



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

**FILOGEOGRAFIA DE TRÊS ESPÉCIES DE PASSERIFORMES  
(SUBOSCINES) NA REGIÃO DO BAIXO TOCANTINS - ILHA DO  
MARAJÓ - PARÁ.**

MAYA SONNENSCHN FACCIO

Dissertação 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: Prof. Dr. Alexandre Aleixo

BELÉM-PA

2008

MAYA SONNENSCHNEIN FACCIÓ

**FILOGEOGRAFIA DE TRÊS ESPÉCIES DE PASSERIFORMES  
(SUBOSCINES) NA REGIÃO DO BAIXO TOCANTINS - ILHA DO  
MARAJÓ - PARÁ.**

Dissertação 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: Prof. Dr. Alexandre Aleixo

BELÉM-PA

2008

À Júlio Marcos Kojima  
Por nossos sonhos  
Por nossos ideais  
E pelo nosso amor

Se há pessoas que não estudam, ou que, se estudam não aproveitam, elas que não se desencorajem e não desistam.

Se há pessoas que não interrogam os homens instruídos para esclarecer as suas dúvidas ou o que ignoram, ou que, mesmo interrogando-os, não conseguem tornar-se mais instruídas, elas que não se desencorajem e não desistam.

Se há pessoas que não meditam ou que, mesmo que meditem, não conseguem adquirir um conhecimento claro do princípio do bem, elas que não se desencorajem e não desistam.

Se há pessoas que não distinguem o bem do mal ou que, mesmo que distingam, não têm uma percepção clara e nítida, elas que não se desencorajem e não desistam.

Se há pessoas que não praticam o bem ou que, mesmo que o pratiquem, não podem aplicar nisso todas as suas forças, elas que não se desencorajem e não desistam.

O que outros fariam numa só vez, elas o farão em dez, o que outros fariam em cem vezes, elas o farão em mil, porque aquele que seguir verdadeiramente esta regra da perseverança, por mais ignorante que seja, tornar-se-á uma pessoa esclarecida, por mais fraco que seja, tornar-se-á necessariamente forte.

## AGRADECIMENTOS

- Ao meu orientador, Dr. Alexandre Aleixo, pela maravilhosa oportunidade de trabalhar com aves amazônicas, pela valorosa orientação, pelas experiências vividas em campo e principalmente pelo apoio e confiança.
- Ao CNPQ (Conselho Nacional de Pesquisa) pela bolsa concedida no decorrer de 24 meses de mestrado.
- À FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa de São Paulo) pelo financiamento do Projeto de Integração de Dados Geológicos e Biológicos no baixo Tocantins – ilha do Marajó.
- Ao Dr. Evonildo Costa, além de um excelente profissional, mostrou-se durante o desenvolvimento do projeto também um grande amigo.
- À coordenação da Pós-graduação em Zoologia, pela dedicação e apoio.
- À Dra. Maria Paula Schneider e ao Laboratório de Polimorfismo de DNA da Universidade Federal do Pará pelo apoio logístico durante a fase laboratorial do trabalho.
- Às técnicas do laboratório, Socorro (Help), Soraia (Lady) e Silvanira (Nira), por estarem sempre prontas a ajudar, pelo carinho e pela amizade.
- A Tibério Burlamaqui, por me ajudar desde o começo do trabalho, sempre disposto a trocar idéias e a discutir ciência, papos cósmicos, filosóficos e existenciais entre um cafézinho e outro.
- A Leonardo Miranda pela ajuda nas coletas no Parque Gunma e com as análises populacionais.

- A todos os amigos do LPDNA, que são muitos: Tibério (de novo), Leonardo, Priscila, Sávio, Maurício, Fagner, Ricardo que com seu jeito peculiar, aliviaram a árdua rotina do trabalho em laboratório.
- À minha colega Andreza Gomes pelos contatos no Parque Gunma e pela ajuda em campo.
- À Dra. Dilce Fátima Rossetti que com tanta seriedade e envolvimento coordenou o Projeto Integração de Dados Biológicos e Geológicos na região do Baixo – Tocantins Ilha do Marajó, possibilitando o desenvolvimento de um projeto pioneiro e audacioso, do qual eu muito me orgulho de fazer parte
- À Dra Tereza Cristina Ávila-Pires pela amizade e pela ajuda na discussão dos dados.
- Ao Dr. John Bates pela amizade e experiências vividas em campo durante as expedições de Caxiuanã e do Japurá.
- Ao Dr. Jason Weckstein, pela amizade e pelas gargalhadas em campo, proporcionadas pela sua personalidade alegre e entusiasmada, e especialmente pela cena da dança da *Psophia*.
- À Maria de Fátima de Cunha Lima pela simpatia e pela dedicação à coleção de Ornitológica do MPEG e a todos os colegas da Ornitologia do MPEG
- Aos taxidermistas Manuel Santa Brígida e Nilton Santa Brígida, pelo trabalho impecável de taxidermia executado e pelas discussões de cunho filosófico, metafísico e cultural e musical, especialmente no que diz respeito às diferenças entre Brega Saudade, Brega Melody e TechnoBrega.
- A todos os colegas do departamento de ornitologia do MPEG, Lili, Adriana, Carla, Romina, Lincoln, Marcelo, Sydnei, Eduardo, João, que muito mais que colegas, tornaram-se grandes amigos.

- À minha querida amiga Elinete Rodrigues, que eu considero uma excelente profissional, não apenas pela competência, mas pelo amor dedicado ao estudo da ornitologia, por todos os momentos passados em campo e durante o mestrado, por todas as baladas, todas as reggaeras e todas as baixarias.
- A meu grande amigo Marco Antônio, por se mostrar sempre um amigo fiel, preocupado e mesmo que às vezes um tanto duro em suas posições, está sempre me levando a olhar o lado bom da vida!
- A meus grandes amigos Marquito (de novo), Lili (de novo), Anne, Raulzito (vulgo Jerriane), Hermes, Fernanda Revolution, Cleuton, só vocês podem saber o quanto são importantes para mim, minha grande família, amo vocês. UH BAIXARIA!!!
- A meus vizinhos e amigos Nancy e Davi e Tofu, e a Anne por cuidarem com tanto amor e carinho da minha filhota Pietra, durante as viagens de campo.
- À minha cachorra Pietra pelo amor canino incondicional que só os peludos podem proporcionar.
- À minha mãe e aos meus irmãos Matheus e Micael, por todo amor, e por compreenderem e aceitarem sempre minhas escolhas.
- Ao meu irmão Matheus, o caçulinha, que se tornando um homem, me apoiou tanto na parte profissional quanto na parte pessoal, durante a fase mais difícil de minha vida.
- Ao meu grande amor e companheiro, Júlio Marcos Kojima, de onde estiveres saiba que se eu cheguei até aqui foi porque sempre estivestes ao meu lado.

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	ix
<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	xii
<b>RESUMO</b> .....	xiv
<b>ABSTRACT</b> .....	xvi
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	17
<b>1.1 DIVERSIFICAÇÃO HISTÓRICA DE AVES AMAZÔNICAS</b> .....	17
<b>1.2 A FILOGEOGRAFIA</b> .....	25
<b>1.3 A HISTÓRIA GEOLÓGICA AMAZÔNICA E SUAS IMPLICAÇÕES PARA A BIOGEOGRAFIA HISTÓRICA DE AVES</b> .....	27
<b>1.4 GEOLOGIA E EVOLUÇÃO DO COMPLEXO DO BAIXO TOCANTINS – ILHA DO MARAJÓ</b> .....	29
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	38
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	39
<b>3.1 ESPÉCIES ALVO</b> .....	39
<b>3.1.1 <i>Xiphorhynchus spixii</i></b> .....	39
<b>3.1.2 <i>Glyphorhynchus spirurus</i></b> .....	42
<b>3.1.3 <i>Willisornis poecilinotus</i></b> .....	46
<b>3.2 ÁREA DE ESTUDO</b> .....	49
<b>3.2.1 Localização</b> .....	49
<b>3.2.2 Geologia</b> .....	51
<b>3.2.3 Clima</b> .....	53
<b>3.2.1. Vegetação</b> .....	55
<b>3.2.3 Avifauna do Arquipélago do Marajó</b> .....	57
<b>3.3 AMOSTRAGEM</b> .....	59
<b>3.4 MÉTODOS LABORATORIAIS</b> .....	60
<b>3.5 ANÁLISES DE GENÉTICA POPULACIONAL</b> .....	61
<b>3.6 ANÁLISES FILOGENÉTICAS</b> .....	63
<b>3.7 RELÓGIO MOLECULAR</b> .....	65
<b>4. RESULTADOS</b> .....	66
<b>4.1 <i>Xiphorhynchus spixii</i></b> .....	66
<b>4.2 <i>Glyphorhynchus spirurus</i></b> .....	74
<b>4.3 <i>Willisornis poecilinotus</i></b> .....	85
<b>5. DISCUSSÃO</b> .....	96
<b>6. CONCLUSÕES</b> .....	104
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	105

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1.** Áreas de endemismo na Amazônia baseadas na distribuição de vertebrados terrestres (modificado de: Silva *et al.* 2005).....19

**Figura 2.** Imagem de satélite gerada por dados de SRTM (Missão Topográfica Radar Shuttle) ilustrando o setor sul do paleovale do rio Tocantins. **A) Parte superior da formação em leque do setor sul do paleovale do rio Tocantins.** As margens do paleovale formam segmentos retilíneos relacionados a falhas (linhas brancas) que romperam rochas Miocênicas. As setas na porção superior da figura indicam traços dessas rochas dentro do paleovale, que é preenchido por sedimentos Pós-Barreiras de idade Pleistocênica a Plio-Pleistocênica. **B) Detalhe da figura 2 a** (o retângulo localiza a figura B e o perfil topológico A-A'). Canais meândricos destacados relacionados ao paleo-rio Tocantins (linhas tracejadas). **C) Perfil topográfico obtido pela transecção A-A' mostrada na figura 2a.** Observar a natureza assimétrica das margens do paleovale, representada por um lado oeste gradual e uma margem leste abruptamente vertical, adjacente ao atual curso do Rio Tocantins (setas brancas). Ilustrações retiradas de Rossetti e Valeriano (2007).....31

**Figura 3.** Diagramas ilustrando a evolução hipotética da região de drenagem do baixo Amazonas do Plio-Pleistoceno ao presente. **A) Plio-Pleistoceno a Pleistoceno médio.** Estabelecimento de um paleovale de orientação N/NO-S/SE, que foi alimentado pelo paleo-rio Tocantins resultando em deposição inicial de sedimentos pós-barreiras. **B) Pleistoceno tardio a Holoceno recente.** Reativações de falhas ao longo do paleovale N/NO-S/SE teriam capturado o paleo-rio Tocantins, desviando-o para sua posição atual a NE, direcionando e amplificando o vale em direção ao leste. Esse evento tectônico também foi responsável pelo atual desenvolvimento da região de Caxiuanã, resultando finalmente no alargamento do paleovale, a oeste. **C) Holoceno médio/tardio ao presente.** A ativação de falhas no sentido L-O promoveu uma divisão da área, dando origem ao rio Pará, que foi responsável pela separação da ilha do Marajó do continente, ao gerar uma leve depressão, criando novos espaços para a acumulação de sedimentos. Os limites do paleovale estão marcados por interrogações, já que ainda não existem dados para uma reconstrução mais precisa. Figura modificada a partir de ilustrações de Rossetti e Valeriano (2007).....32

**Figura 4.** Reconstrução hipotética ilustrando a sucessão de eventos deposicionais no nordeste da Ilha do Marajó do Pleistoceno tardio ao Holoceno. **A) Pleistoceno tardio.** Nesta fase ocorre o desenvolvimento de um sistema de paleo-drenagem meândrico de orientação norte; ainda nesse período, a Ilha do Marajó estava conectada ao continente e o rio Guamá corria em uma direção incerta para NO. A linha paleo-costeira delimitada é baseada na interrupção brusca dos paleocanais, mas uma interpretação alternativa é que a transgressão subsequente teria mascarado qualquer evidência dos paleocanais próximos à costa. **B) Pleistoceno tardio/Holoceno.** Ocorre o desenvolvimento de um sistema estuarino na região do Lago Arari alimentado por canais fluviais que corriam para o leste, uma situação que implica a em uma conexão da Ilha do Marajó com o continente. É muito provável que o canal principal deste sistema era conectado ao rio Guamá. **C) Holoceno (recente/médio).** Falhas tectônicas a noroeste teriam levado ao desenvolvimento do Rio Tocantins, abrindo a baía do Marajó, um evento que teria causado a interrupção do fluxo para a região do lago Arari, levando ao abandono do sistema estuarino. O lago Arari se estabeleceu em uma região de subsidência (rebaixamento do terreno), tanto como consequência do abandono do estuário, quanto por uma subsequente transgressão. Ilustração modificada de Rossetti *et al.* (2008).....33

- Figura 5.** Mapa geológico da área de estudo mostrando o relacionamento hipotético das populações aves de terra firme da ilha do Marajó com o continente. As populações atuais seriam provenientes das florestas de terra firme da antiga margem oeste do antigo rio Tocantins, devido à proximidade do continente e ao efeito barreira do rio Tocantins (Fonte: modificado de Rossetti e Valeriano 2007).....37
- Figura 6.** *Xiphorhynchus spixii* (Foto: Maya S. Faccio).....41
- Figura 7.** *Glyphorhynchus spirurus paraensis* (Foto: Maya S. Faccio).....45
- Figura 8.** *Willisornis poecilinotus vidua* ♂ (Foto: Maya S. Faccio).....48
- Figura 9.** *Willisornis poecilinotus vidua* ♀ (Foto: Maya S. Faccio).....48
- Figura 10.** Área de estudo no contexto das áreas de endemismo da Amazônia baseadas na distribuição de vertebrados terrestres (modificado de: Silva *et al.* 2005).....50
- Figura 11.** Mapa geológico da área de estudo na bacia de drenagem do baixo Amazonas. Note-se a distribuição dos sedimentos Plio-Pleistocênicos e dos sedimentos Pós-Barreiras formando uma morfologia de funil que se expande em direção a Tucuruí. Observe-se também a repentina mudança de curso do rio Tocantins de leste-oeste para norte-noroeste (Rossetti e Valeriano 2007).....52
- Figura 12.** Curva ombrotérmica de Gausse para Soure, PA. A área hachurada em vermelho corresponde ao período de déficit hídrico (Modificado de: Projeto RADAM, 1974).....54
- Figura 13.** Contraste da vegetação encontrada no lado oeste e leste da ilha do Marajó. **A)** Contraste entre o lado oeste e leste da ilha de Marajó, representada por depósitos Plio-Pleistocênicos a Holocênicos, respectivamente. Note-se o complexo de canais abandonados no lado oeste da ilha (letras B a D indicam a localização geográfica das fotos mostradas nas Figs. 16 B-D). **B)** depósitos holocênicos típicos do lado leste da ilha consistindo de areias claras variadas. **C)** Vegetação aberta típica do lado leste da Ilha. **D)** Substrato mais bem consolidado composto de areias amarelas, típicos da região oeste da ilha, onde a se encontra a vegetação de floresta de terra firme (Rossetti e Toledo 2006).....56
- Figura 14.** Rede de haplótipos das quatro grupos de populações de *X. spixii*. Os círculos são proporcionais à frequência dos haplótipos (vide Tabela 1). Os números referem-se à posição de cada mutação nos haplótipos.....71
- Figura 15.** Árvore obtida pelo método de máxima verossimilhança (modelo TrN+I), obtida por 500 réplicas de *bootstrap* do gene mitocondrial *ND2* em *X. spixii*. Os números acima da barra representam o apoio estatístico para a máxima verossimilhança e abaixo, para a inferência Bayesiana. São mostrados apenas os valores de *bootstrap* acima de 50%, probabilidades iguais ou acima de 95% em estão em negrito. Na árvore estão representados os haplótipos: **IM** = ilha do Marajó; **TA** = Tapajós; **XI** = Xingu; **BE** = Belém e **GE** = *X. e. elegans* e *X. e. ornatus*.....73

**Figura 16.** Rede de haplótipos dos três grupos de populações de *G. spirurus*. Os círculos são proporcionais à frequência dos haplótipos (vide Tabela 6). Os números referem-se à posição de cada mutação nos haplótipos.....79

**Figura 17.** Árvore obtida pelo método de máxima verossimilhança (modelo HKY+I), obtida por 500 réplicas de *bootstrap*, do gene mitocondrial *ND2* em *G. spirurus*. Os números acima da barra representam o apoio estatístico para a máxima verossimilhança e abaixo, para a inferência Bayesiana. São mostrados apenas os valores de *bootstrap* acima de 50% e as probabilidades posteriores iguais ou acima de 95% em negrito. Na árvore estão representados os haplótipos: **IM** = ilha do Marajó, **XI** = Xingu, **BE** = Belém e **GE** = grupos externos.....81

**Figura 18.** Detalhe da topologia utilizada para as estimativas do relógio molecular em *G. spirurus*. Os números (1, 2, 3) mostram as idades estimadas em anos AP (antes do presente) com base numa taxa de divergência de 4,0 % por milhão de anos, para os nós de separação entre os ramos.....84

**Figura 19.** Rede de haplótipos dos quatro grupos de populações, de *W. poecilinotus*. Os círculos são proporcionais à frequência dos haplótipos (vide Tabela 8). Os números correspondem às posições dos nucleotídeos onde existem mutações.....90

**Figura 20.** Árvore obtida pelo método de máxima verossimilhança, obtida por 500 réplicas de *bootstrap*, resumida com a árvore de inferência bayesiana, do gene mitocondrial *ND2* em *W. poecilinotus*. Os números acima da barra representam o apoio estatístico para a máxima verossimilhança e abaixo, para a inferência Bayesiana. São mostrados apenas os valores de *bootstrap* acima de 50%, probabilidades iguais ou acima de 95% em negrito. Na árvore estão representados os haplótipos: **IM** = ilha do Marajó; **TA** = Tapajós; **XI** = Xingu; **BE** = Belém e **GE** = grupos externos.....92

**Figura 21.** Detalhe da topologia utilizada para as estimativas do relógio molecular em *W. poecilinotus*. Os números (1, 2, 3) mostram as idades estimadas em anos AP (antes do presente) com base numa taxa de divergência de 4,0 % por milhão de anos, para os nós de separação entre os ramos.....95

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Número de espécimes amostrados por área de endemismo de cada uma das espécies estudadas, mostrando os grupos internos categorizados por área de endemismo: ilha do Marajó, Xingu, Belém e Tapajós e os grupos externos: Rondônia, Guiana, Imeri e Inambari.....60
- Tabela 2.** Haplótipos únicos da espécie *X. spixii*, mostrando número de haplótipos, número de campo ou de tombo dos espécimes depositados da coleção ornitológica do MPEG, área de endemismo (AE) onde foi coletado o espécime e número da população de acordo com a localidade (vide Anexo 1).....67
- Tabela 3.** Número de indivíduos (N), número de haplótipos, número de sítios segregantes (S), diversidade nucleotídica ( $\pi$ ) e teste de desvio de neutralidade (R2) a partir do fragmento do gene *ND2* (*NADH*, *dehidrogenase subunidade 2*) para as populações de *X. spixii* das áreas de endemismo (AE) da Ilha do Marajó, Xingu, Belém e Tapajós.....68
- Tabela 4.** AMOVA (análise de variância molecular) baseada no gene mitocondrial *ND2* (*dehidrogenase subunidade 2*) indicando variabilidade genética entre grupos, entre áreas de endemismo, entre populações dentro das áreas de endemismo e dentro das populações de *X. spixii*. A tabela mostra a fonte de variação por grupos, os graus de liberdade (g.l.), os componentes de variação por grupo e a porcentagem de variação.....69
- Tabela 5.** Lista dos valores número de migrantes (Nm, acima) e comparações par a par de  $F_{ST}$  (abaixo) entre as populações de *X. spixii* da ilha do Marajó, AE Xingu, AE Belém e AE Tapajós. Valores estatisticamente significativos para  $P \leq 0,001$ ; (\*\*)......70
- Tabela 6.** Haplótipos únicos da espécie *G. spirurus*, mostrando número de haplótipos, número de campo ou de tombo dos espécimes depositados da coleção ornitológica do MPEG, área de endemismo (AE) onde foi coletado o espécime e número da população de acordo com a localidade (vide Anexo 2).....75
- Tabela 7.** Número de indivíduos (N), número de haplótipos, número de sítios segregantes (S), diversidade nucleotídica ( $\pi$ ) e teste de desvio de neutralidade (R2) a partir do fragmento do gene *ND2* (*NADH*, *dehidrogenase subunidade 2*) para as populações de *G. spirurus* das áreas de endemismo (AE) da ilha do Marajó, Xingu e Belém.....76
- Tabela 8.** AMOVA (análise de variância molecular) baseada no gene mitocondrial *ND2* (*dehidrogenase subunidade 2*) indicando variabilidade genética entre grupos, entre áreas de endemismo (AE Belém, AE Xingu e ilha do Marajó), entre populações dentro das áreas de endemismo e dentro das populações de *G. spirurus*. A tabela mostra a fonte de variação por grupos, os graus de liberdade (g.l.), os componentes de variação por grupo e a porcentagem de variação.....77
- Tabela 9.** Lista dos valores número de migrantes (Nm, acima) e comparações par a par de  $F_{ST}$  (abaixo) entre as populações de *G. spirurus* da ilha do Marajó, AE Xingu e AE Belém. Valores estatisticamente significativos para  $P \leq 0,001$ ; (\*\*)......78

**Tabela 10.** Haplótipos únicos da espécie *W. poecilinotus*, mostrando número de haplótipos, número de campo ou de tombo dos espécimes depositados da coleção ornitológica do MPEG, área de endemismo (AE) onde foi coletado o espécime e número da população de acordo com a localidade (vide Anexo 3).....86

**Tabela 11.** Número de indivíduos (N), número de haplótipos, número de sítios segregantes (S), diversidade nucleotídica ( $\pi$ ) e teste de desvio de neutralidade (R2) a partir do fragmento do gene *ND2* (*NADH, dehidrogenase subunidade 2*) para as populações de *W. poecilinotus* da ilha do Marajó e das áreas de endemismo (AE), Xingu e Belém.....87

**Tabela 12.** AMOVA (análise de variância molecular) baseada no gene mitocondrial *ND2* (*dehidrogenase subunidade 2*) indicando variabilidade genética entre grupos, entre populações das áreas de endemismo (AE) Belém, Xingu e ilha do Marajó, entre populações dentro das áreas de endemismo e dentro das populações de *W. poecilinotus*. A tabela mostra a fonte de variação por grupos, os graus de liberdade (g.l.), os componentes de variação por grupo e a porcentagem de variação.....88

**Tabela 13.** Lista dos valores número de migrantes (Nm, acima) e comparações par a par de  $F_{ST}$  (abaixo) entre as populações de *W. poecilinotus* da ilha do Marajó, AE Xingu, AE Belém e AE Tapajós. Valores estatisticamente significativos para  $P \leq 0,01$ ; (\*) e altamente significativos para  $P \leq 0,001$  (\*\*).....89

## RESUMO

A região do Baixo Tocantins - ilha do Marajó é excelente local para se realizar um estudo de integração de dados geológicos e biológicos visando-se a compreensão dos processos de diversificação de espécies. Foram estimados parâmetros de genética populacional e realizadas análises filogenéticas das populações amostradas utilizando-se o gene *ND2*, relacionando-os com o cenário geológico proposto para a evolução da região. Foram utilizadas inferência bayesiana e máxima verossimilhança para reconstrução de filogenias intraespecíficas, redes de haplótipos e o teste de desvio de neutralidade  $R_2$ , AMOVA,  $F_{ST}$  e  $N_m$  para as análises populacionais, para três espécies de aves Passeriformes: *Xiphorhynchus spixii* e *Glyphorhynchus spirurus* (Dendrocolaptidae) e *Willisornis poecilinotus* (Thamnophilidae). As populações de *X. spixii* não apresentaram estruturação geográfica, exibindo altos níveis de fluxo gênico entre elas. A árvore filogenética de *G. spirurus* apresentou um grupo de haplótipos únicos da ilha do Marajó (IM) e um grupo irmão contendo haplótipos pertencentes às áreas de endemismo Xingu (XI), Belém (BE) e IM. Essa topologia indica um aparente contato secundário recente na IM entre uma população isolada e endêmica da própria ilha com populações do continente (XI). A árvore obtida para *W. poecilinotus* apresentou uma topologia semelhante àquela de *G. spirurus*, indicando que a formação da IM provavelmente atuou de maneira similar em diferentes espécies, com similares capacidades de dispersão, gerando padrões filogeográficos concordantes. Comparando-se as três espécies, concluímos que *X. spixii* possui maior capacidade de dispersão respondendo de maneira distinta ao mesmo efeito vicariante. Estimativas do relógio molecular para o nó que separa o grupo de haplótipos endêmicos da ilha do Marajó

mostram que tanto as populações de *G. spirurus*, quanto às de *W. poecilnotus* são muito mais antigas que os eventos que levaram à separação total da IM em relação ao continente (aproximadamente 10.000 anos AP), com uma idade estimada aproximadamente 747.000 anos AP para *G. spirurus* e 798.000 anos AP para *W. poecilnotus*, indicando que outros processos vicariantes anteriores à separação total da Ilha do Marajó poderiam ter separado essas populações endêmicas da ilha.

