

**BRUNO ALMEIDA**

**FILOGEOGRAFIA DE *Bucco tamatia* (AVES: BUCCONIDAE):  
UMA LINHAGEM ASSOCIADA A FLORESTAS ALAGADAS NA  
AMAZÔNIA**

Belém,  
2013

**BRUNO ALMEIDA**

**FILOGEOGRAFIA DE *Bucco tamatia* (AVES: BUCCONIDAE):  
UMA LINHAGEM ASSOCIADA A FLORESTAS ALAGADAS NA  
AMAZÔNIA**

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

Área de concentração: Evolução.

Linha de Pesquisa: Biogeografia e Filogeografia

**Orientador: Dr. Marcos Pérsio Dantas Santos**  
**Co-orientador: Alexandre Padovan Aleixo**

Belém,  
2013

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD**  
**Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Pará**  
Gerada automaticamente pelo módulo Ficat, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

A447f Almeida, Bruno.  
Filogeografia de *Bucco tamatia* (Aves: Bucconidae): : uma  
linhagem associada a florestas alagadas na Amazônia / Bruno  
Almeida. — 2013.  
45 f. : il. color.

Orientador(a): Prof. Dr. Marcos Pérsio Dantas Santos  
Coorientador(a): Prof. Dr. Alexandre Aleixo  
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Pará,  
Instituto de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em  
Zoologia, Belém, 2013.

1. Áreas de endemismo. 2. Introgressão. 3. Especiação  
críptica. 4. Limites de espécies. 5. Taxonomia. I. Título.

CDD 591.38

---

# **FOLHA DE APROVAÇÃO**

**BRUNO ALMEIDA**

## **FILOGEOGRAFIA DE *Bucco tamatia* (AVES: BUCCONIDAE): UMA LINHAGEM ASSOCIADA A FLORESTAS ALAGADAS NA AMAZÔNIA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Zoologia do convênio da Universidade Federal do Pará e Museu Paraense Emílio Goeldi, como requisito parcial para o título de Mestre em Zoologia, sendo a COMISSÃO JULGADORA composta pelos seguintes membros:

Prof. Dr. MARCOS PERSIO DANTAS SANTOS  
Universidade Federal do Pará (Presidente)

Prof. Dr. PERICLES SENA DO REGO  
Universidade Federal do Pará

Prof. Dr. FABIO SARUBBI RAPOSO DO AMARAL  
Universidade Federal de São Paulo

Prof. Dr. GIOVANNI NACHTIGALL MAURICIO  
Universidade Federal de Pelotas

Aprovada em: 28 de fevereiro de 2013

Local de defesa: Museu Paraense Emílio Goeldi

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço ao Programa de Pós-Graduação em Zoologia Universidade Federal do Pará/Museu Paraense Emílio Goeldi, pela estrutura que possibilitou a realização deste trabalho;

À CAPES pela concessão da bolsa;

Ao Projeto INCT, Biodiversidade e Uso da Terra da Amazônia (processo n°. 574008/2008-0) pelo auxílio financeiro ao trabalho de laboratório;

Ao Dr. Marcos Pérsio Dantas Santos, meu orientador, que me forneceu a oportunidade de trabalhar com aves amazônicas, pelo grande auxílio, puxões-de-orelha, críticas construtivas e oportunidades oferecidas;

Ao Dr. Alexandre Aleixo, meu co-orientador, um grande cientista sempre disposto à compartilhar conhecimentos, fornecendo seu olhar atento aos padrões da natureza;

Fátima Lima, um exemplo de compromisso e dedicação ao seu trabalho, pela grande ajuda e amizade;

Cíntia Miléo Bandeira excelente profissional e grande amiga sempre disposta a ajudar;

Amigos da Ornitologia pelo enorme aprendizado e companheirismo: Antonita Santana (minha grande companheira nesses dois anos), Mateus Ferreira, Denise Martins, Romina Batista, Lucas Araújo-Silva, Gregory Thom, Leonardo Moura, Shirliane Araújo, Bianca Darski, Eduardo Portes, Leonardo Miranda, Lincoln Carneiro, Nárgila Moura, Sidney Dantas, Carla Sardelli, Alex Lees, Elinete Rodrigues, Silvia Carvalho, Luciano, Túlio Dornas, Rodrigo Pena, Zé Luis, Anne Pantoja, Carol Lara, Maíra Cardoso, Glauko Corrêa, Pablo Cerqueira e Gabriela Gonçalves;

Amigos do Laboratório Multidisciplinar pelo enorme aprendizado e companheirismo: Marcelo Sturaro, Annelise D'angiolella, Joiciane Oliveira, Bárbara Regina e Juliana Cordeiro;

Amigos do PPGZOO pelos muitos momentos compartilhados: Mel Duarte, Marco Antônio, Cris Godinho, Boto, Alexandre Ascenso, Michele Mercês, Luiz Peixoto, Rafaela Soares, Manoel Barros, Fernanda Magalhães, Bruno (Dasa) Rodrigues, Bianca Santos e João Carlos;

Aos companheiros de república: Pato, Beto, Fernanda, Rodrigo, Xandão, Chalkidis e Janice;

Às Secretárias Dorotéia e Vanessa pela disponibilidade e eficiência durante todo o período da Pós-Graduação;

Professores da Pós e aqueles que de alguma forma colaboraram com este trabalho: Péricles Sena, Ana Prudente, Fábio Raposo, Evonildo Gonçalves e Marcelo Vallinoto;

Curadores das coleções do Museu de Zoologia da USP, Museu Nacional, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Louisiana State University Museum of Natural Science e American Museum of Natural History pelo acesso ao material sem o qual este trabalho não seria possível;

Aos amigos Elma e Eraldo, imprescindíveis na fase final da dissertação;

Aos meus amigos Cuervos, minhas pessoas favoritas, onipresentes e indispensáveis no que quer que eu faça;

À minha Família e em especial a Mãe, que tornou isso possível;

À todos que ajudaram direta ou indiretamente neste trabalho, Muito Obrigado.

## SUMÁRIO

<b>INDICE DE FIGURAS .....</b>	<b>8</b>
<b>RESUMO .....</b>	<b>9</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>10</b>
<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>11</b>
<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>14</b>
<b>RESULTADOS .....</b>	<b>18</b>
<b>DISCUSSÃO .....</b>	<b>24</b>
a. Implicações taxonômicas .....	24
b. Padrões temporais e espaciais de diversificação no complexo <i>B. tamatia</i> .....	29
<b>CONCLUSÕES .....</b>	<b>25</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>36</b>
<b>ANEXO.....</b>	<b>43</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mapa de distribuição dos indivíduos amostrados de acordo com a classificação taxonômica atual (Rasmussen & Collar, 2002), considerando com válidas apenas as subespécies <i>B. t. tamatia</i> , <i>B. t. hypneleus</i> e <i>B. t. pulmentum</i> .....	15
Figura 2. Árvore Bayesiana baseada em sequências concatenadas de <i>cytb</i> , ND2, BF7, G3PDH, MUSK e CHD (n=45, 46, 43, 42, 33 e 34, respectivamente).....	18
Figura 3. Mapa de distribuição dos filogrupos recuperados em <i>Bucco tamatia</i> pelas filogenias obtidas.....	19
Figura 4. Árvore de espécies <i>multilocus</i> baseada em sequências de <i>cytb</i> , ND2, BF7, G3PDH e CHD. Os números nos nós indicam os valores de probabilidade posterior. As barras indicam o intervalo de confiança de 95% dos tempos de divergência (em milhões de anos) entre os filogrupos .....	20
Figura 5. Redes de haplótipos para os marcadores <i>cytb</i> , ND2, BF7, CHD, G3PDH e MUSK (n= 42, 42, 40, 39, 32, 31, respectivamente). As cores indicam os diferentes filogrupos revelados pela análise filogenética .....	24
Figura 6. Mapa de distribuição dos táxons recuperados em <i>Bucco tamatia</i> pelas filogenias obtidas .....	26
Figura 7. Reconstrução do cenário paleogeográfico que deu origem à formação da atual drenagem Amazônica (adaptado de Latrubesse <i>et al.</i> , 2010). A – Drenagem/deposição de sedimentos na Amazônia antes da superação do Arco do Purus pelo sistema Pebas, até cerca de 3-5 m.a. atrás.; B – Estabelecimento da drenagem trans-amazônica atual após a superação do Arco do Purus pelo sistema Pebas e da contínua subsidência da Amazônia central e oriental 3-5 m.a. atrás. ....	31

## RESUMO

Neste trabalho nós apresentamos uma análise filogeográfica *multilocus* da espécie politípica *B. tamatia* a partir de sequências de dois marcadores mitocondriais (cytb e ND2) e quatro nucleares (BF7, MUSK, G3PDH e CHD) obtidas a partir 45 indivíduos amplamente distribuídos pela Bacia Amazônica. A partir de filogenias, informações de genética populacional e datação molecular foi possível reconstruir o contexto temporal e espacial do processo de diversificação dessa espécie. Nossos dados revelaram a existência de pelo menos três espécies biológicas e cinco espécies evolutivas/filogenéticas no complexo *B. tamatia*. O estudo revelou ainda uma relação entre áreas de endemismo ainda não descritas na literatura, entre as áreas do extremo leste da Amazônia e o oeste amazônico. Os dados obtidos aqui reforçam que dados moleculares quanto visto como reciprocamente informativos com dados geológicos e ecológicos podem ajudar na reconstrução de cenários evolutivos complexos como o de *B. tamatia*.

Palavras-chave: Áreas de Endemismo, introgressão, especiação críptica, limites de espécies, taxonomia.

**ABSTRACT**

We present a multilocus phylogeographic analysis of the polytypic species *Bucco tamatia*, based on sequences from two mitochondrial markers (Cytb and ND2) and four nuclear genes (BF7, MUSK, G3PDH and CHD), obtained from 46 individuals widely distributed throughout the Amazon Basin. Our aim was to reconstruct the temporal and spatial contexts of diversification of this Amazonian endemic lineage, associated with flooded environments. Phylogenetic analyses were conducted using Bayesian Inference and Maximum Likelihood methods, and divergence times were estimated through coalescent-based molecular dating. Our data revealed a marked incongruence between the current taxonomic treatment and the evolutionary history of *B. tamatia*, supporting the recognition of at least three biological species and five evolutionary/phylogenetic species within the complex. The results also revealed a previously unknown connection between Amazonian areas of endemism situated in the extreme east and west of the basin. These findings highlight a complex evolutionary history and distinct patterns of genetic differentiation between flooded and upland forest populations, following an initial divergence associated with these environments. In contrast to several bird lineages associated with flooded habitats in Amazonia, *B. tamatia* exhibits a higher degree of phylogeographic structure. Moreover, rivers appear to be the main drivers of diversification in this lineage, a pattern more typical of upland forest species. Our data provide further evidence for the recognition of distinct areas of endemism in Amazonian flooded forests, supporting a scenario of historical disconnections between drainages that are now unified by the Amazon River.

**Keywords** Areas of endemism, introgression cryptic speciation, species limits, taxonomy.

## FILOGEOGRAFIA DE *Bucco tamatia* (AVES: BUCCONIDAE): UMA LINHAGEM ASSOCIADA A FLORESTAS ALAGADAS NA AMAZÔNIA

### INTRODUÇÃO

A elevada diversidade amazônica tem intrigado pesquisadores há bastante tempo. Existe uma série de questões relacionadas à origem e manutenção dessa extraordinária diversidade que ainda hoje permanece obscura à ciência (Cracraft, 1985; Tuomisto, 2007). Desde o século XIX hipóteses têm sido propostas para tentar explicar os mecanismos geradores dos padrões atuais de diversidade amazônica e que desde então, ainda estão sendo testadas (Garzón-Orduña & Miranda-Esquivel, 2007; Haffer, 2008). É pretensioso acreditar que existe um modelo simples e geral que explique a diversidade de todos os grupos biológicos presentes na Amazônia (Aleixo, 2004; Rull, 2011). Desse modo, para que a história da complexa região amazônica seja reconstituída é necessário que diversos métodos sejam aplicados a vários grupos biológicos distintos (Bates, 2001; Rull, 2011).

Historicamente, a questão da origem da diversidade amazônica tem sido abordada sob uma perspectiva biogeográfica, assumindo que essa elevada diversidade foi resultado de fatores históricos associados à mudança da paisagem na região (Rossetti *et al.*, 2005). Hipóteses baseadas principalmente em eventos vicariantes foram propostas, tais como: o soerguimento dos Andes (Chapman, 1917), refúgios florestais do Pleistoceno (Haffer, 1969; Vanzolini & Willians, 1970), rios como barreiras (Wallace, 1852; Sick, 1967) e incursões marinhas do Mioceno (Räsänen *et al.*, 1995; Webb, 1995).

