- Fitzpatrick, J.W.** 2004. Family Tyrannidae (Tyrant Flycatchers). Em: J. del Hoyo, J. Elliot, A., Sargatal, J. (eds.). *Handbook of the Birds of the world. Cotingas to Pipits and Wagtails*. Lynx Edicions, Barcelona, Spain **9**: 170-293.
- Fouquet, A., Noonan, B.P., Rodrigues, M.T., Pech, N., Gilles, A., Gemmell, N.J.** 2012. Multiple Quaternary Refugia in the eastern Guiana Shield revealed by comparative phylogeography of 12 frog species. *Syst. Biol.*
- Gascon, C., Malcolm, J.R., Patton, J.L., Da Silva, M.N.F., Bogart, J.P., Loughreed, S.C., Peres, C., Neckel, S., Boag, P.** 2000. Riverine barriers and the geographic distribution of Amazonian species. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **97**: 672-13.
- Gibbs, H.L., Dawson, R.J.G., Hobson, K.A.** 2000. Limited differentiation in microsatellite DNA variation among northern populations of the yellow warbler: evidence for male-biased gene flow? *Mol. Ecol.* **9**: 2137-2147.
- Hackett, S.J.** 1996. Molecular phylogenetics and biogeography of tanagers in the genus *Ramphocelus* (Aves). *Molecular Phylogenetics and Evolution* **5**: 368-382.
- Haffer, J.** 1969. Speciation in Amazonian forest birds. *Science* **165**: 131-137.
- Haffer, J.** 1997. Alternative models of vertebrate speciation in Amazonia: an overview. *Biodivers. Conserv.* **6**: 451-476.
- 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.
- Hewitt, G.M.** 2011. Quaternary phylogeography: the roots of hybrid zones. *Genética* **139**: 617-638.

- Hoorn, C.** 2010. Amazonia through time: Andean uplift, climate change, landscape evolution, and biodiversity. *Science* **330**: 927–931.
- Huelsenbeck, J.P. & Hall, B.** 2001. Mrs. Bayes: Bayesian inference of phylogeny: A program for the Bayesian Analysis. Disponível em: <<http://brahms.biology.rochester.edu/software.html>>
- Huelsenbeck, J.P., & Ronquist., F.** 2001. MRBAYES: Bayesian inference of phylogeny. *Bioinformatics* **17**: 754–755.
- Johnson, K.P. & Sorenson, M.D.** 1998. Comparing molecular evolution in two mitochondrial protein coding genes (cytochrome b and ND2) in the dabbling ducks (Tribe Anatini). *Mol. Phylogenet. Evol.* **10**: 82–94.
- Johnson, N. K., Remsen, J. V. Jr. & C. Cicero** 1999. Resolution of the debate over species concepts in ornithology: a new comprehensive biologic species concept. Em: N. J. Adams e R. H. Slotow (eds.). *22 Int. Ornithol. Congr. Durban. Johannesburg: Bird-Life South Africa*: 1470-1482.
- Marks, B.D., Hackett, S.J. & Capparella, A.P.** 2002. Historical relationships among Neotropical lowland forest areas of endemism as determined by mitochondrial DNA sequence variation within the Wedge-billed Woodcreeper (Aves: Dendrocolaptidae: *Glyphorhynchus spirurus*). *Molecular Phylogenetics and Evolution* **24**: 153–167.
- Mayr, E.** 1942. *Systematics and the origin of species*. New York: Columbia University Press.
- Mayr, E.** 1963. *Animal Species and Evolution*. Harvard University Press.
- Mayr, E.** 1982. *The growth of biological thought: diversity, evolution, and inheritance*. Cambridge: Harvard University Press.
- Moritz, C., Patton, J.L., Schneider, C.J. & Smith, T.B.** 2000. Diversification of rainforest faunas: an integrated molecular approach. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* **31**: 533–563.
- Noonan, B.P. & Wray, K.P.** 2006. Neotropical diversification: the effects of a complex history on diversity within the poison frog genus *Dendrobates*. *J. Biogeogr.* **33**: 1007–1020.
- Patané, J.S.L., Weckstein, J.D., ALEIXO, A., Bates, J.M.** 2009. Evolutionary history of Ramphastos toucans: Molecular phylogenetics, temporal diversification, and biogeography. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **53**: 923-934.
- Patel, S., Weckstein, J. D., Bates, J. M.** 2011. Molecular systematics and evolution of *Pteroglossus araçarís*: implications for Neotropical diversification. *Mol. Phylogenet. Evol.* **58**: 105–115.