## ABSTRACT

The area of the lower Tocantins river–Marajó Island is an excellent place to carry out a study integrating geological and biological data to understand processes responsible for the diversification of species in the Amazon. Population genetics and phylogenetic analyses of populations of three selected bird species (*Xiphorhynchus spixii* and *Glyphorhynchus spirurus* - Dendrocolaptidae and *Willisornis poecilinotus* - *Thamnophilidae*) were carried out employing the mitochondrial gene ND2, and related to the geological scenario proposed for the landscape evolution in the area. Estimates based on maximum likelihood and Bayesian inference were used to infer intra-specific phylogenies and haplotype networks, in addition to tests for deviation of neutrality  $R_2$ , AMOVA,  $F_{ST}$  e  $N_m$ , which were employed in population genetic analyses of the three selected species. *Xiphorhynchus spixii* showed no phylogeographic structure and high levels of gene flow among all populations analyzed. The phylogenetic trees recovered for *G. spirurus* populations presented one group of haplotypes endemic to the Marajó Island (IM) sister to a second group with the remaining haplotypes belonging to all three areas analyzed; these topologies imply an apparent secondary contact between isolated endemic populations of IM with those of the continent. The tree obtained for *W. poecilinotus* was similar to that of *G. spirurus*, indicating that the formation of IM might have affected in a similar way populations of those two species sharing similar dispersion abilities. On the other hand, the lack of phylogeographic structure detected for *X. spixii* might have been caused by a higher dispersal capacity, thus leading to a different response to the same set of vicariant events. Molecular clock estimates for the node separating haplotypes endemic to IM from those found in all three areas were

747.000 years BP in *G. spirurus* and 798.000 years BP in *W. poecilinotus*, thus older than the estimated separation of the IM from the continent (near 10.000 years BP) based on geological data.

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1 DIVERSIFICAÇÃO HISTÓRICA DE AVES AMAZÔNICAS

A avifauna da região amazônica é uma das mais ricas e diversas do mundo. Compilações recentes indicam que existem pelo menos 1294 espécies de aves na Amazônia, sendo que aproximadamente 265 são endêmicas (Stotz *et al.* 1996; Rylands *et al.* 2002). As aves vêm desempenhando um papel central na tentativa de entender a história da Amazônia e a evolução da sua biodiversidade. Apesar da relativa facilidade com que muitos tipos de informação são coletados sobre aves, a diversificação desse grupo nos Neotrópicos ainda está longe de ser bem compreendida (Bates 2001).

Alfred Russel Wallace (1852) foi o primeiro a formular hipóteses para a diversificação histórica dos vertebrados Amazônicos. Wallace (1853) também foi o pioneiro em estudos ornitológicos na região do arquipélago do Marajó, e desde então a compreensão dos fatores responsáveis pela origem do alto grau de especiação das aves amazônicas vem fascinando os cientistas.

A maioria das teorias propostas para a diversificação de aves amazônicas inclui a percepção de que muitos táxons de aves apresentam uma distribuição congruente e não aleatória, sendo esse um dos aspectos indispensáveis para a compreensão da evolução de aves neotropicais (Marks *et al.* 2002). A concordância da posição geográfica de linhagens reconhecidas e as medidas temporais de diversificação dessas linhagens podem fornecer tanto um teste de modelos geográficos específicos de

especiação quanto identificar processos históricos que atuaram congruentemente em uma variedade de táxons (Patton e Silva 2001). Considerando as informações disponíveis sobre os vertebrados terrestres, pode-se notar que a maioria das espécies de vertebrados amazônicos, especialmente aves e primatas (Snethlage 1910, Sick 1967, Haffer 1969, 1992, Caparella 1988, Ayres e Clutton-Brock 1992) não é aleatoriamente distribuída através da região, mas ocorrem em regiões claramente delimitadas chamadas “áreas de endemismo” (a partir de agora abreviadas como AE) (Silva *et al.* 2005). Essas áreas são importantes porque elas são as menores unidades geográficas para análises de biogeografia histórica e conseqüentemente são as bases para a construção de hipóteses sobre os processos responsáveis pela formação da biota Amazônica (Cracraft 1985, 1994; Morrone 1994, Morrone e Crisci 1995).



**Figura 1.** Áreas de endemismo na Amazônia baseadas na distribuição de vertebrados terrestres (modificado de: Silva *et al.* 2005).

Entre as diversas teorias de diversificação Amazônica, algumas apresentam destaque pela polêmica gerada e pela sua contribuição para a compreensão dos padrões atuais de distribuição de espécies. Entre as hipóteses mais conhecidas de diversificação histórica de espécies da Amazônia estão: a sublevação dos Andes (Chapman 1917), os refúgios florestais pleistocênicos (Haffer 1969), a teoria dos rios como barreiras geográficas (Sick 1967) e as transgressões marinhas (Nores 1999, Bates 2001) a maioria baseada em mecanismos vicariantes de especiação (revisões em Haffer 1997). Nesse trabalho serão abordadas principalmente as hipóteses dos rios como barreiras geográficas, a teoria dos refúgios florestais e as transgressões marinhas do Mioceno.

Wallace (1852) foi o primeiro a propor que os rios amazônicos estariam limitando a distribuição geográfica de algumas espécies. Ele observou que espécies aparentadas de primatas substituíam-se geograficamente e que estavam separadas entre si pelos grandes rios Amazonas, Solimões, Negro e Madeira. Sneath (1910) observou que o padrão observado por Wallace poderia explicar a origem de algumas espécies de aves, mas segundo ela mesma “os mesmos rios largos e luminosos que servem de via de comunicação aos pássaros campestres, ajudam a separar espécies silvestres, geralmente tenras e acostumadas à semi-obscuridade do *sousbois*”. Sick (1967) elaborou algumas observações baseadas nas propostas de Wallace e Sneath propondo que os precursores de muitas espécies de aves atuais são anteriores à configuração atual da drenagem dos rios Amazônicos e que o estabelecimento da drenagem atual fragmentou essas espécies ancestrais causando isolamento geográfico, divergência genética e especiação e ainda, que o “efeito barreira” dos rios seria mais forte para espécies florestais.

Sob a perspectiva filogeográfica, a hipótese dos rios como barreiras geográficas prevê primeiramente, que espécies e clados irmãos intraespecíficos apresentariam quebras genéticas através de margem opostas dos principais rios amazônicos, adicionalmente, dados filogeográficos e de genética de populações poderiam distinguir entre cenários de divergência primária através dos rios, de contatos secundários ao longo dos rios entre táxons não-irmãos que se diversificaram em outros lugares (Moritz *et al.* 2000). Segundo, devido às cabeceiras de muitos rios amazônicos serem mais estreitas que a foz desses rios, é esperada uma gradual diminuição do efeito de barreira dos rios de sua foz até sua cabeceira (Haffer 1992). Assim, a similaridade genética entre populações de margens opostas dos rios seria maior nas cabeceiras do que na foz dos rios (Gascon *et al.* 2000).

Caparella (1988) desenvolveu um dos primeiros trabalhos de genética com a finalidade de testar a teoria dos rios como barreiras geográficas. Baseando-se em um estudo de alozimas detectou quebras genéticas entre populações de aves que apresentavam ou não diferenças morfológicas em margens opostas do rio Amazonas, mostrando que a divergência genética entre as populações era uma evidência de que o rio estaria agindo como barreira geográfica, separando essas populações e prevenindo o fluxo gênico entre elas.

Um estudo sobre variação morfológica ao longo do rio Tocantins verificou que de 75 espécies de aves suboscines estudadas, 13 apresentaram diferenças fenotípicas na plumagem e 11 em medidas corpóreas (*Thamnophili* e *Furnarii*) entre populações de aves de margens opostas deste rio (Coltro 2003). Bates *et al.* (2004) estudaram aves amostradas em margens opostas do Rio Teles Pires, na cabeceira do Rio Tapajós, e encontraram níveis variáveis de diferenciação genética com zonas de contato entre

membros de espécies e pares de subespécies aleatoriamente distribuídos nessa região, com poucas zonas de contato seguindo o curso do rio propriamente dito.

Assim, a hipótese dos rios como barreiras geográficas é corroborada especialmente para rios de água preta e água clara como aqueles localizados no Escudo Brasileiro. Alternativamente, os rios Amazônicos da região oeste que ocorrem em bacias sedimentares, são mais recentes e menos estáveis, sofrendo freqüentes migrações laterais de canal, responsáveis por transferências de grandes pedaços de terra através do rio. Que acabam por transportar passivamente, mesmo aqueles animais de baixo poder de dispersão, conseqüentemente, diminuindo o efeito de barreira do rio (Salo *et al.* 1986, Haffer 1992, Colwell 2000).

Haffer (1992) argumentou que a distribuição de espécies amazônicas não poderia se explicada somente pela teoria dos rios como barreiras. Entre os principais pontos discutidos estão: (1) a ocorrência de numerosas zonas de contato entre subespécies amazônicas que não estão necessariamente relacionadas às margens dos grandes rios, (2) o problema da especiação de aves de dossel com altas capacidades de dispersão e (3) a especiação de aves que habitam áreas alagáveis, como as várzeas e os igapós. Além disso, ele discutiu se a atual ocorrência de diferenciação de espécies entre margens opostas dos rios seria originada de vicariância *in situ* ou se essa diferenciação teria ocorrido em outros locais e os rios estariam apenas limitando a distribuição atual desses táxons.

A principal hipótese formulada por Haffer (1969) e quase simultaneamente proposta Vanzolini e Willians (1970) para explicar o alto grau de diferenciação de espécies amazônicas, foi a teoria dos refúgios florestais, baseada na idéia de que a floresta atual estaria isolada em fragmentos em um mar de savanas em períodos

coincidentes com os picos glaciais do Pleistoceno. Essa idéia teve apoio de um número considerável de pesquisadores (Brown *et al.* 1974, Brown 1982, Mayr e Ohara 1986, Fjeldså 1994). Entretanto, nenhum destes estudos pode excluir outras hipóteses que expliquem os padrões observados (Nores 1999, Bates 2001, Aleixo 2004, Aleixo e Rossetti 2007). Entre as principais críticas ao modelo dos refúgios florestais estão (1) estudos paleoclimáticos e geológicos falharam em apoiar a existência de florestas pluviais altamente fragmentadas durante o Pleistoceno (Colinvaux *et al.* 1996, 2000, 2001) e (2) a ausência de um modelo geográfico esperado *a priori*, que possa ser testado por métodos filogeográficos (Patton e Silva 1998). Diversos autores mostraram que muitas estimativas de tempo de divergência entre os táxons irmãos neotropicais precedem o período Pleistocênico (Caparella 1988, Hackett 1993, Hackett e Rosenberg 1990, Bush 1994, Avise e Walker 1998, Moritz *et al.* 2000, Wilf *et al.* 2003, Cheviron *et al.* 2005, Weir 2006). Entretanto, Solomon *et al.* (2008) utilizando análises filogeográficas combinadas à modelagem de paleodistribuições de espécies de formigas do gênero *Atta* no período do último máximo glacial, rejeitaram a hipótese de rios como barreiras geográficas, mas não puderam rejeitar várias previsões das hipóteses dos refúgios pleistocênicos e das incursões marinhas, propondo que esses dois processos teriam atuado na estruturação das populações das espécies estudadas.

A hipótese das incursões marinhas, proposta por Nores (1999) supõe que uma parte substancial da diversidade de aves teria se originado durante aumentos no nível do mar de aproximadamente 100m no Quaternário e Terciário tardio. Essas transgressões teriam fragmentado a Amazônia em um grande número de verdadeiras ilhas e arquipélagos, então favorecendo a especiação alopátrica. Aumentos do nível do mar e mudanças na vegetação (por aridez ou esfriamento) teriam impulsionado a especiação e

perturbações locais e outros processos teriam mantido essa diversidade. Bates (2001) utilizando análises de parcimônia de endemicidade de passeriformes e dados de estudos filogenéticos, sugeriu que a divergência primária de táxons amazônicos envolveu vicariância entre três regiões principais da Amazônia: a região nordeste correspondendo à AE Guianas, a região oeste com AE Napo e AE Inambari e a região sudeste com AE Pará (AE Tapajós mais AE Xingu, segundo Silva *et al.* 2005) e AE Belém. Essa hipótese sugere que as outras duas áreas de endemismo de aves geralmente reconhecidas, AE Rondônia e AE Imeri, contêm táxons que provavelmente são derivados de populações que se moveram até essas áreas a partir dessas três regiões basais.

A partir de estudos filogeográficos do gênero *Xiphorhynchus*, Aleixo (2002, 2004, 2006) testou quatro hipóteses de diversificação de espécies amazônicas: as hipóteses dos gradientes (Endler 1982), dos rios como barreiras geográficas (Gascon *et al.* 2000), dos refúgios e das incursões marinhas do Mioceno (Bates 2001). Duas das quatro hipóteses testadas foram corroboradas: os rios como barreiras geográficas e as incursões marinhas do Mioceno. A hipótese das incursões marinhas do Mioceno também foi corroborada pelo trabalho de Lovejoy *et al.* (2006) que examinando filogenias, distribuições geográficas e estimativas de idade de quatro grupos de peixes de água doce derivados de espécies marinhas, detectou padrões compatíveis com a diversificação durante o Mioceno a partir de grupos irmãos de peixes marinhos distribuídos ao longo da costa norte da América do Sul.

Em uma revisão recente, Aleixo e Rossetti (2007) verificaram que esse cenário histórico pode ser estendido para outras linhagens de aves amazônicas, indicando que a maioria das linhagens de terra firme encontradas hoje em dia no oeste da Amazônia, são

associadas às linhagens mais basais do Escudo Brasileiro, Escudo das Guianas e dos Andes.

As hipóteses de diversificação histórica de espécies da Amazônia mencionadas acima foram fundamentais no fomento de estudos evolutivos na região amazônica, entretanto, hipóteses que se baseiam apenas em mecanismos vicariantes podem ser muito simplistas. Diversos estudos filogeográficos com aves amazônicas sugerem que mecanismos vicariantes, assim como processos de expansão demográfica e populacional podem atuar em diversas escalas espaciais e temporais para gerar os padrões de diversidade encontrados atualmente (Aleixo 2002, 2004, 2006, Cheviron *et al.* 2005, Aleixo e Rossetti 2007).

## 1.2 A FILOGEOGRAFIA

O termo filogeografia foi empregado pela primeira vez por Avise (1987) e surge da integração conhecimentos das áreas da biologia molecular, biogeografia, geologia e paleontologia, visando à identificação de padrões de diferenciação genética através das paisagens e a reconstrução da história evolutiva de táxons filogeneticamente relacionados em uma determinada região (Avise 2000).

Desde seu surgimento, a filogeografia vem gerando novas possibilidades de compreensão dos processos geradores de biodiversidade tanto na escala macro-evolutiva, quanto na escala micro-evolutiva (Avise 1987, Bermingham e Moritz 1998). Portanto, a filogeografia possibilitou o estabelecimento de um elo entre os estudos de processos de micro e macroevolução. A base inicial para essa ponte são as análises do DNA mitocondrial (mtDNA) e de microssatélites que permitem a construção de

hipóteses genealógicas entre populações, espécies e níveis taxonômicos mais altos (Bermingham e Moritz 1998).

A abordagem filogeográfica consiste na integração de componentes de distribuição geográficos e filéticos (genealógicos) entre populações e espécies aparentadas (Harrison 1991). Essas distribuições podem ser contrastadas com expectativas específicas de relações geográficas entre populações ancestrais anteriores a divergência sob três modelos principais de formação de espécies: alopátricos, parapátricos e simpátricos (Harrison 1991). Mais especificamente, filogeografias podem ser usadas para inferir o tempo de especiação para grupos com poucos registros fósseis, como é o caso da maioria dos vertebrados tropicais (Moritz *et al.* 2000).

A filogeografia é adotada atualmente para tentar distinguir efetivamente entre hipóteses concorrentes de diversificação de espécies (Patton e Silva 1998, Silva e Patton 1998, Loughheed *et al.* 1999, Moritz *et al.* 2000). Diversos estudos proporcionam evidências de que a geologia e a evolução da paisagem estão fortemente ligadas com o tempo e o modo de diferenciação das aves amazônicas (Aleixo 2006, Pereira e Baker 2004, Ribas e Miyaki 2004, Ribas *et al.* 2005). Recentemente, estudos filogeográficos com aves Amazônicas têm ajudado a esclarecer o contexto espacial e temporal da diversificação destes organismos, o que pode ser diretamente comparado a cenários geológicos específicos (Marks *et al.* 2002, Aleixo 2004).

### 1.3 A HISTÓRIA GEOLÓGICA AMAZÔNICA E SUAS IMPLICAÇÕES PARA A BIOGEOGRAFIA HISTÓRICA DE AVES

A Amazônia tem uma história geológica complexa, com formações de diferentes idades, composições e histórias, distribuídas em partes distintas da bacia (Oliveira e Leonardos 1943). Essencialmente, o escudo Brasileiro e o das Guianas (distribuídos na Amazônia central e leste, respectivamente), são compostos de rochas antigas do Paleozóico e Pré-Cambriano, ao passo que uma imensa bacia sedimentar composta e mais recente desenvolveu-se no oeste da Amazônia (Costa e Hasui 1997).

Estudos recentes têm aumentado nossa compreensão da história geológica da Amazônia durante o Terciário tardio e Quaternário, dois períodos considerados críticos para a diversificação recente da avifauna amazônica (Rossetti *et al.* 2005).

Essencialmente, enquanto as porções leste e do escudo Brasileiro e das Guianas (da cidade de Manaus até o leste) permaneceram geralmente estáveis desde o Cretáceo tardio (com erosão, mas limitada deposição de sedimentos), o oeste da Amazônia experimentou uma história sedimentar altamente dinâmica. Isso é evidenciado pela presença de depósitos formados em um extenso ambiente lacustre no Mioceno recente-intermediário que evoluiu em uma sucessão de cinco unidades sedimentares desenvolvidas principalmente durante o Quaternário, coberto hoje em dia por um complexo mosaico de diferentes tipos de vegetação (Rossetti *et al.* 2005).

Este cenário geológico essencialmente dicotômico, onde os escudos Brasileiro e das Guianas são mais estáveis que as dinâmicas bacias sedimentares do oeste, pôde

gerar novas previsões sobre as relações filogeográficas entre táxons relacionados distribuídos atualmente na Amazônia (Aleixo 2004, 2006, Aleixo e Rossetti, 2007).

Assim, a dinâmica geológica das áreas alagáveis da Amazônia provavelmente constituiu ambiente inóspito para espécies de terra firme até pelo menos o Mioceno tardio, quando o extenso “Lago Pebas” secou, e organismos associados com a floresta de terra firme provavelmente começaram a colonizar essa imensa área (Rossetti *et al.* 2005). Entretanto, o desenvolvimento subsequente do oeste das bacias sedimentares amazônicas em resposta a migrações de canais e reorientações de rios em larga escala (Rossetti *et al.* 2005) podem ter criado um ambiente extremamente dinâmico com rápidas mudanças vegetacionais e contínua alternância entre floresta de terra firme e florestas alagáveis. Conseqüentemente, como foi sugerido para o gênero *Xiphorhynchus*, linhagens de espécies de floresta de terra firme que habitam hoje o oeste da Amazônia teriam colonizado esta região mais recentemente (Plioceno e Pleistoceno) a partir de uma das três áreas vizinhas consideradas constantemente habitadas por linhagens de terra firme: o escudo Brasileiro, o escudo das Guianas e o leste do sopé dos Andes (Bates 2001, Aleixo 2004).

Em uma revisão recente, Aleixo e Rossetti (2007) verificaram que esse cenário histórico pode ser estendido para outras linhagens de aves amazônicas. Os dados revisados indicaram que a maioria das linhagens de terra firme encontradas hoje em dia no oeste da Amazônia, são associadas a linhagens mais basais do escudo Brasileiro, escudo das Guianas e dos Andes, indicando uma história mais recente nesta região geologicamente dinâmica. De modo inverso, linhagens associadas a florestas sazonalmente inundadas parecem ter uma história antiga no oeste da Amazônia, aparentemente expandindo-se para áreas geologicamente mais estáveis apenas

recentemente. A maioria dos táxons irmãos das linhagens exibiu níveis de divergência genética consistentes com eventos de separação que datam de uma faixa de tempo que vai do Mioceno tardio até Pleistoceno recente, um período em que houve mudanças fisiográficas significativas na paisagem Amazônica. Paralelamente, no final do Pleistoceno, pelo menos até 67.000-65.000 anos AP (antes do presente) mudanças geológicas ocorriam na região do baixo Tocantins – IM (a partir desse ponto será utilizada a abreviação IM para ilha do Marajó), e davam origem aos processos que culminariam com a formação do Arquipélago do Marajó.