Na tentativa de avaliar a origem dessa elevada diversidade amazônica, através da utilização de métodos multidisciplinares mais abrangentes, a filogeografia surge como uma abordagem moderna da biogeografia que busca reconstruir o contexto espacial e temporal da distribuição das linhagens genéticas. A filogeografia utiliza de conhecimentos da geologia, biogeografia, biologia molecular e paleontologia na reconstrução da história evolutiva de táxons proximamente relacionados em uma determinada área (Avice *et al.*, 1987; Avice, 2000).

O desenvolvimento da abordagem filogeográfica está fortemente ligado ao surgimento das pesquisas com DNA mitocondrial na década de 70. O início das pesquisas que mapearam genomas mitocondriais, métodos de cálculos de distâncias genéticas e estimativas de taxas de substituição nucleotídica do DNA mitocondrial permitiram que *Avise et al.* publicassem em 1979 o primeiro estudo de cunho filogeográfico (*Avise et al.*, 1987; *Avise* 2000, 2009).

O DNA mitocondrial possui uma série de propriedades que o tornam uma excelente ferramenta para estudos evolutivos, podendo fornecer informações sobre relações evolutivas entre indivíduos de populações ou mesmo espécies diferentes (*Avise*, 2000; *Brumfield et al.*, 2003; *Weir & Schluter*, 2008; *Jacobsen et al.*, 2010). Apesar disso, estudos baseados apenas em DNA mitocondrial apresentam algumas limitações, já que pelo fato de o seu mecanismo de herança ser exclusivamente materno, determinados eventos populacionais como, por exemplo, hibridização, são mais difíceis de serem detectados. A incorporação de genes nucleares a esses estudos permitiu o aprimoramento da ferramenta ao fazer uso de novas abordagens que complementam as informações fornecidas pelo DNA mitocondrial (*Crawford*, 2003; *Templeton*, 2004; *Avise*, 2009; *Jacobsen*, 2010). Esses estudos *multilocus* são importantes ainda porque reduzem os intervalos de confiança das estimativas de tempo de divergência (*Edwards & Beerli*, 2000). O estudo de regiões distintas do genoma é essencial para que não se cometa o erro de assumir a história de um único gene como representando a história da espécie como um todo (*Knowles*, 2009).

Um dos importantes resultados revelados por estudos filogeográficos é que diversas espécies politípicas amplamente distribuídas pela bacia Amazônica na realidade são formadas por várias linhagens evolutivas bastante diferenciadas genética e fenotipicamente (*Armenta et al.*, 2005; *Carneiro et al.*, 2012; *Fernandes et al.*, 2012) e mais apropriadamente tratadas como espécies distintas. Assim, é possível que com a realização de mais estudos filogeográficos novas linhagens / táxons sejam revelados, levando ao reconhecimento de espécies distintas e ajudando a corrigir a subestimativa da biodiversidade amazônica. Concomitantemente, tais estudos são fundamentais ainda para a compreensão da história evolutiva dos grupos de espécies amazônicas e, ao caracterizar novos endemismos, para a determinação de áreas prioritárias a conservação (*Zimmer*, 2002; *Aleixo*, 2009).

Na Amazônia, os primeiros estudos que utilizaram a filogeografia foram realizados com mamíferos (Patton *et al.*, 1994, 2000) com o objetivo de testar a hipótese de diversificação de linhagens ocasionada por rios como barreiras à dispersão. Entretanto, esses estudos realizados com roedores foram direcionados apenas a uma pequena região da Amazônia Ocidental brasileira. Novos estudos, sobretudo com aves, têm incorporado táxons que possuem ampla distribuição pela Bacia Amazônica e obtido resultados robustos com novas informações que têm contribuído significativamente para melhorar o entendimento sobre a evolução da biota amazônica (Aleixo, 2004; Cheviron, *et al.* 2005; Ribas *et al.*, 2012, Fernandes *et al.*, 2012, 2013; d’Horta *et al.*, 2013). Com a inserção de novos grupos biológicos, é possível que mais respostas sejam obtidas através da análise da congruência desses resultados (Cracraft & Prum, 1988; Bermingham & Moritz, 1998; Aleixo & Rossetti, 2007).

Nesse contexto, a Família Bucconidae, estritamente neotropical e composta por 35 espécies alocadas em 12 gêneros, ainda não foi foco de estudos filogeográficos publicados. Segundo Rasmussen e Collar (2002), a maioria das espécies dessa família não costuma ser foco de estudos de campo e importantes dados da biologia de várias espécies ainda não são claros. No campo da taxonomia a sistemática a situação é análoga e ilustrada pelo fato de nenhuma nova espécie de buconídeo ter sido descrita desde 1925.

Atualmente existe consenso sobre a monofilia da Família Bucconidae, mas as relações dentro do grupo permanecem controversas (Rasmussen & Collar, 2002). Na taxonomia tradicional, um arranjo taxonômico criou o gênero *Bucco* e dentro dele foram alocadas várias espécies que posteriormente, a partir de estudos mais refinados, demonstraram não possuir relações tão próximas quanto tradicionalmente se supunha. Análises morfológicas posteriores, sobretudo relacionadas à forma do bico, motivaram Gloger (1827) a propor um novo gênero a partir de *Bucco*: *Nystactes*, que alocaria as espécies *B. noanamae* e *B. tamatia*. Witt (2004), a partir da análise de sequências de três genes mitocondriais, estimou a filogenia de Bucconidae e corroborou a não-monofilia do gênero *Bucco*. Após a proposta de criação do gênero *Nystactes*, poucos autores adotaram o uso do novo gênero (ex. Ridgway, 1914; Cory, 1919; Pinto, 1937; Rasmussen & Collar, 2002). Atualmente, a maioria das publicações, inclusive o Conselho Brasileiro de Registros Ornitológicos (CBRO, 2011) e o South American Classification Committee (SACC, 2012), segue ainda a classificação original em que *B.*

*tamatia* e *B. noanamae* permanecem alocadas no gênero *Bucco*, juntamente com *B. capensis* e *B. macrodactylus*.

O táxon *Bucco tamatia* foi descrito por Gmelin (1788), tendo como localidade tipo Caiena, Guiana Francesa. Posteriormente, cinco táxons descritos posteriormente foram agregados com o anterior dentro da mesma espécie politípica: *B. t. pulmentum* (Sclater, 1856), *B. t. hypneleus* (Cabanis & Heine, 1863), *B. t. interior* (Cherrie e Reichenberger, 1921), *B. punctuliger* (Todd, 1943) e *B. t. inexpectatus* (Todd, 1943), com os três últimos interpretados mais recentemente como populações híbridas e, portanto, sem diagnose consistente (Rasmussen & Collar, 2002).

A espécie politípica *B. tamatia* encontra-se amplamente distribuída pela região amazônica, sendo endêmica desta área. Ocorrem em diversos ambientes, de terras baixas até 1400m, sendo encontrados em bordas de mata, matas secundárias, mas, sobretudo ambientes associados à rios ou riachos como várzeas, igapós e matas de galeria cortadas por pequenos rios, adentrando a floresta de terra-firme ao lado de igarapés. Raramente são encontrados em mata fechada (Rasmussen & Collar, 2002).

Neste trabalho nós apresentamos uma análise filogeográfica *multilocus* da espécie politípica *B. tamatia* para reconstruir o contexto temporal e espacial do processo de diversificação da espécie, utilizando-o como um modelo do processo de diversificação na Bacia Amazônica. Poucos estudos filogeográficos estão disponíveis para espécies associadas a ambientes de florestas alagadas na Amazônia (Aleixo, 2006; Aleixo & Rossetti, 2007), portanto, o presente estudo pretende contribuir também para o entendimento do processo de diversificação da avifauna associada a estes ambientes.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas 46 amostras de indivíduos pertencentes aos três táxons atualmente reconhecidos de *B. tamatia*, sendo 18 amostras de *B. t. tamatia*, 17 amostras de *B. t. pulmentum*, e oito amostras de *B. t. hypneleus*, provenientes de diversas localidades da Bacia Amazônica (Fig. 1). Além destas, três amostras de espécimes de *B. capensis*, *B. macrodactylus* e *Micromonacha lanceolata* foram sequenciadas para uso como grupo externo, selecionadas com base na filogenia obtida por Witt (2004). As espécies mais próximas de *B. tamatia* são, na verdade, *B. noanamae* (distribuição transandina, Chocó - Colômbia) e *H. ruficollis* (distribuição ao norte do Rio Orinoco,

Venezuela), espécies com pouco ou nenhum tecido muscular coletado. Da única pele disponível de *B. noanamae* (AMNH 786999) não conseguimos extrair DNA íntegro e em relação a *H. ruficollis*, não tivemos acesso aos tecidos da espécie. Neste estudo foram utilizadas todas as amostras de tecido muscular da espécie em estudo disponíveis nas coleções de recursos genéticos das seguintes instituições: Museu Paraense Emílio Goeldi (MPEG), Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo (MZUSP), Museu Nacional da Universidade Federal do Rio de Janeiro (MNRJ), Instituto Nacional de Pesquisas Amazônicas (INPA), Louisiana State University Museum of Natural Science (LSU) e American Museum of Natural History (AMNH).

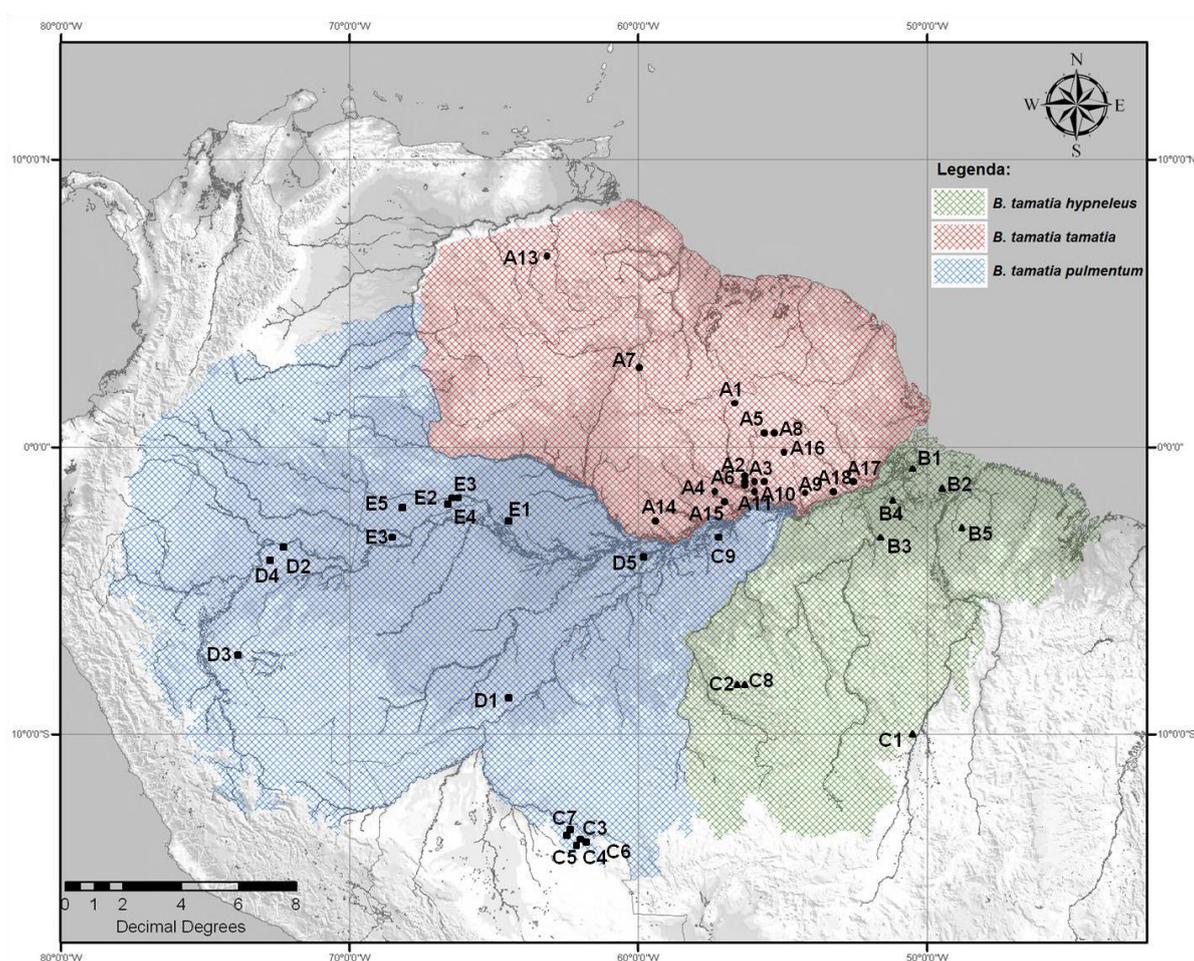


Figura 1. Mapa de distribuição dos indivíduos amostrados de acordo com a classificação taxonômica atual (Rasmussen & Collar, 2002), considerando com válidas apenas as subespécies *B. t. tamatia*, *B. t. hypneleus* e *B. t. pulmentum*.

