





MUSEU PARAENSE EMÍLIO GOELDI UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOLOGIA

REVISÃO SISTEMÁTICA DO GÊNERO MYIOBIUS GRAY, 1839 (AVES: ONYCHORHYNCHIDAE)

Saulo Borges de Azevedo

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Zoologia, Curso de Mestrado, do Museu Paraense Emílio Goeldi e Universidade Federal do Pará como requisito parcial para obtenção do grau de mestre em Zoologia.

Orientador: Dr. Alexandre Aleixo

Co-orientador: Dr. Lincoln Silva Carneiro

Area de concentração: Evolução

Linha de Pesquisa: Sistemática e taxonomia

BELÉM-PARÁ 2017

SAULO BORGES DE AZEVEDO

REVISÃO SISTEMÁTICA DO GÊNERO *MYIOBIUS* GRAY, 1839 (AVES: ONYCHORHYNCHIDAE)

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Zoologia, Curso de Mestrado, do Museu Paraense Emílio Goeldi e Universidade Federal do Pará como requisito parcial para obtenção do grau de mestre em Zoologia.

Orientador: Dr. Alexandre Aleixo

Co-orientador: Dr. Lincoln Silva Carneiro

BELÉM-PARÁ 2017

Dados Internacionais de Catalogação- na-Publicação (CIP) Biblioteca do Instituto de Ciências Biológicas - UFPA

Azevedo, Saulo Borges de

Revisão sistemática do gênero Myiobius Gray, 1839 (Aves: Onychorhynchidae) / Saulo Borges de Azevedo ; Orientador, Alexandre Aleixo ; Co-orientador, Lincoln Silva Carneiro. - 2017.

65 f. : il.

Inclui bibliografia

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Pará, Instituto de Ciências Biológicas, Programa de Pós-graduação em Zoologia, Belém, 2017.

Museu Paraense Emílio Goeldi

1. Pássaros - filogenia. 2. Biogeografia. I. Aleixo, Alexandre, orientador. II. Carneiro, Lincoln Silva, co-orientador. III. Museu Paraense Emílio Goeldi. IV. Titulo.

CDD - 22 ed. 598.8

SAULO BORGES DE AZEVEDO

REVISÃO SISTEMÁTICA DO GÊNERO *MYIOBIUS* GRAY, 1839 (AVES: ONYCHORHYNCHIDAE)

Banca Examinadora:

Dr. Alexandre Aleixo

Orientador Departamento de Zoologia, Museu Paraense Emílio Goeldi

Dr. Lincoln Silva Carneiro

Co-orientador Departamento de Zoologia, Museu Paraense Emílio Goeldi

Dr. Marcos Pérsio Dantas Santos

Titular Universidade Federal do Pará Instituto de Ciências Biológicas

Dr. Fabio Sarubbi Raposo do Amaral

Titular *Universidade Federal de São Paulo*Departamento de Ciências Exatas e da Terra

Dr. Vitor de Queiroz Piacentini

Titular

Universidade de Drexel Academy of Natural Sciences, Ornithology Department

Dr. José Maria Cardoso da Silva

Titular
University of Miami
Department of Geography and Regional Studies

Dr. Luis Fábio Silveira

Titular

Universidade de São Paulo Museu de Zoologia da USP, Seção de Aves

Dedico à memória dos meus amados pais

Eunice & Antonio

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por todas as provas de amor e cuidado demonstradas a mim;

Agradeço aos meus eternos amores, meus pais Eunice e Antonio, por me mostrarem o valor do trabalho e honestidade. Guardarei vocês pra sempre em meu coração!

Agradeço aos meus queridos tios Oleni e Francisco 'Novinho', um CASAL DE OURO, por terem aberto as portas de sua casa, recebendo-me e abrigando como um filho, num dos piores momentos da minha vida. Agradeço pelas palavras de ânimo e por acreditarem em mim, mesmo quando nem eu mesmo o fazia. Amo muito vocês!

Agradeço à minha irmã Samara pelo companheirismo e amor;

Agradeço aos meus irmãos Silas e Samuel, por acreditarem em mim e pela nossa união;

Agradeço aos meus primos, que também são meus irmãos, Aires, Fernando, Keilynha, pelos os momentos de alegria, e palavras de ânimo;

Agradeço à minha prima Jeovânia pelo amor e carinho;

Agradeço à minha querida avó "Lili" por ser um anjo na terra;

Agradeço aos meus familiares que torceram à concretização deste sonho;

Agradeço a minha grande amiga Elizabeth 'Beth' por todos os momentos de alegria e companheirismo;

Agradeço aos amigos de laboratório e mestrado: Áurea, Bruno, Tiago, Roxiris, Geraldo, Gilmax, Camila, Tânia, Nayron, Larissa, Tibério, dentre outros, por todas as conversas e ajuda.

Agradeço à Sofia por toda ajuda prestada, muito obrigado!

Agradeço aos amigos que conquistei aqui em Belém e que me ajudaram no início desta jornada: Leilton, Dona Deusa, Dona Soraya, Victória, dentre outros.

Agradeço ao meu orientador Aleixo e ao meu co-orientador Lincoln, por todo direcionamento prestado à realização desta pesquisa. Muito obrigado!

Agradeço aos colaborares do MZUSP, LSUMZ, e do MPEG por cederem material biológico à realização deste estudo. Sem a colaboração de vocês este trabalho não seria realizado. Muito Obrigado!

Agradeço ao CNPq pelo amparo financeiro à realização desta pesquisa. Muito obrigado!

A todos que ajudaram direta ou indiretamente neste trabalho o meu muito obrigado!

SUMÁRIO

Lista de figuras	08
1) Introdução	12
1.1 Incerteza taxonômica e revisão sistemática,	13
1.2 Gênero Myiobius Gray, 1839	14
1.3 Espécies de Myiobius Gray, 1839.	15
1.3.1 Myiobius sulphureipygius Sclater, 1857	16
1.3.2 Myiobius villosus Sclater, 1860	17
1.3.3 Myiobius barbatus Gmelin, 1789	18
1.3.4 Myiobius atricaudus Lawrence, 1863	19
2) Material e Métodos.	21
3) Resultados	26
3.1 Relações filogenéticas em Myiobius barbatus	33
3.2 Relações filogenéticas em Myiobius atricaudus	35
4) Discussão	37
Referências	41
Anexo 1	49
Anexo 2	60
Anexo 3	60
Anexo 4	61
Anexo 5	61
Anexo 6	62
Anexo 7	63
Anexo 8	64
Anexo 9	66
Anexo 10.	67

LISTA DE FIGURAS

- **Figura 1.** Delimitação das oito áreas de endemismo reconhecidas para vertebrados terrestres na Amazônia. **Fonte**: Borges & Silva (2012).
- **Figura 2.** Árvore bayesiana consenso com base em cinco marcadores moleculares. Os valores de suporte dos ramos são apresentados como probabilidades posteriores bayesianas (PP), e valores *bootstrap* de máxima verossimilhança (ML) em cada nó (PP/ML). Um asterisco (*) denota valores de PP equivalentes a 0,98 ou superiores e valores de ML de 90 ou maiores (Adaptada de Ohlson *et al.*, 2013).
- **Figura 3.** Mapa de distribuição das espécies de *Myiobius*: (A). *M. sulphureipygius*; (B) *M. villosus*; (C). *M. barbatus*; (D). *M. atricaudus*. **Fonte**: Farnsworth & Lebbin (2016a, b, c, d).
- **Figura 4A-B.** Representação geográfica das amostras de tecidos utilizadas. (A). *Myiobius sulphureipygius*; (B). *Myiobius villosus*. As manchas de diferentes cores sobre o mapa compreendem a extensão geográfica das subespécies de acordo com a literatura (Farnsworth & Lebbin, 2016a, b). Os pontos em vermelho correspondem às localidades de coleta dos espécimes sequenciados.
- **Figura 5A-B.** Representação geográfica das amostras de tecidos utilizadas. (A). *Myiobius barbatus*; (B). *Myiobius atricaudus*. As manchas de diferentes cores sobre o mapa compreendem a extensão geográfica das subespécies de acordo com a literatura (Farnsworth & Lebbin, 2016c, d). Os pontos em vermelho correspondem às localidades de coleta dos espécimes sequenciados.
- **Figura 6**. Fórmula para o cálculo das taxas de substituição "corrigida" baseada na massa corporal. **Fonte**: Nabholz *et al.* (2016)
- **Figura 7.** Inferência bayesiana com banco de dados concatenado (ND2, COI e ACO1). As barras logo ao lado dos ramos terminais correspondem às espécies encontradas, sendo estas demonstradas por 'i-iv', a saber: (i, vermelho): *M. atricaudus*; (ii, verde): *M. barbatus*; (iii, azul-claro): *M. villosus* e (iv, amarelo-claro): *M. sulphureipygius*. Os números em cada um dos nós correspondem às probabilidades posteriores encontradas. O símbolo * compreende o grupo externo utilizado. As tarjas em vermelho e em verde compreendem os híbridos encontrados no presente estudo, i.e. indivíduos fenotipicamente pertencentes à *M. atricaudus* que se agruparam geneticamente com *M. barbatus* e vice-versa.
- **Figura 8A-B.** Inferência bayesiana com banco de dados concatenado (ND2, COI e ACO1) e mapas com as amostras utilizadas. Os símbolos apontados na filogenia são encontrados no mapa ao lado da filogenia. As letras de A-R correspondem às populações estabelecidas, a saber: (A) "i" corresponde à espécie *M. atricaudus;* (B) "ii, iii, e iv" correspondem às espécies *M. barbatus, M. villosus* e *M. sulphureipygius,* respectivamente. Os híbridos estão demonstrados pelos números 1-4, em vermelho.
- **Figura 9.** Árvore de espécie inferida pelos marcadores ND2, COI e ACO1 para o gênero *Myiobius*. Cada um dos terminais compreende uma espécie de *Myiobius*. Os

valores de probabilidade posterior dos nós estão descritos na legenda ao lado da filogenia. Foram utilizadas 59 amostras de indivíduos, sendo *M. barbatus* (32), *M. atricaudus* (20), *M. sulphureipygius* (04), *M. villosus* (04). A presente filogenia foi obtida com a calibração 2.

Figura 10. Redes de haplótipos para os marcadores ND2, COI, ACO1 e βfib5 (n=39, 46, 51, 13 espécimes, respectivamente). As cores indicam as diferentes populações reveladas pelas análises filogenéticas, sendo estas: norte do rio São Francisco (Lilás), sul do rio São Francisco (Azul-escuro), oeste do centro de endemismo Guiana (Amarelo), leste do centro de endemismo Guiana (Verde), Rondônia (Vermelho), Tapajós-Xingu (Laranja), Inambari (Branco), Maranhão-Piauí (Azul-claro), e Belém (Bege). As setas cor-de-laranja correspondem aos híbridos.

Figura 11. Árvore de espécie inferida pelos marcadores ND2, COI e ACO1 para *M. barbatus*. As letras ao lado dos terminais (A-F) compreendem as populações testadas, ao passo que suas subespécies correspondentes estão destacadas por caixas de texto em diferentes cores. Além destas, também há uma população não nomeada previamente, descrita como "ssp 1". Os valores de probabilidade posterior dos nós estão descritos na legenda ao lado da filogenia. Foi utilizado um indivíduo de cada população.

Figura 12. Redes de haplótipos para os marcadores ND2, COI, ACO1 e βfib5 (n=25, 27, 28, e 12, respectivamente). As cores indicam as diferentes populações reveladas pelas análises filogenéticas, sendo estas: Tapajós-Rondônia (Laranja), Belém (Bege), Mata Atlântica (Azul-escuro), Maranhão (Azul-claro), Xingu (Rosa), Inambari (Branco), Guiana (Marrom), América Central (Vermelho). As setas cor-de-laranja correspondem aos híbridos.

Figura 13. Árvore de espécie inferida pelos marcadores ND2, COI e ACO1 para *M. atricaudus*. As letras ao lado dos terminais (A-H) compreendem as populações testadas, ao passo que suas subespécies correspondentes estão descritas ao lado dos terminais por caixas de texto em diferentes cores. Além dessas, também há duas população não nomeadas previamente, descritas como "ssp 1". Os valores de probabilidade posterior dos nós estão descritos na legenda à direita da filogenia. Foram utilizados 20 amostras de indivíduos. A presenta filogenia compreende a calibração 2.

RESUMO

Neste trabalho é apresentado um estudo filogenético sobre o gênero Myiobius, um grupo de aves passeriformes reconhecidas à família Onychorhynchidae, estimando as relações evolutivas entre suas espécies, bem como são apresentadas análises intraespecíficas de duas espécies, nas quais foi possível recuperar as relações entre as subespécies de cada uma delas, e influência de barreiras biogeográficas como rios na diversificação das mesmas. Para isso se fez uso de sequências de dois marcadores mitocondriais (ND2 e COI) e dois loci nucleares (ACO1 e \beta fib5) oriundas de 90 indivíduos com ampla distribuição na América do sul e Central. Os dados confirmaram a monofilia recíproca entre linhagens oriundas do Oeste da Cordilheira dos Andes e a aquelas do Leste desta cadeia de montanhas; recuperaram relações de proximidade entre as espécies M. barbatus/sulphureipygius/villosus, e distanciamento evolutivo destas três espécies de M. atricaudus; além disso, duas de suas espécies, simpátrias e crípticas (M. barbatus e M. atricaudus), ainda hibridizam entre si, embora tenham sido recuperadas como distantes evolutivamente. Foi verificado que os principais rios da bacia amazônica influenciaram a diversificação das espécies do gênero, com as análises recuperando populações de diferentes interflúvios como distintas evolutivamente uma da outra.

Palavras-chave: *Myiobius*, filogenia, barreiras biogeográficas, Amazonia, Cordilheira dos Andes, Mata Atlântica, Cerrado, Caatinga.

ABSTRACT

This work presents a phylogenetic study on the *Myiobius* genus, a passerine group recognized to Onychorhynchidae family, We estimated the evolutionary relationships among their species, as well as intraspecific analyzes in two of them, it was possible to recover their subespecies relationships, and biogeographic barriers influence, as rivers, in their diversification. For this, two mitochondrial markers (ND2 and COI) and two nuclear loci (ACO1 and βfib5) were used from 90 individuals with a wide distribution in South and Central America. The data confirmed reciprocal monophyly between lineages from west and from east of Andes; We recovered close relationship between *M. barbatus / sulphureipygius / villosus* species, and evolutionary distance of *M. atricaudus*; moreover, two of its sympatric and cryptic species (*M. barbatus* and *M. atricaudus*) still hybridize to each other, although they have been recovered as evolutionarily distant. It was verified that main Amazon basin rivers influenced the diversification of genus species, recovering populations from different interfluves as distinct evolutionarily from others.

Keywords: *Myiobius*, phylogeny, biogeographic barriers, Amazon, Andes, Atlantic Forest, Cerrado, Caatinga.

REVISÃO SISTEMÁTICA DO GÊNERO MYIOBIUS GRAY, 1839 (AVES: ONYCHORHYNCHIDAE)

1. INTRODUÇÃO

A região neotropical possui uma das maiores diversidades biológicas do mundo e, devido a isto, tem sido alvo de uma gama de estudos. Entre as principais teorias propostas para explicar a diversificação biológica nesta região, destacam-se: o soerguimento dos Andes (Chapman, 1917), os refúgios florestais pleistocênicos (Haffer, 1969), a teoria dos rios como barreiras geográficas (Wallace, 1853; Sick, 1967), e as transgressões marinhas (Nores, 1999; Bates, 2001).