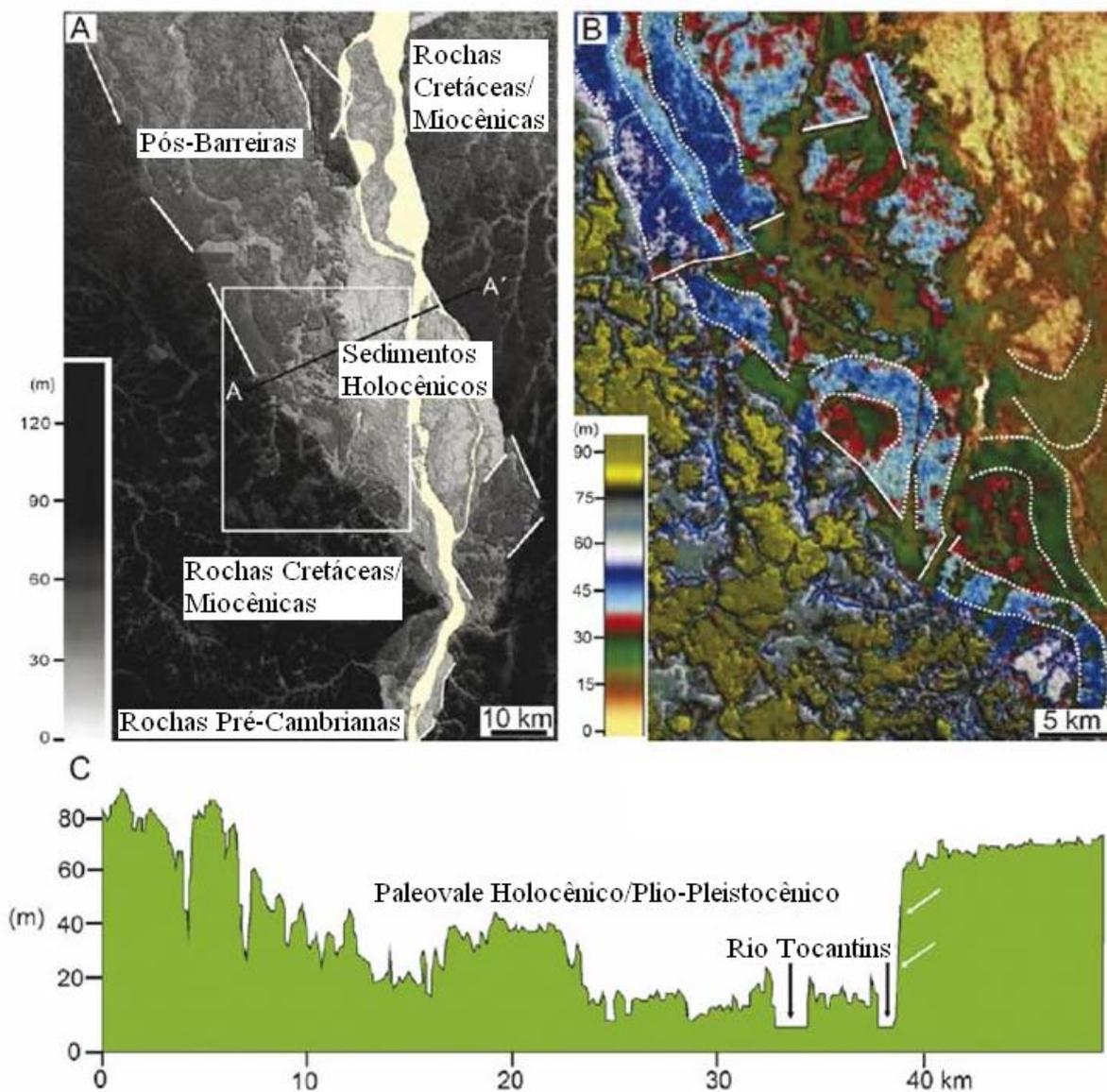
#### **1.4 GEOLOGIA E EVOLUÇÃO DO COMPLEXO DO BAIXO TOCANTINS – ILHA DO MARAJÓ**

No final do Pleistoceno, não havia deposição de sedimentos na região do baixo Tocantins – IM, sendo que dominavam processos erosivos. Este momento pode ser associado com nível do mar relativo baixo, o que pode ter sido reflexo, tanto de estabilidade tectônica, quanto de rebaixamento do nível do mar global devido a efeitos de glaciações. Quando isto ocorre, dominam condições de erosão nos continentes. Esta condição de não deposição é verificada na maior parte do estado do Pará desde o final do Mioceno. Ou seja, depois da elevação do nível do mar que deu origem aos depósitos da Formação Barreiras ao longo de toda a costa do Pará e Maranhão, essa região passou por um longo período em que não houve deposição ou preservação de sedimentos. Durante esse período, não havia uma bacia onde os sedimentos trazidos pelos rios

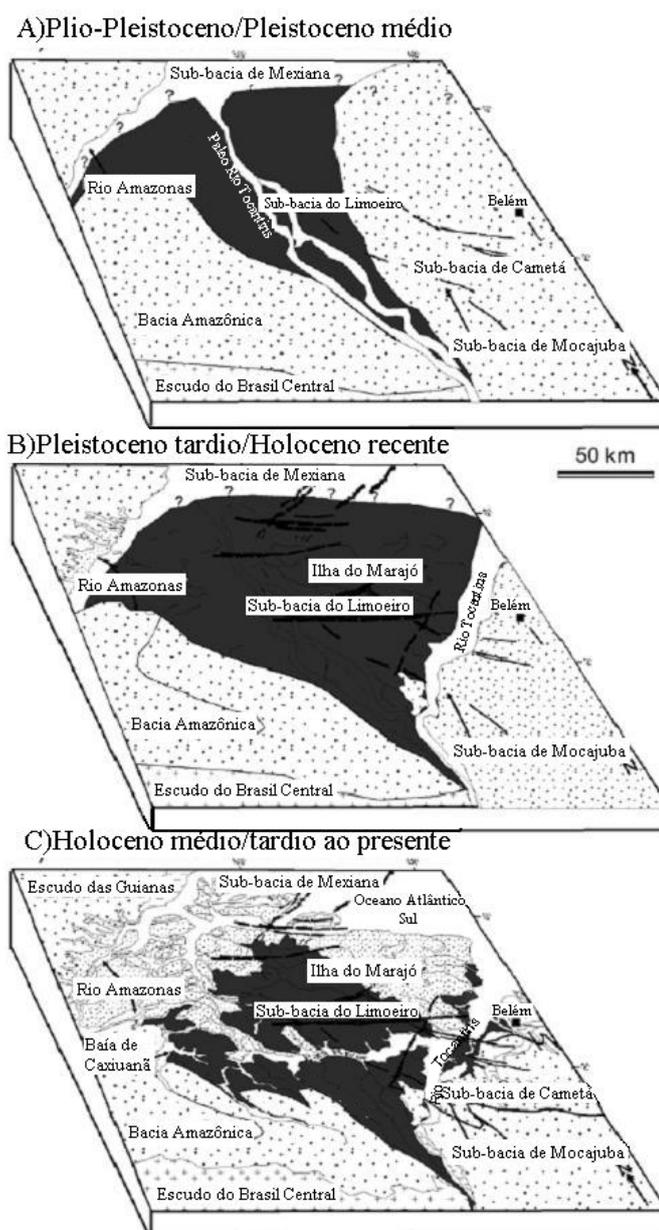
pudessem se acumular, o que fazia com que eles fossem transportados distalmente em direção ao mar. Este período denota condições de estabilidade tectônica em toda a região (D. F. Rossetti, com. pess).

Entretanto, no final do Pleistoceno, registra-se um momento de instabilidade tectônica, devido à reativação de falhas de direção NNW/SSE, o que levou à instalação do grande paleovale que se estende de Tucuruí até a IM. Rossetti e Valeriano (2007) mostram evidências de que o estabelecimento deste paleovale está relacionado a movimentações tectônicas (Figura 2, 3). Em algum momento antes de 67.000-65.000 anos AP houve uma compartimentação do terreno, com gradativo afundamento da área correspondente ao paleovale, cujos limites se estendem do leste da IM, até aproximadamente a baía de Caxiuanã, fazendo um funil em direção à cidade de Tucuruí e se amplificando em direção norte através da IM (Figuras 2, 3, 4).

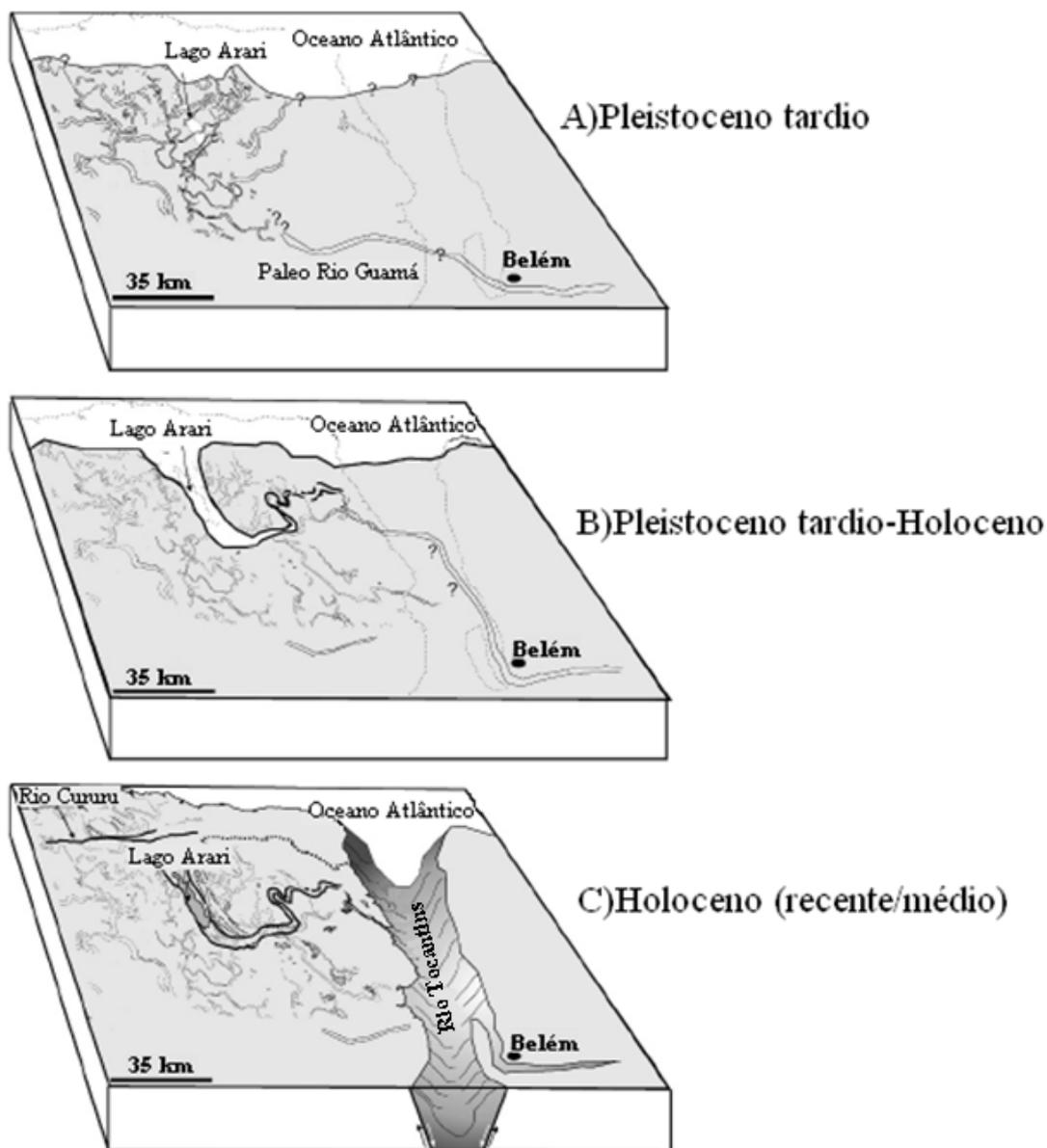
De 67.000 a 65.000 anos AP até pelo menos cerca de 40.000 AP, o paleovale foi sendo progressivamente preenchido com sedimentos oriundos de sul através do paleo-rio Tocantins. Este rio drenava a IM em sua margem oeste, enquanto que na margem leste, os sedimentos eram trazidos até o paleovale, possivelmente, pelo rio Guamá, que se estendia através da região do lago Arari (Rossetti *et al.* 2007). Portanto, a paisagem era dominada por sistemas fluviais, com pouca ou nenhuma interferência de processos marinhos na desembocadura dos rios (Figura 4). O início período holocênico, foi ao que tudo indica o último momento em que toda a região correspondente à IM, sustentava vegetação de floresta, inclusive em sua margem leste (D. F. Rossetti, com. pess). Para o final do período, houve subida do nível do mar relativo, causando afogamentos dos canais fluviais por invasão marinha (Rossetti *et al.* 2008). Este evento marca o início da subsidência (depressão) no lado leste da IM (Figura 4b).



**Figura 2.** Imagem de satélite gerada por dados de SRTM (**Missão Topográfica Radar Shuttle**) ilustrando o setor sul do paleovale do rio Tocantins. **A) Parte superior da formação em leque do setor sul do paleovale do rio Tocantins.** As margens do paleovale formam segmentos retilíneos relacionados a falhas (linhas brancas) que romperam rochas Miocênicas. As setas na porção superior da figura indicam traços dessas rochas dentro do paleovale, que é preenchido por sedimentos Pós-Barreiras de idade Pleistocênica a Plio-Pleistocênica. **B) Detalhe da figura 2 a** (o retângulo localiza a figura B e o perfil topológico A-A') Canais meândricos destacados relacionados ao paleo-rio Tocantins (linhas tracejadas). **C) Perfil topográfico obtido pela transecção A-A' mostrada na figura 2a.** Observar a natureza assimétrica das margens do paleovale, representada por um lado oeste gradual e uma margem leste abruptamente vertical, adjacente ao atual curso do Rio Tocantins (setas brancas). Ilustrações retiradas de Rossetti e Valeriano (2007).



**Figura 3.** Diagramas ilustrando a evolução hipotética da região de drenagem do baixo Amazonas do Plio-Pleistoceno ao Presente. **A) Plio-Pleistoceno a Pleistoceno médio.** Estabelecimento de um paleovale de orientação N/NO-S/SE, que foi alimentado pelo paleo-rio Tocantins resultando em deposição inicial de sedimentos pós-barreiras. **B) Pleistoceno tardio a Holoceno recente.** Reativações de falhas ao longo do paleovale N/NO-S/SE teriam capturado o paleo-rio Tocantins, desviando-o para sua posição atual a NE, direcionando e amplificando o vale em direção ao leste. Esse evento tectônico também foi responsável pelo atual desenvolvimento da região de Caxuanã, resultando finalmente no alargamento do paleovale, a oeste. **C) Holoceno médio/tardio ao presente.** A ativação de falhas no sentido L-O promoveu uma divisão da área, dando origem ao rio Pará, que foi responsável pela separação da ilha do Marajó do continente, ao gerar uma leve depressão, criando novos espaços para a acumulação de sedimentos. Os limites do paleovale estão marcados por interrogações, já que ainda não existem dados para uma reconstrução mais precisa. Figura modificada a partir de ilustrações de Rossetti e Valeriano (2007).



**Figura 4.** Reconstrução hipotética ilustrando a sucessão de eventos deposicionais no nordeste da Ilha do Marajó do Pleistoceno tardio ao Holoceno. **A) Pleistoceno tardio.** Nesta fase ocorre o desenvolvimento de um sistema de paleo-drenagem meândrico de orientação norte; ainda nesse período, a Ilha do Marajó estava conectada ao continente e o rio Guamá corria em uma direção incerta para NO. A linha paleo-costeira delimitada é baseada na interrupção brusca dos paleocanais, mas uma interpretação alternativa é que a transgressão subsequente teria mascarado qualquer evidência dos paleocanais próximos à costa. **B) Pleistoceno tardio/Holoceno.** Ocorre o desenvolvimento de um sistema estuarino na região do Lago Arari alimentado por canais fluviais que corriam para o leste, uma situação que implica a em uma conexão da Ilha do Marajó com o continente. É muito provável que o canal principal deste sistema era conectado ao rio Guamá. **C) Holoceno (recente/médio).** Falhas tectônicas a noroeste teriam levado ao desenvolvimento do Rio Tocantins, abrindo a baía do Marajó, um evento que teria causado a interrupção do fluxo para a região do lago Arari, levando ao abandono do sistema estuarino. O lago Arari se estabeleceu em uma região de subsidência (rebaixamento do terreno), tanto como consequência do abandono do estuário, quanto por uma subsequente transgressão. Ilustração modificada de Rossetti *et al.* (2008).

O terreno passou por um breve momento de relativa estabilidade, que pode ter sido acompanhado por período de rebaixamento do nível do mar, quando houve a retomada de erosão com novos escavamentos no vale, e re-estabelecimento das drenagens fluviais, principalmente no lado leste da IM.

Entre 39.000 e, pelo menos, 29.000 anos AP, após o breve período de estabilidade, o leste da IM subsidiou de forma mais efetiva, o que culminou com afogamento dos rios e invasão marinha maior relativamente à fase anterior. Durante este período já se registram misturas de vegetação de floresta densa e savana no oeste da IM, prevalecendo condições fluviais em áreas de relativa estabilidade tectônica (D.F. Rossetti com. pess.).

Após 29.000 anos AP., o leste da IM foi gradativamente se tornando mais estável, até que a sedimentação foi interrompida e houve novo processo de erosão, com o rejuvenescimento do sistema fluvial, mostrando que ainda havia conexão da IM com o continente (Rossetti *et al.* 2008).

Esta condição persistiu, até que, há 10.000 anos AP esta conexão foi interrompida definitivamente no lado leste da IM, e o grande sistema estuarino que existia até então em sua porção nordeste transformou-se em uma grande laguna. Esta transformação foi acompanhada pelo rebaixamento do nível do mar relativo no Holoceno médio a recente, que fez com que a linha de costa se deslocasse cerca de 40 km em direção ao norte, até ocupar sua posição atual. É durante esta fase que se associa a captura do rio Tocantins para sua posição atual, o que fez com que o suprimento sedimentar para dentro da IM oriundo do rio Guamá fosse interrompido (Rossetti *et al.* 2008) (Figura 3, 4).

A história geológica sintetizada acima é então, consistente com um cenário altamente dinâmico para o sistema de drenagem do baixo Amazonas durante tempos Plio-Pleistocênicos a Holocênicos. É inquestionável, dado as informações disponíveis que reativações tectônicas tiveram uma importante contribuição para o desenvolvimento dos ambientes físicos e a renovação de deposição de sedimentos na área de estudo durante o Quaternário (Rossetti e Toledo 2006).

A geologia teve um impacto direto na fisionomia moderna da IM, com a vegetação aberta dominando áreas de sedimentação holocênica, enquanto florestas fechadas prevaleceram em áreas quaternárias e provavelmente também em terrenos pliocênicos (Rossetti e Toledo 2006).

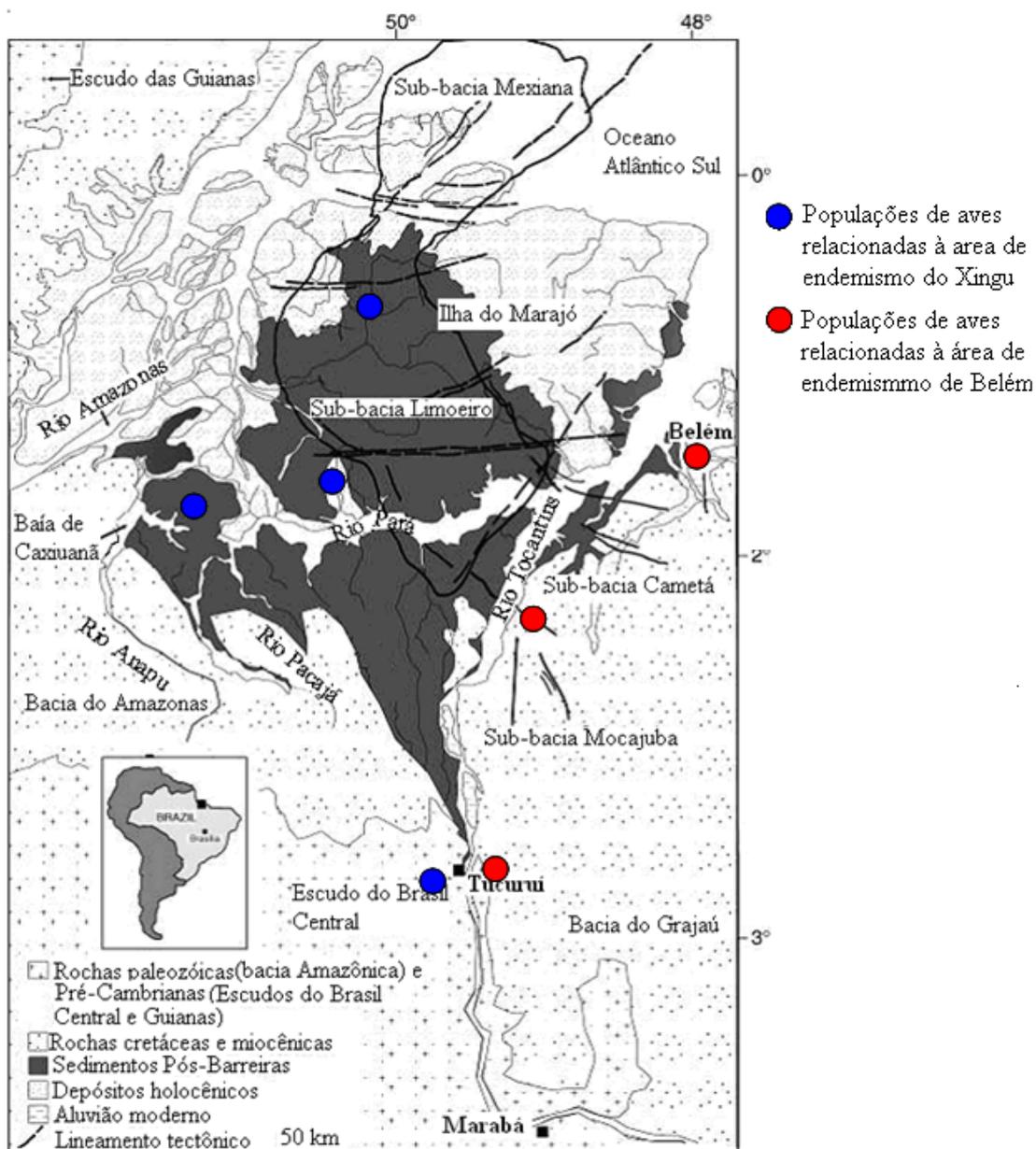
Além disso, os rios de “água clara” originados no escudo Brasileiro (como o rio Tocantins), provavelmente separaram efetivamente linhagens de espécies de terra firme por muito mais tempo que os rios de “água branca” do oeste da Amazônia (Salo *et al.* 1986, Colwell 2000, Aleixo 2004) e representam uma importante barreira geográfica para algumas espécies de vertebrados. O rio Tocantins separa a área de AE Belém (que inclui a região amazônica a leste do Tocantins e também parte do Maranhão), da área AE Xingu (que compreende a região dos interflúvios Xingu e Tocantins; Figura 1).

Como hipótese preliminar, formulamos um cenário filogeográfico onde as populações de aves florestais amostradas da IM seriam provenientes das florestas de terra firme da margem oeste do paleo-rio Tocantins, devido à proximidade do continente e ao efeito barreira do rio Tocantins, essas populações seriam geneticamente mais semelhantes às populações da área da AE Xingu do que as da AE Belém (Figura 5). As populações encontradas em terrenos geologicamente mais estáveis do escudo Brasileiro e áreas com rochas sedimentares paleozóicas e cretáceas seriam mais antigas

e estáveis do que as populações de regiões sedimentares mais jovens (baixo rio Tocantins) sendo, portanto, mais basais em relação a essas populações e servindo como fontes de diversificação populacional e especiação. Nas populações mais ao sul espera-se, também, que exista uma diferenciação genética entre as populações amostradas em margens opostas do rio Tocantins, devido ao esperado efeito de barreira do rio (Aleixo 2004, Aleixo e Rossetti 2007).

Portanto, este trabalho pretende reconstruir as relações filogenéticas de populações de três espécies de aves, relacionando-as com o cenário geológico proposto para a evolução da região do baixo Tocantins – IM.

Para isso foram escolhidas as espécies: *Xiphorhynchus spixii* Lesson 1830, *Glyphorhynchus spirurus* Vieillot, 1819 e *Willisornis poecilinotus* Cabanis 1847, baseando-se principalmente em atributos de sua história natural, que é caracterizada por relativo sedentarismo e baixo poder de dispersão (Marantz *et al.* 2003, Zimmer e Isler 2003). Essas características filopátricas são consideradas ideais para o teste dos efeitos históricos do rio Tocantins e do advento da formação do arquipélago do Marajó sobre o isolamento de populações destas espécies, permitindo assim um contraste com o modelo de evolução da paisagem da área de estudo inferido a partir dos dados geológicos.



**Figura 5.** Mapa geológico da área de estudo mostrando o relacionamento hipotético das populações de aves de terra firme da ilha do Marajó com o continente. As populações atuais seriam provenientes das florestas de terra firme da antiga margem oeste do antigo rio Tocantins, devido à proximidade do continente e ao efeito barreira do rio Tocantins (Fonte: modificado de Rossetti e Valeriano 2007).

## 2. OBJETIVOS

- Estimar parâmetros de genética populacional entre os filogrupos das três espécies de aves alvo na região do baixo Tocantins – IM.
- Estimar o tempo aproximado de separação entre essas populações, identificando populações ancestrais e episódios de colonização mais recentes na região do baixo Tocantins – IM.
- Reconstruir as relações filogenéticas das populações das três espécies estudadas, relacionando-as com o cenário geológico proposto para a evolução da região do baixo Tocantins – IM.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 ESPÉCIES ALVO

##### 3.1.1 *Xiphorhynchus spixii*

A espécie *Xiphorhynchus spixii* Lesson, 1830 (Figura 6) forma uma superespécie com *X. elegans* (Aves: Dendrocolaptidae), as quais eram anteriormente consideradas coespecíficas (*Xiphorhynchus spixii*; Ridgely e Tudor 1994). No entanto, dados genéticos e morfológicos mais recentes apóiam a existência de duas espécies biológicas: *X. spixii* (monotípica) e *X. elegans* (politípica) (Aleixo 2004).

A espécie *X. spixii* distribui-se no sudeste da Amazônia brasileira, ao sul do rio Amazonas e entre o rio Tapajós (margem norte do rio Teles Pires) a oeste e o Maranhão amazônico a leste, incluindo a IM, regiões delimitadas como AE Xingu, AE Belém e AE Tapajós (Marantz *et al.* 2003).

Seu comprimento total varia de 18,5 a 21 cm e podendo pesar de 27 a 36 g. Habita principalmente mata de terra firme, podendo ocorrer na várzea menos freqüentemente. Prefere florestas maduras à vegetação secundária e ocorre em terras baixas amazônicas, abaixo de 500m de altitude (Marantz *et al.* 2003).

Amplamente insetívoro, forrageia geralmente sozinho (menos freqüentemente em pares) regularmente associado a bandos mistos de sub-bosque ou associado a seguidores de formigas de correição (principalmente *Eciton burchelli*). É uma espécie provavelmente residente (não executando movimentos migratórios) e bastante territorial. A espécie não se encontra ameaçada, mas pode ser muito sensível a perda de

habitat, sendo um bom indicador de florestas maduras no sul da Amazônia (Marantz *et al.* 2003).