Foram utilizadas sequências de DNA dos genes mitocondriais citocromo b (cytb, 1019 pb) e NADH desidrogenase 2 (ND2, 1040 pb), além daquelas dos genes nucleares

íntron 7 do  $\beta$  fibrinogênio (BF7, 957 pb), íntron 11 do Gliceraldeído-3-fosfo-dehidrogenase (G3PDH, 433 pb), íntron 4 do gene receptor de tirosina Kinase (MUSK, 556 pb) ligado ao cromossomo Z, e íntron 1 do gene da proteína de ligação DNA-cromo-helicase (CHD, 359 pb), também ligado ao cromossomo Z, totalizando um banco de dados *multilocus* com 4364 pb.

O DNA foi extraído a partir de procedimentos padrões com a técnica de fenol-clorofórmio (para tecido muscular) de Sambrook (1989). Os fragmentos de DNA de interesse foram amplificados por meio da Reação em Cadeia de Polimerase (PCR). O volume total das reações de PCR foi de 25  $\mu$ l, contendo aproximadamente 10 ng de DNA genômico, 5mM de cada DNTP, 2,5 mM de MgCl<sub>2</sub>, 1 unidade de Taq DNA polimerase e 5 pmol de cada um dos iniciadores. O perfil de amplificação padrão para os diferentes genes foi o seguinte: um passo inicial de 5 minutos a 95°C para a homogeneização da temperatura do bloco; seguidos de 35 ciclos com 1 minuto a 95°C; 1 minuto a temperatura de associação dos iniciadores; e 1 minuto a 72°C; e um passo final de 5 minutos, a 72°C, para polimerização de eventuais moléculas, das quais a polimerase tenha se dissociado antes do final da síntese total do fragmento.

Foi utilizada uma pequena alíquota de cada amplificação em gel de agarose 1% para visualização dos produtos amplificados. Posteriormente, a purificação dos produtos amplificados foi realizada utilizando PEG-8000 (Polietilenoglicol-8000) para remoção de resíduos provenientes da PCR como: DNTPs, restos de oligos, sais, entre outros resíduos. O Sequenciamento dos produtos foi realizado em sequenciador automático modelo 3130 da Applied Biosystems. As sequências foram alinhadas e reconciliadas em ambas as direções dentro e entre as espécies utilizando-se o programa Sequencher 3.1.1 (Genecodes, Madison, Wisconsin).

A filogenia resultante foi estimada com base em Inferência Bayesiana (IB), a partir do *software* MrBayes 3.2 (Ronquist & Huelsenbeck, 2003) e Máxima Verossimilhança (MV) a partir do *software* PhyML 3.0 (Guindon & Gascuel, 2003). Os valores de apoio dos nós na MV foram gerados a partir de 1000 pseudo-réplicas de *bootstrap*. O programa JModelTest 0.1.1 (Posada, 2008) foi utilizado para determinar qual modelo melhor se adequa a evolução dos genes sequenciados. A IB foi realizada para  $2 \times 10^7$  de gerações, a partir de quatro cadeias e com amostragem de parâmetros e árvores a cada 1.000 gerações. O *software* TRACER 1.5 (Rambaut & Drummond, 2009) foi usado para determinar o ponto em que a zona de parâmetros ótimos foi

alcançada pela análise. As árvores encontradas abaixo da zona ótima foram descartadas através do estabelecimento do valor de *burnin*.

Como alternativa à IB foi realizada a análise de árvore de espécies (AE) no aplicativo \*BEAST 1.6.1 (Drummond & Rambaut, 2007), que a partir de uma abordagem coalescente estima a melhor topologia utilizando dados *multilocus* independentemente. Para esta análise quatro loci foram considerados: A) mtDNA (cytb e ND2), B) BF7, C) G3PDH e D)CHD. A análise foi realizada a partir de  $2 \times 10^8$  gerações, sendo as primeiras 5000 árvores amostradas descartadas como *burnin*. Para a estimativa dos tempos de diversificação das linhagens foi utilizada a taxa do gene mitocondrial cytb de 2,1% de substituições nucleotídicas para cada milhão de anos, estimada como a taxa média para esse marcador dentro de um grande conjunto de linhagens de aves analisadas (Weir & Schluter, 2008). Foi utilizado o relógio molecular relaxado: lognormal não-correlacionado, que assume taxas independentes de evolução molecular entre os diferentes ramos da filogenia. Nesta análise foi utilizado apenas um indivíduo de cada população revelada na análise filogenética.

Foram obtidos índices de distância e diversidade genética a partir de um banco de dados de mDNA (cytb e ND2) com 2059 pb de 43 indivíduos. Os grupos considerados foram definidos a partir de clados bem apoiados pela análise filogenética. A distância-p não corrigida foi calculada para avaliar a divergência genética entre e dentro dos grupos encontrados. Como indicadores de variabilidade genética foram calculados: diversidade haplotípica ( $H$ ), diversidade nucleotídica ( $\pi$ ) e sítios segregantes ( $S$ ). Tais análises foram executadas no *software* DNAsp 5.10.01 (Librado & Rozas, 2009).

Foram calculados os índices de neutralidade de  $F_s$  de  $F_u$ ,  $D$  de Tajima e  $R^2$  para avaliar a existência de estabilidade populacional nos diferentes grupos considerados. Para se ter uma ideia do grau de estruturação das linhagens foi calculada a análise de variância molecular (AMOVA) dentro dos grupos e entre aqueles grupos separados por barreiras geográficas vicariantes. O *software* Arlequin 3.1 (Excoffier *et al.*, 2006) foi utilizado para realizar essas análises. As redes de haplótipos para todos os seis marcadores utilizados nesse estudo foram obtidas a partir do *software* Haplotype Viewer (Barrett *et al.*, 2005).

## RESULTADOS

As análises filogenéticas baseadas em IB e MV apresentaram topologia similar (os valores de apoio dos ramos estão representados na Figura 2) e recuperaram a monofilia da espécie politípica *B. tamatia*. Foi evidenciada a existência de cinco filogrupos na espécie (Figura 3). A distribuição destes filogrupos abrange as seguintes áreas de endemismo: Guiana (clado A), Xingu/Belém (clado B), Tapajós/Rondônia (clado C), Inambari (clado D) e Napo/Imeri/Jau (clado E), segundo a definição de áreas de endemismo de Silva (2005) e Borges & Silva (2012). As análises filogenéticas revelaram ainda a não-monofilia do gênero *Bucco*, visto que a espécie *M. lanceolata* apresentou uma relação mais próxima com *B. macrodactylus* e *B. tamatia* que a espécie *B. capensis*.

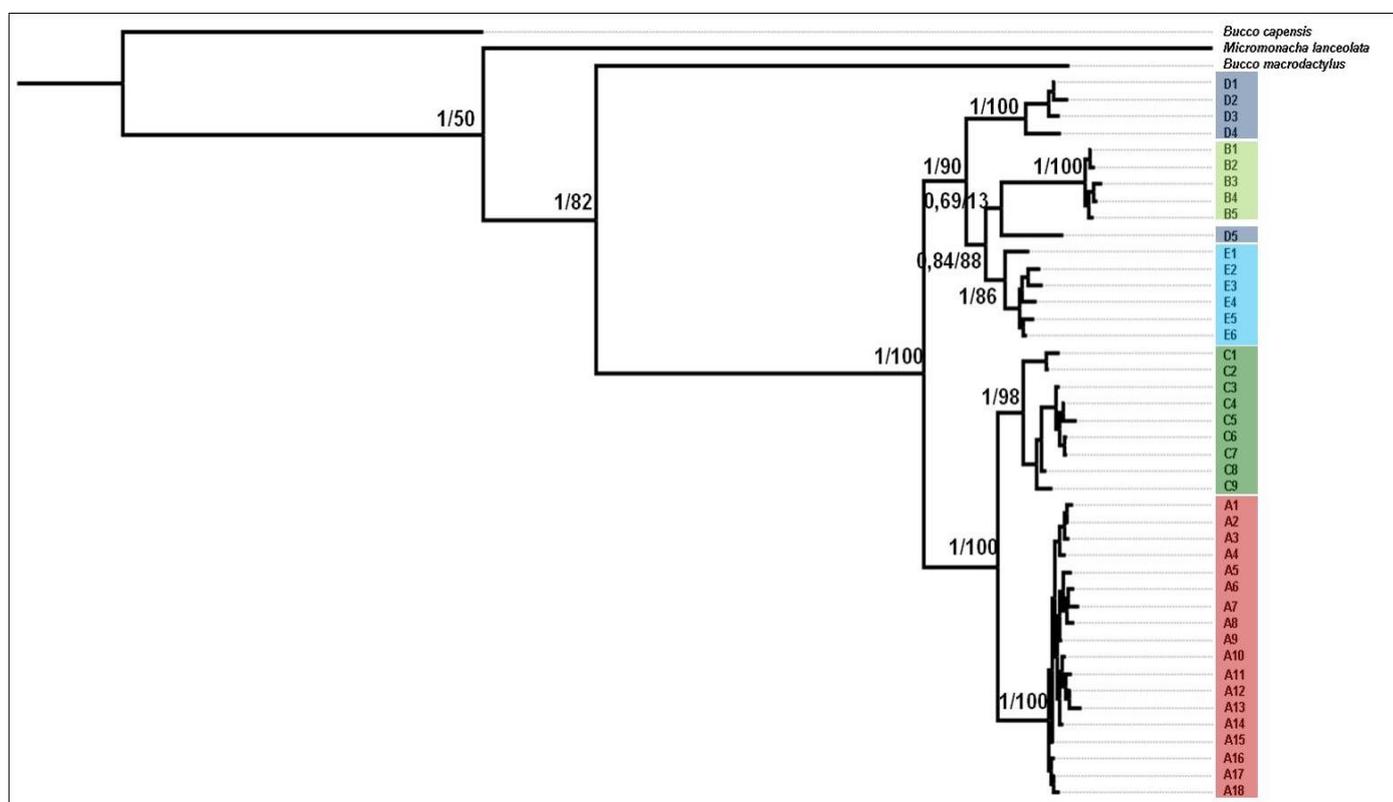


Figura 2. Árvore Bayesiana baseada em seqüências concatenadas de cytb, ND2, BF7, G3PDH, MUSK e CHD (n=45, 46, 43, 42, 33 e 34, respectivamente). Os valores dos nós indicam os valores de probabilidade posterior e apoio dos ramos (1000 réplicas de *bootstrap*), respectivamente. As letras se referem às áreas de endemismos (A- Guiana, B- Xingu/Belém, C- Tapajós/Rondônia, D- Inambari, E- Imeri/Napo/Jau).

A filogenia também apresentou uma incongruência: o indivíduo (nomeadamente “D5”), coletado na margem esquerda do rio Madeira, não se agrupa com os demais espécimes da área de endemismo Inambari (Clado D), no mesmo interflúvio, mas sim com o filogrupo alopátrico das áreas de endemismo Xingu / Belém, embora essa relação tenha recebido valores de probabilidade posterior (0,69) e *bootstrap* (13) bastante baixos (Figura 2). Em função disso, este espécime em particular não foi alocado a nenhum dos filogrupos A - D revelados pelas análises filogenéticas, não sendo incluído na árvore de espécies (AE) mostrada abaixo.