Após a constatação de que os principais rios da bacia amazônica delimitam, em interflúvios, a distribuição de alguns grupos endêmicos de vertebrados, foram propostas as atualmente denominadas áreas de endemismo (Cracraft, 1985; Silva *et al.*, 2005; Borges & Silva, 2012). Contemporaneamente, são reconhecidas nove áreas de endemismo para a Amazônia, essencialmente a partir de estudos com aves e primatas, a saber: Guiana, Imeri, Napo, Inambari, Rondônia, Tapajós, Xingu, Jaú e Belém (Silva *et al.*, 2005; Borges & Silva, 2012, Figura 1).

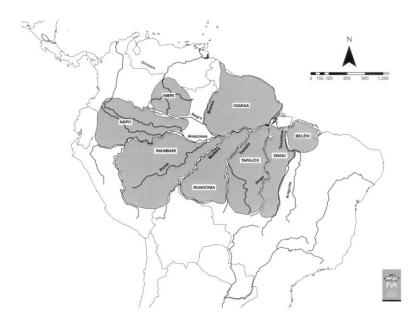


Figura 1. Delimitação das nove áreas de endemismo reconhecidas para vertebrados terrestres na Amazônia. **Fonte**: Borges & Silva (2012).

1.1 Incerteza taxonômica e revisão sistemática

Taxonomias não condizentes com o histórico evolutivo de grupos biológicos distintos podem acarretar em subestimativas da biodiversidade existente, bem como na eficiência de manejos ambientais e na conservação de espécies (Agapow *et al.*, 2004; Knapp *et al.* 2005; Bortolus, 2008).

A classificação taxonômica tradicional era baseada principalmente em caracteres morfológicos, levando taxonomistas a alocarem diversos organismos como integrantes de uma mesma espécie somente por estes se apresentarem muito semelhantes. Entretanto, recentemente estudos têm demonstrado que estas espécies criadas, muitas vezes, incluem indivíduos diagnosticáveis por seu hábito alimentar, localização e interações específicas com os demais organismos. Deste modo, esta gama de características sugere que uma determinada espécie compreende, na verdade, um complexo de espécies crípticas (Burns, 2008), ou seja, táxons que não podem ou são difíceis de serem diferenciadas pelas percepções humanas, porém são normalmente diferenciados no ecossistema ou em análises moleculares. A elevação do número de revisões taxonômicas, e por conseguinte do reconhecimento de espécies novas, é proveniente, geralmente, da constatação de que o uso exclusivo de características morfológicas (Hillis, 1987; Irestedt et al., 2004; Lôbo-Hajdu, 2006) não é, na maioria das vezes, suficiente para clarificar a história evolutiva de linhagens taxonômicas distintas (Bortolus, 2008). Por outro lado, alguns trabalhos têm levantado críticas à esta metodologia, acusando-a de gerar a chamada "inflação taxonômica" (=elevação ao nível de espécie de táxons subespecíficos já conhecidos; veja Knapp et al., 2005).

Pesquisas revelam que muitas das espécies com extensa distribuição na Amazônia são, na realidade, compostas por complexos de espécies (Aleixo *et al.*, 2013; Batista *et al.*, 2013; Whittaker *et al.*, 2013), ou seja, por populações alopátricas ou parapátricas muito diferenciadas tanto vocal quanto geneticamente, as quais se comportam como unidades evolutivas independentes. Deste modo, outros estudos taxonômicos poderão revelar uma diversidade maior do que a conhecida atualmente para a avifauna da bacia amazônica.

A delimitação de espécies é de suma importância, visto que estas compreendem as unidades básicas para análises em uma gama de disciplinas tais como a biogeografia,

ecologia e macroevolução (Sites & Marshall, 2004). Desta forma, estudos que investigam o histórico evolutivo de populações agregadas dentro de uma mesma espécie biológica são fundamentais para confirmar se os limites interespecíficos primeiramente reconhecidos para a espécie são realmente coerentes com os padrões de evolução do grupo (Watson, 2005).

1.2 Gênero Myiobius Gray, 1839.

O gênero *Myiobius* compreende um grupo de aves passeriformes, de corpo delgado (Schulenberg *et al.*, 2010); olhos grandes escuros; cauda longa escura; uropígio amarelo pálido; e bico largo com cerdas rictais longas em sua base (Hilty, 2002). Seus integrantes forrageam ativamente em florestas de sub-bosque, com o corpo inclinado para frente, com as penas da cauda espalhadas em forma de leque, e as asas levemente inclinadas (Schulenberg *et al.*, 2010).

A primeira descrição do grupo foi realizada por Swainson em 1827, atribuindo o nome *Tyrannula* ao mesmo. No entanto, Darwin em 1839 propôs a substituição deste nome por *Myiobius*, acreditando que o primeiro se tratava de um homônimo júnior de *Tyrannulus* (estabelecido por Vieillot em 1816). Entretanto, Darwin não designou uma espécie tipo para o gênero, sendo isto feito por Gray em 1840 (Zimmer, 1952), o qual selecionou *Muscicapa barbata* [= *Myiobius barbatus* (Gmelin, 1789)] para este fim.

Myiobius apresenta um histórico problemático com respeito ao seu relacionamento com outros gêneros, bem como sua alocação em uma determinada família. Inicialmente, Ames (1971) propôs que Myiobius, Terenotriccus e Onychorhynchus eram proximamente relacionados entre si, baseando-se na presença de dois elementos A duplos na seringe e na ausência de um músculo intrínseco a este órgão. Traylor (1977, 1979) seguindo este pensamento, alocou-os em Fluvicolinae, subfamília de Tyrannidae. Posteirormente, Lanyon (1988b) realocou Onychorhynchus ao grupo Flatbill/Tody-tyrant assemblage, e Myiobius e Terenotrricus em um grupo separado, Empidonax assemblage, juntamente com espécies de Myiophobus (Lanyon, 1988a). Birdsley (2002), analisando os dados de Lanyon, encontrou um relacionamento próximo entre Onychorhynchus, Myiobius e Terenotriccus, porém sugeriu uma relação destes com Cnipodectes.

Tello & Bates (2007) e Rheindt *et al.* (2007) concluíram que os três gêneros não pertenciam à Tyrannidae. Ohlson *et al.* (2008), baseando-se em dados moleculares, concluíram que estes estavam mais relacionados à Tityridae. Mais recentemente, numa filogenia baseada em dados moleculares proposta por Ohlson *et al.* (2013; Figura 2) para os suboscines do Novo Mundo, *Myiobius* passou a ser classificado como integrante de uma família independente denominada Onychorhynchidae, juntamente com *Onychorhynchus* e *Terenotriccus*.

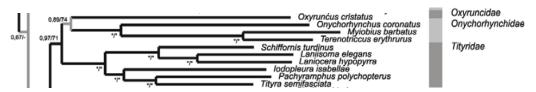


Figura 2. Árvore bayesiana consenso com base em cinco marcadores moleculares. Os valores de suporte dos ramos são apresentados como probabilidades posteriores bayesianas (PP), e valores *bootstrap* de máxima verossimilhança (ML) em cada nó (PP/ML). Um asterisco (*) denota valores de PP equivalentes a 0,98 ou superiores e valores de ML de 90 ou maiores (Adaptada de Ohlson *et al.*, 2013).

1.3 Espécies de Myiobius Gray, 1839.

A primeira espécie de *Myiobius* a ser formalmente descrita compreende *Muscicapa barbata* de Gmelin, em 1789, de Caiena, tendo como base as figuras de Buffon. Posteriormente, foram descritas as espécies *Muscicapa mastacalis* de Wied, 1821, e *Platyhthynchus xanthopygus* de Spix, 1825. Em 2003, *Platyhthynchus xanthopygus* Spix, 1825 foi sinonimizada com *Muscicapa mastacalis* Wied, 1821 (Dickinson, 2003). Em 1857, Sclater descreveu a terceira espécie, oriunda do México, com o nome de *Tyrannula sulphureipygius*, utilizando-se do nome genérico de Swainson. Enquanto isso, o táxon *Myiobius* passava a ser usado com maior frequência. Logo depois em 1860, Sclater descreveu uma quarta espécie com ocorrência no Equador, nomeada de *Myiobius villosus*. Inicialmente, *M. atricaudus* foi tratada como coespecífica de *M. barbatus* (Ridgway, 1907), porém Cory & Hellmayr (1927) as trataram como espécies separadas, e isto tem sido mantido na maioria das classificações subsequentes. Von Berlepsch, em 1888, descreveu o sexto táxon do gênero, *M. ridgwayi*, porém Sclater recusou admitir este táxon como espécie independente, exceto como subespécie de *M. atricaudus* (Todd, 1922).

Não há consenso na literatura acerca do número de espécies que compõe *Myiobius*. Enquanto uma linha de pensadores (e.g. Farnsworth & Lebbin, 2016a, b, c, d)

trabalha com quatro espécies politípicas: *M. barbatus* (5 subespécies), *M. atricaudus* (7 subespécies), *M. villosus* (4 subespécies) e *M. sulphureipygius* (2 subespécies), uma outra (e.g. Rheindt *et al.*, 2007; Davis, 2008) trata *M. sulphureipygius* e *M. barbatus* como dois grupos de subespécies (um transandino e outro cisandino) de uma única espécie, *M. barbatus*, cuja ocorrência abrange do México ao Brasil. Análises com genes mitocondriais (e.g. ND2) revelaram divergência não corrigida de 7.6% entre *M. barbatus* e *M. sulphureipygius* (Rheindt *et al.*, 2007).

Myiobius ocorre em grande parte da América Central e América do Sul, abrangendo a região amazônica, tanto sua porção brasileira quanto a extra-brasileira, alcançando também a Mata Atlântica, Cerrado e Caatinga (ver Farnsworth & Lebbin, 2016a, b, c, d). Habitam diversos ambientes, como o sub-bosque de floresta de terra firme, floresta de galeria e de crescimento secundário tardio (M. barbatus e M. sulphureipygius), matas de várzea (M. atricaudus) e florestas de alta altitude (M. villosus; Farnsworth & Lebbin, 2016a, b, c, d).

A seguir é apresentada uma síntese sobre o conhecimento atual da taxonomia e distribuição geográfica das espécies de *Myiobius*.

1.3.1 Myiobius sulphureipygius Sclater, 1857.

A espécie politípica *Myiobius sulphureipygius* foi descrita por Sclater em 1857, tendo como localidade tipo Córdoba, Veracruz, México (Figura 3A). É caracterizada por possuir de 12 a 13.5 cm de comprimento, e em média 12 g. Diagnostica-se de *M. barbatus* e *M. atricaudus* por possuir o tórax e lados distintamente lavados de ocre, sendo este um caráter compartilhado com *M. villosus* (Todd, 1922). De acordo com Farnsworth & Lebbin (2016a) *M. sulphureipygius* possui duas subespécies, sendo estas:

❖ M. s. sulphureipygius (Sclater, 1857)

Sua área de ocorrência abrange o sudeste do México, do sul de Veracruz ao norte de Oaxaca; sul da costa caribenha para Honduras (Farnsworth & Lebbin, 2016a; Figura 4A). Diagnostica-se dos demais táxons por apresentar o tórax e os lados mais escuros e por apresentar a região ventral de cor amarelo mais escuro e menos estendida posteriormente com relação a sua forma coespecífica (Todd, 1922).

❖ M. s. aureatus Bangs, 1908.

Ocorre no sul de Honduras; sul da costa caribenha e localmente ao longo da costa do Oceano Pacífico na Costa Rica e no Panamá para as terras baixas do Pacífico do oeste da Colômbia e do oeste do Equador (Farnsworth & Lebbin, 2016a; Figura 4A). É muito similar a uma subespécie de *M. barbatus* (e.g. *M. barbatus mastacalis*). Diagnostica-se da subespécie nominal por se apresentar mais pálida (Todd, 1922).

❖ 1.3.2 *Myiobius villosus* Sclater, 1860.

A espécie politípica *Myiobius villosus* foi descrita por Sclater em 1860 tendo como localidade tipo Nanegal, Pichincha, Equador. É caracterizada por possuir 14 cm de comprimento, e em média 13 g. A sua área de ocorrência abrange Panamá, Colômbia. Peru, Bolívia, Venezuela e Equador (Figura 3B). É diagnosticada dos seus congêneres por apresentar maior tamanho corporal e região ventral verde escuro (Farnsworth & Lebbin, 2016b). De acordo com Farnsworth & Lebbin (2016b) *M. villosus* possui quatro subespécies, sendo estas:

❖ M. v. villosus Sclater, 1860.

Ocorre localmente no leste do Panamá (Cerro Taracuna), oeste da Colômbia e noroeste do Equador (Farnsworth & Lebbin, 2016b; Figura 4B).

❖ M. v. peruvianus Todd, 1922.

Ocorre do sudeste do Peru, Puno e em La Paz, ao noroeste da Bolívia. Diagnostica-se dos demais táxons por apresentar uma banda mais distinta no tórax, possuindo um amarelo mais amplo abaixo (Farnsworth & Lebbin, 2016b; Figura 4B).

❖ M. v. clarus Zimmer, 1939.

Ocorre do leste do Equador ao leste do Peru. Diagnostica-se dos demais por apresentar o dorso mais esverdeado (Farnsworth & Lebbin, 2016b; Figura 4B).

❖ M. v. schaeferi Aveledo & Pons, 1952.

Ocorre localmente no nordeste da Colômbia e oeste da Venezuela, de Serra de Perijá, Zulia ao rio Chiquito, Tachira. Assemelha-se ao táxon nominal, porém apresenta uma banda forte no tórax (Farnsworth & Lebbin, 2016b; Figura 4B).

❖ 1.3.3 *Myiobius barbatus* Gmelin, 1789.

A espécie politípica *Myiobius barbatus* foi originalmente descrita como *Muscicapa barbata* por Gmelin em 1789 tendo como localidade tipo Caiena (Figura 3C).

M. barbatus é caracterizado por possuir de 12.5 a 12.7 cm de comprimento, e em média 11 g. Habita o sub-bosque florestal de florestas de *terra firme*, floresta de galeria e florestas de crescimento secundário tardio. Atingem tipicamente 1000 m acima do nível do mar; com maior frequência abaixo de 600 m, e localmente a 1300 m no Equador. É substituído por *M. atricaudus* em florestas secas ou alagáveis, e por *M. villosus* em florestas de altitude (Farnsworth & Lebbin, 2016c).

De acordo com Farnsworth & Lebbin (2016c) *M. barbatus* possui cinco subespécies, sendo estas:

❖ *M. b. barbatus* (Gmelin, 1789).

Ocorre no sudeste da Colômbia; sul e leste da Venezuela (sul do Rio Orinoco), das Guianas ao leste do Equador; norte do Peru (norte do Rio Marañón) e norte central do Brasil (norte do Rio Amazonas) (Farnsworth & Lebbin, 2016c).

❖ *M. b. mastacalis* (Wied, 1821).

Ocorre mais ao sul da Mata Atlântica; região sul do Goiás; Paraíba; sul da Bahia, e Santa Cantarina (Traylor, 1979; Figura 5A). Diagnostica-se dos demais táxons por se apresentar mais clara e distinta de todas, com bandas lavadas de amarelo-acastanhado ocre no tórax (Farnsworth & Lebbin, 2016c).

De acordo com Farnsworth & Lebbin (2016c) *M. b. mastacalis* possivelmente compreende uma espécie independente.

❖ M. b. semiflavus Todd, 1919.

Ocorre localmente na região central da Colômbia, Nechí e Antioquia. Assemelha-se ao táxon nominal (Farnsworth & Lebbin, 2016c; Figura 5A).

❖ M. b. amazonicus Todd, 1925.

Ocorre da região mais ao leste do Peru ao rio Madeira e próximo ao braço direito do rio Negro (Traylor, 1979; Figura 5A). Diagnostica-se dos demais táxons por apresentar o tórax mais fulvo com relação os demais (Farnsworth & Lebbin, 2016c).