Estudos anteriores mostram que *X. spixii* é ideal para o estudo em questão, já que é amplamente distribuído na região do baixo Tocantins – IM e reconhecidamente demonstra forte resposta aos rios como barreiras geográficas (Aleixo 2004). Uma análise de variância molecular mostrou que as populações de *X. spixii* separadas pelo rio Xingu, têm a maioria de sua variabilidade genética dividida entre populações de margens opostas deste rio (Aleixo 2004). Entretanto, nenhum estudo anterior amostrou as populações de *X. spixii* da IM, desconhecendo-se completamente suas afinidades filogeográficas.



**Figura 6.** *Xiphorhynchus spixii* (Foto: Maya S. Faccio).

### 3.1.2 *Glyphorynchus spirurus*

A espécie *Glyphorynchus spirurus*, conhecida popularmente como arapaçu-de-bico-de-cunha, talvez por sua semelhança com o bico-virado *Xenops* (Furnariidae), está associada aos dendrocolaptídeos baseado tanto em anatomia quanto estudos moleculares e de pterilose (Marantz *et al.* 2003, Sick 2001, Irestedt *et al.* 2004). Seu comprimento total varia de 13 a 16 cm e sua massa corporal varia de 10,5 a 21 g (Marantz *et al.* 2003).

Encontrado em florestas primárias tanto de terras baixas quanto em sopés de montanhas, menos freqüentemente em florestas sub-montanas. As populações amazônicas ocorrem principalmente em florestas de terra firme e ocasionalmente em matas-galeria e florestas sazonalmente alagadas, tanto na várzea quanto em igapó (Marantz *et al.* 2003); distribui-se da região amazônica até uma curta distância em ecótonos de cerrado. Principalmente no interior de florestas maduras e menos freqüentemente em bordas de florestas e florestas de sucessão secundária antiga (Marantz *et al.* 2003).

*G. spirurus* alimenta-se principalmente de artrópodes, mas ocasionalmente pode consumir material vegetal; apresenta baixa diversidade de presas comparada a outras espécies de dendrocolaptídeos, consumindo principalmente coleópteros, formigas, aranhas e outras presas pequenas. Geralmente forrageia aos pares, e muitas vezes associado a bandos mistos de sub-bosque que passam pelo seu território. Empoleira-se rapidamente em troncos, em estratos baixos e médios e menos freqüentemente no dossel e sub-dossel. Parece preferir troncos grossos com cortiça áspera. Raramente segue

formigas de correição, mas pode ser encontrado próximo a elas quando associado a bandos mistos. É basicamente residente ao longo de toda sua distribuição, apresentando limitada migração altitudinal na Costa Rica (Marantz *et al.* 2003).

Possivelmente, *G. spirurus* é composto por mais de uma espécie, fato sugerido pela existência de dois tipos de cantos marcadamente distintos, combinados a raças bem diferenciadas fenotipicamente; entretanto, dados moleculares sugerem que existe fluxo gênico entre algumas destas populações morfologicamente distintas (Marantz *et al.* 2003).

Distancias genéticas significativas foram documentadas entre algumas populações, mas o padrão geográfico é difícil de explicar; a diferenciação genética é inconsistente com a taxonomia subespecífica, que pode ser mais bem relacionada a padrões geográficos definidos por vocalizações, ainda não estudados sistematicamente na espécie. Todas as populações de *G. spirurus* que ocorrem do sudoeste da Amazônia brasileira, sul do rio Amazonas, margem leste do rio Tapajós até oeste do Maranhão incluindo a IM (AE Xingu, AE Belém, AE Tapajós) são consideradas uma entidade taxonômica uniforme sob o nome *G. s. paraensis* Pinto, 1974 (Figura 7). Embora na literatura, populações à margem leste do rio Xingu sejam consideradas aparentemente intermediárias entre *G. s. paraensis* e *G. s. inornatus* Zimmer, 1934 (Marantz *et al.* 2003). Alguns registros recentes do noroeste da Bolívia podem se tratar provavelmente de *G. s. inornatus*.

Em um amplo estudo filogeográfico Marks *et al.* (2002) utilizaram *G. spirurus* para avaliar os relacionamentos entre as AE amazônicas a diversificação histórica de aves e testar hipóteses prévias baseadas em estudos genéticos, morfológicos e análise de parcimônia para aves e primatas. Todas as populações de *G. spirurus* das AE Xingu, AE

Belém e AE Tapajós mostraram-se monofiléticas, tendo como grupo irmão as populações da AE Rondônia. Apesar das populações que se encontram à margem oeste do rio Jiparaná apresentarem características morfológicas idênticas àquelas de *G. s. inornatus* do sul de Rondônia, existe uma forte quebra genética (6,5% de divergência), entre elas evidenciando uma provável separação. Futuros estudos taxonômicos integrando análises genéticas, vocais e morfológicas são necessários para fundamentar divisões taxonômicas entre essas subespécies.

Assim, baseando-se no trabalho de Marks *et al.* (2002) foram escolhidos os seguintes grupos externos: *G. s. spirurus*, *G. s. inornatus* e *G. s. rufigularis* Zimmer, 1934.

- *G. s. spirurus*, ocorre do noroeste do Amazonas, no leste da Venezuela, nas Guianas e no Norte do Brasil do baixo Rio Negro até o leste do Amapá (AE Guianas) (Marantz *et al.* 2003).

- *G. s. inornatus*, ocorre no sul da Amazônia Brasileira (sul do Amazonas do leste do Rio Madeira até o Rio Tapajós e do sul até o sudoeste do Mato Grosso), também foi registrado recentemente no noroeste da Bolívia (AE Rondônia) (Marantz *et al.* 2003).

- *G. s. rufigularis* ocorre no noroeste da Amazônia, norte do rio Amazonas, do centro da Colômbia até o sul da Venezuela, do sul até o noroeste do Equador, (alto rio Napo), e noroeste do Brasil até a margem oeste do baixo rio Negro (AE Imeri) (Marantz *et al.* 2003).



**Figura 7.** *Glyphorynchus spirurus paraensis* (Foto: Maya S. Faccio).

### 3.1.3 *Willisornis poecilotus*

A espécie *Willisornis poecilotus* (Thamnofilidae), conhecida pelo nome popular de rendadinho, varia de 12 a 13 cm de comprimento total e de 15 a 19 g de massa corporal. Alimenta-se principalmente de insetos e outros artrópodes e, ocasionalmente, até de pequenos lagartos. Alguns registros incluem larvas de formigas, baratas, grilos, aranhas, quilópodes, podendo ocorrer também térmitas, larvas de lepidópteros e ortópteros (Marantz *et al.* 2003).

São participantes regulares de bandos mistos em algumas áreas, mas raramente se associam a esses grupos na maioria das regiões, apesar de estarem próximos a outras espécies em correições de formigas. São seguidores regulares de formigas de correição (*Eciton burchelli*, *Labidus praedator*), mas raramente vão além de suas fronteiras territoriais, ou forrageiam longe de formigas. É presumivelmente residente. Habita o sub-bosque de florestas úmidas de terras baixas e o sopé de florestas perenes, até pouco mais de 1000m de altitude, principalmente em terra firme e menos freqüentemente em várzea e igapó (Marantz *et al.* 2003).

Algumas das sete subespécies já descritas de *W. poecilotus* provavelmente constituem espécies distintas, enquanto outras provavelmente representam artefatos taxonômicos ou zonas de intergradação. Uma filogenia publicada recentemente mostrou que *W. poecilotus* não é filogeneticamente próximo de outras espécies do gênero *Willisornis*, que não representa um grupo monofilético; as relações filogenéticas de *W.*

*poecilinotus* são ainda incertas, se sabendo unicamente que este espécie faz parte de um clado que inclui gêneros e espécies de Thamnophilidae seguidores obrigatórios de formigas de correição (Brumfield *et al.* 2007). Dentre as populações já descritas como subespécies, duas ocorrem na região do baixo Tocantins e IM:

- *W. p. vidua* (Figura 8, 9) que ocorre do leste da Amazônia brasileira, sul do Rio Amazonas, do leste do Rio Xingu a oeste do Maranhão ao norte, incluindo a IM, inserindo-se nas AE do Xingu e AE Belém (Marantz *et al.* 2003).

- *W. p. nigrigula*, centro-sul da Amazônia brasileira, extremo leste do Amazonas, leste de ambas as margens do rio Tapajós, e margem leste do rio Teles Pires, do sul ao norte do Mato Grosso (Marantz *et al.* 2003), que por ser o provável grupo irmão de *W. p. vidua*, foi escolhido para servir como grupo externo nas análises.



**Figura 8.** *Willisornis poecilinotus vidua* ♂ (Foto: Maya S. Faccio).

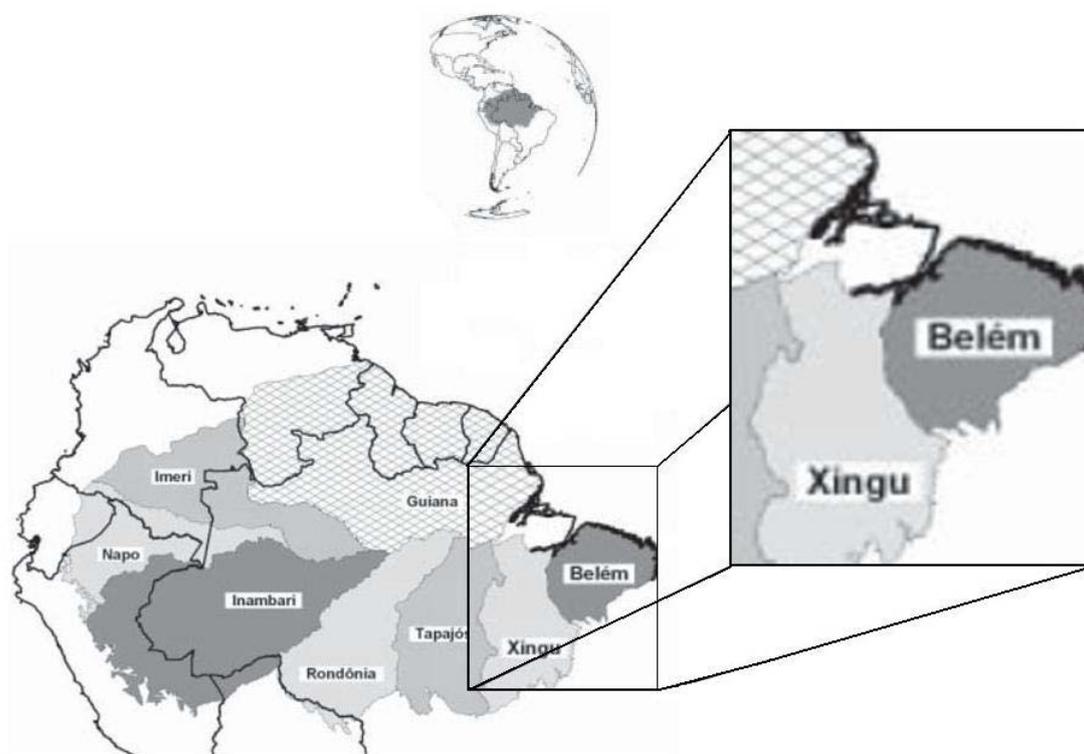


**Figura 9.** *Willisornis poecilinotus vidua* ♀ (Foto: Maya S. Faccio).

## **3.2 ÁREA DE ESTUDO**

### **3.2.1 Localização**

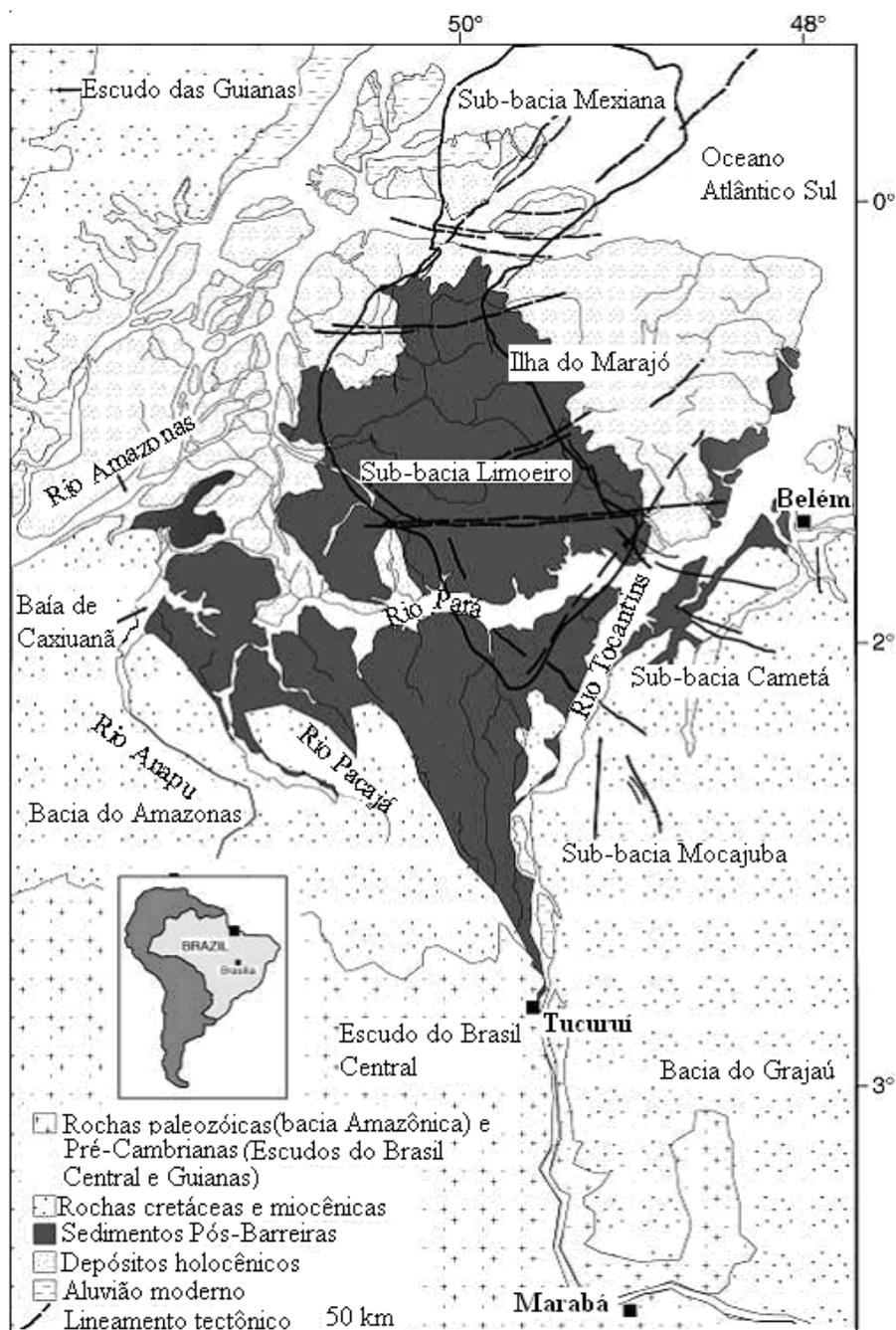
A área de estudo abrange principalmente o baixo curso do rio Tocantins, que separa a AE Belém (região amazônica entre o leste do rio Tocantins e o Maranhão amazônico) da AE Xingu (região do interflúvio Xingu – Tocantins) e o arquipélago do Marajó, constituído pela zona do golfo marajoara, IM, além de numerosas ilhas e canais e que formam a região dos “furos de Breves” e a baía do Marajó onde deságua o rio Tocantins (Figura 10).



**Figura 10.** Área de estudo no contexto das áreas de endemismo da Amazônia baseadas na distribuição de vertebrados terrestres (modificado de: Silva *et al.* 2005).

### 3.2.2 Geologia

A região do Baixo Tocantins - IM acha-se inserida em diferentes contextos tectônicos, incorporando partes das sub-bacias de Cametá e Limoeiro, que ocorrem nas porções leste e central do Sistema de Graben do Marajó, respectivamente, e plataformas do Pará e Bragantina. A base do preenchimento sedimentar do Sistema de Graben do Marajó inclui depósitos cretáceos que são recobertos discordantemente por estratos terciários e quaternários formados principalmente em ambientes marinho-raso a transicional (Figura 11). Pelo menos boa parte da sedimentação quaternária é representada, em superfície, por depósitos incluídos indistintamente sob a designação de sedimentos Pós-Barreiras (Rossetti e Valeriano 2007).

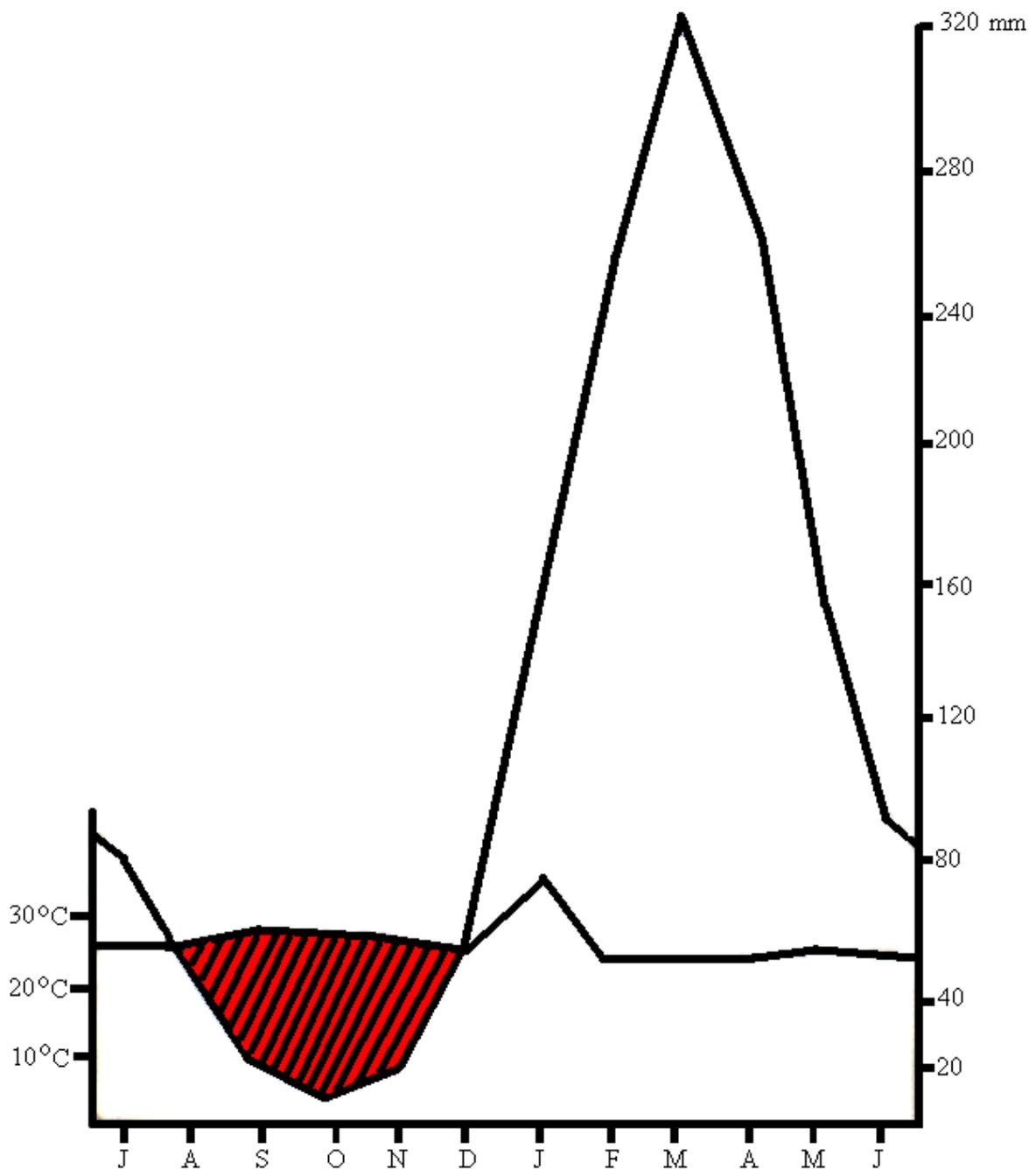


**Figura 11. Mapa geológico da área de estudo na bacia de drenagem do baixo Amazonas.** Note-se a distribuição dos sedimentos Plio-Pleistocênicos e dos sedimentos Pós-Barreiras formando uma morfologia de funil que se expande em direção a Tucuruí. Observe-se também a repentina mudança de curso do rio Tocantins de leste-oeste para norte-noroeste (Rossetti e Toledo, 2006).

### 3.2.3 Clima

O clima da região enquadra-se no grupo “Am” da classificação de Köppen, definido como clima tropical quente chuvoso, apresentando temperatura média anual de 25.000 mm e mensal inferior a 60 mm durante a pelo menos dois meses do ano (Tancredi *et al.* 1986).

A estação chuvosa é denominada localmente de “inverno” ocorrendo de janeiro a julho, quando o leste da ilha de Marajó fica alagado. O “verão” é a estação seca (entre agosto e dezembro), tal como ilustra a curva ombrotérmica de Gaussen (Figura 12).



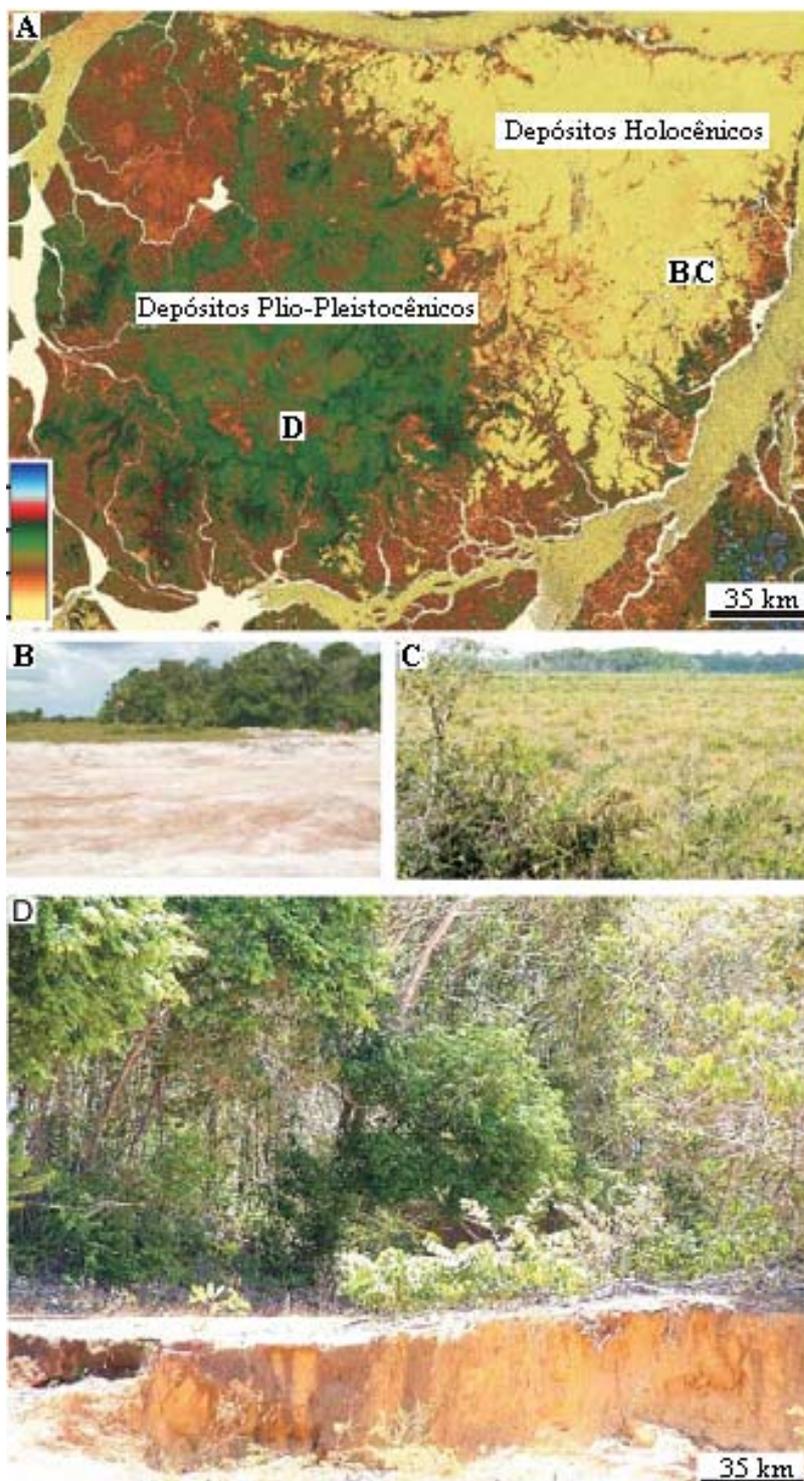
**Figura 12.** Curva ombrotérmica de Gausen para Soure, PA. A área hachurada em vermelho corresponde ao período de déficit hídrico (Modificado de: Projeto RADAM, 1974).