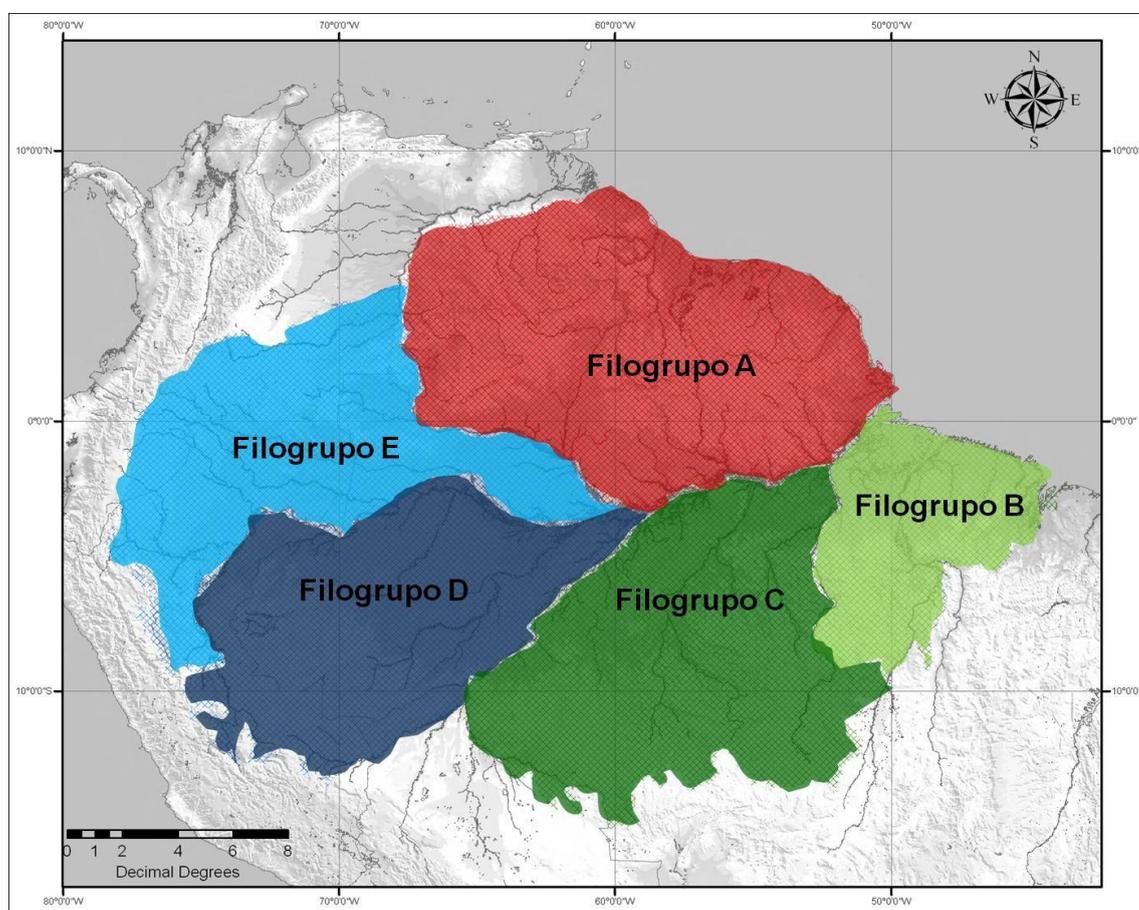


Figura 3. Mapa de distribuição dos filogrupos recuperados em *Bucco tamatia* pelas filogenias obtidas. O asterisco indica a localidade onde o indivíduo “D5” foi coletado.

A topologia gerada pela árvore de espécies (AE) corroborou em parte com as produzidas através dos critérios de IB e MV. Na AE a relação entre os filogrupos B, D e E foi sustentada (probabilidade posterior = 0,99), embora o clado não tenha obtido

resolução interna (probabilidade posterior = 0,78). As demais relações encontradas entre os filogrupos da espécie foram congruentes com as reveladas pela IB, com valores altos de probabilidade posterior.

O cronograma obtido a partir da AE indicou que o evento de separação entre *B. tamatia* e o grupo externo utilizado se deu no tempo médio de 6,02 milhões de anos. O primeiro evento de cladogênese dentro do complexo se deu entre o agrupamento formado pelos filogrupos A e C e o agrupamento formado pelos filogrupos B, D e E, há cerca de 3,11 milhões de anos (0,7-6,96 m.a. atrás). Posteriormente, ocorreu a separação entre os filogrupos A e C há 1,47 milhões de anos (0-4,23 m.a. atrás). O evento de cladogênese entre os filogrupos B e D/E ocorreu há 1,46 milhões de anos (0,29-2,78 m.a. atrás). A separação mais recente aconteceu entre D e E há 0,96 milhões de anos (0,16-1,76 m.a. atrás).

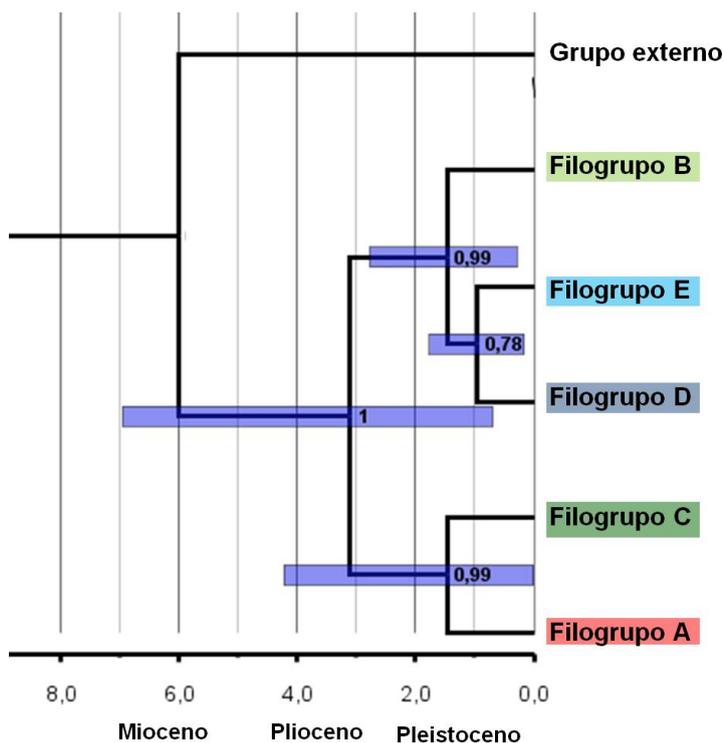


Figura 4. Árvore de espécies *multilocus* baseada em sequências de cytb, ND2, BF7, G3PDH e CHD. Os números nos nós indicam os valores de probabilidade posterior. As barras indicam o intervalo de confiança de 95% dos tempos de divergência (em milhões de anos) entre os filogrupos.

Foram analisadas 43 sequências mitocondriais (18 do filogrupo A, cinco do filogrupo B, nove do filogrupo C, cinco do Filogrupo D e seis do Filogrupo E) quanto à diversidade genética e parâmetros demográficos (Tabela 1). As populações apresentaram alta diversidade de haplótipos e baixa diversidade nucleotídica. Os testes de neutralidade de  $R^2$ ,  $F_s$  de  $F_u$  e  $D$  de Tajima foram significativos para o filogrupo A e o teste  $F_s$  de  $F_u$  foi significativo para o filogrupo E, apontando para uma não estabilidade demográfica dessas linhagens.

Tabela 1 - Diversidade genética e parâmetros demográficos populacionais para os táxons revelados pelas análises filogenéticas a partir de sequências de *cytb* e *ND2*.

Filogrupo	<i>N</i>	<i>nH</i>	<i>S</i>	<i>H</i>	$\pi$	<i>D</i>	<i>p(D)</i>	<i>F<sub>s</sub></i>	<i>p(F<sub>s</sub>)</i>	$R^2$	<i>p(R<sup>2</sup>)</i>
A	18	12	17	0,863	0,0010	-1.955*	0.01	-4.433*	0.00	0,054*	0,00
B	5	5	6	1,000	0,0014	1.224	0.94	0.626	0.50	0,171	0,81
C	9	7	24	0,944	0,0047	0.772	0.78	1.625	0.80	0,193	0,74
D	5	3	59	0,700	0,0157	-0.897	0.21	4.111	0.95	0,289	0,89
E	6	6	10	1,000	0,0032	-1.367	0.06	-4.353*	0.00	0,160	0,10

*n* = Número de sequencias, *nH* = Número de haplótipos, *S* = Sítios segregantes, *H* = diversidade haplotípica,  $\pi$  = diversidade nucleotídica, *D* = teste de neutralidade *D* de Tajima, *F<sub>s</sub>* = teste de neutralidade *F<sub>s</sub>* de  $F_u$ ,  $R^2$  = teste de neutralidade  $R^2$ , *p* = valor de probabilidade, \* = valor significativo de  $p < 0,02$

Os resultados da AMOVA foram altamente significativos em todas as comparações par a par realizadas e apontam para uma forte estruturação filogeográfica

dos filogrupos de *B. tamatia*, visto que a variação entre as populações foi muito maior que a variação dentro de cada população (Tab. 2).

Tabela 2 - Resultados da AMOVA calculada entre e dentro de filogrupos geograficamente próximos, revelados pelas análises filogenéticas a partir de sequências de cytb e ND2.

Filogrupos	Barreira geográfica	Entre os Filogrupos (%)	Dentro dos Filogrupos (%)	$\Phi_{st}$	P ( $\Phi_{st}$ )
A/B	Rio Amazonas	97,49	2,51	0,9749*	0,000
A/C	Rio Amazonas	87,70	12,30	0,8769*	0,000
A/D	Rio Amazonas	90,57	9,43	0,9057*	0,000
A/E	Rio Negro	96,41	3,59	0,9641*	0,000
B/C	Rio Xingu	91,39	8,61	0,9138*	0,000
C/D	Rio Madeira	77,46	22,54	0,7745*	0,000
D/E	Rio Solimões	66,03	33,97	0,6602*	0,002

$\Phi_{st}$  = índice de fixação, \* = valor significativo em  $p < 0,02$

A distância genética entre os filogrupos variou de 1,86 a 4,44%, apresentando um valor médio de 3,51%. Os valores de divergência entre os filogrupos foram superiores aos encontrados dentro dos filogrupos. A divergência dentro dos filogrupos variou de 0,10 a 1,26%, apresentando um valor médio de 0,44% (Tabela 3).

Tabela 3 - Distância genética não corrigida (%) entre e dentro dos filogrupos revelados pelas análises filogenéticas a partir de sequências de cytb e ND2.

A	B	C	D	E	Divergência dentro dos
---	---	---	---	---	------------------------

	<b>Filogrupos</b>				
<b>A</b>					0,10
<b>B</b>	4,40				0,12
<b>C</b>	1,86	4,23			0,43
<b>D</b>	4,44	2,88	4,02		1,26
<b>E</b>	3,94	2,70	3,64	3,02	0,27
<b>Grupo externo</b>	12,23	12,36	12,47	12,12	12,80

Para os genes mitocondriais (cytb e ND2) as redes de haplótipos evidenciaram estruturação populacional entre os filogrupos, com inexistência de haplótipos compartilhados e muitos passos mutacionais entre os haplótipos agrupados em cada filogrupo. As redes construídas a partir de genes nucleares BF7, CHD não apresentaram o mesmo grau de estruturação dos genes mitocondriais, no entanto, observa-se uma separação dos haplótipos dos filogrupos A e C dos demais. As redes de haplótipos de G3PDH e MUSK são caracterizadas por um notável compartilhamento de haplótipos e nenhum padrão de separação entre os filogrupos é evidenciado.

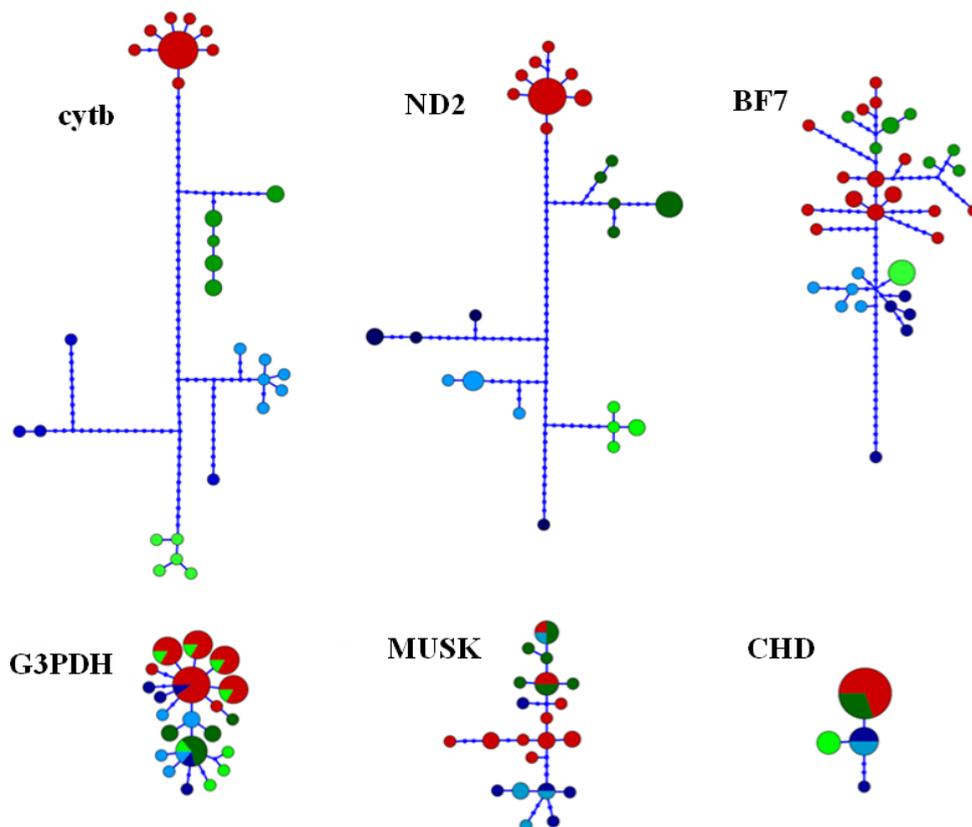


Figura 5. Redes de haplótipos para os marcadores *cytb*, *ND2*, *BF7*, *CHD*, *G3PDH* e *MUSK* (n= 42, 42, 40, 39, 32, 31, respectivamente). As cores indicam os diferentes filogrupos revelados pela análise filogenética.