❖ M. b. insignis Zimmer, 1939.

Ocorre mais ao norte do Brasil, do rio Tapajós ao distrito do Pará (Traylor, 1979; Figura 5A). Diagnostica-se dos demais táxons por apresentar o tórax menos escuro, bege e verde-oliva.

❖ 1.3.4 *Myiobius atricaudus* Lawrence, 1863.

A espécie politípica *Myiobius atricaudus* foi descrita por Lawrence em 1863 tendo como localidade tipo o Istmo do Panamá (Figura 3D). Apresenta de 12 a 12.7 cm de comprimento e 10 g. De acordo com Farnsworth & Lebbin (2016d) *M. atricaudus* possui sete subespécies, sendo estas:

❖ M. a. atricaudus Lawrence, 1863.

Ocorre no Istmo do Panamá; zona tropical da região mais ao sudeste da Costa Rica; e do sul para o oeste da Colômbia (Farnsworth & Lebbin, 2016d; Figura 5B).

❖ M. a. ridgwayi Berlepsch, 1888.

Ocorre localmente no sudeste do Brasil, no Espírito Santo e leste de Minas Gerais até o nordeste do Paraná (Traylor, 1979; Figura 5B). Diagnostica-se dos demais táxons por apresentar a parte ventral e uropígio lavados de amarelo-alaranjado claro com as porções superiores acastanhadas com tom mais leve.

❖ M. a. modestus Todd, 1912.

Ocorre mais ao leste da Venezuela; norte Bolivar (Farnsworth & Lebbin, 2016d; Figura 5B). Diagnostica-se dos demais táxons por possuir uma banda peitoral levemente mais ocre do que a nominal (Farnsworth & Lebbin, 2016d; Figura 5B).

❖ M. a. portovelae Chapman, 1924.

Ocorre mais ao oeste do Equador e extremo norte do Peru. Diagnostica-se dos demais por apresentar uma banda peitoral intensamente oliva-ocre (possuindo a banda mais intensa dentre as subespécies), e barriga de cor amarelo mais claro. A subespécie *portovelae* foi certas vezes agrupada com a nominal, devido às suas similaridades em plumagem e por possuírem suas fronteiras geográficas fracamente definidas. (Farnsworth & Lebbin, 2016d; Figura 5B).

❖ M. a. snethlagei Hellmayr, 1927.

Ocorre na região costeira do nordeste brasileiro e central do Brasil, no interior do Maranhão Piauí; Ceará; Pernambuco; mais ao oeste da Bahia, e sudeste do Goiás (Traylor, 1979; Figura 5B). Diagnostica-se dos demais táxons por apresentar o uropígio lavado de amarelo mais claro, levemente alaranjado; ventre amarelado e pescoço e tórax ligeiramente mais claros.

❖ M. a. adjacens Zimmer, 1939.

Ocorre mais ao sul da Colômbia, em Putumayo; leste do Equador; leste do Peru; oeste do Brasil até o rio Madeira (Traylor, 1979; Figura 5B).

❖ M. a. connectens Zimmer, 1939.

Ocorre mais ao nordeste brasileiro, do Rio Tapajós ao norte do Maranhão (Traylor, 1979; Figura 5B). Diagnostica-se dos demais táxons por apresentar o tórax amarelo claro acastanhado e a uropígio de tom claro.

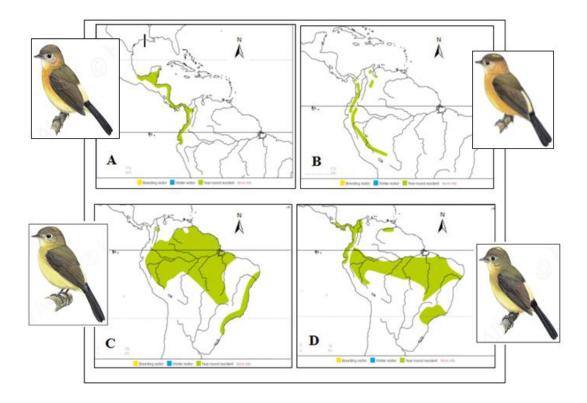


Figura 3. Mapa de distribuição das espécies de *Myiobius*: (A). *M. sulphureipygius*; (B) *M. villosus*; (C). *M. barbatus*; (D). *M. atricaudus*. **Fonte**: Farnsworth & Lebbin (2016a, b, c, d).

As relações filogenéticas entre as espécies de *Myiobius* ainda são pouco conhecidas. Além disso, dentre as espécies de *Myiobius*, *M. barbatus* e *M. atricaudus* são muito problemáticas com respeito às suas diagnoses visto que são muito semelhantes morfologicamente e ocorrem em simpatria em boa parte de suas áreas de ocorrência, além de serem politípicas. Os trabalhos que levaram à divisão e à agregação de espécies dentro de *Myiobius* foram realizados ora com base em caracteres morfológicos externos (e.g. cor da plumagem), ora por ocorrência geográfica. Assim, os principais objetivos desta dissertação foram: a) esclarecer as relações filogenéticas entre as espécies de *Myiobius*; b) verificar se *M. barbatus* e *M. sulphureipygius* compreendem subespécies de uma única espécie ou constituem espécies evolutivamente independentes; c) verificar se *M. barbatus* e *M. atricaudus*, como atualmente definidos, constituem espécies reciprocamente monofiléticas; e d) avaliar se as diferentes subespécies de *M. barbatus* e *M. atricaudus* incluem linhagens evolutivas distintas que possam ser consideradas espécies independentes.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram extraídos o DNA de 90 amostras de tecido referentes às quatro espécies reconhecidas para *Myiobius*, sendo 49 de *M. barbatus* (todas os táxons foram amostrados, exceto *semiflavus*), 28 de *M. atricaudus* (todas os táxons foram amostrados, exceto *portovelae*), 7 de *M. sulphureipygius* (todas os táxons foram amostrados, exceto *sulphureipygius*, porém duas sequências suas foram obtidas no Genbank, Anexo 4), e 6 de *M. villosus* (todas os táxons foram amostrados, exceto *clarus*, e *schaeferi*). Além dessas, duas amostras de *Terenotriccus erythrurus* foram sequenciadas como grupo externo com base no trabalho de Ohlson *et al.* (2013, Anexo 1). No presente estudo foram utilizadas amostras de tecido depositadas na Coleção Ornitológica Fernando C. Novaes do Museu Paraense Emílio Goeldi (MPEG), Museu de Zoologia da USP (MZUSP) e na Louisiana State University Museum of Natural Science (LSUMZ; Figuras 4A-B e 5A-B; Anexo 1), como também sequências depositadas no Genbank (Anexo 4).

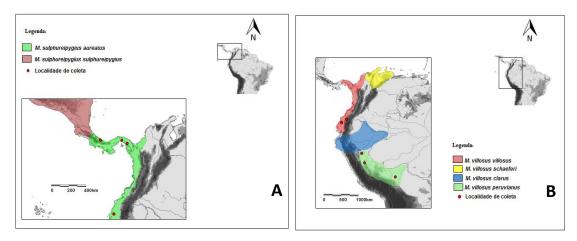


Figura 4A-B. Representação geográfica das amostras de tecidos utilizadas. (A). *Myiobius sulphureipygius*; (B). *Myiobius villosus*. As manchas de diferentes cores sobre o mapa compreendem a extensão geográfica das subespécies de acordo com a literatura (Farnsworth & Lebbin, 2016a, b). Os pontos em vermelho correspondem às localidades de coleta dos espécimes sequenciados.

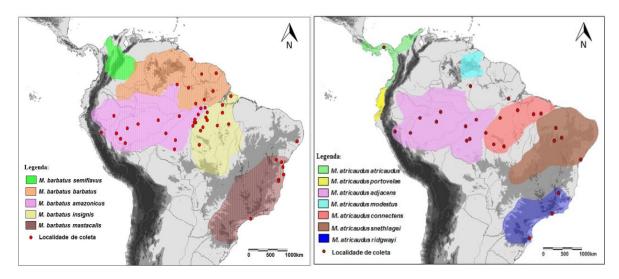


Figura 5A-B. Representação geográfica das amostras de tecidos utilizadas. (A). *Myiobius barbatus*; (B). *Myiobius atricaudus*. As manchas de diferentes cores sobre o mapa compreendem a extensão geográfica das subespécies de acordo com a literatura (Farnsworth & Lebbin, 2016c, d). Os pontos em vermelho correspondem às localidades de coleta dos espécimes sequenciados.

Foram amplificados dois marcadores moleculares mitocondriais (NADH dehidrogenase subunidade 2 - ND2; e Citocromo oxidase subunidade 1 - COI) e dois loci nucleares, a saber: íntron 15 do gene para Aconitase - ACO1, ligado ao cromossomo Z), e íntron 5 do Beta-fibrinogênio - βfib5).

A extração do DNA foi feita de tecidos da musculatura peitoral utilizando, para isto, procedimentos padrões com a técnica de fenol-clorofórmio (Sambrook *et al.*, 1989), para tecido muscular, e através do Kit Dneasy, para partes secas, e ou de amostras de má qualidade. A quantificação do DNA total foi realizada através em Nanodrop2000 (Thermo Scientific). Os fragmentos de DNA de interesse foram amplificados por meio da Reação em Cadeia de Polimerase (PCR). A presente etapa foi realizada no Laboratório de Biologia Molecular (LBM) do Museu Paraense Emílio Goeldi.

O volume total para as reações de PCR compreendeu 25 μl , contendo 10 ng de DNA genômico, 5mM de cada DNTP, 2,5 mM de MgCl2, 1 unidade de Taq DNA polimerase e 5pmol de cada um dos iniciadores (Anexo 2), seguindo o perfil de amplificação descrito no Anexo 3.

Ao término de cada amplificação foi retirada uma pequena alíquota em gel de agarosa 1% para a observação dos produtos amplificados. Posteriormente, os produtos foram purificados com uso de PEG-8000 (*Polietilenoglicol-8000*), para remover resíduos oriundos da PCR, tais como: *DNTPs*, restos de oligos, sais, dentre outros.

Tais produtos foram sequenciados pelo sequenciador automático modelo 3130 da (*Applied Biosystems*) *Kit Bigdye Terminator Cycle Sequencing* v 3.1 de acordo com as especificações do fabricante.

As sequências obtidas foram editadas no programa BioEdit 7.0.5 (Hall, 1999) e alinhadas no CLUSTALW (Thompson *et al.*, 1994), implementado no BioEdit. Os arquivos de entrada (e.g. Phylip e Nexus) utilizados pelos programas, bem como a concatenação dos marcadores utilizados foram gerados no programa SequenceMatrix (Vaidya *et al.*, 2010). A posição das bases nitrogenas nos códons foi verificada pelo programa Mesquite (Maddison & Maddison, 2017). As redes de haplótipos para todos os quatro marcadores utilizados nesse estudo foram obtidas a partir do *software* Haplotype Viewer (Barrett *et al.*, 2005).

As filogenias resultantes foram geradas com base no critério de Inferência Bayesiana (IB) pelo programa MrBayes 3.1.2 (Ronquist & Huelsenbeck, 2003). A seleção do melhor modelo e esquema de partição foi realizada pelo PartitionFinder v1.1.0 (Lanfear *et al.*, 2012), baseada no critério de informação Bayesiano BIC.

Foram realizadas inferências bayesianas para cada marcador separadamente (ACO1, βfib5, ND2 e COI), como também para um banco de dados concatenado com três marcadores (ACO1, ND2 e COI), com 83 amostras. O marcador βfib5 não foi incluído na análise concatenada por possuir poucos indivíduos sequenciados, e deste modo, poderia levar a resultados espúrios. Para isto, foram realizadas duas corridas independentes (dois conjuntos de Markov) de 1 x 10⁷ (dez milhões) de gerações, cada uma contendo três cadeias quentes e uma fria, com uma amostragem realizada a cada 2000 gerações, fornecendo um total de 10 mil amostras para a distribuição das probabilidades posteriores. O programa TRACER 1.5 (Rambaut & Drummond, 2009) foi usado para apontar o ponto em que a zona ótima foi alcançada na análise, ou seja, quando as duas corridas convergiram. As árvores dispostas abaixo da zona ótima foram descartadas por meio de *burnin* de 25%.

Com base na filogenia inferida pelo critério IB com o banco de dados concatenado foi estimada uma árvore de espécies (AE) com o software *BEAST 1.6.1 (Drummond & Rambaut, 2007), que por meio de uma perspectiva coalescente busca a melhor topologia, utilizando-se, para isto, dados multilocus independentes. Para esta análise foram considerados os genes mitocondriais (ND2 e COI) e um dos loci nucleares amplificados (ACO1), para os seguintes bancos de dados: a) todas as espécies de *Myiobius* (60 amostras: 32 de *M. barbatus*, 20 de *M. atricaudus*, 4 de *M.*

sulphureipygius, e 4 de *M. villosus*); b) somente *M. atricaudus* (20 amostras); e c) somente *M. barbatus* (6 amostras, compreendendo um indivíduo por cada população testada, pois quando foi utilizado o banco de dados completo, com 32 amostras, os valores de suporte para dois nós ficaram baixos). Para a análise de árvore de espécie, cada linhagem detectada na IB foi representada por pelo menos um indivíduo sequenciado para todos os marcadores, exceto uma população de *M. barbatus* que possuía apenas dois marcadores sequenciados (e.g. População de Alagoas).

A AE foi inferida a partir de 3 x 10⁸ (trezentos milhões) gerações, utilizando-se um *burnin* de 25%. As estimativas dos tempos de diversificação das linhagens foram realizadas com base no trabalho de Nabholz *et al.* (2016). De acordo com estes autores, as taxas de evolução do genoma mitocondrial variam entre espécies de aves e são correlacionadas com características da história de vida como massa corporal e tempo de geração, além disso, tanto a terceira posição do códon quanto todas as demais posições, as taxas de substituição são correlacionadas negativamente com a massa corporal, no entanto, devido ao efeito da seleção natural ser maior nas posições 1 e 2 que na posição 3 do códon, estas duas primeiras podem apresentar uma baixa relação entre as taxas de substituição e a massa corporal. Deste modo, os autores acreditam que a massa corporal é um melhor preditor da taxa de substituição da terceira posição do códon que das taxas derivadas de todas as posições do mesmo. Assim, no presente trabalho foi inferida somente a taxa de mutação para a terceira posição do códon.

Devido ao fato que as espécies de *Myiobius* apresentam pesos diferentes, fez-se a média de peso das mesmas (neste caso resultou em 11,5g) para inferir um relógio molecular "corrigido" para a terceira posição do códon. Nabholz et al. (2016) propuseram duas calibrações do relógio para a terceira posição do códon (2 e 4, respectivamente). Para a realização dos cálculos para obter tais calibrações, os autores cederam a equação apresentada abaixo (Figura 6). A partir dos valores iniciais cedidos (Calibração 2: *slope* = -0.145; 0.459; Calibração 4, *slope* = -0.247; 0.813), obteve-se seguintes calibrações: Calibração 2 (0.0202)substituições nucleotídicas/milhão de calibração 4 (0.0356)substituições anos) e nucleotídicas/milhão de anos).

Dado que somente a terceira posição do códon foi utilizada para calibrar o relógio molecular, ligou-se o modelo de relógio molecular desta posição dos dois marcadores mitocondriais (ND2 e COI), como também as posições 1 e 2 de ambos os marcadores,

denominando-as "mtdna_3 e "mtdna_1_2", respectivamente. Utilizando o relógio molecular relaxado: lognormal não-correlacionado, que presume taxas independentes de evolução molecular entre os diferentes ramos da filogenia, e a abordagem Yule Process, com prior *lognormal*.