### 3.2.1. Vegetação

O arquipélago do Marajó apresenta um conjunto vegetacional singular onde predominam os campos naturais e as florestas úmidas susceptíveis à inundação que acontece anualmente durante o inverno chuvoso da região.

Os campos do Marajó apresentam diferentes feições de acordo com a posição topográfica e a influência da rede de drenagem fluvial. Além dos campos úmidos limpos, com predominância do elemento herbáceo existem os campos com mondrongos, onde pequenas oscilações na micro-topografia permitem o estabelecimento do estrato arbustivo-arbóreo; existem ainda os campos com ilhas de mata e capões, de tamanhos e formas variados. Essas ilhas geralmente se desenvolvem nos tesos, zonas de topografia mais elevada onde geralmente os efeitos da inundação não se fazem sentir (Figura 13c).

As florestas são predominantemente do tipo pluviais ou ombrófilas e perenifólias. Apresentam um espectro que varia desde as florestas aluviais de terra firme, com pouca influência de inundação até aquelas de igapó, permanente, ou quase permanentemente, alagadas (Figura 13d). As florestas de igapó mais frequentes, são aquelas associadas à palmeira açai (*Euterpe oleracea*). Nas florestas aluviais pode ocorrer ainda associação com palmeiras inajá, bacaba, marajá e murumuru. As matas de várzeas estão restritas aos vales dos cursos d'água barrenta que irrigam a zona do canal, como os rios Atuí e Anajás. A planície de inundação diária, promovida pelo movimento das marés, é de aproximadamente 50m nas partes mais largas (Rossetti e Toledo 2006).



**Figura 13. Contraste da vegetação encontrada no lado oeste e leste da ilha do Marajó. A)** Contraste entre o lado oeste e leste da ilha de Marajó, representada por depósitos Plio-Pleistocênicos a Holocênicos, respectivamente. Note-se o complexo de canais abandonados no lado oeste da Ilha (letras B a D indicam a localização geográfica das fotos mostradas nas Figs. 16 B-D). **B)** depósitos holocênicos típicos do lado leste da ilha consistindo de areias claras variadas. **C)** Vegetação aberta típica do lado leste da Ilha. **D)** Substrato mais bem consolidado composto de areias amarelas, típicos da região oeste da ilha, onde a se encontra a vegetação de floresta de terra firme (Rossetti e Toledo 2006).

### 3.2.3 Avifauna do Arquipélago do Marajó

Foram registradas até hoje 361 espécies de aves na IM, 189 na ilha de Mexiana e 99 na ilha de Caviana, as maiores do arquipélago (Henriques e Oren 1997). As aves registradas no arquipélago exclusivamente para a IM são, em sua maioria espécies restritas ao ambiente de terra-firme, como por exemplo, *Leptodon cayennensis*, *Pyrrhura perlata*, *Galbula dea*, *Malacoptila rufa*, *Ramphastos tucanus*, *Celeus elegans*, *Celeus torquatus*, *Campephilus rubricollis*, *Dendrocolaptes certhia*, *Synallaxis rutilans*, *Sclerurus rufigularis*, *Thamnomanes caesius*, *Myrmotherula hauxwelli*, *M. leucophthalma*, *M. axillaris*, *M. longipennis*, *M. menetriesii*, *Myrmoborus myotherinus*, *Phlegopsis nigromaculata*, *Formicarius analis*, *Platyrinchus saturatus*, *Platyrinchus platyrhynchos*, *Onychorhynchus coronatus*, *Laniocera hypopyrrha*, *Schiffornis turdina*, *Tyranneutes stolzmanni*, *Phoenicircus carnifex*, *Xipholena lamellipennis*, *Microcerculus marginatus*, *Turdus albicollis* e *Tachyphonus surinamus* (Henriques e Oren 1997).

As áreas abertas (campos e áreas sazonalmente alagadas) apresentam uma avifauna similar à encontrada nos cerrados do Brasil central, constituindo as áreas mais bem estudadas do arquipélago em termos de conhecimento ornitológico. Aves características incluem *Rhynchotus rufescens*, *Heterospizias meridionalis*, *Uropelia campestris*, *Guira guira*, *Polytomus guainumbi*, *Ramphastos toco*, *Xolmis cinerea*, *X. velata* e *Coryphasiza melanotis*. Apesar disso, muitas espécies típicas de cerrado de ampla distribuição aparentemente não estão presentes nas ilhas do arquipélago do Marajó (Henriques e Oren 1997).

Quatro subespécies de aves foram propostas como endêmicas do Arquipélago do Marajó, *Sporophila leucoptera mexianae*, *Coryphasiza melanotis marajoara*, *Zenaida*

*auriculata marajoensis* e *Amazona ochrocephala xantholaema*. Entretanto, Henriques e Oren (1997) analisando espécimes depositados em coleções consideraram que, com exceção de *Amazona ochrocephala xantolaema*, não existem táxons endêmicos do Arquipélago do Marajó.

Em seu estudo sobre a filogenia e biogeografia do complexo *Amazona ochrocephala*, Eberhard e Bermingham (2004) verificaram que *A. o. xantolaema* apresenta pouca divergência genética, apesar de mostrar variações morfológicas e de canto. Verificaram ainda, que existe fluxo gênico entre as populações de papagaios *A. o. ochrocephala* e *A. o. xantholaema*, da AE Xingu e da IM, sendo que estes são considerados grupo irmão de *A. o. nattereri* do leste do Brasil, Bolívia e Peru (AE Rondônia).

Considerando a história geológica altamente dinâmica do arquipélago do Marajó, e sua formação recente, é de se esperar que não existam endemismos, principalmente no caso de organismos relativamente mais vágéis como as aves. Como o grau de diferenciação de uma população insular correlaciona-se com o seu período de isolamento, as ilhas do arquipélago do Marajó seriam muito recentes para permitir especiação (Henriques 1993). A proximidade do continente e a dinâmica geológica teriam contribuído para, ao invés de isolar as populações, funcionar como pontes na dispersão de espécies entre o continente e o complexo do arquipélago do Marajó (Ayes e Clutton-Brock 1992, Haffer 1992).

### 3.3 AMOSTRAGEM

Foram utilizados os tecidos pertencentes às espécies de interesse da coleção ornitológica do MPEG, selecionados de um levantamento prévio de acordo com a localidade de coleta, sendo estes categorizados e separados em grupos por área de endemismo segundo Silva *et al.* (2005). Foram selecionados também tecidos da IM, tratando-se este grupo como uma AE adicional, já que esta região apresenta uma complexa relação biogeográfica com as áreas de seu entorno (Tabela 1) (Henriques e Oren 1997).

Adicionalmente, foram realizadas expedições de coleta nas áreas de interesse para onde não existiam tecidos na coleção. Em Breves, IM, na localidade denominada “Sítio do Waldir” (01°33'48,2"S; 50°23'24"W), foram coletados nove espécimes de *G. spirurus*, quatro de *X. spixii*, oito de *W. poecilotus*. Em Portel, FLONA do Caxiuanã, Plot PPBIO (01°57'S; 51°36'W) foram coletados sete espécimes de *G. spirurus*, seis de *X. spixii*, oito de *W. poecilotus*. No Parque Ecológico Gunma, Belém, (01°11'57,35''S; 48°17'57''W), foram coletados um espécime de *G. spirurus*, três de *X. spixii*, três de *W. poecilotus*. Todos os espécimes coletados e seus respectivos tecidos associados foram depositados na coleção ornitológica do Museu Paraense Emílio Goeldi (MPEG) (Anexos 1, 2, 3).

**Tabela 1.** Número de espécimes amostrados por área de endemismo de cada uma das espécies estudadas, mostrando os grupos internos categorizados por área de endemismo: ilha do Marajó, Xingu, Belém e Tapajós e os grupos externos: Rondônia, Guiana, Imeri e Inambari.

Espécie	Grupos internos				Grupos externos			
	ilha do Marajó	Xingu	Belém	Tapajós	Rondônia	Guiana	Imeri	Inambari
<i>Xiphorhynchus</i>								
<i>spixii</i>	4	10	7	9	0	0	0	0*
<i>Glyphorhynchus</i>								
<i>spirurus</i>	12	9	11	1	2	2	1	0
<i>Willisornis</i>								
<i>poecilnotus</i>	5	11	17	2	2	0	0	1

\* Para *Xiphorhynchus spixii* foram utilizadas seqüências de *X. e. elegans* (AY089852) e *X. e. ornatus* (AY089141) retiradas do GenBank como grupo externo.

### 3.4 MÉTODOS LABORATORIAIS

O DNA genômico total foi extraído de amostras de tecido ou de amostras de sangue coletadas recentemente ou presentes na coleção do MPEG, utilizando o método padrão de extração com fenol/clorofórmio (Sambrook 1989). Fragmentos do gene mitocondrial *ND2* (*NADH dehidrogenase* subunidade 2) de cada amostra foram amplificados via PCR a partir dos iniciadores L5215/H11151 (Slade *et al.* 1993). O volume total da reação foi de 50µl contendo 10ng de DNA genômico, 5mM de cada DNTP, 2,5mM de MgCl<sub>2</sub>, 1 unidade de Taq DNA polimerase e 10pmol de cada um dos iniciadores. O perfil de amplificação para o fragmento de *NADH dehidrogenase 2* constou dos seguintes passos: 35 ciclos com 1 minuto a 95°C; 1 minuto a 58°C a 60°C; e 1 minuto a 72°C, sendo estes precedidos por um passo inicial de 4 minutos a 95°C para a homogeneização da temperatura do bloco e seguidos por 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. Uma pequena alíquota

da PCR foi submetida à eletroforese em um gel de agarose a 1% associado a um *ladder* correspondente ao tamanho esperado para cada fragmento, para a verificação do tamanho do fragmento do gene e para garantir que apenas um produto de amplificação foi obtido.

Os produtos das amplificações foram seqüenciados direta e automaticamente no MegaBACE (GE Healthcare) usando o DYEnamic ET Dye Terminator Cycle Sequencing Kit for MegaBACE DNA Analysis Systems (GE Healthcare) de acordo com as especificações do fabricante. Ambas as fitas de cada fragmento de uma mesma amostra foram seqüenciadas para confirmar as mutações observadas. As seqüências nucleotídicas foram editadas e alinhadas utilizando o aplicativo BioEdit 7.0.5 (Hall 1999).

### 3.5 ANÁLISES DE GENÉTICA POPULACIONAL

As análises genético-populacionais para as espécies estudadas foram baseadas em fragmentos do gene mitocondrial *ND2* (*dehidrogenase subunidade 2*). Com o auxílio do aplicativo DnaSP, versão 4.50.1 (Rozas *et al.* 2003) foram estimados os parâmetros de diversidade nucleotídica  $\pi$ , que quantifica a média do número de diferenças nucleotídicas por sítio entre duas seqüências escolhidas ao acaso, o número de haplótipos e o número de sítios segregantes (S) para cada grupo de populações das áreas de endemismo amostradas.

Para inferir a história demográfica das populações em longo prazo foi utilizado o teste estatístico R2. Esse teste é baseado na diferença entre mutações únicas (*singletons*)

e a média de diferenças nucleotídicas entre as seqüências dentro de uma amostra populacional, sendo mais poderoso que outros testes de desvio de neutralidade como, por exemplo, o  $D$  de Tajima (1989) e  $F_s$  de Fu (1997) quando as amostras populacionais são muito pequenas (Ramos-Onsins e Rozas 2002). A significância do  $R_2$  foi avaliada comparando o valor observado com uma distribuição nula de  $R_2$ , simulada por meio de coalescência, utilizando a amostra populacional empírica e o número observado de sítios segregantes.

As análises da variância molecular (AMOVA) para todos os grupos de populações das áreas de endemismo das espécies estudadas foram realizadas com o programa Arlequin 3.11 (Excoffier *et al.* 2007). AMOVA usa frequências genotípicas e a quantidade de mutações entre diferentes haplótipos para testar a significância dos componentes de variância associados a três níveis hierárquicos de estrutura genética populacional: (1) intrapopulacional, (2) interpopulacional entre populações de um mesmo grupo e (3) entre populações de grupos diferentes (Excoffier *et al.* 1992). Populações antigas e em equilíbrio geralmente apresentam a maior parte de sua diversidade genética distribuída geograficamente entre populações distintas, ao passo que populações mais jovens caracterizam-se por terem a maior parte de sua diversidade molecular distribuída ao nível intrapopulacional, não entre populações alopátricas (Excoffier *et al.* 1992).

Assim, para a AMOVA as populações amostradas foram agrupadas por área de endemismo, tratando-se as populações da IM como uma área de endemismo. Foram testadas estruturas genéticas entre AE, dentro de populações em uma determinada área AE e dentro das populações.

Os níveis de estruturação das populações foram inferidos pelas análises dos *F* statistics ( $F_{ST}$ ) (Slatkin 1991, 1995) e o fluxo gênico estimado através do número de migrantes por geração ( $Nm$ ); quando mais de um indivíduo migra a cada geração, os efeitos de isolamento tornam-se desprezíveis, independentemente do tamanho da população em questão (Hudson *et al.* 1992).

Para verificar as relações entre os haplótipos e sua distribuição geográfica, construiu-se uma rede de haplótipos com o auxílio do programa Network 4.2.0.1 (Fluxus Technology Ltd. at [www.fluxus-engineering.com](http://www.fluxus-engineering.com)). Para a construção das redes de haplótipos foi utilizado o algoritmo de *Medium Joining* (MJ).

### 3.6 ANÁLISES FILOGENÉTICAS

Hipóteses filogeográficas para populações das espécies estudadas foram realizadas utilizando-se dois critérios distintos: máxima verossimilhança e métodos Bayesianos (Felsenstein 2002). As análises de máxima verossimilhança foram realizadas utilizando o programa PHYL *Online*, sendo a apoio estatístico para os diferentes nos calculado com base em 500 replicações de *bootstrap* (Guindon *et al.* 2005). O *log likelihood ratio test* foi utilizado para a escolha do melhor e mais simples modelo evolutivo de substituição nucleotídica que se ajustou aos dados obtidos, como implementado pelo aplicativo MODELTEST (Posada e Crandall 1998). O modelo de evolução molecular selecionado pelo aplicativo para cada espécie foi utilizado na nas análises de máxima verossimilhança e na inferência Bayesiana de filogenia juntamente com o aplicativo MrBayes 3.1.2 (Huelsenbeck e Ronquist 2001). O programa MrBayes 3.1.2 foi

executado seguindo as seguintes especificações: (1) Assumindo um modelo de substituição nucleotídica escolhido pelo MODELTEST (2) rodando a cadeia de Markov por 5.000.000 de gerações, amostrando uma árvore a cada 1000 gerações (Brumfield *et al.* 2007). Seguindo as recomendações de Huelsenbeck *et al.* (2003), foram descartadas árvores obtidas antes que a cadeia de Markov alcançasse valores de verossimilhança convergentes e estáveis, ou seja, um *burnin* 1250 (25% das amostras). O programa MrBayes 3.1.2 gera uma árvore consenso das árvores amostradas, onde é representada a proporção de vezes em que um dado clado foi amostrado equiparando-se à sua probabilidade posterior de ocorrência. Nós com um apoio inferior a 95% não são considerados estatisticamente bem apoiados.

O método Bayesiano produz resultados essencialmente idênticos àqueles obtidos com o critério de máxima verossimilhança, com a vantagem de produzir automaticamente índices de suporte estatístico (probabilidades posteriores de ocorrência) associados a diferentes clados (Huelsenbeck 2001). Filogenias foram estimadas com base em fragmentos do gene ND2 (*NADH dehidrogenase subunidade 2*). Como recomendado por Sorenson e Quin (1998) e Bates *et al.* (1999), as seguintes medidas foram tomadas para a certificação de que os fragmentos de DNA são acurados e de origem mitocondrial: (1) ambas as fitas de DNA foram amplificadas, (2) as seqüências foram alinhadas com seqüências do mtDNA da galinha (*Gallus gallus*) completo checando a presença de deleções e códons de parada que resultariam em uma proteína não-funcional (3) todas as seqüências foram checadas através do aplicativo DAMBE (Xia e Xie 2001), para a verificação do nível de saturação de bases, a perda de informação das seqüências devido ao excesso de mutações ou para constatar que não se tratam de pseudo-genes ou seqüências mal alinhadas.

### 3.7 RELÓGIO MOLECULAR

Esta análise foi realizada com o banco de seqüências de *ND2*, utilizando-se a calibração estimada de 2,0% de divergência por milhão de anos, (Weir e Schluter 2008)

O aplicativo PAUP 4.0b10 (Swofford 2002) foi utilizado para verificar se este marcador evoluiu de forma constante, como esperado para a utilização do relógio molecular. Para isso foi realizado o teste de razão de verossimilhança (LRT), com o auxílio do programa PAUP 4.0b10 comparando valores gerados pela análise de máxima verossimilhança relaxando o relógio molecular, ou forçando o relógio molecular a evoluir a uma taxa uniforme. O programa BEAST v 1.4.7 (*Bayesian Evolutionary Analysis Sampling Trees*) foi utilizado para a inferência de uma filogenia através do método *bayesiano* objetivando a realização de uma análise de relógio molecular (Drummond *et al.* 2007). O modelo evolutivo utilizado para esta análise foi especificado previamente pelo programa MODELTEST (Posada e Crandall 1998).

## 4. RESULTADOS

### 4.1 *Xiphorhynchus spixii*

Foram obtidos um total de 16 haplótipos únicos para 30 indivíduos (Tabela 2) com base no gene ND2, em fragmentos de 950 pb abrangendo as posições de 5291 a 6240 do DNA gene ND2 da galinha (*Gallus gallus*). A média percentual da composição de bases dos fragmentos mitocondriais foi igual a 32,87% de adenina, 32,28% de citosina, 9,75% de guanina e 25,09% de timina. Para a construção das filogenias foram utilizados os 16 haplótipos únicos como grupos internos (Tabela 2) e uma seqüência da espécie *X. e. elegans* (AY089852) e outra de *X. e. ornatus* (AY089141) retiradas do GenBank como grupos externos. Substituições nucleotídicas foram observadas em 89 sítios, sendo 47 filogeneticamente informativas.

**Tabela 2.** Haplótipos únicos da espécie *X. spixii*, mostrando número de haplótipos, número de campo ou de tombo dos espécimes depositados da coleção ornitológica do MPEG, área de endemismo (AE) onde foi coletado o espécime e número da população de acordo com a localidade (vide Anexo 1).

Haplótipo	Número de tombo/campo do(s) espécime(s)	AE	População
1	UHE456	Xingu	4
2	UHE357, UHE358	Xingu	4
3	UHE384, PPBIO110, PPBIO061	Xingu	5, 7
4	BR165065, BR163028, BR163212	Tapajós	5
5	BR163010	Tapajós	6
6	BR163130	Tapajós	5
7	BR163185	Tapajós	7
8	BR163029	Tapajós	5
9	BR163060	Tapajós	5
10	BR163145	Tapajós	6
11	MSMAR058, PPBIO300, PPBIO096, MSPEG001, PEG006, PEG024, AY089875* MSMAR071, MSMAR066, PPBIO165,	Marajó, Xingu, Belém	1, 2, 3
12	MSMAR067	Marajó, Xingu	2, 3
13	PPBIO090	Xingu	3
14	MSPEG017	Belém	1
15	MSPEG018	Belém	1
16	AO7884	Belém	1

\* seqüência retirada do GenBank.

O teste de R2 não rejeitou a hipótese nula de crescimento populacional constante, ou seja, as populações de *X. spixii* não apresentaram evidências de expansão demográfica recente ou gargalos de garrafa. As populações da AE Xingu e AE Tapajós apresentaram altos níveis de diversidade haplotípicas e nucleotídicas (Tabela 3).

**Tabela 3.** Número de indivíduos (N), número de haplótipos, número de sítios segregantes (S), diversidade nucleotídica ( $\pi$ ) e teste de desvio de neutralidade (R2) a partir do fragmento do gene *ND2* (*NADH, dehidrogenase subunidade 2*) para as populações de *X. spixii* das áreas de endemismo (AE) da Ilha do Marajó, Xingu, Belém e Tapajós.

AE	N	Número de Haplótipos	S	$\pi$ (x100)	R2
Marajó	4	2	2	0,105	0,4330 NS
Xingu	10	6	13	0,318	0,1373 NS
Belém	7	4	4	0,120	0,1821 NS
Tapajós	9	7	13	0,392	0,1373 NS

NS, valores não significativos para  $P < 0,05$ ; significância obtida por meio de comparação do R2 observado com a distribuição nula. Distribuição do teste estatístico sob a hipótese nula de crescimento constante.

A AMOVA (Tabela 4) indica que a variação dentro das populações (49,92%) é maior que a variação entre as AE (40,04%), os dados mostram que existe estruturação filogeográfica significativa entre as populações apesar da alta variação existente dentro das populações.

**Tabela 4.** AMOVA (análise de variância molecular) baseada no gene mitocondrial *ND2* (*dehidrogenase subunidade 2*) indicando variabilidade genética entre grupos, entre áreas de endemismo, entre populações dentro das áreas de endemismo (ilha do Marajó, AE Xingu, AE Belém, AE Tapajós) e dentro das populações de *X. spixii*. A tabela mostra a fonte de variação por grupos, os graus de liberdade (g.l.), os componentes de variação por grupo e a porcentagem de variação.

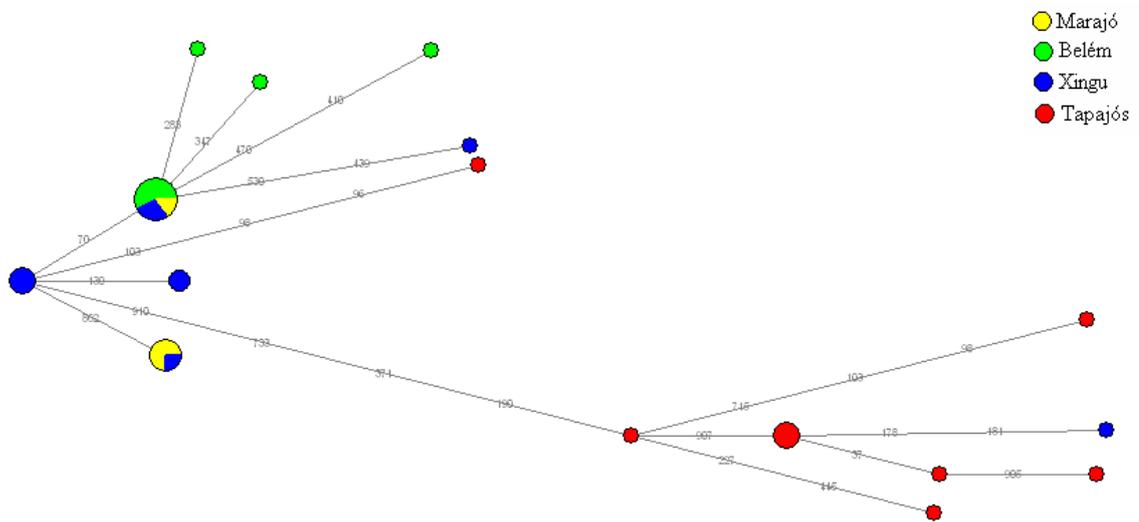
<b>Fonte da variação</b>	<b>g.l.</b>	<b>Componentes da variação</b>	<b>Porcentagem de variação</b>
Entre áreas de endemismo	3	0,95605 Va	40,04
Entre populações dentro das AE	3	0,23981 Vb	10,04
Dentro das populações	23	1,19182 Vc	49,92
Total	29	2,38768	

Os valores de  $F_{ST}$  não foram significativos para todas as comparações par a par entre todas AE, exceto para comparações entre AE Tapajós e as demais áreas. As comparações entre IM e AE Xingu e AE Belém e AE Xingu mostraram altos valores de  $N_m$  (número de migrantes por geração), indicando ausência de estruturação genética e a ocorrência de fluxo gênico entre essas áreas. Os valores significativos de  $F_{ST}$ , associados aos resultados da AMOVA apresentam resultados aparentemente divergentes. Entretanto, a estruturação filogeográfica aparece principalmente nas comparações que envolvem a AE Tapajós, confirmado pelas baixas taxas de fluxo gênico entre a AE Tapajós e as demais populações (Tabela 5).