## DISCUSSÃO

### Implicações taxonômicas

A partir desse estudo, incongruências entre a história evolutiva e tratamento taxonômico atual ficaram evidentes, não só em relação à espécie politípica *B. tamatia*, mas também em relação ao gênero *Bucco*, confirmado como parafilético no presente estudo, assim como por Witt (2004), com base numa cobertura mais representativa de gêneros em Bucconidae. Esses dois conjuntos de dados confirmam a necessidade da adoção do gênero *Nystactes* para se referir à espécie politípica *Bucco tamatia*. Embora algumas publicações posteriores considerem válido o gênero *Nystactes* (ex. Cory, 1919;

Rasmussen & Collar, 2002), alguns *check-lists* (ex. Peters, 1948) e listas nacionais e continentais de aves (ex. CBRO, 2011; SACC, 2013) ainda adotem a classificação antiga.

A distribuição dos filogrupos de *B. tamatia* corresponde aos seguintes táxons dentro da espécie politípica *B. tamatia*, cujos nomes estão disponíveis na literatura (Figura 6): filogrupo A (*tamatia*), filogrupo B (*hypneleus*), filogrupo C (*interior*), filogrupo D (sem nome válido aparentemente disponível) e filogrupo E (*pulmentum*). Tradicionalmente, populações de *B. tamatia* da margem esquerda do baixo rio Madeira foram tratadas dentro da subespécie *punctuliger* (Peters, 1948) ou, mais recentemente, *pulmentum* (Rasmussen & Collar, 2002). No presente estudo, ficou claro que o nome *pulmentum* (cuja localidade tipo é Pebas, na margem norte do rio Amazonas no Peru; Peters, 1948) não pode ser aplicado à qualquer população de *B. tamatia* ao sul do rio Amazonas, ao contrário dos tratamentos constantes em Peters (1948) e Rasmussen e Collar (2002). Existe ainda um segundo nome aplicado ao filogrupo E (*inexpectatus*; localidade tipo Manacapuru ao norte do rio Solimões). Uma vez que o filogrupo E mostrou-se bastante coeso e não se verificou qualquer evidência de intergradação com o filogrupo D, *inexpectatus* pode ser considerado um sinônimo júnior de *pulmentum* (ambos aplicáveis ao filogrupo E), enquanto nenhum nome está aparentemente disponível para nomear o distinto filogrupo D.

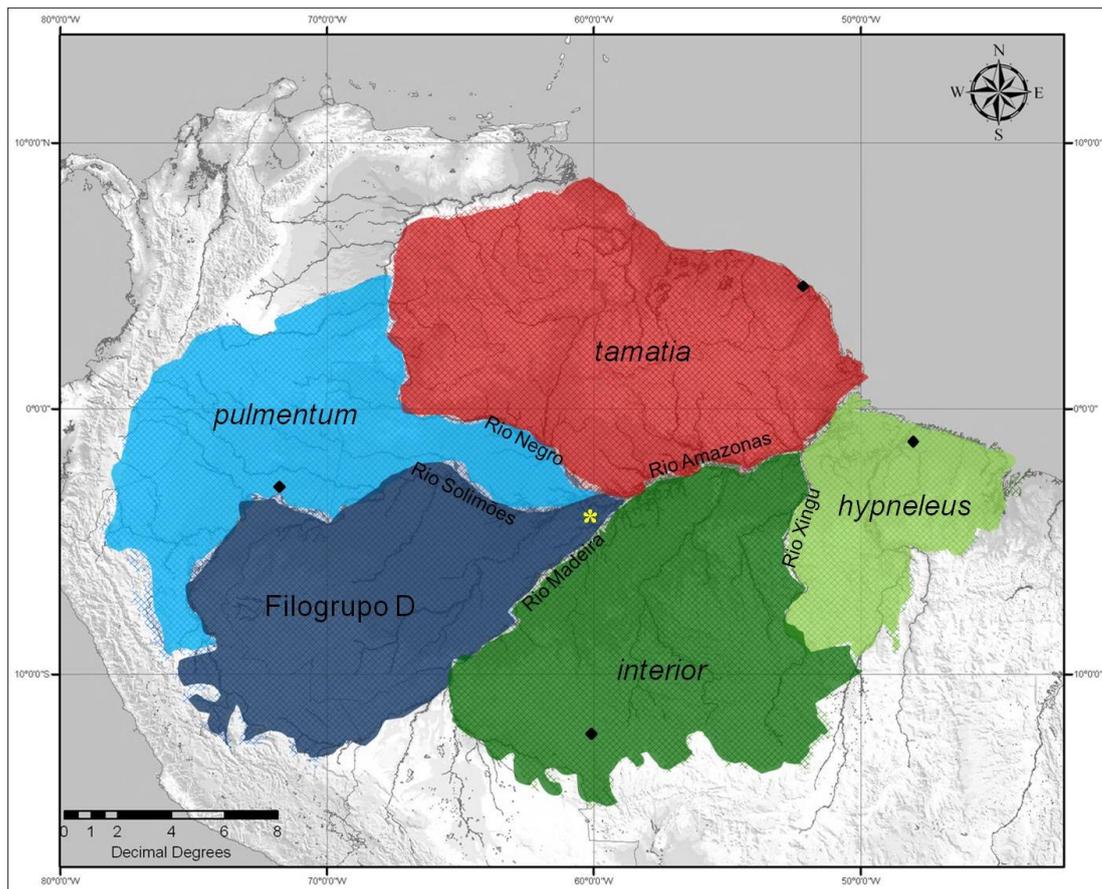


Figura 6. Mapa de distribuição dos táxons recuperados em *Bucco tamatia* pelas filogenias obtidas. Os losangos representam as localidades-tipo das subespécies já descritas. O asterisco representa a localidade onde o indivíduo “D5” foi coletado.

O nome *punctuliger*, interpretado como pertencente a uma população híbrida (Rasmussen & Collar, 2002), pode ser aplicado com segurança apenas ao espécime MPEG 73780 (D5 nas Figuras 1 e 2) da margem esquerda do baixo rio Madeira (Autazes). Este espécime, coletado a cerca de 170 km da localidade tipo de *punctuliger* (Caviana, no rio Solimões, na margem oposta a Manacapuru; Peters, 1948) e dentro do mesmo interflúvio (baixo Purus - Madeira) representou uma linhagem separada e que não se agrupou com significância estatística a qualquer um dos filogrupos B, D ou E identificados em *B. tamatia* (Figura 2). A filogenia recuperou este espécime como grupo irmão do alopátrico filogrupo B (áreas de endemismo Xingu / Belém), ao invés de outros espécimes coletados entre a margem esquerda do rio Madeira e ao sul do rio Solimões (filogrupo D), como esperado, embora o apoio estatístico fraco obtido para o posicionamento do espécime MPEG 73780 não exclui a possibilidade de este ser mais

proximamente relacionado aos filogrupos D ou E. Fenotipicamente, este indivíduo é idêntico aos espécimes pertencentes aos filogrupos D e E, os quais, por sua vez, também carecem de qualquer grande distinção morfológica aparente no padrão das manchas ventrais. Uma possibilidade é que MPEG 73780 seja um indivíduo híbrido entre diferentes linhagens do clado bem apoiado e composto pelos filogrupos B, D e E (Figura 2). Mais espécimes desta região e, possivelmente, um número maior de marcadores genéticos são necessários para posicionar com maior robustez essa linhagem e avaliar o seu grau de independência evolutiva ou um eventual status como linhagem híbrida, conforme postulado por Rasmussen e Collar (2002). De todo modo, isso demonstra que o nome *punctuliger* não está imediatamente disponível para nomear o filogrupo D, para o qual nenhum nome de aplicação inequívoca aparentemente se encontra disponível.

No entanto, ao contrário do defendido por Rasmussen e Collar (2002), não se encontrou qualquer indício de intergradação entre o filogrupo C (ao qual o nome *interior* pode ser aplicado) e qualquer outro filogrupo de *B. tamatia*, justificando a validade deste táxon como representando uma unidade evolutiva real. Conforme demonstrado pela distribuição do filogrupo C, a distribuição de *interior* inclui os interflúvios Madeira - Tapajós, Tapajós - Xingu até a porção sul do Xingu - Tocantins, onde o espécime coletado em Santana do Araguaia (MZUSP 88072; C1 na Figura 1). Com a revalidação de *interior*, o táxon *hypneleus* passa a ter uma distribuição restrita à baixa porção do interflúvio Xingu - Tocantins e a leste deste último rio (Figura 6).

As reconstruções filogenéticas a partir dos critérios de Inferência Bayesiana, Máxima Verossimilhança e a abordagem coalescente de Árvore de Espécies baseados em um banco de dados *multilocus*, bem como a estruturação revelada através das redes de haplótipos e a amplitude das distâncias genéticas entre os filogrupos A - E, permitem inferir a existência de independência evolutiva entre os cinco filogrupos encontrados (Milá *et al.*, 2012). Além disso, os resultados da AMOVA baseada nos dados mitocondriais permitem presumir que o fluxo gênico entre os cinco filogrupos caracterizados é baixo ou insignificante, o que, aliado ao fato deles possuírem distribuição parapátrica, preenche os requisitos para que sejam tratadas como espécies distintas, segundo o conceito filético de espécies (Aleixo, 2007). Portanto, nesse caso, seriam consideradas espécies *B. tamatia*, *B. interior*, *B. hypneleus* e *B. pulmentum*, enquanto um novo nome precisaria ser erigido para o clado D ou o nome *punctuliger*

continuará a ser aplicado ao mesmo, dada a incerteza do posicionamento filogenético do único espécime seguramente atribuído a este táxon e incluído no presente estudo (MPEG 73780; ver discussão acima). Essa última alternativa parece mais recomendada por uma questão de estabilidade nomenclatural, face à incerteza do posicionamento real do táxon *punctuliger* (Figura 2).

Alternativamente, sob a perspectiva do conceito biológico de espécie, altos valores de probabilidades posteriores separando os filogrupos reciprocamente monofiléticos A, C e B+D+E na árvore de espécies *multilocus* (Figura 4) fornece forte evidência para um avançado estágio de coalescência entre estas linhagens para todos os marcadores utilizados (Brumfield *et al.*, 2008), o que sugere isolamento reprodutivo já adquirido e, conseqüentemente, o seu reconhecimento como espécies biológicas distintas. Nesse caso, *B. tamatia* e *B. interior* seriam tratados como espécies biológicas monotípicas, enquanto os filogrupos B, D e E seriam reunidos numa única espécie biológica politípica (*B. pulmentum*) com três subespécies (*B. p. hypneleus*, *B. p. pulmentum* e *B. p. punctuliger*). Esse tratamento é particularmente atraente porque permite uma melhor acomodação da incerteza referente à correta aplicação do nome *punctuliger*, que, apesar disso, está seguramente ligado ao clado contendo os filogrupos B, D e E e que estariam sendo reconhecidos como membros de uma mesma espécie (Figura 2).

Apesar da clara separação genética entre esses cinco filogrupos, não existem diagnoses morfométricas ou de plumagem separando os mesmos de modo consistente (dados não mostrados). Os filogrupos do oeste da Amazônia (D e E) são diferentes dos demais por apresentar as penas da região gular de coloração amarela clara, o que é consistente com o seu posicionamento numa mesma espécie biológica, conforme discutido acima. Já *tamatia* (filogrupo A), *interior* (filogrupo C) e *hypneleus* (filogrupo B) apresentam as penas da região gular de coloração alaranjada, demonstrando que esse caráter não varia com a filogenia, uma vez que o último filogrupo / táxon é irmão daqueles de garganta amarela clara do oeste da Amazônia ao invés daqueles com a mesma coloração nesta parte do corpo (*tamatia* e *interior*, recuperados como irmãos com forte apoio; Figuras 2 e 4). Frequentemente, linhagens de separação recente, apesar de já terem adquirido histórias independentes, ainda não tiveram tempo suficiente para se tornar morfologicamente distinguíveis (Brickford *et al.*, 2006). Casos de diversidade críptica (espécies morfologicamente idênticas ou muito parecidas, mas bastante

divergentes geneticamente e vocalmente, além de evolutivamente independentes) entre aves na Amazônia não são incomuns (O'Neill *et al.*, 2011; Isler *et al.*, 2012). A busca por diagnoses no complexo *B. tamatia* prosseguirá com as análises vocais, uma vez que, vários estudos atuais com aves neotropicais têm demonstrado que caracteres vocais podem ajudar na delimitação de espécies crípticas, por exemplo: *Myrmeciza laemosticta* (Chaves *et al.*, 2010), *Willisornis poecilinotus* (Isler & Whitney, 2011) e *Hylopezus macularius* (Carneiro *et al.*, 2012).