- Patton, J.L., Silva, M.N.F., Malcolm, J.R.** 1994. Gene genealogy and differentiation among arboreal spiny rats (Rodentia: Echimyidae) of the Amazon Basin: a test of the riverine barrier hypothesis. *Evolution* **48**: 1314–1323.
- Posada, D.** 2008. jModelTest: phylogenetic model averaging. *Mol. Biol. Evol.* **25**: 1253–1256.
- Posada, D., & T.R. Buckley** 2004. Model selection and model averaging in phylogenetics: advantages of Akaike Information Criterion and Bayesian approaches over likelihood ratio tests. *Syst. Biol.* **53**:793–808.
- Prychitko, T. M. & Moore, W.** 1997. The utility of DNA sequences of an intron from the β -fibrinogen gene in phylogenetic analysis of woodpeckers (Aves: Picidae). *Mol. Phylogenet. Evol.* **8**:193–204.
- Rambaut, A.** 2009. FigTree v1.2.2. Disponível em: <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree>.
- Rambaut, A. & Drummond, A.** 2007. Tracer, Version 1.4. Disponível em: <http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer>
- Rasanen, M.E., Salo, J.S., Jungner, H. & Pittman, L.R.** 1990. Evolution of the western Amazon lowland relief: impact of Andean foreland dynamics. *Terra Nova* **2**: 320–332.
- Ribas, C.C. & Miyaki, C.Y.** 2007. Análise comparativa de padrões de diversificação em quatro gêneros de psitacídeos neotropicais. *Revista Brasileira de Ornitologia* **15**: 245-252.
- Ribas, C.C., Aleixo, A., Nogueira, A.C.R., Miyaki, C.Y., Cracraft, J.** 2012. A palaeobiogeographic model for biotic diversification within Amazonia over the past three million years. *Proceedings - Royal Society. Biological Sciences* **279**: 681-689.
- Ritchie, P.A., Millar, C.D., Gibb, G.C., Baroni, C., Lambert, D.M.** 2004. Ancient DNA enables timing of the Pleistocene origin and Holocene expansion of two Adélie penguin lineages in Antarctica. *Mol. Biol. Evol.* **21**: 240-248.
- Roeder, A.D., Marshall, R.K., Mitchelson, A.J et al.** 2001. Gene flow on the ice: genetic differentiation among Adélie penguin colonies around Antarctica. *Mol. Ecol.* **10**: 1645-1656.
- Ronquist, F. & Huelsenbeck, J. P.** 2003. MRBAYES 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* **19**: 1572-1574.
- Rozas, J., Sanchez-DelBarrio, J.C., Messeguer, X. & Rozas, R.** 2010. DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods. *Bioinformatics* **19**: 2496–2497.

- Sambrook, J., Fritsch, E.F. & Maniatis, E.T.** 1989. *Molecular Cloning: a laboratory manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York.
- Schneider, H.** 2007. *Metodo de Analise Filogenetica: Um Guia Pratico*. Editora Holos–Sociedade Brasileira de Genetica Press, Ribeirao Preto.
- Silva, J. M. C., Rylands, A. B., Fonseca, G. A. B.,** 2005. The fate of Amazonian areas of endemism. *Conserv. Biol.***19**: 689–694.
- Silveira, L.F. & Olmos, F.** 2007. Quantas espécies de aves existem no Brasil? Conceitos de espécies, conservação e que falta descobrir. *Revista Brasileira de Ornitologia* **15(2)**: 289-296.
- Sorenson, M.D., Ast, J.C., Dimcheff, D.E., Yuri, T. & Mindell, D.P.** 1999. Primers for a PCR-based approach to mitochondrial genome sequencing in birds and other vertebrates. *Mol. Phylogenet. and Evol.* **2**: 105–114.
- Stamatakis** 2006. RAxML-VI-HPC: Maximum Likelihood-based Phylogenetic Analyses with Thousands of Taxa and Mixed Models”. *Bioinformatics* **22**: 2688–2690.
- Sullivan, J. & P. Joyce.** 2005. Model selection in phylogenetics. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* **36**: 445-466.
- Tamura, K. & Nei, M.** 1993. Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Mol. Biol. Evol.* **10**:512–526.
- Tamura, K. et al.** 2011. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Molecular Biology and Evolution*.
- Tello, J.G., Moyle, R.G., Marchese, D.J. & Cracraft, J.** 2009. Phylogeny and phylogenetic classification of the tyrant flycatchers, cotingas, manikins, and their allies (Aves: Tyrannides). *Cladistics* **25**: 429-467.
- Thompson, J. D., D. G. Higgins & T. J. Gibson** 1994. CLUSTAL-W: Improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research* **22**: 4673–4680.
- Vallinoto, M., Sequeira, F., Sodr , D., Bernardi, J.A.R., Sampaio, I., Schneider, H.** 2010. Phylogeny and biogeography of the *Rhinella marina* species complex (Amphibia, Bufonidae) revisited: implications for Neotropical diversification hypotheses. *Zool.Scr.* **39**: 128–140.
- Walker, R.S. & Ribeiro, L.A.** 2011. Bayesian phylogeography of the Arawak expansion in lowland South America. *Process. Roy. Soc.* **278**: 2562-2567.

- Wallace, A. R.** 1852. On the monkeys of the Amazon. *Proc. Zool. Soc. Lond.* **20**:107–110.
- Weir, B. S., & Hill, W. G.** 2002. Estimating F-statistics. *Annual Review of Genetics* **36**:721–750.
- Xia, X. & Xie, Z.** 2001. DAMBE: Data analysis in molecular biology and evolution. *Journal of Heredity* **92**: 371-373.