**Tabela 5.** Lista dos valores número de migrantes ( $N_m$ , acima) e comparações par a par de  $F_{ST}$  (abaixo) entre as populações de *X. spixii* da ilha do Marajó, AE Xingu, AE Belém e AE Tapajós. Valores estatisticamente significativos para  $P \leq 0,001$ ; (\*\*).

	<b>Marajó</b>	<b>Xingu</b>	<b>Belém</b>	<b>Tapajós</b>
<b>Marajó</b>	-	10,1003	0,5523	0,3956
<b>Xingu</b>	0,0472	-	2,6300	0,6109
<b>Belém</b>	0,4751	0,1597	-	0,2955
<b>Tapajós</b>	0,5583**	0,4501**	0,6285**	-

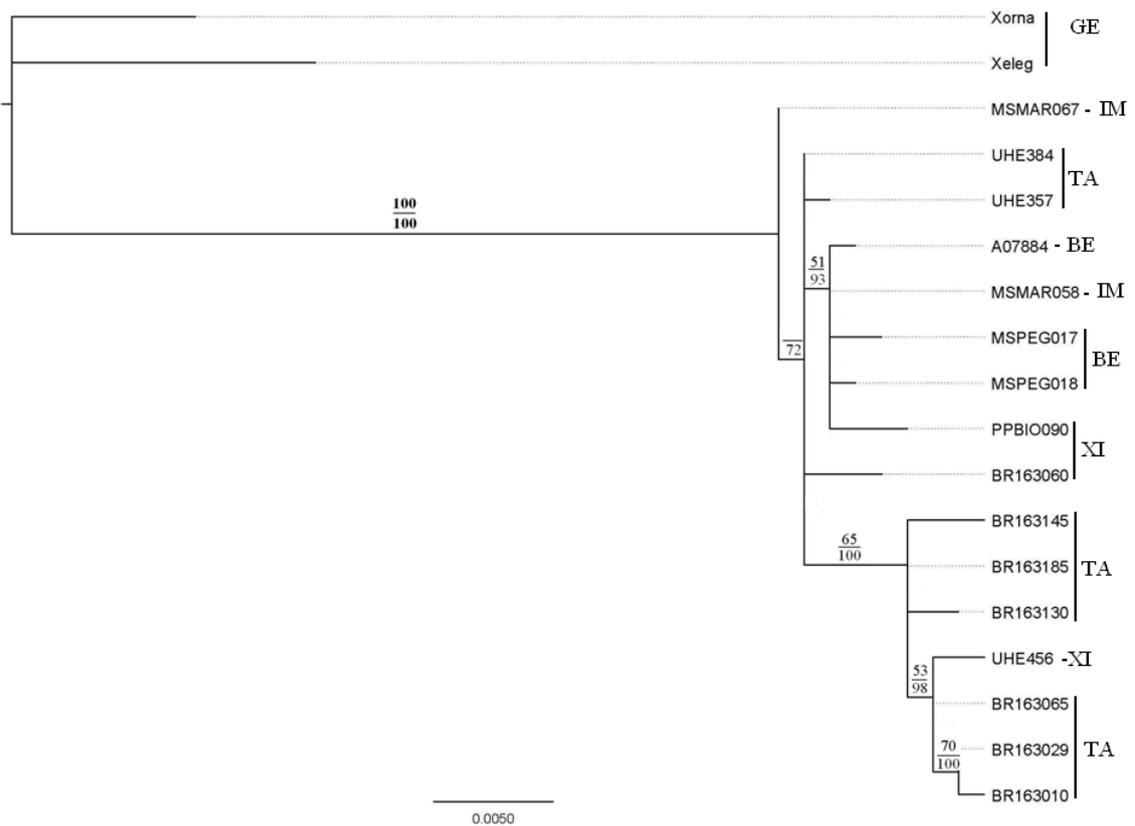
A rede de haplótipos (Figura 14) também mostra com exceção da AE Tapajós, a ausência de estruturação geográfica entre as populações, representado pelo compartilhamento de haplótipos entre as populações da AE Xingu, AE Belém e IM.



**Figura 14.** Rede de haplótipos das quatro grupos de populações de *X. spixii*. Os círculos são proporcionais à frequência dos haplótipos (vide Tabela 1). Os números referem-se à posição de cada mutação nos haplótipos.

Para as análises filogenéticas, o modelo de substituição nucleotídica escolhido pelo MODELTEST foi o TrN+I (Tamura e Nei 1993) com os seguintes parâmetros: Lset Base=(0.3287 0.3228 0.0975) Nst=6 Rmat=(1.0000 17.3004 1.0000 1.0000 9.3697) Rates=equal Pinvar=0.7977. As árvores geradas pelos métodos de máxima verossimilhança e inferência bayesiana apresentaram uma topologia idêntica e por isso foram apresentadas em uma única figura (Figura 15).

A árvore de máxima verossimilhança mostra que, com exceção das populações do AE Tapajós, não existem haplótipos associados a apenas uma área de endemismo, a população da IM compartilha haplótipos com populações das AE Xingu e Belém (Figura 14, Figura 15). Assim, as populações da IM são parafiléticas e não apresentam haplótipos exclusivos. Devido à falta de monofilia recíproca entre as populações da IM e das AE Belém e AE Xingu, não foram realizadas estimativas de relógio molecular para essa espécie (Tabela 5).



**Figura 15.** Árvore obtida pelo método de máxima verossimilhança (modelo TrN+I), obtida por 500 réplicas de *bootstrap* do gene mitocondrial *ND2* em *X. spixii*. Os números acima da barra representam o apoio estatístico para a máxima verossimilhança e abaixo, para a inferência Bayesiana. São mostrados apenas os valores de *bootstrap* acima de 50%, probabilidades iguais ou acima de 95% em estão em negrito. Na árvore estão representados os haplótipos: **IM** = Ilha do Marajó; **TA** = Tapajós; **XI** = Xingu; **BE** = Belém e **GE** = *X. e. elegans* e *X. e. ornatus*.

#### 4.2 *Glyphorynchus spirurus*

De um total de 36 indivíduos amostrados foram obtidos 25 haplótipos únicos (Tabela 6) para o gene *ND2*, em fragmentos de 921pb abrangendo as posições de 5298 a 6226 do DNA gene *ND2* da galinha (*Gallus gallus*). A média percentual da composição de bases dos fragmentos mitocondriais foi igual a 33,3% de adenina, 32,4% de citosina, 10,5% de guanina e 23,8% de timina. Substituições nucleotídicas foram observadas em 158 sítios, sendo 96 filogeneticamente informativas. O modelo de substituição nucleotídica escolhido pelo MODELTEST foi o HKY+I (Hasegawa *et al.* 1985) com os seguintes parâmetros: Lset Base=(0.3329 0.3239 0.1049) Nst=2 TRatio=6.5466 Rates=equal Pinvar=0.6088.

**Tabela 6.** Haplótipos únicos da espécie *G. spirurus*, mostrando número de haplótipos, número de campo ou de tombo dos espécimes depositados da coleção ornitológica do MPEG, área de endemismo (AE) onde foi coletado o espécime e número da população de acordo com a localidade (vide Anexo 2).

<b>Haplótipo</b>	<b>Tombo/campo</b>	<b>AE</b>	<b>População</b>
1	A08248	Guiana	15
2	AMZ395	Imeri	13
3	DPN049	Guiana	14
4	MPDS483	Rondônia	11
5	A8685	Belém	1
6	A08683	Belém	2
7	A07871	Belém	1
8	A08678, MLV09	Belém	1, 2
9	A07873, A07869, PEG003	Belém	1, 2
10	ACTA018, MSPEG002 MSMAR030, MSMAR034, MSMAR033, MSMAR038,	Belém	1, 3
11	MSMAR059, MSMAR072, MARJ149	Marajó	8, 10
12	MSMAR026	Marajó	10
13	MSMAR057	Marajó	10
14	MSMAR031	Marajó	10
15	MARJ028	Marajó	9
16	MARJ070, PPBIO003	Marajó, Xingu	4, 9
17	PPBIO084	Xingu	4
18	PPBIO010	Xingu	4
19	PPBIO269	Xingu	4
20	PPBIO002	Xingu	4
21	PPBIO159	Xingu	4
22	DPN128	Xingu	6
23	DPN095	Xingu	6
24	UHE072	Tapajós	5
25	MTMA026	Rondônia	7

Os parâmetros populacionais mostram que a AE Xingu apresenta o maior número de haplótipos e diversidade nucleotídica. O teste de R2 foi significativo para as populações da área AE Xingu e da IM, indicando evidências de eventos de expansão populacional ou gargalos de garrafa nestas áreas. O teste não foi significativo para as populações da AE Belém (Tabela 7).

**Tabela 7.** Número de indivíduos (N), número de haplótipos, número de sítios segregantes (S), diversidade nucleotídica ( $\pi$ ) e teste de desvio de neutralidade (R2) a partir do fragmento do gene *ND2* (*NADH, dehidrogenase subunidade 2*) para as populações de *G. spirurus* das áreas de endemismo (AE) da Ilha do Marajó, Xingu e Belém.

AE	N	N. de Haplótipos	S	$\pi$ (x100)	R2
Marajó	12	6	9	0,235	0,0991**
Xingu	8	8	21	0,700	0,0883**
Belém	10	6	8	0,206	0,135

\*\* valores altamente significativos para  $P < 0,01$  significância obtida por meio de comparação do R2 observado com a distribuição nula. Distribuição do teste estatístico sob a hipótese nula de crescimento constante, gerado por 10.000 réplicas de simulação de coalescência utilizando o número de sítios segregantes e os tamanhos amostrais para cada amostra populacional.

A AMOVA mostra que a maior parte da variabilidade genética nas populações estudadas é distribuída nas diferentes AE (65,24%), indicando populações antigas e bem estruturadas filogeograficamente (Tabela 8).

**Tabela 8.** AMOVA (análise de variância molecular) baseada no gene mitocondrial *ND2* (*dehidrogenase subunidade 2*) indicando variabilidade genética entre grupos, entre populações das áreas de endemismo (AE) Belém, Xingu e ilha do Marajó, entre populações dentro das áreas de endemismo e dentro das populações de *G. spirurus*. A tabela mostra a fonte de variação por grupos, os graus de liberdade (g.l.), os componentes de variação por grupo e a porcentagem de variação.

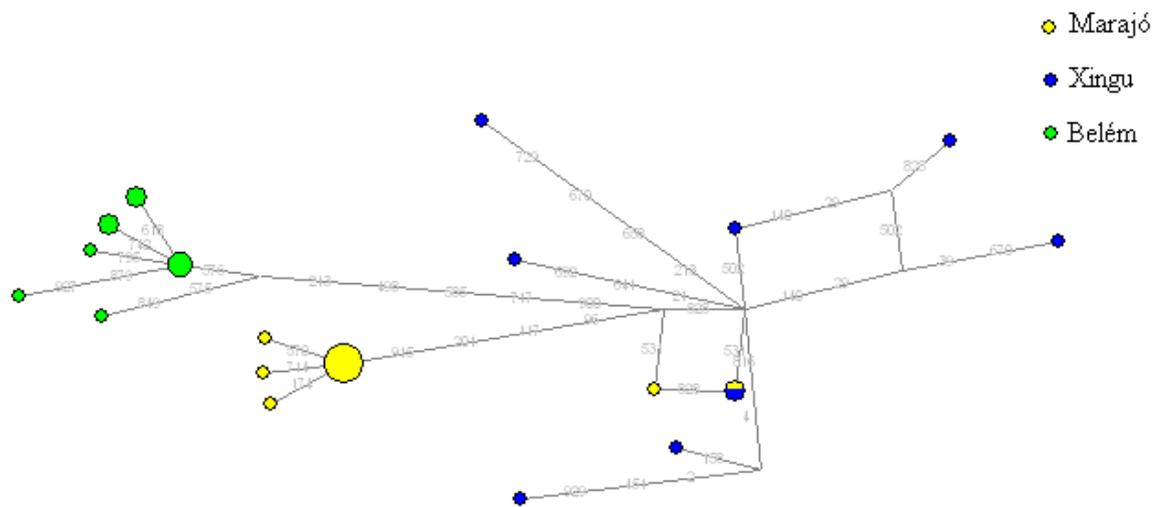
<b>Fonte da variação</b>	<b>g.l.</b>	<b>Componentes de variação</b>	<b>Porcentagem de variação</b>
Entre AE	2	3,15611 Va	65,24
Entre populações dentro das AE	5	0,14839 Vb	3,07
Dentro das populações	22	1,53283 Vc	31,69
<b>Total</b>	<b>29</b>	<b>4,83732</b>	

Os valores de  $F_{ST}$  foram significativos em todas as comparações par a par entre as populações da IM, AE Xingu e AE Belém, indicando que as populações estão estruturadas geneticamente. Os valores de  $N_m$  (número de migrantes) inferiores a um indicam que o fluxo gênico entre as populações é restrito e atualmente elas encontram-se isoladas geneticamente (Tabela 9). Outra inferência que se pode fazer é que o fluxo gênico entre as populações da IM e AE Xingu, apesar de ser insuficiente para causar desestruturação populacional, é maior que o fluxo entre IM e AE Belém.

**Tabela 9.** Lista dos valores número de migrantes ( $N_m$ , acima) e comparações par a par de  $F_{ST}$  (abaixo) entre as populações de *G. spirurus* da ilha do Marajó, AE Xingu e AE Belém. Valores estatisticamente significativos para  $P \leq 0,001$ ; (\*\*).

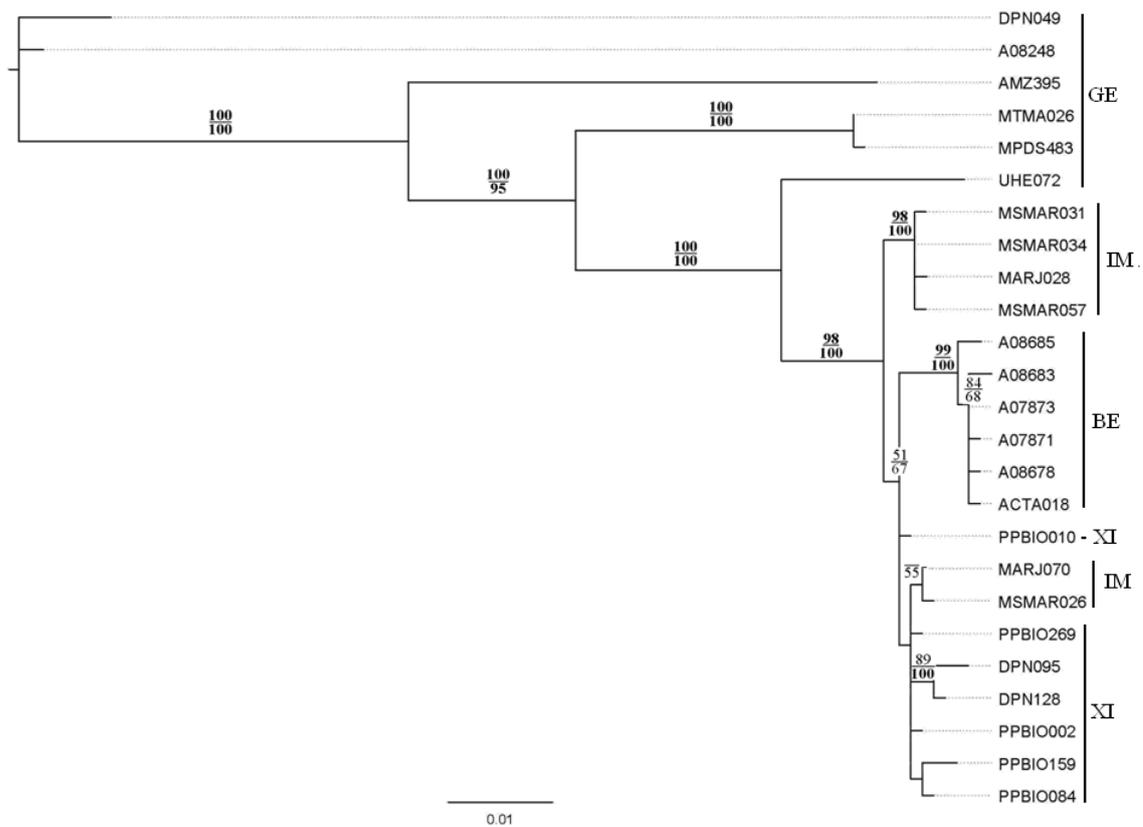
	<b>Marajó</b>	<b>Xingu</b>	<b>Belém</b>
<b>Marajó</b>		0,4997	0,1200
<b>Xingu</b>	0,5001**		0,2739
<b>Belém</b>	0,8065**	0,6460**	

A rede de haplótipos (Figura 16) mostra que as populações estão estruturadas geneticamente, e que existe um grupo exclusivo de haplótipos da IM, associado a um grupo contendo haplótipos das AE Xingu, e IM e um grupo bem estruturado de haplótipos da AE Belém. A rede mostra também que a AE Xingu e IM compartilham haplótipos iguais.



**Figura 16.** Rede de haplótipos dos três grupos de populações de *G. spirurus*. Os círculos são proporcionais à frequência dos haplótipos (vide Tabela 6). Os números referem-se à posição de cada mutação nos haplótipos.

As árvores geradas pela máxima verossimilhança e pela inferência Bayesiana apresentaram topologias idênticas e foram condensadas na mesma figura (Figura 17), mostrando a existência de um grupo de haplótipos exclusivos da IM com um forte apoio estatístico (98/100%); o grupo de haplótipos endêmicos da IM irmão de um ramo politômico contendo haplótipos distribuídos pela IM, AE Xingu e AE Belém. Dentro deste grupo politômico existe ainda um clado com bom apoio estatístico (99/100%) agrupando todos os indivíduos da AE Belém.

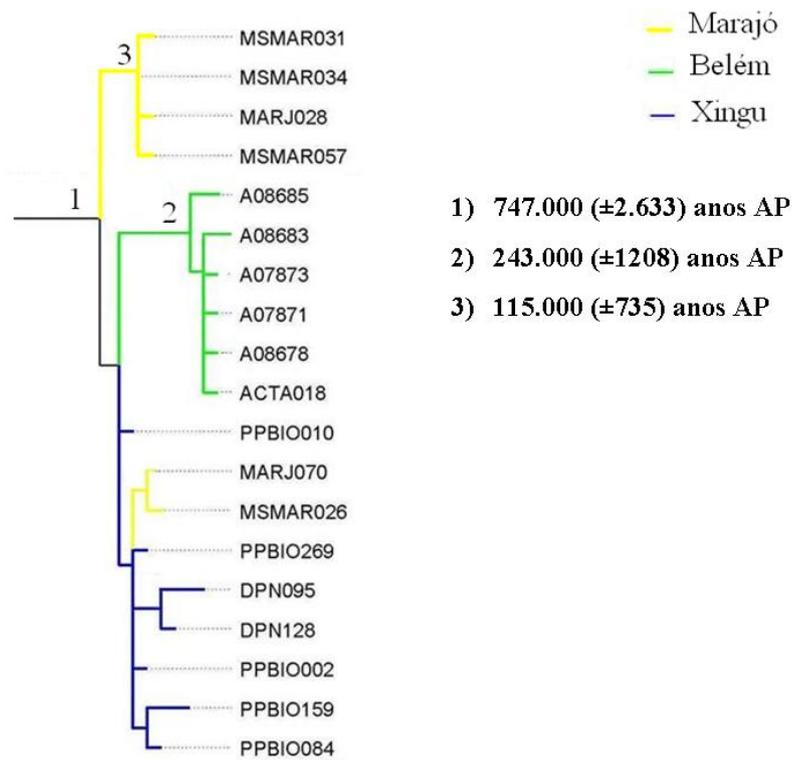


**Figura 17.** Árvore obtida pelo método de máxima verossimilhança (modelo HKY+I), obtida por 500 réplicas de *bootstrap*, do gene mitocondrial *ND2* em *G. spirurus*. Os números acima da barra representam o apoio estatístico para a máxima verossimilhança e abaixo, para a inferência Bayesiana. São mostrados apenas os valores de bootstrap acima de 50% e as probabilidades posteriores iguais ou acima de 95% em negrito. Na árvore estão representados os haplótipos: **IM** = Ilha do Marajó, **XI** = Xingu, **BE** = Belém e **GE** = grupos externos.

As estimativas de divergência molecular entre os haplótipos endêmicos da IM e seu grupo irmão, foram geradas a partir da topologia encontrada nas análises Bayesiana e de máxima verossimilhança (Figura 17) que foi utilizada para definir grupos, utilizados para a construção de árvores ultramétricas geradas pelo programa BEAST. Foram excluídos todos os haplótipos dos grupos externos e o modelo nucleotídico foi escolhido novamente para essa matriz de dados. O modelo escolhido pelo MODELTEST foi o TVM+I com os seguintes parâmetros: Lset Base = (0.3359 0.3272 0.1013), Nst = 6 Rmat = (0.0000 2.8376 0.3990 1.4818 2.8376), Rates = equal, Pinvar = 0.7910. O aplicativo BEAUti (*Bayesian Evolutionary Analysis Utility*) foi utilizado para gerar um arquivo de extensão XML para ser executado pelo programa BEAST. Para isso, o arquivo contendo as sequências do gene *ND2* em formato nexus foi importado para o aplicativo BEAUti, sendo que os grupos de haplótipos foram pré-determinados de acordo com a topologia encontrada para as análises de máxima verossimilhança. As taxas de substituição nucleotídicas foram ajustadas de acordo com o modelo evolutivo escolhido pelo MODELTEST. Como o teste de LRT realizado pelo Paup 4b10 não foi estatisticamente significativo ( $P \leq 0,01$ ), foram calculadas estimativas de relógio molecular estrito. A taxa de divergência utilizada para as estimativas do relógio molecular foi de 2,0% por milhão de anos (Weir e Schluter 2008). As estimativas de tempo de divergência e os grupos de haplótipos utilizados para os cálculos de tempo de divergência, assim como as idades estimadas para cada nó de separação entre os táxons aparecem em detalhe na figura 18.

Para o nó que separa os haplótipos endêmicos da IM de seu grupo irmão, foi estimada uma idade de coalescência de 747.000 (413.000 a 1.127.000 95% DP) anos AP. Para o nó contendo unicamente os haplótipos das populações da AE Belém, a idade

estimada foi de 243.000 (72.680 a 448.000, 95% DP) anos. Para o nó de diversificação dos haplótipos endêmicos da IM a idade estimada foi de 115.000 (21.030 a 234.000, 95% DP) anos AP (Figura 18).



**Figura 18.** Detalhe da topologia utilizada para as estimativas do relógio molecular em *G. spirurus*. Os números (1, 2, 3) mostram as idades estimadas em anos AP (antes do presente) com base numa taxa de divergência de 2,0 % por milhão de anos, para os nós de separação entre os ramos.

### 4.3 *Willisornis poecilinotus*

De um total de 38 indivíduos amostrados foram recuperados 28 haplótipos únicos (Tabela 12) para o gene *ND2*, em fragmentos de 934pb abrangendo as posições de 5305 a 6338 do DNA gene *ND2* da galinha (*Gallus gallus*). A média percentual da composição de bases dos fragmentos mitocondriais foi igual a 31,3% de adenina, 32,2% de citosina, 10 % de guanina e 26,5% de timina.

**Tabela 10.** Haplótipos únicos da espécie *W. poecilinotus*, mostrando número de haplótipos, número de campo ou de tombo dos espécimes depositados da coleção ornitológica do MPEG, área de endemismo (AE) onde foi coletado o espécime e número da população de acordo com a localidade (vide Anexo 3).