No entanto, mesmo sob uma perspectiva conservadora, os dados obtidos pelo presente estudo já permitem o reconhecimento de duas novas espécies biológicas crípticas antes agrupadas dentro da espécie politípica *B. tamatia*: *B. interior* (monotípico) e *B. pulmentum* (politípica, agrupando as subespécies *B. p. hypneleus*, *B. p. pulmentum* e *B. p. punctuliger*).

#### Padrões temporais e espaciais de diversificação no complexo *B. tamatia*

Conforme discutido acima, os dados obtidos no presente estudo permitem tratar a espécie politípica *B. tamatia* como um complexo, contendo um mínimo de 3 espécies biológicas e 5 espécies evolutivas / filogenéticas. A relação encontrada entre os clados principais deste complexo, sobretudo aquela de grupos irmãos entre os clados do escudo das Guianas (*B. tamatia*) e aquele da margem direita do Madeira até o Xingu, incluindo a porção alta do interflúvio Xingu-Tocantins (*B. interior*), com a exclusão do clado do baixo interflúvio Xingu - Tocantins e a leste deste último rio (*B. hypneleus* ou *B. p. hypneleus*), irmão daqueles distribuídos a oeste dos rios Negro e Madeira, não tem paralelo com qualquer relação registrada previamente entre clados de aves na Amazônia (Bates, 1998; Cracraft & Prum, 1988; Prum, 1988; Eberhard & Bermingham, 2005; Ribas *et al.*, 2012; Fernandes *et al.*, 2013; Horta *et al.*, 2013). A parafilia recuperada neste estudo entre *B. interior* e *B. p. hypneleus* contraria uma previsão feita por estudos filogeográficos prévios de que populações / clados do escudo brasileiro e das guianas formariam sempre grupos reciprocamente monofiléticos em função do grande tempo e grau de isolamento entre estas grandes formações geológicas da Amazônia (Bates, 2001; Aleixo & Rossetti, 2007). Embora o presente estudo tenha recuperado a monofilia recíproca entre populações do escudo brasileiro e das guianas (*B. tamatia* e *B. interior*), a presença de uma população diferenciada *B. p. hypneleus* no leste do escudo brasileiro

mais proximamente relacionada àquelas da Amazônia ocidental implica um cenário histórico complexo, provavelmente incluindo a presença de mecanismos vicariantes e de dispersão (Cheviron *et al.*, 2005).

Os resultados obtidos na datação molecular realizada indicam que o primeiro evento de cladogênese no complexo *B. tamatia* ocorreu há cerca de 3,11 milhões (0,7-6,96 m.a. atrás) de anos, separando as linhagens do escudo das guianas e da maior parte do escudo brasileiro (*B. tamatia* e *B. interior*), daquelas ocorrendo nas bacias sedimentares do oeste da Amazônia (*B. p. pulmentum* e *B. p. punctuliger*) e extremo leste do escudo brasileiro (*B. p. hypneleus*). No limite entre os escudos das guianas e brasileiro e as bacias sedimentares da Amazônia ocidental (bacia do Solimões) há um arco estrutural (arco do Purus) que funcionava como uma barreira que impedia que a região leste da Amazônia recebesse a drenagem da região oeste e vice-versa (Lundberg *et al.*, 1998; Latrubesse *et al.*, 2010; Figura 6A). Em função disso, foi postulado que o arco do Purus tenha atuado como o limitador oriental do sistema flúvio-lacustre Pebas (Latrubesse *et al.*, 2010), que cobria praticamente toda a Amazônia ocidental até pelo menos o Plioceno (ca. 5-3 m.a. atrás). Portanto, o primeiro evento de diversificação no complexo *B. tamatia* pode estar ligado a estágios iniciais da superação do arco do Purus pelo sistema Pebas devido ao contínuo soergimento dos Andes e subsidência da Amazônia central e oriental (Shephard *et al.*, 2010) e estruturação da drenagem transamazônica atual. Em função disso, uma linhagem ancestral de *B. tamatia* teria colonizado uma nova formação geológica a partir de uma conexão entre as bacias dos rios Solimões e Amazonas e se diferenciado posteriormente em ambas formações (escudos e bacias sedimentares), seja por um efeito presente (ainda que em menor escala) do arco do Purus ou da formação dos rios Madeira e Negro, que hoje separam os escudos das bacias sedimentares. Posteriormente, com o avanço do soergimento dos Andes e um estágio mais avançado de desenvolvimento da drenagem transamazônica, os rios Solimões / Amazonas, agora conectados, podem ter isolado as populações do complexo do escudo das guianas (*B. tamatia*) daquelas do oeste e centro do escudo brasileiro (*B. interior*) há aproximadamente 1,47 milhões de anos (0-4,23 m.a. atrás; Figura 6B). O intervalo de confiança estimado para essa datação sobrepõe com aquelas estimadas para a separação entre clados ao norte e ao sul dos rios Amazonas / Solimões em *Psophia* (2,7-2,0 m.a. atrás) (Ribas *et al.*, 2012) e *Sclerurus ruficularis* (2,28-3,80 m.a. atrás)(Horta *et al.*, 2013).

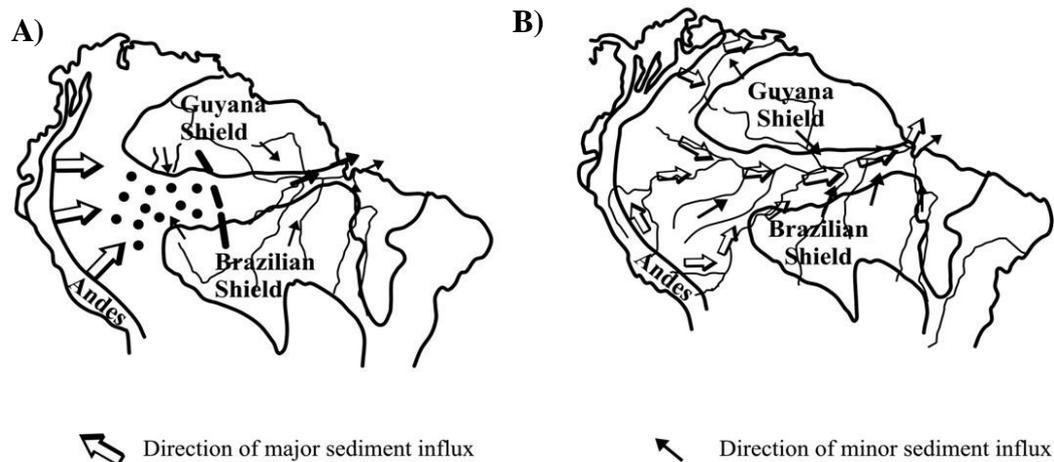


Figura 7. Reconstrução do cenário paleogeográfico que deu origem à formação da atual drenagem Amazônica (adaptado de Latrubesse *et al.*, 2010). A – Drenagem/deposição de sedimentos na Amazônia antes da superação do Arco do Purus pelo sistema Pebas, até cerca de 3-5 m.a. atrás.; B – Estabelecimento da drenagem trans-amazônica atual após a superação do Arco do Purus pelo sistema Pebas e da contínua subsidência da Amazônia central e oriental 3-5 m.a. atrás.

O evento seguinte de cladogênese no complexo, separando *B. p. hypneleus* de *B. p. pulmentum/punctuliger* ocorreu há cerca de 1,46 milhões de anos (0,29-2,78 m.a. atrás). É complexo remontar o cenário através do qual esse evento de separação entre linhagens hoje alopátricas tenha ocorrido, mas uma possibilidade é a de dispersão do ancestral de *pulmentum/punctuliger/hypneleus* da região oeste para o extremo leste da Amazônia. Uma possibilidade é que durante períodos glaciais, com uma diminuição da vazão dos rios amazônicos e retração da vegetação florestal (particularmente na Amazônia oriental; Cheng *et al.*, 2013), a vegetação de florestas de terra-firme dos escudos se fragmentou, enquanto um corredor oeste-leste de florestas de várzea ao longo do rio Amazonas tenha se formado os sistemas de várzea de toda a bacia. O corredor pela margem sul do Amazonas através do qual o ancestral de *pulmentum/punctuliger/hypneleus* atingiria o leste da Amazônia seria possível, uma vez que *B. interior* não é comum em áreas de várzea (dado retirado de etiquetas de espécimes depositados em museus). No extremo leste, sobretudo a margem sul próxima à foz do Rio Amazonas, encontra-se uma região que durante o Pleistoceno foi caracterizada por um intenso dinamismo (na porção norte das áreas de endemismo Xingu e Belém) (Rossetti & Góes, 2008). O desenvolvimento dessa região, além da

influência do Rio Amazonas, sofreu grande influência do Rio Tocantins e das recorrentes mudanças no nível do mar, devido às glaciações (Rossetti, 2001; Rossetti *et al.*, 2007). Atualmente a região é composta por um intrincado conjunto de paleocanais, que atestam a complexa rede fluvial que era característica dessa região, também de terras baixas e matas alagadas (Rossetti & Góes, 2008). Este pode ter sido um cenário propício ao desenvolvimento de *hypneleus* no leste amazônico.

O último evento de cladogênese no complexo ocorreu há cerca de 0,96 milhões de anos (0,16-1,76 m.a. atrás) entre *B. p. pulmentum* e *B. p. punctuliger*, populações separadas pelo Rio Solimões, cuja formação está relacionada aos estágios finais da drenagem do sistema Pebas, durante o Plio-Pleistoceno (Campbell *et al.*, 2006). É importante frisar que rios, como barreira vicariante entre os interflúvios, não são a única causa da separação de linhagens. Geralmente os grandes rios amazônicos também delimitam compartimentos tectônicos com distintas unidades sedimentares (Rossetti *et al.*, 2005). Estas unidades acabam por gerar regiões com solos e até fitofisionomias distintas, causando diferenciação entre as biotas de lados opostos dos rios (Aleixo & Rossetti, 2007).

A distribuição das espécies mais proximamente relacionadas de *B. tamatia*, a trans-andina *B. noanamae* e aquela ao norte do Rio Orinoco para *Hypnelus ruficollis* (Witt, 2004), indicam que o ancestral deste clado todo habitou provavelmente a porção oeste da Amazônia e América do Sul. Nesse contexto, o padrão de diversificação no complexo *B. tamatia* poderia se assemelhar àquele proposto para espécies associadas a florestas alagadas da Amazônia, que teriam se expandido para toda a Amazônia a partir das bacias sedimentares do oeste da bacia (Aleixo, 2006; Aleixo & Rossetti 2007). As espécies que se diversificaram primeiramente no oeste amazônico do fim do Neógeno e começo do Quaternário, provavelmente possuíam características ecológicas generalistas devido ao dinamismo da paisagem nas bacias sedimentares dos oeste amazônico, podendo ocupar diferentes tipos de ambiente, como ocorre em *Aburria*, *Pteroglossus* e *Ramphastos* (Eberhard & Bermingham, 2005; Grau *et al.*, 2005; Weckstein, 2005). Essa é uma característica comum a *B. tamatia*, que ocorre em florestas de várzea, perturbadas e no interior de florestas de terra-firme ao longo de igarapés.

Uma das possibilidades apoiada pelos padrões filogeográficos e de genética populacional recuperados para o complexo *B. tamatia*, é uma separação inicial entre

uma linhagem que se diferenciou nos escudos brasileiros e das guianas, penetrando nas florestas de terra-firme destas últimas formações através de igarapés e outra que se diferenciou principalmente em florestas de várzea associadas a bacias sedimentares do oeste da Amazônia e que substituíram a partir do Plio-pleistoceno o sistema Pebas na região (Figuras 2 e 5; Tabelas 1). Esse primeiro episódio de cladogênese no complexo seria explicado pela conexão entre as bacias hidrográficas do oeste e leste da Amazônia a partir da superação do arco do Purus pelo proto Amazonas-Solimões. Posteriormente, com a estruturação dos rios da bacia, houve a separação pelo rio Amazonas das populações das linhagens associadas a florestas de terra-firme nos escudos brasileiro e das guianas. Com o aumento da subsidência nas porções central e oriental da Amazônia, inclusive a parte norte do escudo brasileiro e a foz do Amazonas, com a consequente expansão da bacia sedimentar do Amazonas, condições propícias foram criadas para colonização da região pela linhagem do complexo *B. tamatia* associada às bacias sedimentares do oeste da Amazônia e florestas de várzea. Nesse sentido, o padrão de diversificação no complexo *B. tamatia* é único também com relação ao de outras linhagens associadas às florestas alagadas na Amazônia, já que nestas nenhuma estrutura filogeográfica foi verificada e uma expansão populacional relativamente recente (datada aproximadamente do final do último período glacial, há cerca de 20.000 atrás) foi inferida (Aleixo, 2006; Aleixo & Rossetti, 2007). No caso do complexo *B. tamatia* há uma grande estruturação filogeográfica mesmo no clado associado a florestas de várzea e bacias sedimentares do oeste e extremo leste da Amazônia (*B. p. pulmentum*, *B. p. punctuliger* e *B. p. hypneleus* Figura 2 e 5; Tabela 3), embora existam indícios de fluxo gênico entre *B. p. hypneleus* e as populações alopátricas do oeste (*B. p. pulmentum* e *B. p. punctuliger*), conforme atestado pela posição filogenética do espécime do baixo Madeira discutido acima (MPEG 73780). Evidência de um processo de coalescência ainda não completo também é demonstrada pela árvore de espécies, que encontrou um baixo apoio para a monofilia recíproca de *B. p. pulmentum* (filogrupo E) e *B. p. punctuliger* (filogrupo D; Figura 4). Uma amostragem mais intensa é necessária na calha do Amazonas entre os baixos rios Madeira e Xingu para verificar se a área é habitada por populações do complexo *B. tamatia* intermediárias entre aquelas das bacias sedimentares do Solimões (a oeste) e Amazonas (a leste), deixando, portanto claro a conexão atual entre as mesmas. No entanto, mesmo o espécime coletado mais próximo (ca. 30 km) da calha do Amazonas nessa região (MPEG 62228, de Juruti; C9 nas Figuras 1 e 2) e incluído no presente estudo pertence indiscutivelmente ao filogrupo C

(*B. interior*), associado a igarapés dentro de florestas de terra-firme (Figura 2). Em conjunto, esses dados mostram uma complexa história evolutiva, que parece indicar padrões filogeográficos distintos em ambientes de várzea e terra-firme a partir de uma separação inicial de linhagens ligadas a estes ambientes.