Os modelos evolutivos escolhidos foram: 1) Para o banco de dados contendo somente amostras de *M. barbatus*: K80 para a partição coi_codon1; HKY+I K80 para a partição coi_codon2, nd2_codon1; TrN+I para a partição coi_codon3, nd2_codon2; HKY+G para a partição nd2_codon3, e HKY para ACO1; 2) Para o banco de dados contendo somente amostras de *M. atricaudus*: TrNef para a partição coi_codon1; HKY para a partição coi_codon2, nd2_codon1; TrN+G para a partição coi_codon3, nd2_codon2; HKY+I para a partição nd2_codon3, e HKY+I para ACO1; 3) Para o banco de dados com todas as espécies do gênero *Myiobius*: TrNeF+I para a partição coi_codon1; HKY+I para a partição coi_codon2, nd2_codon1; TrN+G para a partição coi_codon3, nd2_codon2; HKY+I+G para a partição nd2_codon3, e HKY+G para ACO1. As análises IB e AE foram realizadas por meio da Plataforma CIPRES (Miller *et al*, 2010).

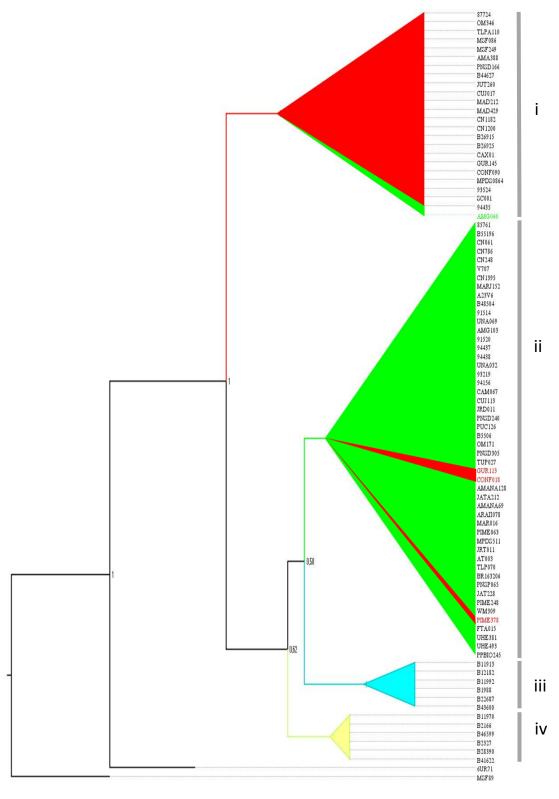
$$Substitution \ rate = \frac{10^{(slope \times log_{10}(Mass) + intercept)}}{100}$$

Figura 6. Fórmula para o cálculo das taxas de substituição "corrigida" baseada na massa corporal. **Fonte**: Nabholz *et al.* (2016)

3. RESULTADOS

Foram amplificados fragmentos de 1016 pares de bases (pb) para o gene ND2, 383 pb para COI, 732 pb para ACO1 e 544 pb para βfib5, totalizando um banco de dados com com 2675 pb. O marcador βfib5 não foi utilizado no banco de dados concatenado, por apresentar um número reduzido de espécimes, o que poderia gerar ruídos nas análises concatenadas. A IB gerada para o banco de dados concatenado (ND2, COI e ACO1) recuperou dois clados principais separados com alto valor de suporte (pp=1; Figura 7). O primeiro incluiu espécimes de *M. atricaudus*, enquanto o segundo aqueles de *M. barbatus*, *M. villosus* e *M. sulphureipygius*.

A espécie *M. barbatus* foi recuperada mais proximamente relacionada à *M. villosus* (separadas com apoio estatístico marginal de pp=0.58), agrupando-se *M. sulphureipygius* como espécie irmã do clado *M. barbatus / villosus* por um alto valor de suporte (pp=0.62).



0.02

Figura 7. Inferência bayesiana com banco de dados concatenado (ND2, COI e ACO1). As barras logo ao lado dos ramos terminais correspondem às espécies encontradas, sendo estas demonstradas por 'i-iv', a saber: (i, vermelho): *M. atricaudus*; (ii, verde): *M. barbatus*; (iii, azul-claro): *M. villosus* e (iv, amarelo-claro): *M. sulphureipygius*. Os números em cada um dos nós correspondem às probabilidades posteriores encontradas. O símbolo * compreende o grupo externo utilizado. As tarjas em vermelho e em verde compreendem os híbridos encontrados no presente estudo, i.e. indivíduos fenotipicamente pertencentes à *M. atricaudus* que se agruparam geneticamente com *M. barbatus* e vice-versa.

Na presente filogenia foi encontrada uma tendência à organização dos indivíduos com base nas áreas de endemismo, ou seja, espécimes de um determinado interflúvio se alocaram próximos entre si ao passo que aqueles de diferentes áreas se agruparam em outros ramos.

No primeiro clado, formado por indivíduos de *M. atricaudus* (i; Figura 8A), foram recuperados dois subclados. O primeiro destes recuperou as seguintes relações de proximidade: 1) entre indivíduos dos centros de endemismo Tapajós-Rondônia (clado A) com outros de Xingu (clado B); 2) entre indivíduos de Inambari, Guiana e América Central (clados C, D, e E, respectivamente); 3) entre indivíduos de Belém (clado F) e Maranhão-Piauí (clado G), enquanto o segundo subclado apresentou somente indivíduos da Mata Atlântica (clado H). Deste modo, foram recuperadas oito linhagens reciprocamente monofiléticas dentro de *M. atricaudus:* i) Rondônia-Tapajós; ii) Xingu; iii) Inambari; iv) Guiana; v) América Central; vi) Belém; vii) Maranhão-Piauí; viii) Mata Atlântica.

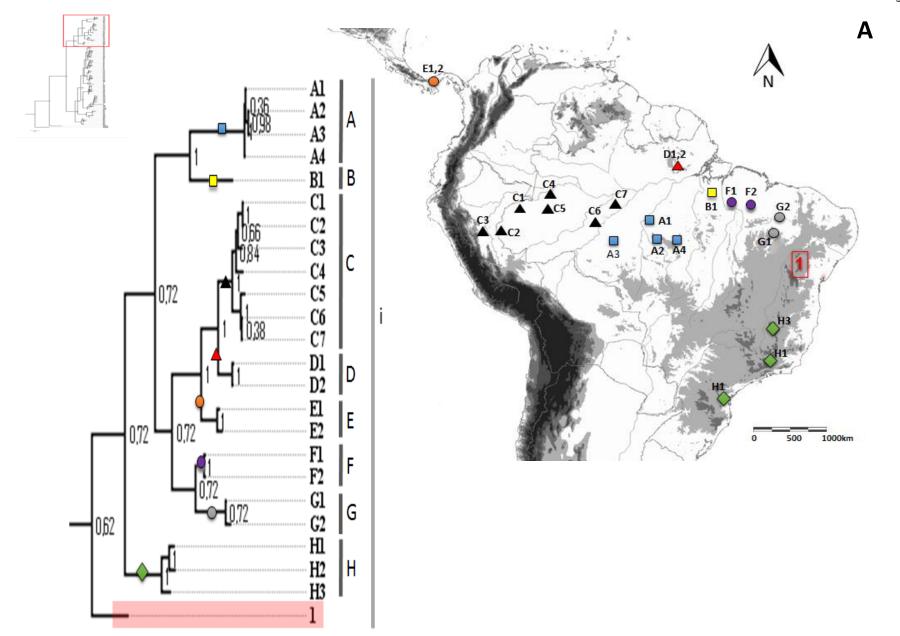
No segundo clado (ii, iii, iv; Figura 8B) foram recuperados dois subclados, o primeiro destes compreendendo indivíduos de *M. barbatus* (ii) e *M. villosus* (iii), enquanto o segundo de *M. sulphureipygius* (iv). No primeiro subclado, o agrupamento formado por *M. barbatus* recuperou as seguintes relações de proximidade: entre o sul do rio São Francisco, Guiana e norte do rio São Francisco, clados I, J, e K, respectivamente, apresentando indivíduos da população K mais proximamente relacionados à indivíduos do escudo das Guianas; entre Inambari (L) e Roraima (M); entre Rondônia (N) e Tapajós-Xingu (O). Foram encontradas sete linhagens reciprocamente monofiléticas dentro de *M. barbatus*.

No agrupamento formado por *M. villosus* foram encontradas duas populações, a primeira compreendendo indivíduos de Peru e Bolívia, e a segunda do Equador. No segundo subclado, formado por espécimes de *M. sulphureipygius*, também foram encontradas duas linhagens, uma no oeste do Equador e outra na América Central.

Nas IB concatenadas e aquelas obtidas para cada marcador separadamente (ND2, COI, ACO1 e βfib5, apresentadas nos Anexos 5-8), foram verificados quatro aparentes

espécimes híbridos em áreas de simpatria entre *M. barbatus* e *M. atricaudus* (Figura 8A-B): MPEG 79882, 69618 e 75522 (Números de tombo) e GUR 113 (Número de Campo).

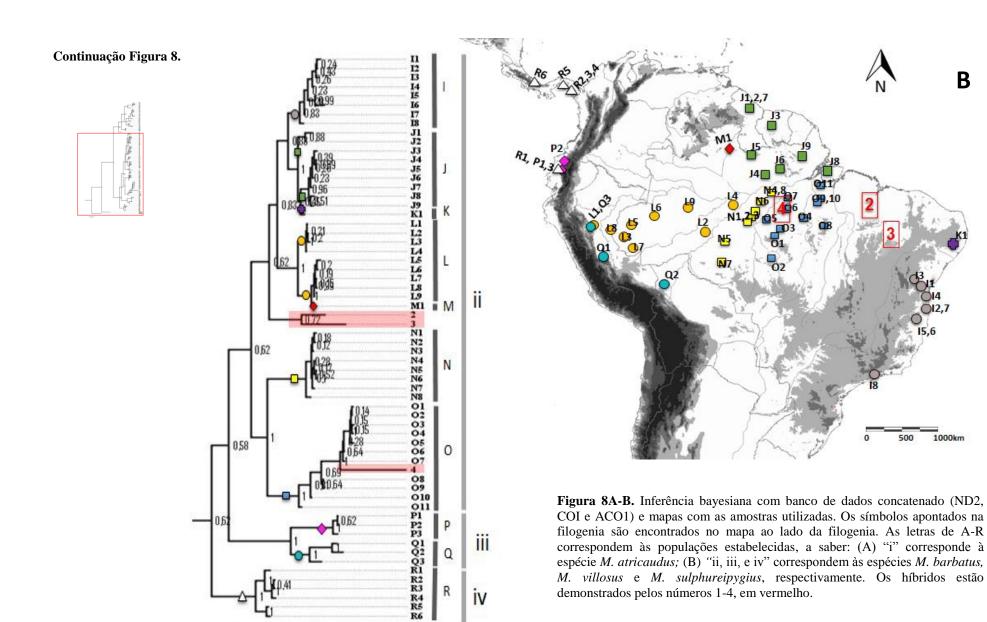
Esses espécimes se alocaram em agrupamentos distintos dependendo da origem do marcador considerado (i.e. mitocondrial ou nuclear): ora dentro do clado *M. barbatus*, ora dentro do clado *M. atricaudus*. Com uma exceção (e.g. GUR 113 – Número de campo), todos os espécimes testemunho associados a essas amostras foram analisados, sendo possível constatar que estes eventos de hibridação se tratam de introgressão mitocondrial, visto que a plumagem de todos correspondeu ao seu posicionamento nas filogenias inferidas para aos marcadores nucleares. O único suposto espécime testemunho híbrido não analisado (associado com a amostra GUR 113) foi destruído acidentalmente ainda em campo, mas provém de um setor da Amazônia (o Centro de Endemismo Belém) habitado exclusivamente por *M. atricaudus*, não tendo até hoje sido reportada a ocorrência de *M. barbatus*, motivo pelo qual é apropriado associar essa amostra como pertencente à *M. atricaudus*. Para informações mais completas sobre os espécimes híbridos verificar o Anexo 1.



В

500

1000km



As calibrações 2 e 4 foram semelhantes em suas datações, sendo encontrada uma datação ligeiramente mais recente para a Calibração 4. Deste modo, serão apresentados somente os resultados da calibração 2 no presente estudo. A AE inferida para o gênero *Myiobius* apresentou dois clados principais (Figura 9), com possível separação ocorrida há ~10 milhões de anos (5,92-14,2 m.a. atrás). O primeiro clado se estabeleceu com espécimes de *M. villosus*, *M. barbatus* e *M. sulphureipygius*, enquanto o último por *M. atricaudus*.

Indivíduos oriundos do oeste e leste da Cordilheira dos Andes, compreendendo *M. sulphureipygius* e *M. barbatus*, respectivamente, apresentaram-se próximos (diferentemente da IB com o banco de dados concatenado, que recuperou *M. barbatus* mais próxima à *M. villosus* que à *M. sulphureipygius*). A separação destas ocorreu possivelmente volta de 3 milhões de anos atrás (0,79-5,72 m.a. atrás), porém com suporte probabilístico baixo (pp=0,66).

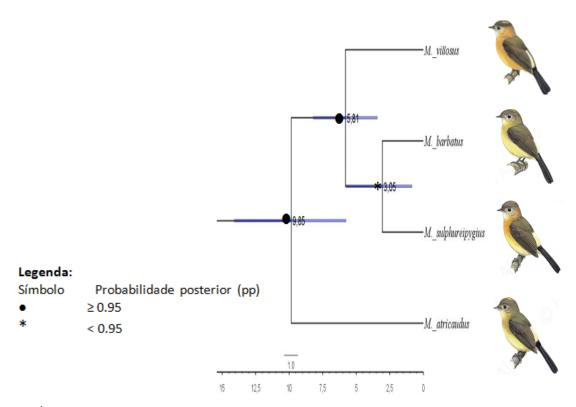


Figura 9. Árvore de espécie inferida pelos marcadores ND2, COI e ACO1 para o gênero *Myiobius*. Cada um dos terminais compreende uma espécie de *Myiobius*. Os valores de probabilidade posterior dos nós estão descritos na legenda ao lado da filogenia. Foram utilizadas 59 amostras de indivíduos, sendo *M. barbatus* (32), *M. atricaudus* (20), *M. sulphureipygius* (04), *M. villosus* (04). A presente filogenia foi obtida com a calibração 2.

3.1 Relações filogenéticas em Myiobius barbatus

As redes de haplótipos (Figura 10) para os marcadores mitocondriais apresentaram tendência à estruturação genética, ao passo que dentre aquelas dos nucleares somente ACO1 apresentou estruturação com compartilhamentos de haplótipos entre os centros de endemismo Rondônia, Tapajós e Xingu; entre Guiana e regiões norte e sul do rio São Francisco; e entre Inambari e oeste da área de endemismo Guiana. Os híbridos (delimitados por setas cor-de-laranja; Figura 10) foram recuperados próximos entre si, ora adjuntos dos demais espécimes e ora separados destes por muitos passos mutacionais.

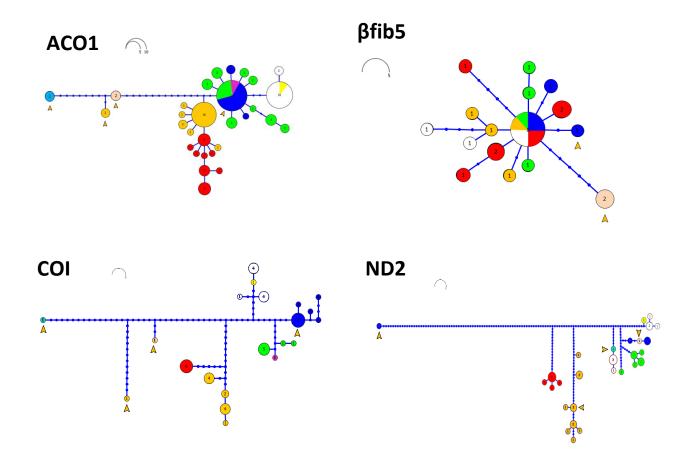


Figura 10. Redes de haplótipos para os marcadores ND2, COI, ACO1 e βfib5 (n=39, 46, 51, 13 espécimes, respectivamente). As cores indicam as diferentes populações reveladas pelas análises filogenéticas, sendo estas: norte do rio São Francisco (lilás), sul do rio São Francisco (azul-escuro), oeste do centro de endemismo Guiana (amarelo), leste do centro de endemismo Guiana (verde), Rondônia (vermelho), Tapajós-Xingu (laranja), Inambari (branco), Maranhão-Piauí (azul-claro), e Belém (bege). As setas cor-de-laranja correspondem aos híbridos.