<b>Haplótipo</b>	<b>Tombo/campo</b>	<b>AE</b>	<b>População</b>
1	MAR005	Rondônia	11
2	DED251	Tapajós	9
3	BR163061	Tapajós	10
4	DPN91	Xingu	5
5	ACTA020, MSPEG004, MSPEG020, D02	Belém	1, 2, 3
6	GUN106, D15, D16	Belém	1
7	GUN141	Belém	1
8	MSPEG020	Belém	1
9	GUNMA174	Belém	1
10	MSMAR029, MSMAR074	Marajó	8
11	MSMAR047	Marajó	8
12	MSMAR028	Marajó	8
13	MSMAR068	Marajó	8
14	UHE003	Tapajós	7
15	PPBIO111, PPBIO031	Xingu	6
16	PPBIO268, PPBIO267	Xingu	6
17	PPBIO106	Xingu	6
18	PPBIO283	Xingu	6
19	PPBIO030	Xingu	6
20	BI02	Xingu	4
21	BI06	Xingu	4
22	D33	Belém	3
23	D12	Belém	3
24	D07	Belém	3
25	D36	Belém	3
26	D05	Belém	3
27	D42	Belém	3
28	D10	Belém	3

As análises populacionais de *W. poecilinotus* mostram que as populações da IM apresentam os mais altos níveis de diversidade nucleotídica. O teste de desvio de neutralidade R2 não rejeitou a hipótese nula de crescimento populacional constante, ou seja, as populações não apresentaram evidências de expansão recente ou gargalos de garrafa (Tabela 11).

**Tabela 11.** Número de indivíduos (N), número de haplótipos, número de sítios segregantes (S), diversidade nucleotídica ( $\pi$ ) e teste de desvio de neutralidade (R2) a partir do fragmento do gene *ND2* (*NADH, dehidrogenase subunidade 2*) para as populações de *W. poecilinotus* das áreas de endemismo (AE) da Ilha do Marajó, Xingu e Belém.

AE	N	Número de haplótipos	S	$\pi$ (x100)	R2
Marajó	5	4	11	0,535	0,2199 NS
Xingu	11	8	12	0,370	0,1378 NS
Belém	17	12	11	0,305	0,1149 NS

NS, valores não significativos para  $P < 0,05$ ; significância obtida por meio de comparação do R2 observado com a distribuição nula. Distribuição do teste estatístico sob a hipótese nula de crescimento constante, gerado por 10.000 réplicas de simulação de coalescência utilizando o número de sítios segregantes e os tamanhos amostrais para cada amostra populacional.

A AMOVA indica alta diferenciação genética das populações, sendo que a maior parte da variabilidade genética ocorre entre as populações das AE (59,8 %), indicando populações antigas e bem estruturadas (Tabela 12).

**Tabela 12.** AMOVA (análise de variância molecular) baseada no gene mitocondrial *ND2* (*dehidrogenase subunidade 2*) indicando variabilidade genética entre grupos, entre populações das áreas de endemismo (AE) Belém, Xingu e ilha do Marajó, entre populações dentro das áreas de endemismo e dentro das populações de *W. poecilinotus*. A tabela mostra a fonte de variação por grupos, os graus de liberdade (g.l.), os componentes de variação por grupo e a porcentagem de variação.

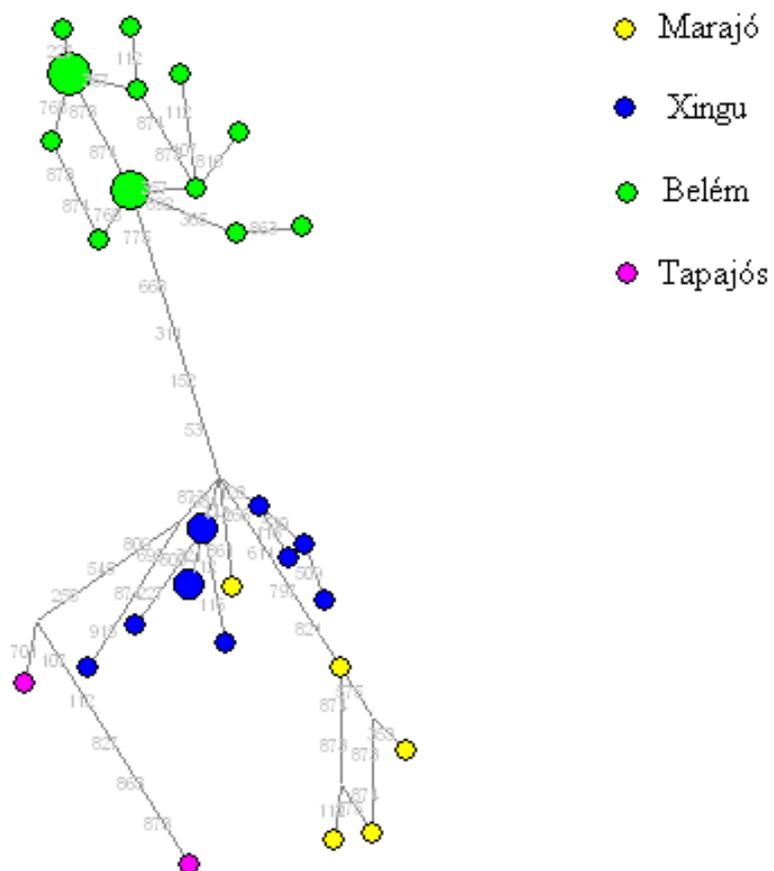
<b>Fonte da Variação</b>	<b>g.l.</b>	<b>Componentes da variação</b>	<b>Porcentagem de variação</b>
Entre áreas de AE	2	2,72609 Va	59,85
Entre populações dentro das AE	4	0,30927 Vb	6,79
Dentro das populações	26	1,51960 Vc	33,36
<b>Total</b>	<b>32</b>	<b>4,55495</b>	

As análises de  $F_{ST}$  indicam alta diferenciação entre todas as populações comparadas, ou seja, elas encontram-se geneticamente estruturadas e os valores de Nm indicam restrito fluxo gênico entre elas. Nas comparações par a par, pode-se notar que as maiores taxas de migração ocorrem entre a IM e AE Xingu.

**Tabela 13.** Lista dos valores número de migrantes (Nm, acima) e comparações par a par de  $F_{ST}$  (abaixo) entre as populações de *W. poecilinotus* da ilha do Marajó, AE Xingu, AE Belém e AE Tapajós. Valores estatisticamente significativos para  $P \leq 0,01$ ; (\*) e altamente significativos para  $P \leq 0,001$ ; (\*\*).

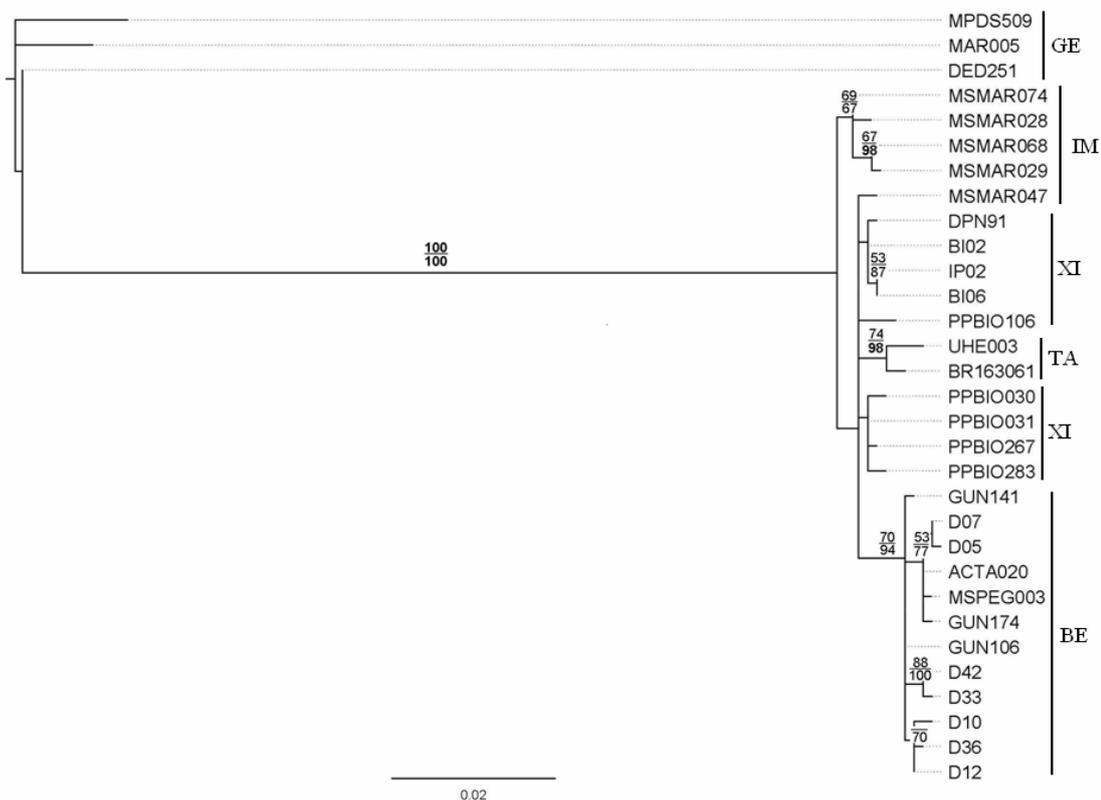
	<b>Marajó</b>	<b>Xingu</b>	<b>Belém</b>	<b>Tapajós</b>
<b>Marajó</b>	-	0,6360	0,2167	0,4924
<b>Xingu</b>	0,4401**	-	0,2667	0,4798
<b>Belém</b>	0,6976**	0,6520**	-	0,1778
<b>Tapajós</b>	0,5038*	0,5103*	0,7377**	-

A rede de haplótipos mostra que as populações das áreas de endemismo encontram-se estruturadas geograficamente e que os haplótipos da IM são mais proximamente relacionados aos haplótipos da AE Xingu do que aos da AE Belém; além disso, existe um grupo bem estruturado de haplótipos exclusivos da AE de Belém. Os haplótipos da AE Tapajós apresentam um relacionamento próximo com os haplótipos da IM e AE Xingu.



**Figura 19.** Rede de haplótipos dos quatro grupos de populações, de *W. poecilinotus*. Os círculos são proporcionais à frequência dos haplótipos (vide Tabela 8). Os números correspondem às posições dos nucleotídeos onde existem mutações.

As árvores geradas pela máxima verossimilhança e pela inferência Bayesiana apresentaram topologias idênticas e foram representadas em uma única figura (Figura 20). Apesar dos baixos valores de apoio estatístico para alguns nós importantes, as árvores apresentaram um grupo de haplótipos endêmico da IM irmão de um ramo politômico contendo os demais haplótipos distribuídos pela AE Xingu, IM e AE Belém. A AE Belém apresentou populações monofiléticas, embora não tenha sido possível estabelecer com segurança sua maior proximidade filogenética em relação às populações das AE Xingu e AE Tapajós, devido aos baixos valores estatísticos de apoio nodal (Figura 20).



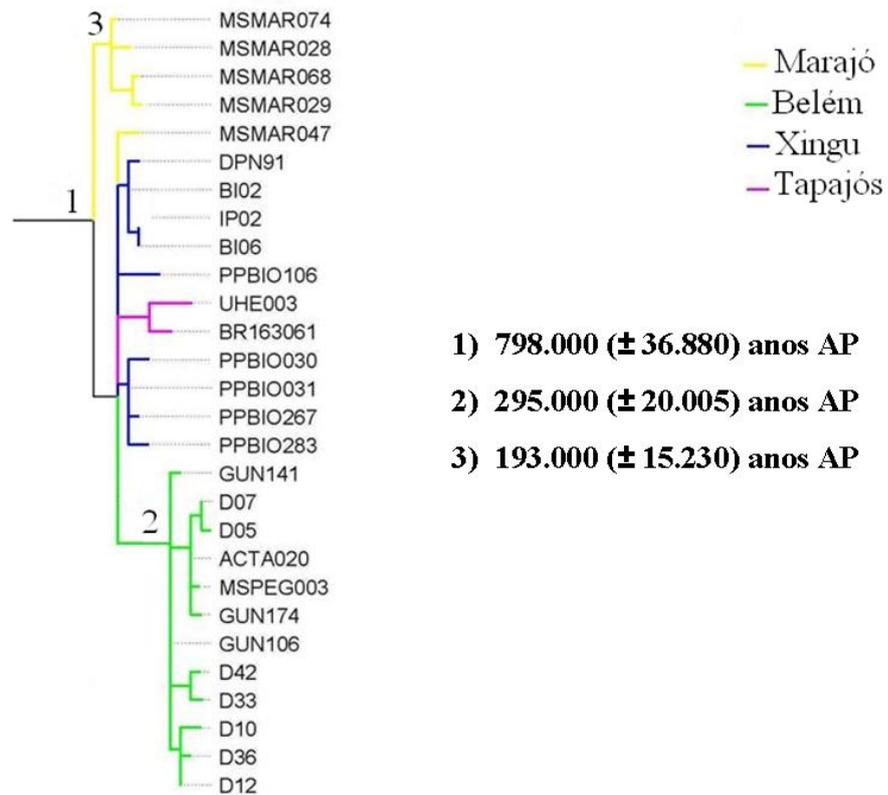
**Figura 20.** Árvore obtida pelo método de máxima verossimilhança, obtida por 500 réplicas de *bootstrap*, sumarizada com a árvore de inferência bayesiana, do gene mitocondrial *ND2* em *W. poecilinotus*. Os números acima da barra representam o apoio estatístico para a máxima verossimilhança e abaixo, para a inferência Bayesiana. São mostrados apenas os valores de *bootstrap* acima de 50%, probabilidades iguais ou acima de 95% em negrito. Na árvore estão representados os haplótipos: **IM** = ilha do Marajó; **TA** = Tapajós; **XI** = Xingu; **BE** = Belém e **GE** = grupos externos.

As estimativas de divergência molecular entre os haplótipos endêmicos da IM e seu grupo irmão, foram geradas a partir da topologia encontrada nas análises Bayesiana e de máxima verossimilhança (Figura 20) que foi utilizada para definir grupos, utilizados para a construção de árvores ultramétricas geradas pelo programa BEAST. Foram excluídos todos os haplótipos dos grupos externos e o modelo nucleotídico foi escolhido novamente para essa matriz de dados. O modelo escolhido pelo MODELTEST foi o TrN+I+G com os seguintes parâmetros: Lset Base=(0.3131 0.3219 0.1000) Nst=6 Rmat=(1.0000 8.9953 1.0000 1.0000 3.6013) Rates=gamma Shape=0.7533 Pinvar=0.8841.

O aplicativo BEAUti (*Bayesian Evolutionary Analysis Utility*) foi utilizado para gerar um arquivo de extensão XML para ser executado pelo programa BEAST. Para isso, o arquivo contendo as sequências do gene *ND2* em formato nexus foi importado para o aplicativo BEAUti, sendo que os grupos de haplótipos foram pré-determinados de acordo com a topologia encontrada para as análises de máxima verossimilhança. As taxas de substituição nucleotídicas foram ajustadas de acordo com o modelo evolutivo escolhido pelo MODELTEST. Como o teste de LRT realizado pelo PAUP 4b10 não foi estatisticamente significativo ( $P \leq 0,01$ ), foram calculadas estimativas de relógio molecular estrito. A taxa de divergência utilizada para as estimativas do relógio molecular foi de 2,0% por milhão de anos (Weir e Schluter 2008). As estimativas de tempo de divergência e os grupos de haplótipos utilizados para os cálculos de tempo de divergência, assim como as idades estimadas para cada nó de separação entre os táxons aparecem em detalhe na figura 21.

Para o nó que separa os haplótipos endêmicos da IM de seu grupo irmão, a idade de coalescência foi estimada em 798.000 (448.000 a 1.200.000, 95% IC) anos AP. Para

o clado que contém os haplótipos da AE Belém, a idade de coalescência estimada foi de 295.000 (124.000 a 501.000, 95% IC) anos AP. Para o nó de diversificação dos haplótipos endêmicos da IM, a idade estimada foi de 193.000 (49.860 a 365.000, 95% IC) anos AP (Figura 21).



**Figura 21.** Detalhe da topologia utilizada para as estimativas do relógio molecular em *W. poecilotus*. Os números (1, 2, 3) mostram as idades estimadas em anos AP (antes do presente) com base numa taxa de divergência de 2,0 % por milhão de anos, para os nós de separação entre os ramos. .

## 5. DISCUSSÃO

Nas populações de *X. spixii* estudadas as comparações  $F_{ST}$  par a par indicaram que as populações das AE Xingu, AE Belém e IM não apresentam estruturação geográfica, o que também pode ser inferido a partir da AMOVA e da rede de haplótipos, ou seja, as populações de *X. spixii* se mostraram polifiléticas com relação a sua distribuição nas áreas de endemismo. Esse padrão foi encontrado também por Aleixo (2004) que demonstrou as populações de *X. spixii* da AE Belém e AE Pará (AEs Xingu + Tapajós, segundo a classificação de Silva *et al.* 2005) formavam uma área composta, compartilhando a maioria dos haplótipos, ou seja, os clados recuperados não se excluíam mutuamente nas diferentes áreas de endemismo, mas sim através do rio Xingu em suas margens opostas. Mais especificamente, concluímos que a maior intensidade de fluxo gênico ocorre entre as populações da IM e as AE Xingu e AE Belém (Tabela 5). As populações da AE Tapajós encontram-se geneticamente isoladas, trocando muito poucos migrantes com as outras populações. Com uma amostragem mais detalhada foi possível inferir que existiu fluxo gênico através do rio Xingu, representado pelos haplótipos compartilhados por indivíduos das AE Tapajós e AE Xingu; apesar disso, atualmente, estas populações encontram-se isoladas geneticamente, considerando-se os altos valores de  $F_{st}$  (Tabela 5).

Esse padrão pode ser explicado não apenas ao dinamismo geológico da região do baixo Tocantins – IM, mas também pelas características particulares da espécie relacionadas à sua capacidade de dispersão e potencial de colonização e ocupação das novas áreas. Em comparação com *G. spirurus* e *W. poecilotus*, *X. spixii* possui maior

tamanho corporal, e conseqüentemente, maior capacidade de vôo e dispersão (Marantz *et al.* 2003).

O “efeito de barreira” dos rios amazônicos para aves é altamente específico para cada espécie, sendo extremamente forte para espécies que habitam o interior da floresta a fraco ou até inexistente para aves de com maior capacidade de vôo, que habitam as copas das árvores (Haffer 1992). Entretanto, Hayes e Sewlal (2004) estudaram a distribuição de 448 espécies de aves e avaliaram a efetividade do rio Amazonas como barreira para a dispersão de espécies e concluindo que o rio é mais efetivo como barreira em sua foz, especialmente para espécies restritas a florestas e ao habitat de terra firme. Apesar de não encontrarem diferenças significativas entre espécies de aves que habitam o sub-bosque e o dossel, o efeito de barreira foi mais significativo para *Thamnophilidae* e menos significativo para espécies pertencentes às famílias *Dendrocolaptidae*, *Furnaridae*, *Tyrannidae*, *Cotingidae*, *Thraupidae*, *Emberezidae* e *Icteridae*.

Apesar de não serem proximamente relacionadas filogeneticamente, as espécies *G. spirurus* e *W. poecilnotus* apresentaram árvores filogenéticas com topologias muito semelhantes, assim como os padrões de redes de haplótipos. Ambas as topologias estimadas para *G. spirurus* e *W. poecilnotus* indicam de forma contrastante em relação a *X. spixii*, um evento inicial separando as populações da IM daquelas das AE Xingu e AE Belém e um posterior contato secundário recente na IM entre a população isolada e endêmica da própria IM com populações do continente provenientes da AE Xingu. No caso de *G. spirurus*, Essa hipótese é corroborada pela alta diferenciação genética e monofilia recíproca fortemente apoiada do grupo de haplótipos endêmico da IM e pelo fato da maior parte do fluxo gênico mais recente ocorrer entre as populações da IM e

aquelas da AE Xingu (Figuras 17 e 20). No caso de *W. poecilinotus*, devido aos baixos apoios estatísticos obtidos nos nós que separam o ramo de haplótipos únicos da IM, não foi possível resolver com segurança as relações filogenéticas entre as populações da IM e aquelas das AE Belém, AE Xingu e AE Tapajós. Entretanto, os padrões mostrados pelas redes de haplótipos, as taxas de migração observadas e os altos níveis de  $F_{ST}$  e as semelhanças com a topologia das árvores filogenéticas obtida para *G. spirurus*, uma espécie distinta e filogeneticamente não aparentada, indicam que a hipótese dos haplótipos endêmicos da IM serem irmãos de um clado contendo os demais haplótipos distribuídos na AE Xingu, AE Belém e AE Tapajós é a mais provável também para *W. poecilinotus*.

A congruência entre topologias de árvores filogenéticas de táxons não relacionados é uma forte evidência de uma história comum em resposta a efeitos vicariantes (Cracraft 1985). Estudando os padrões filogeográficos de três espécies de aves não relacionadas filogeneticamente, Burns *et al.* (2007) encontraram semelhanças e diferenças entre elas; apesar destes autores não encontrarem concordância de quebras genéticas entre as espécies analisadas em escalas regionais, eles verificaram em escalas geográficas mais amplas uma maior concordância.

Em relação aos diferentes padrões filogeográficos apresentados por *X. spixii*, *G. spirurus* e *W. poecilinotus*, podemos concluir que as diferenças se devem principalmente às características particulares de cada espécie. Tanto *G. spirurus* quanto *W. poecilinotus* são relativamente pequenas e em outros estudos apresentaram altos níveis de divergência genética (Marks *et al.* 2002, Bates *et al.* 2004) o que pode estar relacionado a seu menor poder de dispersão, diferentes taxas metabólicas e

conseqüentemente maior potencial para acumular divergência genética devido a eventos vicariantes.

Prum (1988) analisando o relacionamento entre as áreas de endemismo do Chocó e América Central e áreas de endemismo da Amazônia encontrou dois padrões igualmente parcimoniosos, cada um apoiado por um grupo de táxons ecologicamente distintos, sugerindo que táxons com capacidades diferentes de dispersão respondem de maneira distinta ao mesmo efeito vicariante. Assim, táxons com maior capacidade de dispersão não responderiam a eventos vicariantes que preveniriam o fluxo gênico em espécies com baixas capacidades de dispersão (Aleixo e Rossetti 2007).

Apesar da idade relativamente recente estimada para a separação da IM do continente inferida á partir de dados geológicos (Rossetti e Valeriano, 2007), é notável a existência de um grupo de haplótipos endêmicos da IM tanto para *G. spirurus* quanto para *W. poecilinotus*, além do fato das populações da AE Belém serem reciprocamente monofiléticas em relação aos demais agrupamentos (Figura 17 e 20).

As estimativas das idades de separação entre os clados de *G. spirurus* indicam: 1) que o grupo de haplótipos endêmico da IM teria se separado há pelo menos 185.000 ( $\pm 617$ ) anos AP dos demais; 2) as estimativas para a separação dos haplótipos endêmicos da AE Belém datam de pelo menos 60.230 ( $\pm 296$ ) anos AP e 3) um último evento de diversificação ocorreu no clado de haplótipos endêmicos da IM há pelo menos 28.240 (188) anos AP (Figura 18). Assim, no caso de *G. spirurus* foi possível refutar a hipótese de trabalho inicial que previam que as populações da IM teriam se originado recentemente a partir das populações continentais (AE Xingu) separadas do continente pelos eventos de mudança de curso do rio Tocantins e subseqüente formação do arquipélago do Marajó. Contudo, se as populações de *G. spirurus* da IM incluem

haplótipos mais antigos que aqueles distribuídos nas populações das AE Xingu e AE Belém, como explicar a aparente contradição entre os dados filogeográficos com a evidência geológica que aponta para uma IM de formação mais recente em relação ao continente?

O primeiro nó (o mais antigo) separa uma população endêmica da IM daquelas das AE Xingu e AE Belém 747.000 (413.000 a 1.127.000 95% DP). Esse nó pode ser associado tentativamente ao evento de compartimentação do terreno correspondente à região do antigo vale do rio Tocantins, que aconteceu em algum momento antes de 67.000-65.000 AP, com gradativo afundamento da área correspondente ao paleovale do rio Tocantins, cujos limites se estendem do leste da ilha, até aproximadamente a baía de Caxiuanã, fazendo um funil em direção a Tucuruí e se amplificando em direção a norte através da IM (D. F. Rossetti, com. pess.) (Figura 2). Esse afundamento poderia ter levado ao estabelecimento do paleo-rio Tocantins, considerando a hipótese das populações mais antigas da IM nesse momento encontrarem-se no que seria a margem oeste da IM atualmente, antes do estabelecimento do paleo-rio, esse evento teria isolado essas populações. Entretanto, dado não existem dados geológicos disponíveis para precisar a idade absoluta deste evento, mas este poderia ter sido um fator da primeira diferenciação de *G. spirurus* na IM.