## CONCLUSÕES

O presente estudo revelou uma complexa história evolutiva para o complexo *Bucco tamatia*, destacando uma marcante incongruência entre a classificação taxonômica tradicional e os padrões genéticos identificados. Através de uma abordagem filogeográfica multilocus, foram identificados cinco filogrupos distintos, com distribuição geográfica coerente com áreas de endemismo amazônicas e separados por barreiras geográficas significativas, como grandes rios. Os dados genéticos e as análises de coalescência indicam a existência de, no mínimo, três espécies biológicas e cinco espécies evolutivas/filogenéticas no complexo, com baixa ou inexistente troca gênica entre elas, reforçando a hipótese de independência evolutiva.

As análises filogenéticas também revelaram a parafilia do gênero *Bucco*, reforçando a necessidade de revisão taxonômica e a adoção do gênero *Nystactes* para o grupo em estudo. Ainda que diferenças morfológicas entre os filogrupos sejam sutis ou ausentes, os padrões genéticos, históricos e geográficos encontrados justificam o reconhecimento formal de novas espécies e subespécies dentro do complexo.

Por fim, os padrões temporais e espaciais de diversificação identificados refletem eventos geológicos e paleoambientais importantes na formação da paisagem amazônica atual, como a superação do Arco do Purus e o estabelecimento da drenagem transamazônica. O complexo *B. tamatia* mostra um grau elevado de estruturação filogeográfica, mesmo entre populações associadas a ambientes alagados, contrastando com padrões observados em outras aves amazônicas. Esses resultados ressaltam a importância de se considerar múltiplas linhas de evidência para a delimitação de espécies e contribuem significativamente para a compreensão da biogeografia e evolução da avifauna amazônica.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aleixo, A. (2004) Historical diversification of a “terra-firme” forest bird superspecies: a phylogeographic perspective on the role of different hypotheses of Amazonian diversification. *Evolution* 58: 1303–1317.
- Aleixo, A. (2006) Historical diversification of floodplain forest specialist species in the Amazon: a case study with two species of the avian genus *Xiphorhynchus* (Aves: Dendrocolaptidae). *Biological Journal of the Linnean Society* 89: 383–395.
- 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. *Revista Brasileira de Ornitologia* 15: 229–242.
- Aleixo, A. (2009) Conceitos de espécie e suas implicações para a conservação. *Megadiversidade*, 5 (1–2): 87–95.
- Aleixo, A. & Rossetti D.F. (2007) Avian gene trees, landscape evolution, and geology: towards a modern synthesis of Amazonia historical biogeography? *J Ornithol*, 148 (2): 443–453.
- Armenta, J.K., Weckstein, J.D. & Lane, D.F. (2005) Geographic variation in mitochondrial DNA sequences of an Amazonian nonpasserine: the black-spotted barbet complex. *Condor* 107: 527–536.
- Avise, J.C. (2000) *Phylogeography: the history and formation of species*. Harvard University Press, Cambridge, MA.
- Avise, J.C. (2009) Phylogeography: retrospect and prospect. *Journal of Biogeography* 36: 3–15.
- Avise, J.C., Arnold, J., Ball, R.M., Bermingham, E., Lamb, T., Neigel, J.E., Reeb, C.A. & Saunders, N.C. (1987) Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics* 18: 489–522.
- Barrett, J. C., Fry, B., Maller, J. & Daly, M. J. (2005) Haploview: analysis and visualization of LD and haplotype maps. *Bioinformatics*.

- Bates, J.M. (2001) Avian diversification in Amazonia: evidence for historical complexity and a vicariance model for a basic pattern of diversification. *Diversidade Biológica e Cultural da Amazônia* 1: 119–138.
- Bates, J.M., Hackett, S.J & Cracraft, J.A. (1998) Area-relationships in the Neotropical lowlands: an hypothesis based on raw distributions of passerine birds. *Journal of Biogeography* 25 (4): 783–793.
- Bermingham, E. & Moritz, C. (1998) Comparative phylogeography: concepts and applications. *Molecular Ecology* 7: 367–369.
- Borges, S.H. & Silva, J.M.C., (2012) A new area of endemism for amazonian birds in the rio Negro basin. *The Wilson Journal of Ornithology* 124(1): 15–23.
- Brickford, D., Lohman, D.J., Sodhi, N.S., Ng, P K.L., Meier, R., Winker, K., Ingram, K.K. & Das, I. (2006) Cryptic species as a window on diversity and conservation. *Trends in Ecology and Evolution* 22 (3): 148–155.
- Brumfield, R.T., Beerli, P., Nickerson, D.A. & Edwards, S.V. (2003) The utility of single nucleotide polymorphisms in inferences of population history. *Trends in Ecology and Evolution* 18: 249–256.
- Brumfield, R.T., Liu, L., Lum, D.E. & Edwards, S.V. (2008) Comparison of species tree methods for reconstructing the phylogeny of bearded manakins (Aves: Pipridae: *Manacus*) from multilocus sequence data. *Systematic Biology*, 57: 719–731.
- CBRO (Comitê Brasileiro de Registros Ornitológicos) (2011) Listas das aves do Brasil. 10ª Edição. Disponível em <<http://www.cbro.org.br>>. Acesso em: [27/02/2012].
- Chapman, F.M. (1917) The distribution of bird-life in Colombia. *Bulletin of the American Museum of Natural History* 36: 347–355.
- Chaves, J.C., Cuervo, A.M., Miller, M.J. & Cadena, C.D. (2010) Revising species limits in a group of *Myrmeciza* Antbirds reveals a cryptic species within *M. laemosticta* (Thamnophilidae). *The Condor* 112: 718–730.
- Carneiro, L., Gonzaga, L.A.P., Rego, P.S., Sampaio, I., Schneider, H. & Aleixo, A. (2012) Systematic revision of the Spotted Antpitta *Hylopezus macularius* (Grallariidae), with description of a cryptic new species from Brazilian Amazonia. *The Auk* 129(2): 338–351.

- Cheng, H., Sinha, A., Cruz, F.W., Wang, X., Edwards, R.L., d'Horta, F.M., Ribas, C.C., Vuille, M., Stott, L.D. & Auler, A. S. (2013) Climate change patterns in Amazonia and biodiversity. *Nature Communications*
- Cheviron, Z.A., Hackett, S.J. & Capparella, A.P. (2005) Complex evolutionary history of a Neotropical lowland forest bird (*Lepidothrix coronata*) and its implications for historical hypotheses of the origin of Neotropical avian diversity. *Molecular Phylogenetic and Evolution* 36: 338–357.
- Cory, C.B. (1919) Catalogue of birds of the Americas. Field Mus. Nat. Hist. Publ., Zool. Ser. vol. 13, pt. 2, no. 2.
- Cracraft, J. (1985) Historical biogeography and patterns of differentiation within the South America avifauna: Areas of endemism. *Neotropical Ornithology* 36: 49–89.
- Cracraft, J. & Prum, O. (1988) Patterns and processes of diversification, speciation and historical congruence in some Neotropical birds. *Evolution* 42: 603–620.
- Crawford, A.J. (2003) Huge populations and old species of Costa Rican and Panamanian dirt frogs inferred from mitochondrial and nuclear gene sequences. *Molecular Ecology* 12: 2525–2540.
- d'Horta, F.M., Cuervo, A.M., Ribas, C.C., Brumfield, R.T. & Miyaki, C.Y. (2013) Phylogeny and comparative phylogeography of *Sclerurus* (Aves: Furnariidae) reveal constant and cryptic diversification in an old radiation of rain Forest understorey specialists. *Journal of Biogeography* 39
- Drummond, A.J., Rambaut, A. & Xie, W. (2009) BEAST Version v1.5.3. Disponível online no endereço: <http://code.google.com/p/beast-mcmc>
- Eberhard J.R. e Bermingham, E. (2005) Phylogeny and comparative biogeography of *Pionopsitta* parrots and *Pteroglossus* toucans. *Mol Phylogenet Evol* 36:288–304
- Edwards, S.V. & Beerli, P. (2000) Gene divergence, population divergence and the variance in coalescence time in phylogeographic studies. *Evolution* 54 (6):1839–1854.
- Fernandes, A.M., Wink, Michael & Aleixo, A. (2012) Phylogeography of the chestnut-tailed antbird (*Myrmeciza hemimelaena*) clarifies the role of rivers in Amazonian biogeography. *Journal of Biogeography*

- Fernandes, A.F., Gonzalez, J., Wink, M. & Aleixo, A. (2013) Multilocus phylogeography of the Wedge-billed Woodcreeper *Glyphorynchus spirurus* (Aves, Furnariidae) in lowland Amazonia: Widespread cryptic diversity and paraphyly reveal a complex diversification pattern, *Molecular Phylogenetics & Evolution* 66: 270–282.
- Garzón–Orduña, I.J. & Miranda–Esquivel, D.R. (2007) Amazonian relationships: An example of a complex area and a complex problem. *Biogeografía* 1:17–20.
- Gascon, C., Malcolm, J.R., Patton, J.L., Silva, M.N.F., Bogart, J.P., Loughheed, S.C., Peres C.A., Neckel S. & Boag, P. T. (2000) Riverine barriers and the geographic distribution of Amazonian species. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97:13672–13677.
- Excoffier, L., Laval, G. & Schneider, S. (2006) Arlequin ver. 3.1. An Integrated Software Package for Population Genetics Data Analysis. Computational and Molecular Population Genetics Lab (CMPG), Institute of Zoology, University of Berne.
- Gloger, C.W.L. (1827) *Froriep's Notizen*, XVI: 275–279.
- Grau, E.T., Pereira, S.L., Silveira, L.F., Höfling, E. & Wajntal, A. (2005) Molecular phylogenetics and biogeography of Neotropical piping guans (Aves: Galliformes): *Pipile* Bonaparte, 1856 is synonym of *Aburria* Reichenbach, 1853. *Mol Phylogenet Evol.* 35: 637–645.
- Guindon, S. & Gascuel, O. (2003) A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood. *Systematic Biology*, 52:696–704.
- Haffer, J. (1969) Speciation in Amazonian forest birds. *Science* 165: 131–137.
- Haffer, J. (2008) Hypotheses to explain the origin of species in Amazonia. *Braz. J. Biol.* 68(4, Suppl.): 917–947
- Hellmayr, C.E. (1910) *Nov. Zool.* XVII 391–392.
- Isler, M.L. & Whitney, B.M. (2011) Species Limits in Antbirds (Thamnophilidae): The Scale-Backed Antbird (*Willisornis poecilinotus*) Complex. *The Wilson Journal of Ornithology* 123 (1): 1–14.