Das sete populações de *M. barbatus* recuperadas pela IB, somente seis puderam ser testadas na análise de AE devido uma destas (População de Alagoas) não estar representada por todos os marcadores sequenciados, o que poderia levar a resultados espúrios.

A AE inferida para *M. barbatus* recuperou dois clados principais (Figura 11), com separação destes ocorrida por volta de ~4,42 milhões de anos atrás (3,30-5,73 m.a. atrás). O primeiro clado incluiu dois subclados. O primeiro destes apresentou uma relação entre as áreas de endemismo Inambari (População A) e oeste da área de endemismo Guiana (B), ambas correspondendo a subespécie *amazonicus*, com possível separação destas ocorrida por volta de 220 mil anos atrás (164-286 mil anos atrás). O segundo subclado apresentou uma relação entre as porções central e leste da Guiana (C, subespécie *barbatus*) e sul do rio São Francisco (D, ssp *mastacalis*), com separação destas ocorrida por volta de 1,20 milhão de anos atrás (0,90-1,56 m.a. atrás).

O segundo clado incluiu dois subclados. O primeiro destes é constituído por amostras do centro endêmico amazônico Rondônia (E, ssp. 1), enquanto o segundo por amostras de Tapajós-Xingu (F, subespécie *insignis*) com possível separação destes subclados ocorrida há 4 milhões de anos (2,99-5,19 m.a. atrás).

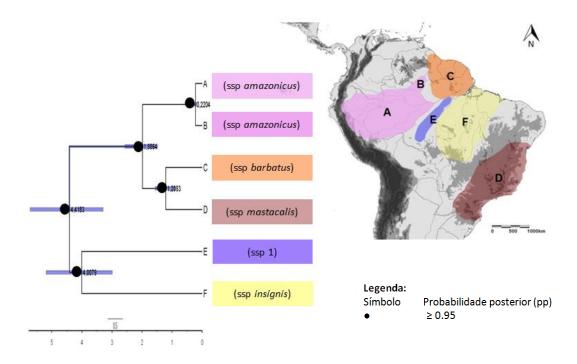


Figura 11. Árvore de espécie inferida pelos marcadores ND2, COI e ACO1 para *M. barbatus*. As letras ao lado dos terminais (A-F) compreendem as populações testadas, ao passo que suas subespécies

correspondentes estão destacadas por caixas de texto em diferentes cores. Além destas, também há uma população não nomeada previamente, descrita como "ssp 1". Os valores de probabilidade posterior dos nós estão descritos na legenda ao lado da filogenia. Foi utilizado um indivíduo de cada população.

No presente trabalho foi percebida para *M. barbatus barbatus* uma área de distribuição menor do que a proposta na literatura contemporânea, com abrangência restrita à porção leste do estudo das Guianas (Anexo 9). Além dos táxons já descritos, foram encontradas duas populações ainda não nomeadas aparentemente, denotadas como *M. barbatus* ssp 1 (interflúvio Madeira-Tapajós) e *M. barbatus* ssp 2 (Mata Atlântica nordestina ao norte do rio São Francisco; Anexo 9).

3.2 Relações filogenéticas em Myiobius atricaudus

As redes de haplótipos (Figura 12) para os marcadores mitocondriais apresentaram tendência à estruturação populacional com compartilhamento de haplótipos em ND2 entre o centro de endemismo Belém e Maranhão-Piauí. Dos marcadores nucleares somente ACO1 apresentou tendência à estruturação, com compartilhamento de haplótipos entre os centros de endemismo Tapajós-Rondônia e Maranhão-Piauí; e entre Inambari e Guiana. Os híbridos (delimitados por setas cor-de-laranja; Figura 12) se apresentaram ora próximos dos demais espécimes e ora separados destes por muitos passos mutacionais.

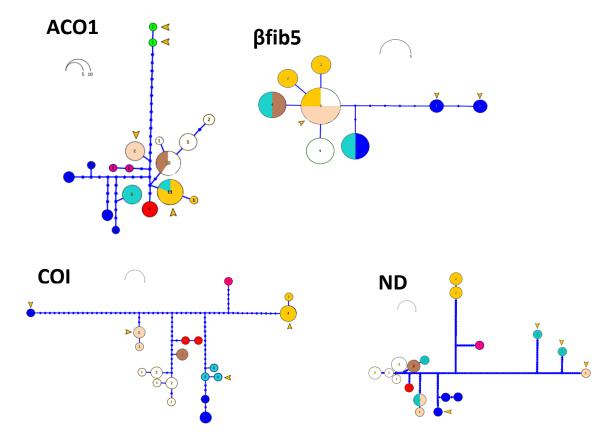


Figura 12. Redes de haplótipos para os marcadores ND2, COI, ACO1 e βfib5 (n=25, 27, 28, e 12, respectivamente). As cores indicam as diferentes populações reveladas pelas análises filogenéticas, sendo estas: Tapajós-Rondônia (laranja), Belém (bege), Mata Atlântica (azul-escuro), Maranhão (azul-claro), Xingu (rosa), Inambari (branco), Guiana (marrom), América Central (vermelho). As setas cor-de-laranja correspondem aos híbridos.

A AE inferida para *M. atricaudus* (Figura 13) recuperou dois clados principais com possível separação ocorrida há ~ 4 milhões de anos (1,78-6,88 m.a. atrás). As relações basais no primeiro clado não foram bem resolvidas (pp=0.75), com as populações dos centros de endemismo Tapajós-Rondônia (A, ssp.1) e Xingu (B, ssp.1) em ramos distintos, porém com baixo apoio as separando. No segundo clado as relações basais também não foram bem suportadas, porém os nós internos apresentaram bom suporte probabilístico, sendo possível recuperar relações de parentesco entre amostras da área de endemismo Belém (C, subespécie *connectens*) com Maranhão-Piauí (D, subespécie *snethlagei*); e entre amostras dos centros de endemismo Inambari (E, subespécie *adjacens*), Guiana (F, subespécie *modestus*), e América Central (G, subespécie *atricaudus*), apresentando as duas primeiras mais próximas entre si. Indivíduos da Mata Atlântica (H, subespécie *ridgwayi*) se apresentaram em um ramo distinto, separados dos espécimes das demais populações

irmãs com baixo valor de suporte. Na presente filogenia, a subespécie *connectens* se apresentou em ambos os clados, nas populações A, B e C.

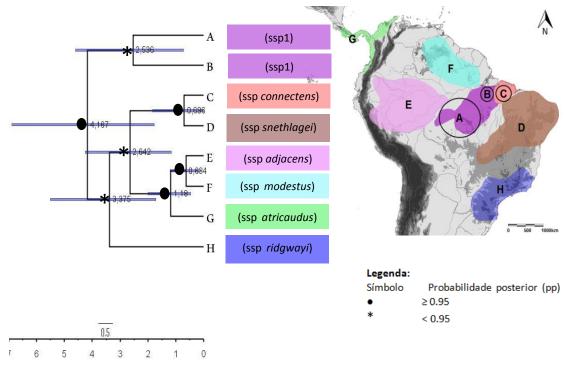


Figura 13. Árvore de espécie inferida pelos marcadores ND2, COI e ACO1 para *M. atricaudus*. As letras ao lado dos terminais (A-H) compreendem as populações testadas, ao passo que suas subespécies correspondentes estão descritas ao lado dos terminais por caixas de texto em diferentes cores. Além dessas, também há duas população não nomeadas previamente, descritas como "ssp 1". Os valores de probabilidade posterior dos nós estão descritos na legenda à direita da filogenia. Foram utilizados 20 amostras de indivíduos. A presenta filogenia compreende a calibração 2.

No presente trabalho foi percebida para *M. atricaudus modestus* um aumento de sua área de ocorrência, passando a abrangir também boa parte do escudo das Guianas. (Anexo 10). Ao passo, que para *M. atricaudus connectens*, foi verificada uma area de distribuição menor do que a proposta na literatura contemporânea, com abragência restrita a área de endemismo Belém (Anexo 10). Além destes táxons já descritos, no presente estudo foi encontrada uma população ainda não nomeada aparentemente, denotada como *M. atricaudus* ssp 1 (interflúvio Madeira-Tocantins; Anexo 10).

4. DISCUSSÃO

Análises incluindo a maior parte dos táxons de *Myiobius* recuperaram quatro espécies no gênero, confirmando a linha de pensamento de alguns pesquisadores

(Farnsworth & Lebbin, 2016a, b, c, d). A espécie *M. atricaudus* o grupo irmão de todas as demais do gênero. Encontrou-se que apesar de simpátricas e crípticas, as espécies *M. barbatus* e *M. atricaudus* são muito distantes evolutivamente (~10 milhões de anos), embora ainda hibridizem entre si, o que corrobora com Martin *et al.* (2010) segundo o qual a evolução da cor da plumagem em espécies de aves tropicais ocorre de modo mais lento do que em espécies de alta latitude, sendo este um caráter importante para isolamento reprodutivo e diferenciação ecológica (Weir *et al*, 2015). Com respeito ao padrão de hibridização entre espécies não irmãs e/ou distantemente relacionadas, como o encontrado entre *M. barbatus* e *M. atricaudus*, outros trabalhos também o reportaram (e.g. Weir & Price, 2011; Weir *et al*, 2015), sendo isto um indicativo de que o isolamento reprodutivo pré-zigótico pode levar milhões de anos para se completar.

Foi verificado a partir das análises IB e AE a separação de *M. barbatus* e de *M. sulphureipygius* em linhagens distintas, apesar de a AE ter recuperado um suporte mediano para isto, provavelmente devido ao pequeno período de tempo para a separação das mesmas, além disso, a IB não as recupera sequer como espécies irmãs. Assim, sugerimos tratá-las como espécies distintas.

As análises IB e AE quando realizadas internamente em *M. barbatus* e *M. atricaudus* revelaram a existência de mais linhagens.

4.1 Relações filogenéticas no complexo M. barbatus

As análises IB e AE recuperaram as populações de Inambari (A) e oeste da área de endemismo Guiana (B), ambas correspondentes a ssp *amazonicus*, como linhagens distintas, entretanto se faz necessária uma maior amostragem na região de Roraima para confirmar se tais populações compreendem táxons distintos ou não. Assim, sugerimos permanecê-las na mesma espécie até que uma nova amostragem e estudo sejam feitos à resolução desta incerteza.

A população do norte do rio São Francisco (não incluída na análise AE, por possuir somente dois marcadores amplificados), compreendendo a área de endemismo Pernambuco, foi recuperada pela análise IB como evolutivamente distante da população do sul do rio São Francisco (D), e mais proximamente relacionada à população do leste do centro de endemismo Guiana (C; *barbatus*). Esta relação de proximidade entre indivíduos do escudo das Guianas e porção nordestina da Mata

Atlântica ao norte do Rio São Francisco também foi observada por Rocha *et al.* (2015). Não foi possível ainda analisar o espécime testemunho associado a essa população, não podendo ser descartada ainda a possibilidade de um novo táxon estar envolvido ou desta população e aquela do escudo das Guianas (proximamente relacionadas) ainda não terem coalescido para os marcadores sequenciados.

A população do sul do rio São Francisco (D) referenciada na literatura como *mastacalis* foi recuperada em todas as análises como espécie distinta, igualmente ao ocorrido com a população dos centros de endemismo Tapajós-Xingu (F), subespécie *insignis*.

A população da área de endemismo Rondônia (E), recuperada em todas as análises como linhagem distinta não compreende a qualquer táxon previamente descrito para *Myiobius*.

Deste modo, satisfazendo os critérios levantados por diferentes conceitos de espécies (ver Aleixo 2007), tais como: Conceito filogenético de Espécie (Cracraft, 1983), Conceito Filético Geral de Espécie (de Queiroz 1998) e Conceito Evolutivo de Espécie (Wiley 1978, Fujita *et al.*, 2012), propomos a elevação das subespécies reconhecidas até hoje em *M. barbatus* como espécies evolutivas plenas. Há um nome válido para a espécie referente às populações do centro de endemismo Inambari e oeste do centro de endemismo Guiana e cuja nomenclatura passa a ser *Myiobius amazonicus* Todd, 1925 (abrangendo a margem esquerda do rio Madeira e porções mais ao oeste da área de endemismo Guiana).

Para as populações do leste do centro de endemismo Guiana há um nome disponível para a espécie, a saber: *Myiobius barbatus* (Gmelin, 1789; abrangendo o leste desta área de endemismo).

Para a população do sul do rio São Francisco há um nome válido, que levaria o seu reconhecimento como *Myiobius mastacalis* (Wied, 1821). Para a população do norte do rio São Francisco não há um nome disponível para a espécie; no entanto, uma inspeção de séries desta região e o sequenciamento adicional de espécimes da mesma serão necessários para melhor entender o seu posicionamento filogenético e eventual descrição como um novo táxon.

Para a população dos centros de endemismo Tapajós-Xingu há um nome disponível que passa a ser *Myiobius insignis* Zimmer, 1939 (abrangendo o interflúvio Tapajós-Tocantins).

Para a população do centro de endemismo Rondônia, recuperada como um táxon distinto, não há um nome disponível para a mesma. Um nome para a mesma será proposto juntamente com um estudo mais aprofundado da variação da plumagem existente dentro do complexo *M. barbatus*.

Visto que o táxon *semiflavus* (associado ao complexo *M. barbatus*) não foi amostrado no presente estudo, sugerimos permanecê-la subordinada à *Myiobius barbatus* (Gmelin, 1789) até que novos estudos resolvam esta incerteza.

A cor da plumagem em *M. barbatus* se mostrou diferente do esperado, enquanto alguns táxons cujas plumagens são distintas (e.g. subespécies *mastacalis* e *barbatus*) foram recuperados como irmãos, outros muito semelhantes (e.g. *insignis* e *barbatus*) se apresentaram distantemente relacionados.

4.2 Relações filogenéticas no complexo M. atricaudus

As análises recuperaram sete linhagens evolutivas distintas em *M. atricaudus*, e com base nos critérios levantados pelos diferentes conceitos de espécies, sugerimos a elevação das mesmas ao nível de espécie plena.

Com relação à população Tapajós-Rondônia-Xingu, que inclui duas linhagens evolutivas distintas, não há aparentemente nomes disponíveis para as mesmas. Uma análise fenotípica aprofundada será realizada no futuro para verificar a existência de caracteres fenotípicos diagnosticáveis destas linhagens, possibilitando a sua descrição como um ou dois táxons novos.

A população do Maranhão-Piauí (D; *M. snethlagei*), apesar de ser fenotipicamente a mais distinta do complexo, não teve sua separação da linhagem endêmica do CE Belém (à qual o nome *connectens* se aplica). Apesar deste resultado, o grau de diferenciação fenotípica entre essas linhagens é muito grande, sendo ambas plenamente disgnosticáveis uma da outra (Farnsworth & Lebbin, 2016d). Por esse motivo, optamos por tratá-las como espécies evolutivas distintas, conforme apoiado pelas árvores filogenéticas obtidas (Figuras 8A e 13). Uma amostragem maior é necessária para avaliar se existe ou existiu introgressão entre essas linhagens distribuídas parapatricamente.