- Isler, M.L., Alonso, J.A., Isler, P.R., Valqui, T., Begazo, A. & Whitney, B.M. (2012) Rediscovery of a cryptic species and description of a new subspecies in the *Myrmeciza hemimelaena* complex (Thamnophilidae) of the Neotropics. *The Auk* 119(2): 362–378
- Jacobsen, F., Friedman, N.R. & Omland, K.E. (2010) Congruence between nuclear and mitochondrial DNA, Combination of multiple nuclear introns resolves a well-supported phylogeny of New World orioles (*Icterus*). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 56: 419–427.
- Latrubesse, E.M., Cozzuol, M., Silva-Caminha, S.A. F., Rigsby, C.A., Absy, M.A. & Jaramillo, C. (2010) The late Miocene paleogeography of the Amazon Basin and the evolution of the Amazon River system. *Earth Sci Rev* 99: 99–124.
- Librado, P. & Rozas, J. (2009) DNASP v.5. A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics* 25:1451–1452.
- Lundberg, J.G., Marshall, L.G., Guerrero, J., Horton, B., Malabarba, M.C.S.L. & Wesselingh, F. (1998) The stage for Neotropical fish diversification, a history of tropical South American rivers. 13–48 em: L. R. Malabarba, R. E. Reis, R. P. Vari, Z. M. S. Lucena, and C. A. S. Lucena, eds. *Phylogeny and classification of Neotropical fishes*. EDIPUCRS, Porto Alegre, Brasil. 13–48
- Milá, B., Tavares, E.S., Munõz Saldanã, A., Karubian, J. & Smith T. B. (2012) A Trans-Amazonian Screening of mtDNA Reveals Deep Intraspecific Divergence in Forest Birds and Suggests a Vast Underestimation of Species Diversity. *PLoS ONE* 7(7): e4054
- Patton, J.L., Silva, M.N.F. & Malcolm, J.R. (1994) Gene genealogy and differentiation among arboreal spiny rats (Rodentia, Echmyidae) of the Amazon: a test of the riverine barrier hypothesis. *Evolution* 48: 1314–1323.
- Patton, J.L., Silva, M.N.F. & Malcolm, J.R. (2000) Mammals of the Rio Juruá and the evolutionary and ecological diversification of Amazonia. *Bulletin of the American Museum of Natural History* 244: 1–306.
- Peters, J.L., 1948. *Check-List of Birds of the World*, vol. 6. Harvard University Press, 934 Cambridge, Massachusetts.

- Posada, D. (2008) JModelTest Versão 0.1.1 Disponível online no sitio, <http://darwin.uvigo.es/software/jmodeltest.html>
- Räsänen, M.E., Linna, A.M. Santos, J.C.R. & Negri, F.R. (1995) Late Miocene tidal deposits in the Amazonian foreland basin. *Science* 269: 386–390.
- Rasmussen, P.C. & Collar, N.J. (2002) Family Bucconidae (puffbirds) 102–138. (em: J. del Hoyo, A. Elliott, J. Sargatal, eds. *Handbook of the birds of the world*, 7. Barcelona, Lynx Edicions)
- Ribas, C.C., Aleixo, A.P., Nogueira, A.C.R., Miyaki, C.Y. & Cracraft, J. (2012) A palaeobiogeographic model for biotic diversification within Amazonia over the past three million years. *Proc. R. Soc. B* 279: 681–689.
- Ridgway, R. (1914) The birds of North and Middle America. *Bull. U.S. Nat. Mus.*, no. 50, pt. 6.
- Ronquist, F. & Huelsenbeck, J.P. (2003) MrBayes 3, Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19: 1572–1574
- Rossetti, F. (2001). Late Cenozoic sedimentary evolution in northeastern Pará, Brazil, within the context of sea level changes. *Journal of South American Earth Sciences* 14, 77–89.
- Rossetti, D.F, Toledo, P.M. & Goés, A.M. (2005) New geological framework for Western Amazonia (Brazil) and implications for biogeography and evolution. *Quaternary Research* 63: 78–89.
- Rossetti, D.F., Valeriano, M.M. & Thales, M. (2007) Na abandoned estuary within Marajó Island, implications for late Quaternary paleogeography of northern Brazil. *Estuaries and Coasts* 30(5): 813–826.
- Rossetti, D.F. & Góes, A.M. (2008) Late Quaternary drainage dynamics in northern Brazil based on the study of a large paleochannel from southwestern Marajó Island. *Annals of the Brazilian Academy of Sciences* 80(3): 579–593.
- Rull, V. (2011) Neotropical biodiversity: timing and potential drivers. *Trends in Ecology and Evolution* 26 (10): 1–6.
- SACC (2013) Remsen Jr., J.V., Cadena, C.D., Jaramillo, A., Nores, M., Pacheco, J.F., Pérez-Emán, J., Robbins, M.B., Stiles, F.G., Stotz, D.F. & Zimmer, K.J. Version

- [07/02/2013]. A classification of the bird species of South America. American Ornithologists' Union. <http://www.museum.lsu.edu/~Remsen/SACCBaseline.html>
- Sambrook, J., Fritsch, E.F. & Maniatis, T. (1989) *Molecular Cloning: a laboratory manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York.
- Sorenson, M.D. & Quim, T.W. (1998) Numts: a challenge for avian systematics and population biology. *The Auk* 115: 214–221.
- Sick, H. (1967) Rios e enchentes na Amazônia como obstáculo para a avifauna. Atas Simpósio Biota Amazonia Zoológica, 5: 495–520.
- Smith, B.T., Ribas, C.C., Whitney, B.M., Hernandez–Baños, B.E. & Klicka, J. (2013) Identifying biases at different spatial and temporal scales of diversification: a case study in the Neotropical parrotlet genus *Forpus*. *Molecular Ecology* 22: 483–494.
- Templeton, A.R. (2004) Statistical phylogeography: methods of evaluating and minimizing inference errors. *Molecular Ecology* 13: 789–809.
- Vanzolini, P.E. & Williams, E.E. (1970) South American *Anolis*, the geographic differentiation and evolution of the *Anolis chrysolepis* species group (Sauria, Iguanidae). *Arq. Zool.* 19: 1–124.
- Wallace, A.R. (1852) On the monkeys of the Amazon. *Proceedings of the Zoological Society of London* 20:107–110.
- Webb, S.D. (1995) Biological implications of the middle Amazon seaway. *Science* 269: 361–362.
- Weckstein, J.D. (2005) Molecular phylogenetics of the *Ramphastos* toucans: implications for the evolution of morphology, vocalizations, and coloration. *The Auk* 122: 1191–1209.
- Weir, J.T. & Schluter, D. (2008) Calibrating the avian molecular clock. *Molecular Ecology* 17: 2321–2328.
- Witt, C.C. (2004) Rates of molecular evolution and their application to Neotropical avian biogeography. Dissertation of Graduate Faculty of the Louisiana State University Agricultural and Mechanical College.
- Zimmer, K.J. (2002) Species limits in Olive–blackened foliage-gleaners (*Automolus*: Furnariidae). *Wilson Bull.* 114 (1):20–37.

**ANEXO -** Sumário das amostras de tecido muscular de *B. tamatia* utilizadas nas análises moleculares deste estudo.

<b>VOUCHER</b>	<b>PAÍS</b>	<b>ESTADO</b>	<b>LOCALIDADE</b>	<b>CÓDIGO</b>	<b>TÁXON</b>
MPEG 57833	Brasil	Pará	Ilha do Marajó, Ponta de Pedras, Fazenda Santa Maria.	B2	<i>hypneleus</i>
MPEG 58050	Brasil	Pará	Ilha do Marajó, Município de Chaves, cerca de 4 km S.	B1	<i>hypneleus</i>
MPEG 66798	Brasil	Pará	Oriximiná, Lago Sapucuí, Comunidade Casinha.	A6	<i>tamatia</i>
MPEG 69855	Brasil	Pará	Oriximiná, Lago Sapucuí, Comunidade Casinha.	A2	<i>tamatia</i>
MPEG 69854	Brasil	Pará	Oriximiná, Lago Sapucuí, Comunidade Casinha.	A3	<i>tamatia</i>
MPEG 62517	Brasil	Amazonas	Japurá, Rio Acanauí.	E2	<i>pulmentum</i>
MPEG 62518	Brasil	Amazonas	Japurá, Rio Acanauí.	E3	<i>pulmentum</i>
MPEG 62519	Brasil	Amazonas	Japurá, Rio Acanauí.	E4	<i>pulmentum</i>
MPEG 69853	Brasil	Pará	Oriximiná, Lago Sapucuí, Comunidade Casinha.	A4	<i>tamatia</i>
MPEG 65285	Brasil	Pará	Rio Xingu, Ilha Bela Vista.	B3	<i>hypneleus</i>
MPEG 65363	Brasil	Pará	Alenquer, ESEC Grão-Pará.	A5	<i>tamatia</i>
MPEG 65364	Brasil	Pará	Alenquer, ESEC Grão-Pará.	A8	<i>tamatia</i>
MPEG 61712	Brasil	Pará	Portel, FLONA do Caxiuanã, Plot PPBIO.	B4	<i>hypneleus</i>
MPEG 62516	Brasil	Amazonas	Japurá, Rio Mapari.	E5	<i>pulmentum</i>
MPEG 66634	Brasil	Pará	Óbidos, ESEC Grão-Pará.	A1	<i>tamatia</i>
MPEG 69931	Brasil	Pará	Faro, Vila Maracanã, Rio Xingu.	A15	<i>tamatia</i>
MPEG 62228	Brasil	Pará	Juruti, Projeto Juruti/Alcoa, Localidade Mutum.	C9	<i>interioir</i>
MPEG 58372	Brasil	Acre	Parque Nacional Serra do Divisor, Tabocal.	D3	<i>puntuliger</i>
MPEG 64611	Brasil	Pará	FLOTA de Faro, ca 70 km NW de Faro.	A16	<i>tamatia</i>

---

MZUSP 88072	Brasil	Pará	Fazenda Fartura, Santana do Araguaia	C1	<i>interior</i>
MZUSP 85960	Brasil	Pará	Rod. PA254, 5km da Com.Jatuarana, Prainha	A9	<i>tamatia</i>
MZUSP 85965	Brasil	Pará	Rod. PA254, 5km da Com.Jatuarana, Prainha	A18	<i>tamatia</i>
MZUSP 89775	Brasil	Pará	Prainha	A17	<i>tamatia</i>
MNRJ 47850	Brasil	Pará	Base da Aeronáutica, Serra do Cachimbo, Município de Novo Progresso	C2	<i>interior</i>
MNRJ 47908	Brasil	Pará	Base da Aeronáutica, Serra do Cachimbo, Município de Novo Progresso	C8	<i>interior</i>
LSUMZ 35697	Brasil	Amazonas	N bank Rio Solimões, ca 4.5 km NE São Paulo de Olivença	E3	<i>pulmentum</i>
LSUMZ 20222	Brasil	Amazonas	Manaus, km 34 ZF-3, Faz Esteio, ca 80 km N. Manaus	A14	<i>tamatia</i>
LSUMZ 42265	Peru		Loreto Department: S Rio Amazonas, ca 10km SSW mouth Rio Napo on E bank Quebrada Vainilla	D2	<i>punctuliger</i>
LSUMZ 5064	Peru		Loreto Department: 7km SW Jeberos	D4	<i>punctuliger</i>
LSUMZ 14722	Bolívia		Santa Cruz Department : Serrania de Huanchaca, 25km SE Catarata Arco Iris	C3	<i>interior</i>
LSUMZ 14727	Bolívia		Santa Cruz Department : Serrania de Huanchaca, 25km SE Catarata Arco Iris	C4	<i>interior</i>
LSUMZ 14820	Bolívia		Santa Cruz Department : Serrania de Huanchaca, 21km SE Catarata Arco Iris	C5	<i>interior</i>
LSUMZ 14841	Bolívia		Santa Cruz Department : Serrania de Huanchaca, 21km SE Catarata Arco Iris	C7	<i>interior</i>
LSUMZ 15320	Bolívia		Santa Cruz Department : Velasco, Pre Parque Nacional Noel Kempff Mercado, 30 kn E Aserradero Moira	C6	<i>interior</i>
INPAA 035	Brasil	Amazonas	ca 24 km NNE Tefé, margem esquerda Rio Solimões, "Paraná Jatuarana"	E1	<i>pulmentum</i>

---

---

INPAA 3512	Brasil	Rondônia	Margem esquerda do Rio Madeira, 90 km, ao SW de Porto Velho	D1	<i>punctuliger</i>
AMNH 2947	Venezuela		Rio Carapo; Guaiquinima	A13	<i>tamatia</i>
MPEG 73780	Brasil	Amazonas	Município de Autazes, margem esquerda do Rio Madeira.	D5	<i>punctuliger</i>
MPEG TAI	Brasil	Pará	Tailândia, Complexo Industrial Agropalma	B5	<i>hypneleus</i>
MPEG 74300	Brasil	Pará	Oriximiná, Lago Sapucuá, Comunidade Casinha.	A10	<i>tamatia</i>
MPEG 74301	Brasil	Pará	Oriximiná, Lago Sapucuá, Comunidade Casinha.	A11	<i>tamatia</i>
MPEG 74302	Brasil	Pará	Oriximiná, Lago Sapucuá, Comunidade Casinha.	A12	<i>tamatia</i>
MPEG SRR032	Brasil	Roraima	Bonfim, Fazenda Igarapé da Vaca	A7	<i>tamatia</i>
AMNH 786999	Colômbia		N Chocó, Rio Sucio	-	<i>B. noanamae</i>

---