Para a linhagem evolutiva da América Central e porções da Colômbia (G) há um nome disponível: *Myiobius atricaudus* Lawrence, 1863. Para a linhagem do escudo das Guianas (F), o nome disponível é *Myiobius modestus* Todd, 1912. Para a

linhagem da Mata Atlântica o nome disponível é *Myiobius ridgwayi* Berlepsch, 1888 (abrangendo a Mata Atlântica). Com respeito à linhagem de Inambari, há um nome disponível para a espécie que passa a ser *Myiobius adjacens* Zimmer, 1939 (com abrangência ao centro endêmico amazônico Inambari).

Visto que o táxon *portovelae* (distribuído à oeste dos Andes) não foi amostrado no presente estudo, sugerimos que ele continue subordinado a *Myiobius atricaudus* Lawrence, 1863 até que novos estudos resolvam esta incerteza.

A cor da plumagem em *M. atricaudus* se mostrou diferente do esperado, visto que em alguns táxons, apesar de apresentar suas cores de plumagem notavelmente diferentes, estes foram recuperados como irmãos (e.g. subespécies *snethlagei* e *connectens*; e *ridgwayi* com os demais táxons).

REFERÊNCIAS

- Agapow, P-M.; *et al.* (2004) The impact of species concept on biodiversity studies. *The Quarterly Review of Biology*, v. 79, p. 161-179.
- Aleixo, A. (2007) Conceitos de espécie 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, v.15, p. 297-310.
- Aleixo, A.; et al. (2013) Molecular systematics and taxonomic revision of the Curve-billed Scythebill complex (*Campylorhamphus procurvoides*: Dendrocolaptidae), with description of a new species from western Amazonian Brazil. In: J. del Hoyo, A. Elliott, J. Sargatal & D. Christie (eds.), *Handbook of the Birds of the World. Special Volume: New Species and Global Index*, p. 253-257. Lynx Edicions, Barcelona.
- Ames, P. L. (1971) The morphology of the syrinx in passerine birds. *Bulletin of the Peabody Museum of Natural History*, Yale University, v. 37, p. 1-194.

- Barrett, J. C.; Fry, B.; Maller, J. & Daly, M. J. (2005) Haploview: analysis and visualization of LD and haplotype maps. *Bioinformatics*. [PubMed ID, 15297300].
- Bates, J. M. (2001) Avian diversification in Amazonia: evidence for historical complexity and a vicariance model for a basic diversification Pattern. In: Guimarães Vieira, I.C., da Silva, J.M.C., Oren, D.C., D'Incao, M.Â. (eds.). *Biological and Cultural Diversity of Amazonia*. Museu Paraense Emílio Goeldi, p. 119-137.
- Batista, R.; *et al.* (2013) Molecular systematics and taxonomic revision of the Amazonian Barred Woodcreeper complex (*Dendrocolaptes certhia*: Dendrocolaptidae), with description of a new species from the Xingu-Tocantins interfluve. In: J. del Hoyo, A. Elliott, J. Sargatal & D. Christie (eds.), *Handbook of the Birds of the World. Special Volume: New Species and Global Index*, p.245-247. Lynx Edicions, Barcelona.
- Birdsley, J. S. (2002) Phylogeny of the tyrant flycatchers (Tyrannidae) based on morphology and behaviour. *Auk*, v. 119, p. 715–734.
- Borges, S. H. & Silva, J. M. C. (2012) A new area de endemism for Amazonian birds in the Rio Negro basin. *The Wilson Journal of Ornithology*, v. 124. N. 1, p.14-23.
- Bortolus, A. (2008) Error cascades in the biological sciences: the unwanted consequences of using bad taxonomy in ecology. *Ambio*, v. 37, p. 114-118.
- Burns, J. M. (2008) DNA barcodes and cryptic species of skipper butterflies in the genus Perichares in Area de Conservación Guanacaste, Costa Rica. PNAS. 105 (17), 6350-6355.
- Cory, C. B. & Hellmayr, C. E. (1927) Catalogue of birds of the. *Publications of the Field Museum of Natural History (Zoological Series)* 223, Ser. 13, pt. 5. 517p.

- Cracraft, J. (1983) Species concepts and speciation analysis. In: R. F. Johnston (ed.), *Current Ornithology*, New York: Plenum Press, p. 159-187.
- Cracraft, J. (1985) Historical biogeography and patterns of differentiation within the South America avifauna: areas of endemism. *Ornithological Monographs*, v. 36, p. 49-84.
- Chapman, F. M. (1917) The distribution of bird life in Equador. *Bull. Am. Nat. Hist*, v. 55, p. 1-784.
- Davis, K. E. (2008) Reweaving the Tapestry: A Supertree of Birds. Tese de Doutorado. University of Glasgow, Glasgow, 269p.
- Dickinson, E. C. (2003) The Howard & Moore Complete Check-List of the Birds of the World, 3. ed. Christopher Helm, London.
- Drummond, A. J.; *et al.* (2007) A Rough Guide to BEAST 1.4. University of Auckland, New Zealand.
- Farnsworth, A. & Lebbin, D. (2016a) Sulphur-rumped Flycatcher (*Myiobius sulphureipygius*). In: del Hoyo, J., Elliott, A., Sargatal, J., Christie, D.A. & de Juana, E. (eds.). *Handbook of the Birds of the World Alive*. Lynx Edicions, Barcelona. Disponível em:http://www.hbw.com/node/57335.
- Farnsworth, A. & Lebbin, D. (2016b) Black-tailed Flycatcher (*Myiobius villosus*). In: del Hoyo, J., Elliott, A., Sargatal, J., Christie, D.A. & de Juana, E. (eds.). *Handbook of the Birds of the World Alive*. Lynx Edicions, Barcelona. Disponível em: http://www.hbw.com/node/57337.
- Farnsworth, A. & Lebbin, D. (2016c) Whiskered Flycatcher (*Myiobius barbatus*). In: del Hoyo, J., Elliott, A., Sargatal, J., Christie, D.A. & de Juana, E. (eds.). Handbook of the Birds of the World Alive. Lynx Edicions, Barcelona. Disponível em: http://www.hbw.com/node/57336.

- Farnsworth, A. & Lebbin, D. (2016d) Black-tailed Flycatcher (*Myiobius atricaudus*). In: del Hoyo, J., Elliott, A., Sargatal, J., Christie, D.A. & de Juana, E. (eds.). *Handbook of the Birds of the World Alive*. Lynx Edicions, Barcelona. Disponível em: http://www.hbw.com/node/57337.
- Fujita, M. K.; *et al.* (2012) Coalescent-based species delimitation in an integrative taxonomy. *Trends Ecol. Evol.* v. 27, p. 480-488.
- Hackett, S. J. (1996) Molecular phylogenetics and biogeography of tanagers in the genus Romphocelus (Aves). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, v. 5, p. 368-382.
- Haffer, J. (1969) Speciation in Amazonian forest birds. Science, v. 165, p. 131-137.
- Hafner, M.S.; *et al.* (1994) Disparate rates of molecular evolution in cospeciating hosts and parasites. *Science*, v. 265, p. 1087-1090.
- Hall, T. A. (1999) BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucl. Acids. Symp.* Ser. 41, p. 95-98.
- Hillis, D. M. (1987) Molecular versus morphological approaches to systematic. *Annual Review of cology and Systematics*, v. 18, p. 23-42.
- Hilty, S. L. 2002. Birds of Venezuela. Second edition. 776p.
- Irestedt, M.; Fjeldså, J. & Ericson, P. G. P. (2004) Phylogenetic relationships of woodcreepers (Aves Dendrocolaptinae) incongruence between molecular and morphological data. *Journal of Avian Biology*, v. 35, p. 280-288.
- Knapp, S.; Lughadha, E. N. & Paton, A. (2005) Taxonomy inflation, species concepts and global species lists. *Trends in Ecology and Evolution* 20 (1): 7-8.

- Lanfear, R.; *et al.* (2012) PartitionFinder: combined selection of partitioning schemes and substitution models for phylogenetic analyses. *Molecular Biology and Evolution* 29 (6): 1695-1701.
- Lanyon, W. E. (1988a) The phylogenetic affinities of the flycatcher genera *Myiobius Darwin* and *Terenotriccus* Ridgway. *American Museum Novitates*, v. 2915, p. 1-11.
- Lanyon, W. E. (1988b) A phylogeny of the flatbill and tody-tyrant assemblage of tyrant flycatchers. *American Museum Novitates*, v. 2923, p. 1-41.
- Lôbo-Hajdu, G. (2006) Dados morfológicos versus dados moleculares em sistemática: controvérsia ou congruência? In: GALLO, V.; *et al.* (eds.). *Paleontologia de Vertebrados*: grandes temas e contribuições científicas. Rio de Janeiro: Editora Interciência Ltda., v. 1, p. 197-218.
- Maddison, W. P. & Maddison, D. R. (2017) Mesquite: a modular system for evolutionary analysis. Versão 3. 2. Disponível em: http://mesquiteproject.org
- Marini, M. A. & Hackett, S. J. (2002) A multifaceted approach to the characterization of an Intergeneric Hybrid Manakin (Pipridae) from Brazil. *Auk.* v. 119, p. 1114-1120.
- Miller, M. A.; Pfeiffer, W. & Schwartz, T. (2010) Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. In: *Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop (GCE)*, New Orleans, LA, p. 1-8.
- Nabholz, B.; Lanfear, R. & Fuchs, J. (2016) Body mass-corrected molecular rate for bird mitochondrial DNA. *Molecular Ecology*. v. 25, no. 18, p. 4438-4449.
- Nores, M. (1999) An alternative hypothesis for the origin of Amazoniam bird diversity. *J. Biogeogr.* v. 26, p. 475-485.

- Ohlson, J.; Fjeldså J. & Ericson, P. G. P. (2008) Tyrant flycatchers coming out in the open: Phylogeny and ecological radiation of Tyrannidae (Aves, Passeriformes). *Zoologica Scripta*, v. 37, p. 315-335.
- Ohlson, J. I.; Irestedt, M.; Ericson, P. G. P & Fjeldså, J. (2013) Phylogeny and classification of the New World suboscines (Aves, Passeriformes). *Zootaxa* 3613 (1): 1-35.
- Queiroz, de K. (1998) The general lineage concept of species, species criteria, and the process of speciation: a conceptual unification and terminological recommendations, p. 57-75. In: D. J. Howard e S. H. Berlocher (eds.) Endless forms: species and speciation. Oxford: Oxford University Press.
- Rambaut A. & Drummond, A. (2009) TRACER, Version 1.5.
- Rheindt, F. E.; Norman, J. A. & Christidis, L. (2007) Phylogenetic relationships of tyrant-flycatchers (Aves: Tyrannidae), with an emphasis on the elaeniine assemblage, *Molecular Phylogenetics and Evolution* 46(1): 88-101.
- Ridgway, R. (1907) The birds of North and Middle America. *Bulletin U. S. National Museum*, no. 50.
- Ronquist, F. & Huelsenbeck, J. P. (2003) MrBayes 3: Bayesian Phylogenetic Inference Under Mixed Models. *Bioinformatics*, v. 19, p. 1572-1574.
- Rocha, T. C.; *et al.* (2015) Molecular phylogeny and diversification of a widespread Neotropical rainforest bird group: The Buff-throated Woodcreeper complex, *Xiphorhynchus guttatus/susurrans* (Aves: Dendrocolaptidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, v. 85. p. 131-140.
- Sambrook, J.; Fritsch, E. F. & Maniatis, T. (1989) Molecular Cloning: a laboratory manual. *Cold Spring Harbor Laboratory Press*, Cold Spring Harbor, New York.
- Schulenberg, T. S.; et al. (2010) Birds of Peru. Princeton University Press. 664p.

- Sick, H. (1967) Rios e enchentes na Amazônia como obstáculo para a avifaunda. *Atas do simpósio sobre a biota amazônica*, v. 5, p. 495-520.
- Silva, J. M. C.; Rylands, A. B.; Fonseca, G. A. B. (2005) The Fate of the Amazonian Areas of Endemism. *Conservation Biology*, v. 19, p. 689-694.
- Sites, J. W. & Marshall, J. C. (2004) Operational criteria for delimiting species. *Annual Review of Ecology and Systematics*, v. 35, p. 199-227.
- Sorenson, M.; *et al.* (1999) Primers for a PCR-based approach to mitochondrial genome sequencing in birds and other vertebrates. Molecular Phylogenetics and Evolution, v. 12, p. 105-114.
- Tello, J. G. & Bates, J. M. (2007) Molecular phylogenetics of the tody-tyrant and flatbill assemblage of tyrant flycatchers (tyrannidae). *Auk* 124 (1): 134-154.
- Todd, W. E. C. Studies in the Tyrannidae. (1922) The restricted genus *Myiobius*. In: *Proceedings of The Biological Society of Washington*. v. 35, p. 17-38.
- Thompson, J. D.; *et al.* (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*, v. 22, p. 4673-4680.
- Traylor, M. A. Jr. (1977) A classification of the tyrant flycatchers. *Bulletin of the Museum of Comparative Zoology*, v. 148, p. 129-184.
- Traylor, M. A. Jr. (1979) Check-list of Birds of the World. Cambridge, MA: *Harvard University Press*, v. 8, p. 116-119.
- Vaidya, G.; Lohman, D. J. & Meier, R. (2010) SequenceMatrix: concatenation software for the fast assembly of multigene datasets with character set and codon information. *Cladistics* 27 (2): 171-180.

- Watson, D. M. (2005) Diagnosable versus Distinct: evaluating species limits in birds. Forum: American Institute of Biology Science. *BioScience* 55 (1): 60-68.
- Wallace, A. R. (1853) A narrative of on the Amazon and Rio Negro, with an account of the native tribes and observations on the climate, geology, and natural history of the amazon valley. London. Reeve & Co, 541p.
- Whittaker, A.; *et al.* (2013) A distinctive new species of gnatcatcher in the *Polioptila guianensis* complex (Aves: Polioptilidae) from western Amazonian Brazil. In: J. del Hoyo, A. Elliott, J. Sargatal & D. Christie. (Org.), *Handbook of the Birds of the World. Special Volume: New Species and Global Index.* 1ed. Barcelona: Lynx Edicions, p. 301-305.
- Wiley, E. O. (1978) The Evolutionary Species Concept reconsidered. *Syst. Zool* 27 (1): 17-26.
- Zimmer, J. T. (1952) Proposed use of the plenary powers to suppress the name Tyrannula Swainson, 1827, and to designate a type species for Myiobius Darwin, 1839 (class Aves). In: *The Bulletin of zoological nomenclature*, v. 9, p. 98-100.

Anexo 1. Sumário das amostras de tecido muscular utilizadas nas análises moleculares com seus respectivos genes sequenciados e localidades de coleta.

Nº de		_	Código	_			G	enes Ar	nplificad	os
Tombo *	Nº Campo	Táxon	localidade (IB/AE)	País	Estado	Localidade	ND2	COI	ACO1	BF5
MPEG 57160	PUC126	Myiobius barbatus amazonicus	L9/-	Brasil	Amazonas	Tefé, Base Petrobras/Urucu, Papagaio (04o 51'S, 65o 04'W)	X		X	
MPEG 79882	AMG 060	Myiobius barbatus mastacalis ≠	1/-	Brasil	Bahia	Amargosa, Serra do Timbó (12°26'53"S;38°24'59,2"W)	X	X	X	X
MPEG 57728	MAR 016	Myiobius barbatus ssp. 1	N5/E	Brasil	Amazonas	Manicoré, Rodovia do Estanho, km 136 (08o41'14,3"S, 61o24'29,4"W)	X		X	X
MPEG 58142	JRT011	Myiobius barbatus ssp.1	N8/-	Brasil	Pará	Mun. Juruti, Base Capiranga, Igarapé Mutum (02°36'S-56°11'W)		X	X	
MPEG 58226	MPDS 511	Myiobius barbatus ssp. 1	N7/-	Brasil	Rondônia	Município de Ji-Paraná, Igarapé Lurdes, Aldeia Gaviões (10o26'S, 61o39"W)	X	X	X	
MPEG 55773	UHE381	Myiobius barbatus insiginis	O9/F	Brasil	Pará	Rio Xingu, margem direita, Senador José Porfírio (3o31'47.2"S, 51o43'58.6"W)	X	X	X	
MPEG 58072	MARJ 152	Myiobius barbatus barbatus	J8/-	Brasil	Pará	Ilha do Marajó, Município de Chaves, cerca de 3 km S (00o12'10,8"S, 49o58'48,8"W)	X		X	

Nº de		_	Código	_			G	enes Ar	nplificad	os
Tombo *	Nº Campo	Táxon	localidade (IB/AE)	País	Estado	Localidade	ND2	COI	ACO1	BF5
MPEG 56116	WM309	Myiobius barbatus insiginis	O7/F	Brasil	Pará	Belterra, Flona do Tapajós, Santarém/Cuiabá, BR 163 Km 117 (3021'22"S, 54056'57"W)	X	X	X	
MPEG 55775	UHE493	Myiobius barbatus insiginis	O10	Brasil	Pará	Rio Xingu, margem esquerda, Vitória do Xingu (3o30'58.2"S, 51o44'42"W)		X	X	
MPEG 52796	PNSD240	Myiobius barbatus amazonicus	L8/A	Brasil	Acre	Alto Rio Moa, margem esquerda, Igarapé Amil, Mâncio Lima (PNSD 7o21'S, 73o40'W)	X	X	X	
MPEG 52931	PNSD305	Myiobius barbatus amazonicus	L3/A	Brasil	Acre	Rio Ouro Preto, margem esquerda, Porto Walter (PNSD 8o24'S, 72o51'W)	X	X	X	
MPEG 59236	BR163-206	Myiobius barbatus insiginis	O3/F	Brasil	Pará	Itaituba, 7 km NW Moraes de Almeida (6012'07,7"S,55041'17,6"W)	X	X	X	
MPEG 60233	CUJ 113	Myiobius barbatus amazonicus	L6/A	Brasil	Amazonas	RDS Cujubim, margem E Rio Jutaí (05o38'19"S,69o10'59"W)	X	X	X	X
MPEG 61895	PPBIO 245	Myiobius barbatus insiginis	O11/F	Brasil	Pará	Portel, FLONA do Caxiuanã, Plot PPBIO (01057'S; 51036'W)	X	X	X	X
MPEG	AMANA	Myiobius barbatus ssp. 1	N3/E	Brasil	Pará	Itaituba, FLONA Amanã, margem	X	X	X	

Nº de	N. C.		Código	D (G	enes Ar	nplificad	os
Tombo *	Nº Campo	Táxon	localidade (IB/AE)	País	Estado	Localidade	ND2	COI	ACO1	BF5
65147	069					direita Rio Amanã, Pista de Pouso				
						São Pedro				
						(4o46'41,1"S;57o28'24,7"W)				
MPEG	GN 040	Myiobius barbatus	T.C.		D (Óbidos, Flota do Trombetas (ca		•	T 7	***
65058	CN 248	barbatus	J6/-	Brasil	Pará	00o57'S;55o31'W)		X	X	X
	A 3 6 A 3 7 A					Itaituba, FLONA Amaná,				
MPEG	AMANA	Myiobius barbatus ssp. 1	N1/E	Brasil	Pará	Maranhense	X	X	X	
65058	128					(05o21'08,7"S;57o28'30"W)				
MPEG		Myiobius barbatus				FLOTA de Faro, ca 70 km NW de				
64748	CN 061	barbatus	J4/-	Brasil	Pará	Faro (01o42'S;57o12'W)	X	X	X	
MPEG	CN 706	Myiobius barbatus	15.00	D '1	D /	Oriximiná, ESEC Grão Pará	37	37	37	
65870	CN 786	barbatus	J5/C	Brasil	Pará	(01o17'N:58o41'W)	X	X	X	
MPEG	GN 1207	Myiobius barbatus	10/0	D '1	D /	Óbidos, ESEC Grão-Pará	37	37	37	
66713	CN 1395	barbatus	J9/C	Brasil	Pará	(00o37'50"N;55o43'40"W)	X	X	X	
) MDEG						Trairão, APA Tapajós, Área Sul,				
MPEG	AT 003	Myiobius barbatus	O1/F	Brasil	Pará	Rio Novo, margem esquerda (área	X	X	X	
65558		insiginis				1)(6o49'58,9"S;56o09'47,8"W)				
MPEG	FTA 015	Myiobius barbatus	O8/F	Brasil	Pará	Carajás, FLONA Tapirapé-Aquiri	X	X	X	X
65969	FIAUIS	insiginis	U0/F	Diasii	гана	Carajas, FLONA Taphape-Aquin	Λ	Λ	Λ	Λ
MPEG	PIME 063	Myiobius barbatus ssp. 1	N6/E	Brasil	Pará	Itaituba, Parna da Amazonia km 95	X	X	X	X

Nº de			Código				G	enes Aı	nplificad	os
Tombo *	Nº Campo	Táxon	localidade (IB/AE)	País	Estado	Localidade	ND2	COI	ACO1	BF5
67216										
MPEG 69035	PIME 248	Myiobius barbatus insiginis	O6/F	Brasil	Pará	Altamira, RESEX Riosinho do Anfrísio	X	X	X	
MPEG 67541	TLP(C) 070	Myiobius barbatus insiginis	O2/F	Brasil	Mato Grosso	Paranaíta, Rio Teles Pires, Fazenda João Carvalho	X	X	X	
MPEG 68919	TUP 027	Myiobius barbatus amazonicus	L4/A	Brasil	Amazonas	Careiro, Br 319 km 158, Tupana Lodge (04o05'0,02"S;60o39'37,8"W)	X	X	X	
MPEG 71221	OM 171	Myiobius barbatus amazonicus	L2/A	Brasil	Amazonas	Humaitá, margem esquerda Rio Madeira, Ipixuna (07029'48,38"S;63023'41,49"W)	X	X	X	
MPEG 70796	UNA 032	Myiobius barbatus mastacalis	I7/D	Brasil	Bahia	Ilhéus, Ecoparque de UNA	X	X	X	X
MPEG 70797	UNA 069	Myiobius barbatus mastacalis	I2/D	Brasil	Bahia	Ilhéus, Ecoparque de UNA	X	X	X	
MPEG 71385	JRD 011	Myiobius barbatus amazonicus	L7/A	Brasil	Acre	Jordão, Távora (09o12'34,2"S;71o48'08,7"W)	X	X	X	
MPEG 74170	ARA II 078	Myiobius barbatus ssp. 1	N4/E	Brasil	Pará	Santarém, RESEX Tapajós/Arapiuns, Capixauã (02o35'12,6"S:55o11'42,6"W)	X	X	X	X

Nº de		_	Código	_			G	enes Aı	nplificad	.os
Tombo *	Nº Campo	Táxon	localidade (IB/AE)	País	Estado	Localidade	ND2	COI	ACO1	BF5
MPEG 74273	PNSP 065	Myiobius barbatus insiginis	O4/F	Brasil	Pará	PARNA da Serra do Pardo, Base 1 (05052'39,9"S;52047'43,4"W)	X	X	X	
MPEG 74457	CAM 067	Myiobius barbatus amazonicus	L5/-	Brasil	Amazonas	Guajará		X	X	
-	A23V6	Myiobius barbatus barbatus	J1/C	Guiana	-	-	X	X	X	
-	V7-07	Myiobius barbatus barbatus	J7/-	Guiana	-	-	X	X	X	
MPEG 76332	JAT(C) 228	Myiobius barbatus insiginis	O5/F	Brasil	Pará	Itaituba, margem direita Tapajós, Rio Rato (05o25'50,63"S;57o12'13,88"W)	X	X	X	
MPEG 76098	JAT(A) 212	Myiobius barbatus ssp. 1	N2/E	Brasil	Pará	Jacareacanga, Vila São Martins, margem esquerda Tapajós (06006'14,88"S;57039'23,75"W)	X	X	X	X
MPEG 79934	AMG 103	Myiobius barbatus mastacalis	I3/D	Brasil	Bahia	Iberaba, Serra do Orobo, Fazenda Leão dos Brejos (12°25'04,1"S;40°31'15,9"W)	X	X	X	
LSUMZ 2746	LSUMZ 2746	Myiobius barbatus amazonicus	-/-	Peru		Departamento de Loreto		X		
LSUMZ	LSUMZ	Myiobius barbatus	J2/-	Guiana		-		X	X	<u> </u>

Nº de			Código				G	enes Ar	nplificad	os
Tombo *	Nº Campo	Táxon	localidade (IB/AE)	País	Estado	Localidade	ND2	COI	ACO1	BF5
48504	48504	barbatus								
LSUMZ 5506	LSUMZ 5506	Myiobius barbatus amazonicus	L1/A	Peru		Departamento San Martin	X	X	X	X
LSUMZ 55196	LSUMZ 55196	Myiobius barbatus barbatus	J3/C	Suriname		Distrito Sipaliwini	X	X	X	
MZUSP 85761	MZUSP 85761	Myiobius barbatus ssp. 2	K1/-	Brasil	Alagoas	Mata do Pinto, Usina Serra Grande, São José da Laje		X	X	
MZUSP 91514	MZUSP 91514	Myiobius barbatus mastacalis	I1/D	Brasil	Bahia	Serra da Jibóia, Estrada das Torres, Elísio Medrado	X	X	X	
MZUSP 91520	MZUSP 91520	Myiobius barbatus mastacalis	I4/-	Brasil	Bahia	Mata do Pacangê, Reserva Michelin		X	X	
MZUSP 93219	MZUSP 93219	Myiobius barbatus mastacalis	I8/-	Brasil	São Paulo	Estação Biológica de Boracéia, Salesópolis		X	X	
MZUSP 94156	MZUSP 94156	Myiobius barbatus amazonicus	M1/B	Brasil	Roraima	Caracaraí, rio Jufari, Igarapé Caicubi, Trilha Bacaba	X	X	X	
MZUSP 94437	MZUSP 94437	Myiobius barbatus mastacalis	I5/-	Brasil	Minas Gerais	Ladainha, Mata da Familia Cobra		X	X	
MZUSP 94438	MZUSP 94438	Myiobius barbatus mastacalis	I6/-	Brasil	Minas Gerais	Fazenda Duas Barras, Sta. Maria do Salto		X	X	
MPEG	Cax 01	Myiobius atricaudus	F1/C	Brasil	Pará	Ulionópolis, Fazenda Cauaxi	X	X	X	

Nº de			Código				G	enes Aı	nplificad	os
Tombo *	Nº Campo	Táxon	localidade (IB/AE)	País	Estado	Localidade	ND2	COI	ACO1	BF5
58812		connectens				03°43'52.2"S 48°17'25.7"				
MPEG	MAR 049	Myiobius atricaudus ssp.	-/-	Brasil	Amazonas	Manicoré, Rodovia do Estanho, km			X	X
57729	WAK 049	1	-/-	Diasii	Amazonas	136 (08o41'14,3"S, 61o24'29,4"W)			Λ	Λ
MDEC		14 . 7				Mun. Caracaraí, PARNA Viruá -				
MPEG	MPDS 0310	Myiobius atricaudus	-/-	Brasil	Roraima	Posto Aliança - Marg. E. Rio	X			X
56445		modestus				Branco (01°27'N-61°14'W)				
) DEC						Alto Rio Moa, margem direita,				
MPEG	PNSD166	Myiobius atricaudus	C2/E	Brasil	Acre	Mâncio Lima, Igarapé Ramon	X	X	X	X
52795		adjacens				(PNSD 7o27'S, 73o46'W)				
MPEG	CUJ 017	Myiobius atricaudus	C5/E	D:1	Λ	RDS Cujubim, ca 390 km SW Jutaí	X	v	X	v
60232	COJ 017	adjacens	C5/E	Brasil	Amazonas	(05o13'11"S,68o19'00"W)	X	X	X	X
MPEG	PIME 378	Myiobius atricaudus	4/-	D:1	Daví	Trairão, PARNA do Jamanxim, Rio	X	v	X	
69618	PIME 3/8	<i>ssp.1</i> ≠	4/-	Brasil	Pará	Branco	Λ	X	Λ	
MPEG	CN 1182	Myiobius atricaudus	D1/F	Brasil	Pará	Almeirim, FLOTA do Paru	X	X	X	X
66541	CN 1102	modestus	D 1/Γ	Diasii	raia	(00o56'S;53o14'W)	Λ	Λ	Λ	Λ
MPEG	CN 1200	Myiobius atricaudus	D2/F	Brasil	Pará	Almeirim, FLOTA do Paru	X	X	X	-
66542	CN 1200	modestus	<i>D2/1</i> '	Diasii	гата	(00o56'S;53o14'W)	Λ	Λ	Λ	
MPEG	MPDS 0864	Myiobius atricaudus	G2/-	Brasil	Maranhão	Mun. São João dos Patos; Jatobá			X	X
0525	MI DS 0004	snethlagei	U2/-	Diasii	iviaiaiiiiaU	dos Noletos; Mancha Verde			Λ	Λ
MPEG	TLP(A) 110	Myiobius atricaudus ssp.	A2/A	Brasil	Mato	Paranaíta, margem esquerda Rio	X	X	X	X

Nº de			Código				G	enes Ar	nplificad	os
Tombo *	Nº Campo	Táxon	localidade (IB/AE)	País	Estado	Localidade	ND2	COI	ACO1	BF5
67542		1			Grosso	Paranaíta, Fazenda Aliança				
MPEG 71223	OM 346	Myiobius atricaudus ssp.1	A3/A	Brasil	Rondônia	Machadinho D'Oeste, margem esquerda Rio Jiparaná (08o55'42"S;62o04'39"W)	X	X	X	
MPEG 72885	AMA 388	Myiobius atricaudus adjacens	C1/E	Brasil	Amazonas	Estirão do Equador, Atalaia do Norte (04o31'49"S;71o36'58,5"W)	X	X	X	
MPEG 71980	SC 001	Myiobius atricaudus ridgwayi	H2/H	Brasil	Santa Catarina	Blumenau, Vila Itoupava, Sítio Paraíso (26o39'59"S;49o05'41"W)	X	X	X	X
MPEG 73448	MAD 212	Myiobius atricaudus adjacens	C6/E	Brasil	Amazonas	Manicoré, Maloca do Baeta, margem oeste Rio Madeira (06o11'20,8"S;62o11'24,5"W)	X	X	X	X
MPEG 73662	MAD 429	Myiobius atricaudus adjacens	C7/E	Brasil	Amazonas	Novo Aripuanã, Prainha, margem oeste Rio Madeira (04o53'23,6"S:60o09'35"W)	X	X	X	
MPEG 74619	MSF 086	Myiobius atricaudus ssp.1	A4/A	Brasil	Mato Grosso	63 km leste de Guarantã do Norte (S-9,94184;W-54,34259)	X	X	X	
MPEG 75522	CONF 018	Myiobius atricaudus ≠	3/-	Brasil	Piauí	Cristino Castro, PN Serra das Confusões, Baixo Japecanga	X	X	X	
MPEG 76875	GUR 145	Myiobius atricaudus connectens	F2/C	Brasil	Maranhão	Centro Novo, REBIO Gurupi (03042'12,8"S;46045'44"W)	X	X	X	X

Nº de			Código				G	enes Ar	nplificad	.os
Tombo *	Nº Campo	Táxon	localidade (IB/AE)	País	Estado	Localidade	ND2	COI	ACO1	BF5
-	GUR 113	Myiobius atricaudus ≠	2/-	Brasil	Maranhão	Centro Novo, REBIO Gurupi (03042'12,8"S;46045'44"W)	X	X	X	X
MPEG 76763	CONF 090	Myiobius atricaudus snethlagei	G1/D	Brasil	Piauí	Cristino Castro, PN Serra das Confusões, Baixão do João Carlos (08o52'43,2S;43o53'31",1"W)	X	X	X	X
MPEG 78332	MSF 249	Myiobius atricaudus ssp. 1	B1/B	Brasil	Pará	Anapu, Fazenda do Raimundo (S 03.15763o.W 51.59835o)	X	X	X	
MPEG 79779	JUT 260	Myiobius atricaudus adjacens	C4/E	Brasil	Amazonas	Jutaí, ESEC Jutaí/Solimões, Pati (03°13'29,9"S;67°26'10"W)	X	X	X	
LSUMZ 26915	-	Myiobius atricaudus atricaudus	E1/G	Panamá	_	Província Panamá	X	X	X	
LSUMZ 26925	-	Myiobius atricaudus atricaudus	E2/-	Panamá	_	Província Panamá		X	X	
LSUMZ 44627	-	Myiobius atricaudus adjacens	C3/E	Peru	_	Departamento de San Martin	X	X	X	
MZUSP 87724	-	Myiobius atricaudus ssp.1	A1/A	Brasil	Pará	Rio Teles Pires, margem direita, Jacareacanga	X	X	X	
MZUSP 93524	-	Myiobius atricaudus ridgwayi	H1/-	Brasil	São Paulo	E.E. Bananal, Bananal		X	X	
MZUSP	-	Myiobius atricaudus	Н3/Н	Brasil	Minas	Sabinópolis	X	X	X	

Nº de			Código				G	enes Aı	nplificad	os
Tombo *	Nº Campo	Táxon	localidade (IB/AE)	País	Estado	Localidade	ND2	COI	ACO1	BF5
94435		ridgwayi			Gerais					
LSUMZ 2327	-	Myiobius sulphureipygius aureatus	R4/-	Panamá	_	Província Darién	X	X	X	
LSUMZ 2166	-	Myiobius sulphureipygius aureatus	R2/-	Panamá	_	Província Darién		X	X	
LSUMZ 7872	-	Myiobius sulphureipygius	-/-	Equador	_	Província El Oro		X		
LSUMZ 41622	-	Myiobius sulphureipygius aureatus	R6/-	Panamá	_	Província Bocas del Toro		X	X	
LSUMZ 46599	-	Myiobius sulphureipygius aureatus	R3/-	Panamá	-	Província Darién	X	X	X	
LSUMZ 11970	-	Myiobius sulphureipygius aureatus	R1/-	Equador	-	Província Esmeraldas	X	X	X	
LSUMZ 28390	-	Myiobius sulphureipygius aureatus	R5/-	Panamá	-	Província Panamá	X	X	X	
LSUMZ 11913	-	Myiobius villosus villosus	P1/-	Equador	-	Província Esmeraldas	X	X		
LSUMZ 11992	_	Myiobius villosus villosus	P3/-	Equador	_	Província Esmeraldas		X	X	
LSUMZ	-	Myiobius villosus	Q2/-	Bolívia	-	Departamento de La Paz	X	X	X	

N⁰ de			Código				Genes Amplificados						
Tombo *	Nº Campo	Táxon	localidade (IB/AE)	País	Estado	Localidade	ND2	COI	ACO1	BF5			
22687		peruvianus											
LSUMZ 1988	-	Myiobius villosus villosus	Q1/-	Peru	-	Departamento de Pasco	X	X	X				
LSUMZ 12182	-	Myiobius villosus clarus	P2/-	Equador	-	Província Pichincha	X	X	X				
LSUMZ 43600	-	Myiobius villosus villosus	Q3/-	Peru	-	Departamento de San Martin	X	X	X				
MPEG 76861	GUR71	Terenotriccus erytrhurus	GE/-	Brasil	Maranhão	Centro Novo, REBIO Gurupi (03042'12,8"S;46045'44"W)	X	X	X				
MPEG 74621	MSF89	Terenotriccus erytrhurus	GE/-	Brasil	Mato Grosso	63 km leste de Guarantã do Norte (S-9,94184;W-54,34259)		X	X				

^{*} Abreviações dos Museus: MPEG – Museu Paraense Emílio Goeldi; LSUMZ - Louisiana State University Museum of Natural Science; MZUSP - Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo. ** Sequências depositadas no Genbank e utilizadas neste trabalho. "X" demonstra que o gene foi sequenciado.

Anexo 2. Sumário dos iniciadores utilizados para sequenciamento dos marcadores moleculares utilizados no presente estudo.

Gene	Iniciadores	Sequência (5' - 3')	Referência
ND2	L 5216	GGC CCA TAC CCC GRA AAT G	Hackett,1996.
	Н 6313	ACT CTT RTT TAA GGC TTT GAA GGC	Sorenson et al. 1999.
βfib5	S713	CGC CAT ACA GAG TAT ACT GTG ACA T	Marini & Hacket, 2002.
	AS767	GCC ATC CTG GCG ATC TGA A	Marini & Hacket, 2002.
ACO1	Ai151b	CCC GTG CTA ACT ACC TAG CCT C	Jeff Groth comunicação pessoal
	Ai15ra	CCC AGG AAT AAC ATA CTG ACG	Jeff Groth comunicação pessoal
CO1	L6625	COG GAT CCT TYT GRT TYT TYG GNC AYC C	Hafner <i>et al.</i> ,1994.
	H7005	CCG GAT CCA CNA CRT ART ANG TRT CRT G	Hafner <i>et al.</i> ,1994.

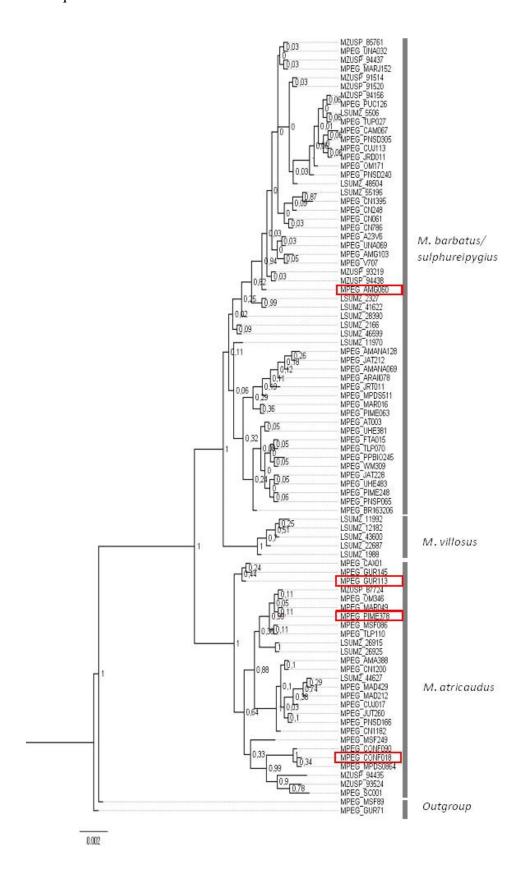
Anexo 3. Protocolo de amplificação dos marcadores em estudo.

MARCADOR		CICLOS				
ACO1	94-4:00	94-1:00	49-1:00	70-2:00	72-10:00	30
ND2	94-5:00	94-1:00	52-1:00	72-1:00	72-5:00	35
COI	94-5:00	94-1:00	56-0:30	72-1:00	72-5:00	35
βfib5	94-5:00	94-0:30	54-0:30	72-0:30	72-10:00	35

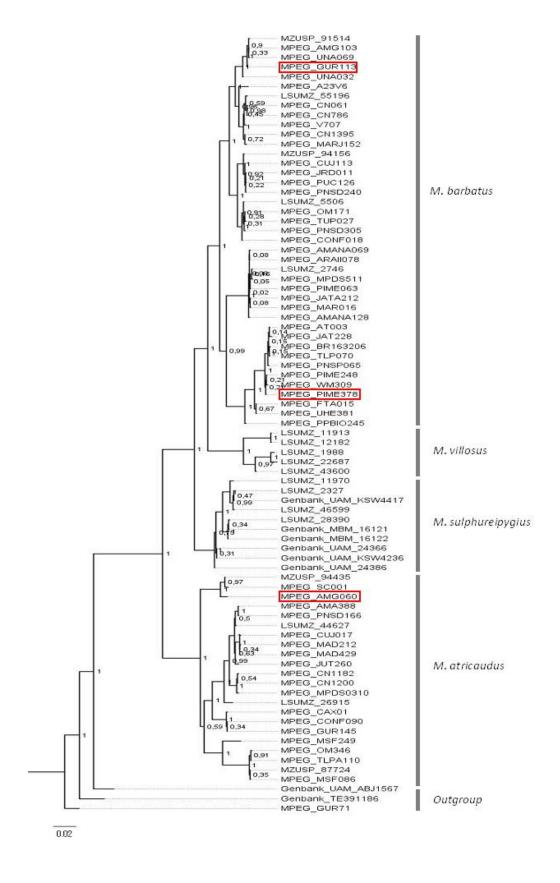
Anexo 4. Sumário das sequências obtidas do Genbank.

Nº acesso Genbank	Gene	Nº Tombo	Táxon	Localidade
FJ175952	ND2	UAM ABJ1567	Terenotriccus erythrurus	Belize
DQ294485	BF5	TE391186	Terenotriccus erythrurus	Bolívia
FJ175961	ND2	MBM 16121	Myiobius sulphureipygius	Panamá
FJ175962	ND2	MBM 16122	Myiobius sulphureipygius	Panamá
FJ175957	ND2	UAM 24366	Myiobius sulphureipygius	Belize
FJ175959	ND2	UAM KSW4236	Myiobius sulphureipygius	Belize
FJ175958	ND2	UAM 24386	Myiobius sulphureipygius	Belize
FJ175960	ND2	UAM KSW4417	Myiobius sulphureipygius	Panamá
EF501827	BF5	542846 (Smithsonian Institution)	Myiobius sulphureipygius	Belize

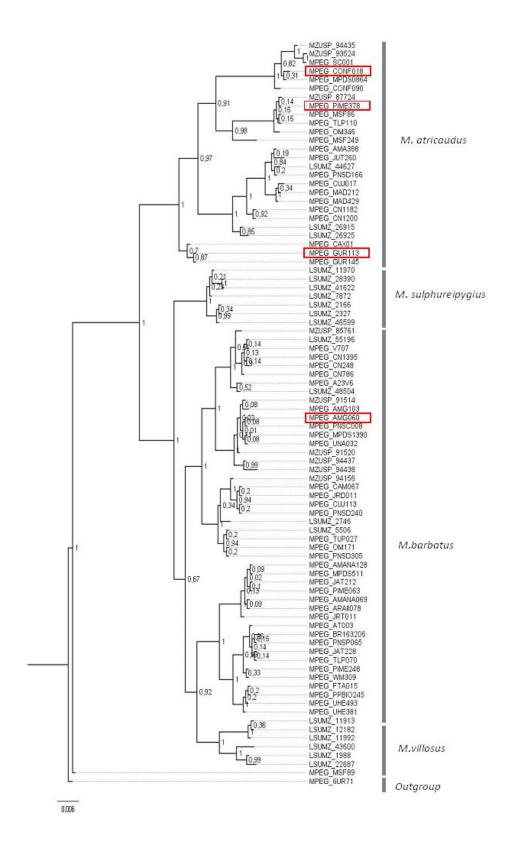
Anexo 5. Inferência bayesiana para o marcador ACO1. Supostos híbridos estão em destaque.



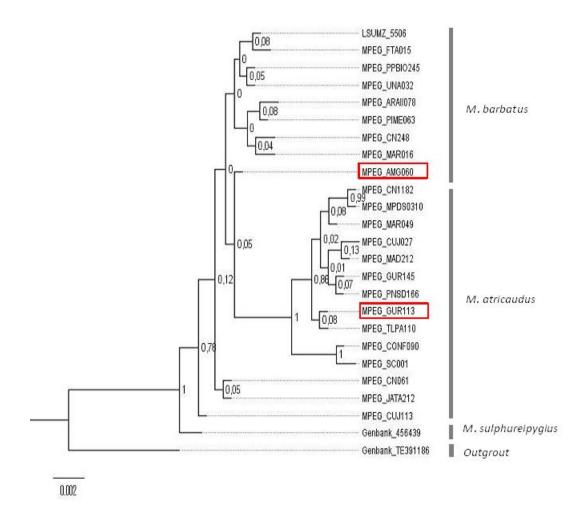
Anexo 6. Inferência bayesiana para o marcador ND2. Supostos híbridos estão em destaque.



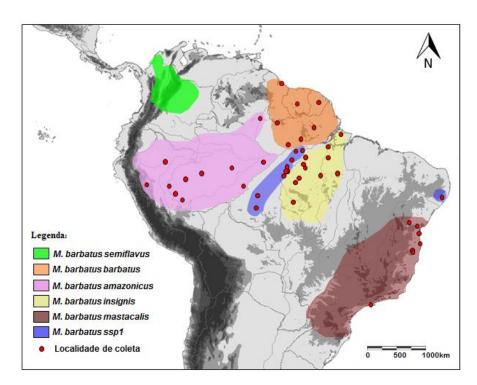
Anexo 7. Inferência bayesiana para o marcador COI. Supostos híbridos estão em destaque.



Anexo 8. Inferência bayesiana para o marcador BF5. Supostos híbridos estão em destaque.

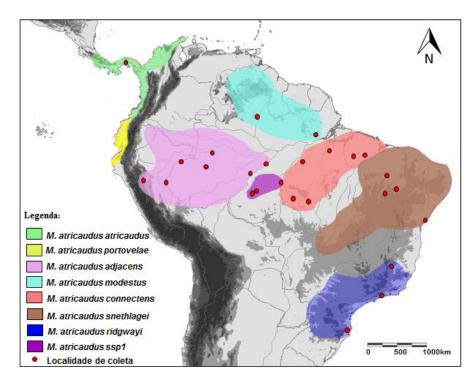


Anexo 9. Mapas de distribuição das subespécies de *M. barbatus* apresentando os novos registros feitos no presente estudo *.



^{*} As manchas de diferentes cores sobre o mapa compreendem a extensão geográfica das subespécies de acordo com a literatura (Farnsworth & Lebbin, 2016c, d) e novos registros realizados no presente estudo. Os pontos em vermelho correspondem às localidades de coleta dos espécimes sequenciados. Espécimes de ambas espécies do centro de endemismo Rondônia não correspondem à qualquer táxon já descrito e são aqui tratados como *M. barbatus* ssp1 (azul). Um espécime de M. barbatus de Alagoas, supostamente atribuído a M. b. mastacalis, agrupou-se como grupo irmão de M. b. barbatus do escudo das Guianas e é aqui denominado *M. barbatus* ssp2 (mancha de cor vermelha).

Anexo 10. Mapas de distribuição das subespécies de *M. atricaudus* apresentando os novos registros feitos no presente estudo *.



^{*} As manchas de diferentes cores sobre o mapa compreendem a extensão geográfica das subespécies de acordo com a literatura (Farnsworth & Lebbin, 2016c, d) e novos registros realizados no presente estudo. Os pontos em vermelho correspondem às localidades de coleta dos espécimes sequenciados. Espécimes de ambas espécies do centro de endemismo Rondônia não correspondem à qualquer táxon já descrito e são aqui tratados como *M. atricaudus* ssp1 (lilás).