O segundo nó estimado para o clado contendo as populações da AE Belém 243.000 (72.680 a 448.000, 95% DP), pode estar associado ao efeito de histórico de barreira do rio Guamá, que se estendia através da região do lago Arari, e do paleo-rio Tocantins. Apesar de não existirem ainda dados que confirmem a presença dessa drenagem nesse período, há evidências que confirmam a existência do paleo-rio Guamá há pelo menos 40.000 anos AP (Figura 4). Desse modo, o isolamento das populações da

AE de Belém seria intensificado pelo afogamento das florestas que existiam no lado leste da região correspondente à IM, e pelo estabelecimento do curso atual do rio Tocantins. Essa inundação teria influenciado tanto o leste da IM, quanto outras ilhas menores do arquipélago, como a ilha Mexiana, provocando a extinção de parte da avifauna de sub-bosque mais especializada (Henriques 1993). A ausência de algumas espécies de cerrado comuns nos enclaves da Amazônia no lado leste da IM pode ser atribuída a esse evento de transgressão marinha (J. M. C. da Silva, com. pess.). Da mesma maneira, em áreas onde existiam tesos, como o oeste da IM e ilha Caviana, essa avifauna característica de sub-bosque parece ter permanecido inalterada, o que nos leva a concluir que essas áreas não sofreram inundações decorrentes das incursões marinhas (Henriques 1993).

O último nó com uma idade aproximada de 115.000 (21.030 a 234.000, 95% DP) anos AP (Figura 18), representa um momento de diversificação dessa linhagem endêmica da IM que já se encontrava isolada, mesmo anteriormente à separação total da IM. Neste momento supostamente haveria restrições mais drásticas ao fluxo gênico, ou seja, as populações da IM deixariam de trocar indivíduos com o continente. De acordo os dados populacionais de *G. spirurus*, as populações da AE Xingu e IM apresentam sinais de expansão populacional recente ou gargalos de garrafa (extinção de algumas populações locais). Esse sinal pode ser efeito de uma redução populacional relacionada à redução das florestas de terra firme, que poderiam causar a separação dessas populações antes mesmo da separação total da IM em relação ao continente.

As estimativas de idades de coalescência entre os ramos das árvores filogenéticas de *W. poecilinotus* indicam que o grupo de indivíduos endêmico da IM teria se separado há pelo menos 798.000 (448.000 a 1.200.000, 95% IC) anos AP. As

estimativas para a separação do clado da AE Belém datam de pelo menos 295.000 (124.000 a 501.000, 95% IC) AP e um último evento de diversificação envolveria o clado endêmico da IM, data em cerca de pelo menos 193.000 (49.860 a 365.000, 95% IC) anos AP (Figura 21).

A despeito dos diferentes vieses que as análises de relógio molecular podem apresentar (Rutchsmann 2006, Weir e Schluter 2008), as duas espécies apresentaram idades de coalescência próximas, considerando-se as taxas de evolução nucleotídicas e o tempo de separação necessários para a acumulação de divergência genética. Assim, provavelmente os mesmos eventos vicariantes discutidos acima para *G. spirurus* agiram sobre as populações de *W. poecilinotus*, e fatores como a baixa capacidade de dispersão, tamanho corporal e distintas taxas de evolução nucleotídica teriam contribuído para que essa espécie respondesse a esses eventos mais rapidamente.

Page e Hugues (2007) estudaram a estrutura filogeográfica de linhagens crípticas de camarões de água doce *Caridina indistincta* nas dunas arenosas do sudoeste Queensland, leste da Austrália, na tentativa de desvendar qualquer influência potencial das oscilações do nível do mar ocorridas durante o Quaternário na estrutura genética dessas populações, e surpreendentemente, descobriram que essas linhagens se divergiram e se diversificaram durante o Mioceno/Plioceno, sendo anteriores à paisagem onde elas são encontradas atualmente. Essa aparente discrepância entre eventos geológicos e distribuição espacial e genética das populações levou-os a ampliar suas escalas de tempo e espaço além do Pleistoceno, revelando uma maior complexidade de relacionamentos entre os eventos históricos e a distribuição dessas linhagens.

Assim como ocorreu no estudo citado anteriormente, no presente estudo e em muitas outras tentativas de relacionar a distribuição de espécies a eventos climáticos, geológicos e históricos (e. g. Avise 1998, Barluenga e Meyer 2005), os processos responsáveis pela distribuição atual de espécies podem não ser tão simples e imediatamente aplicáveis, desvendando a existência de processos mais complexos e evidenciando a necessidade de amostragens que abarquem escalas de tempo adequadas ao fenômeno biológico em questão, levando em conta também os problemas e limitações relacionadas à aplicação direta do relógio molecular para estimativas de tempo de coalescência entre espécies (Ritchie *et al.* 2004).

## 6. CONCLUSÕES

As análises filogeográficas realizadas a partir do gene *ND2* puderam elucidar como a dinâmica geológica da IM atuou sobre as três espécies analisadas gerando padrões populacionais similares para duas delas (*G. spirurus* e *W. poecilotus*), que responderam mais rapidamente aos eventos de separação gerados pela dinâmica geológica ocorrida na região. De modo contrastante, para a espécie *X. spixii*, os eventos de separação da IM não ocasionaram uma estruturação geográfica significativa entre suas populações, ou seja, para essa espécie as barreiras foram provavelmente mais permeáveis, permitindo um maior fluxo gênico entre as populações envolvidas e conseqüentemente, uma menor diferenciação entre elas. Apesar de existir uma tendência à estruturação populacional através do rio Xingu, o fluxo gênico entre as populações da IM e aquelas das AE Xingu e AE Belém continua ocorrendo atualmente.

Concluimos que as populações de *G. spirurus* e *W. poecilotus* da IM são mais antigas do que o eventos que levaram à sua separação do continente. Apesar da aparente falta de congruência temporal entre os eventos geológicos que culminaram na separação

da IM e as idades de separação de suas populações, outros eventos vicariantes como, por exemplo, o afundamento da região do paleovale do rio Tocantins, e as mudanças ocorridas no seu curso e conseqüentes flutuações vegetacionais podem estar por trás dos padrões observados.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aleixo, A. (2002) Molecular systematics and the role of the ‘várzea’-‘terra-firme’ ecotone in the diversification of *Xyphorhynchus* woodcreepers (Aves: Dendrocolaptidae). *Auk* 119:621-640.
- Aleixo, A. (2004) Historical diversification of a “terra-firme” forest bird superspecies: a phylogeographic perspective on the role of different hypotheses of Amazonian diversification. *Evolution* 58:1303-1317.
- Aleixo, A. (2006) Historical diversification of floodplain forest specialist species in the Amazon: a case study with two species of the avian genus *Xyphorhynchus* (Aves: Dendrocolaptidae). *Biol. J. of the Linn. Soc.* 89:383-395.
- Aleixo, A. e D. F. Rosseti (2007) Avian gene trees, landscape evolution, and geology: towards a modern synthesis of Amazonian historical biogeography? *J. of Ornithology* 148:443-453.
- Arbogast, B. S., S. V. Drovetski, R. L. Curry, P. T. Boag, G. Seutin, P. R. Grant, B. R. Grant, e D. J. Anderson. (2006) The origin and diversification of Galapagos mockingbirds. *Evolution* 60:370–382.
- Avise, J. C., J. Arnold, R. M. Ball Jr., E. Bermingham, T. Lamb, J. E. Neigel, C. A. Reeb e N. C. Saunders (1987) Intraespecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Ann. Rev. of Ecol. and Sys.* 18:489-522.
- Avise, J. C. e D. Walker (1998) Pleistocene phylogeographic effects on avian populations and the speciation process. *Proc. R. Soc. Lond. B.* 265,457-463.
- Avise, J. C. (2000) *Phylogeography, The history and formation of species*. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts.
- Ayres, J. M. e T. W. Clutton-Brock (1992) River boundaries species range size in Amazonian primates. *The Am. Nat.* 14:531-537.

- Bates, J. M., S. J. Hackett, e J. M. Goerck (1999) High levels of mitochondrial DNA differentiation in two lineages of antbirds (*Drymophila* and *Hypocnemis*). *Auk* 116:1093–1106.
- Battes, J. M. (2001) Avian diversification in Amazonia: Evidence for Historical Complexity and a Vicariance Model for a Basic Diversification Pattern. *Diversidade Biológica e Cultural da Amazônia*. Em: Vieira, I. C., J. M. C. Silva, D. C. Oren, e M. A. Dincao (eds.) *Diversidade Biológica e Cultural da Amazônia*. Belém, Museu Paraense Emílio Goeldi, 119-137.
- Bates, J. M., J. Haffer e E. Grismer (2004) Avian mitochondrial DNA sequence divergence across a headwater stream of the Rio Tapajós, a major Amazonian river. *J. of Ornithology* 145:199-205.
- Barluenga, M. e A. Meyer (2005) Old fish in a young lake: stone loach (Pisces: *Barbatula barbatula*) populations in Lake Constance are genetically isolated by distance. *Mol. Ecol.* 14:1229–1239.
- Bermingham, E. e C. Moritz (1998) Comparative phylogeography: concepts and applications. *Mol. Ecol.* 7:367-369.
- Brown, K. S. (1982) Paleocology and regional patterns of evolution in Neotropical forest butterflies. In: Prance GT, ed. *Biological diversification in the tropics*. New York: Columbia University Press. pp 255–308.
- Brown, K. S. Sheppard FRS, Turner JRG (1974) Quaternary refugia in tropical America: evidence from race formation in Heliconius butterflies. *Proc. R. S. Lond. B* 187:369–378.
- Brumfield, R. T., J. G. Tello, Z. A. Cheviron, M. D. Carling N. Crochet e K. V. Rosenberg (2007) Phylogenetic conservatism and antiquity of a tropical specialization: Army-ant-following in the typical antbirds (Thamnophilidae) *Mol. Phyl. and Evol.* 45:1–13.
- Burns K. J., M. P. Alexander, D. N. Barhoum e E. A. Sgariglia (2007) Statistical assessment of congruence among phylogeographic histories of three avian species in the California floristic province. *OrnitW. Mon.* 63:96-109.
- Bush, M. B. (1994) Amazonian speciation - a necessarily complex model. *J. of Biogeogr.* 21:5–17.
- Caparella, A. P. (1988) Genetic variation in neotropical birds: implications for the speciation process. *Acta Congressus Internationalis Ornithologici* 20: 307-316.
- Chapman, F. M. (1917) The distribution of bird life in Equador. *Bull. Am. Nat. Hist.* 55: 1-784.
- Cheviron, Z. A., S. J. Hackett, A. P. Capparella (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 *Mol. Phyl. and Evol.* 36:338–357.
- Colinvaux, P. A., P. E. De Oliveira J. E. Moreno, M. C. Miller e M. B. Bush (1996) A long pollen record from lowland Amazonia: Forest and cooling in glacial times. *Science* 274:85–88.

- Colinvaux, P. A., P. E. De Oliveira e M. B. Bush (2000) Amazonian and Neotropical plant communities on glacial time-scales: The failure of the aridity and refuge hypotheses. *Quat. Sci. Rev.* 19:141–169.
- Colinvaux, P. A., G. Irion, M. E. Rasanen, M. B. Bush, de J. Mello (2001) A paradigm to be discarded: Geological and paleoecological data falsify the HAFFER & PRANCE refuge hypothesis of Amazonian speciation. *Amazoniana-Limnologia Em: Oecologia Regionalis Systemae Fluminis Amazonas* 16:609–646.
- Coltro, L. A. Jr. (2003) *O rio Tocantins como barreira geográfica para aves suboscines na Amazônia*. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa.
- Colwell, R. K. (2000) A barrier runs through it . . . or maybe just a river. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97:13470–13472.
- Costa, J. B. S. e Y. Hasui (1997) Evolução geológica da Amazônia. In: Costa M. L., Angélica R. S. (eds.) *Contribuições à Geologia da Amazônia*. Sociedade Brasileira de Geologia, Belém, pp 15-19.
- Cracraft, J. (1985) Historical biogeography and patterns of differentiation within the South American avifauna: areas of endemism. Em: *Neotropical Ornithology, OrnitW. Monogr.* 36, ed. P. Buckley, M. S. Foster, E. S. Morton, R. S. Ridgely, F. G. Buckley, pp.49-84. Washington DC: Am. Ornithol. Union.
- Eberhard, J. R. e E. Bermingham (2004) Phylogeny and biogeography of the *Amazona ochrocephala* (aves: Psittacidae) complex. *The Auk* 121(2):318–332.
- Endler, J. A. (1982) Problems in distinguishing historical from ecological factors in biogeography. *Am. Zool.* 22:441-452.
- Excoffier, L., P. E. Smouse e J. Quattro (1992) ANALYSIS of molecular variance inferred from metric distances among dna haplotypes: application to human mitochondrial dna restriction data. *Genetics* 131:479-491.
- Excoffier, L. G., G. Laval, e S. Schneider (2007) Arlequin ver. 3.11: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evol. Bioinf. Online* 1:47-50.
- Felsenstein, J. (2002) *Inferring phylogenies*. Sinauer Associates, Inc. Sunderland, Massachusetts.
- Fjeldså J. (1994) Geographical patterns for relict and young species of birds in Africa and South-America and implications for conservation priorities. *Biod. and Cons.* 3:207–226.
- Fu, Y. X. (1997) Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics* 147:915–925.
- Gascon, C., J. R. Malcolm, J. L. Patton, M. N. F. Da Silva, J. P. Bogart, S. C. Loughheed, C. A. Peres, S. Neckel e P. T. Boag (2000) Riverine barriers and the geographic distribution of Amazonian species. *PNAS* 37(25): 13672-13677.
- Guindon, S., F. Lethiec, P. Duroux e O. Gascuel (2005) PHYML Online - a web server for fast maximum likelihood-based phylogenetic inference. *Nucleic Acids Res.* 33:W557-9.

- Hackett S. J. (1993) Phylogenetic and biogeographic relationships in the Neotropical genus *Gymnopithys* (Formicariidae). *Wilson Bull.* 105:301-315.
- Hackett S. J. e K. V. Rosenberg (1990) Evolution of South American antwrens (Formicariidae): Comparison of phenotypic and genetic differentiation. *Auk* 107:473-489.
- Haffer, J. (1969) Speciation in Amazonian forest birds. *Science* 165:131-137.
- Haffer, J. (1992) On the river effect in some forest birds of southern Amazonia. *Bol. do Mus. Par. Emílio Goeldi*, 8 (1):217-245.
- Hall, T. A. (1999) BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucl. Acids. Symp.* 41:95-98.
- Harrison, R. (1991). Molecular changes at speciation. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 22:281-308.
- Hasegawa, M., W. Kishino, e T. Yano (1985) Dating of human-ape splitting by a molecular clock of mitochondrial DNA. *J. Mol. Evol.* 22:160-174.
- Hayes, E. F. e J. N. Sewlal (2004) The Amazon River as a dispersal barrier to passerine birds: effects of river width, habitat and taxonomy. *J. Biogeogr.* 31:1809-1818.
- Henriques, L. P. M. (1993) *Composição e biogeografia da avifauna das ilhas Caviana e Mexiana, foz do rio Amazonas*. Dissertação de mestrado, Museu Paraense Emílio Goeldi, Belém.
- Henriques, L. P. M. e D. C. Oren (1997) The avifauna of Marajó, Caviana and Mexiana islands, Amazon river estuary, Brazil. *Rev. Brasil. Biol.* 57(3):357-382.
- Huelsenbeck, J. P. e F. Ronquist (2001) MrBayes: Bayesian inference of phylogeny. *Biometrics* 17:754-755.
- Hudson, R. R., M. Slatkin e W. P. Maddison (1992). Estimation of levels of gene flow from DNA sequence data. *Genetics* 132:583-589.
- Irestedt, M., J. Fjeldså e P. G. P. Ericson (2004) Phylogenetic relationships of woodcreepers (Aves: Dendrocolaptinae) - incongruence between molecular and morphological data. *J. Avian Biol.* 35(3):280-288.
- Lovejoy, N. R., J. S. Albert e W.G. R. Crampton (2006) Miocene marine incursions and marine/freshwater transitions: Evidence from Neotropical fishes. *J. S. Am. Earth Sci.* 21:5-13.
- Marantz, C., A. Aleixo, L. R. Bevier e M. A. Patten (2003) Family Dendrocolaptidae (Woodcreepers), p. 358-447. In: *Handbook of the Birds of the World*, Vol. 8, Broadbills to Tapaculos J. del Hoyo, A. Elliott e D. Christie, eds. Lynx Editions, Barcelona, Espanha.
- Marks, B. D., S. J. Hackett e A. P. Capparella (2002) Historical relationships among Neotropical lowland forest areas of endemism as determined by mitochondrial DNA sequence variation within the Wedge-billed Woodcreeper (Aves: Dendrocolaptidae: *Glyphorynchus spirurus*). *Mol. Phyl. and Evol.* 24:153-167.
- Mayr, E. e R. J. Ohara (1986) The biogeographic evidence supporting the Pleistocene forest refuge hypothesis. *Evolution* 40:55-67.

- Moritz, C. e D. P. Faith (1998) Comparative phylogeography and the identification of genetically divergent areas for conservation. *Mol. Ecol.* 7:419-429.
- Moritz, C., J. L. Patton, C. J. Schneider e T. B. Smith (2000) Diversification of rainforest faunas: an integrated molecular approach. *W. Ann. Rev. Ecol. Syst.* 31:533-563.
- Morrone, J. J. (1994) On the identification of areas of endemism. *Syst. Biol.* 43:438-441.
- Morrone, J. J. e J. V. Crisci (1995) Historical biogeography: introduction to methods. *Ann. Rev. of Ecol. and Syst.* 26:373-401.
- Network 4.2.0.1 (Fluxus Technology Ltd. at [www.fluxus-engineering.com](http://www.fluxus-engineering.com)).
- Nores, M. (1999) An alternative hypothesis for the origin of Amazonian bird diversity. *J. Biogeogr.* 26:475-485.
- Oliveira, A. I. e O. W. Leonardos (1943) *Geologia do Brasil*, segunda edição. Serviço de Informação Agrícola, Rio de Janeiro.
- Page, T. J. e J. M. Hughes (2007) Phylogeographic structure in an Australian freshwater shrimp largely pre-dates the geological origins of its landscape. *Heredity* 98:222-231.
- Patton, J. L. e M. N. F. Silva (1998) *Rivers, refuges, and ridges: the geography of speciation of Amazonian mammals*. Em: Howard D J, Berlocher S H (eds) *Endless Forms: Species and Speciation*. Oxford University Press, Oxford, pp 202-213.
- Patton, J. L. e M. N. Silva (2001) Molecular phylogenetics and the diversification of Amazonian mammals. Em: Vieira, I. C., J. M. C. Silva, D. C. Oren, e M. A. Díncao (eds.) *Diversidade Biológica e Cultural da Amazônia*. Museu Paraense Emílio Goeldi, Belém, p. 139-166.
- Pereira, S. L. e A. J. Baker (2004) Vicariant speciation of curassows (Aves, Cracidae): a hypothesis based on mitochondrial DNA phylogeny. *Auk* 121:682-694.
- Posada, D. e K. A. Crandall (1998) Modeltest: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics* 14:817-818.
- Projeto Radam Brasil (1974) *Folha SA 22*, Belém, Levantamento de Recursos Naturais. DPNM, Rio de Janeiro, vol. 5.
- Prum, R. O. (1988) Historical relationships among avian forest areas of endemism in the Neotropics. *Acta XIX Congr. Int. Ornithol.* 19:2562-2572.
- Ramos-Onsins, S. E. e J. Rozas (2002) Statistical properties of new neutrality tests against population growth. *Mol. Biol. and Evol.* 19(12):2092-2100.
- Ribas, C. C. e C. Y. Miyaki (2004) Molecular systematics in *Aratinga* parakeets: species limits and historical biogeography in the “*solstitialis*” group, and the systematic position of *Nandayus nenday*. *Mol. Phylogenet. Evol.* 30:663-675.
- Ribas, C. C., R. Gaban-Lima, C. Y. Miyaki e J. Cracraft (2005) Historical biogeography and diversification within the Neotropical Parrot genus *Pionopsitta* (Aves: Psittacidae). *J. Biogeogr.* 32:1409-1427.

- Ridgely, R. S. e G. Tudor (1994) *The birds of South America*. Vol. II. The suboscine passerines. Univ. of Texas Press, Austin, TX.
- Ritchie, P. A., C. D. Millar, G. C. Gibb, C. Baroni e D. M. Lambert (2004) Ancient DNA enables timing of the Pleistocene origin and Holocene expansion of two Adélie penguin lineages in Antarctica. *Mol. Biol. Evol.* 21(2):240–248.
- Ronquist, F., J. P. Huelsenbeck e P. van der Mark (2005) MrBayes 3.1 Manual. [http://mrbayes.csit.fsu.edu/mb3.1\\_manual.pdf](http://mrbayes.csit.fsu.edu/mb3.1_manual.pdf) (acesso 15/08/2008).
- Rossetti, D.F., P. M. Toledo e A. M. Góes (2005) New geological framework for Western Amazonia (Brazil) and implications for biogeography and evolution. *Quat. Res.* 63:78–89.
- Rossetti, D. F., e P. M. Toledo, (2006) Biodiversity from a historical geology perspective: a case study from Marajó Island, lower Amazon. *Geobiology* 4:215–223.
- Rossetti, D. F. e M. M. Valeriano (2007) Evolution of the lowest amazon basin modeled from the integration of geological and SRTM topographic data. *Catena* 70:253–265.
- Rossetti, D. F., A. M. Góes, M. M. Valeriano, M. C. C. Miranda (2008) Quaternary tectonics in a passive margin: Marajo Island, northern Brazil. *J. Quaternary. Sci.* 23(2):121-135.
- Rossetti, D. F., M. M. Valeriano e M. Thales (2007) An abandoned estuary within Marajó Island: implications for late Quaternary paleogeography of northern Brazil. *Estuaries and Coasts* 30(5):813–826.
- Rozas, J. J. C. Sanchez-DelBarrio, X. Messenguer e R. Rozas (2003) DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods. *Bioinformatics* 19:2496-2497.
- Rutschmann, F. (2006) Molecular dating of phylogenetic trees: A brief review of current methods that estimate divergence times *Diversity Distrib.* 12:35-48.
- Rylands, A. B., *et al.* (2002) Amazonia. 56-107 em: R. A. Mittermeier, G. C. Mittermeier, P. Robles Gil, J. Pilgrim, G. A .B. da Fonseca, T Brooks e W. R. Konstant (eds.) *Wilderness: earth's last wild places*. Agrupacion Sierra Madre, S. C., Mexico.
- Salo, J., R. Kalliola, I. Häkkinen, Y. Mäkinen, P. Niemela, P. Puhakka, e P. D. Coley (1986) River dynamics and the diversity of Amazon lowland forest. *Nature* 322: 254–258.
- Sambrook, J., E. F. Fritsch e E. T. Maniatis (1989) *Molecular cloning: a laboratory manual*. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, N.Y.
- Sick, W. (1967) *Rios e enchentes na Amazônia como obstáculo para a avifauna*. Em: W. Lent (Ed.). Atas do simpósio sobre a biota amazônica vol. 5, (Zoologia). Conselho de Pesquisas do Rio de Janeiro, pp. 495-520.
- Sick, W. (2001) *Ornitologia Brasileira*. Rio de Janeiro, Ed. Nova Fronteira.
- Silva, M. e J. L. Patton (1993) Amazonian phylogeography: mtDNA sequence variation in arboreal echimyid rodents (Caviomorpha). *Mol. Phy. Evol.* 2: 343-355.

- Silva, M. N. F. e J. L. Patton (1998) Molecular phylogeography and the evolution and conservation of Amazonian mammals. *Mol. Ecol.* 7: 475-486.
- Silva, J. M., A. B. Rylands e A. B. Da Fonseca (2005) The fate of the Amazonian areas of endemism. *Cons. Biol.* 19(3):689-69.
- Sorenson, M. D. e T. W. Quinn (1998) Numts: a challenge for avian systematics and population biology. *Auk* 115:214-221.
- Slade, R. W., C. Moritz, A. Heideman e P. Hale (1993) Rapid assessment of single-copy nuclear DNA variation in diverse species. *Mol. Ecol.* 2:359-373.
- Slatkin, M. (1991) Inbreeding coefficients and coalescence times. *Genet. Res. Camb.* 58:167-175.
- Slatkin, M. (1995) A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. *Genetics* 139:457-462.
- Snethlage, E. (1910) Sobre a distribuição da avifauna campestre na Amazônia. *Bol. do Mus. Par. Emílio Goeldi* 6:226-235.
- Solomon, S. E., M. Jr. Bacci, J. Jr. Martins, G. Gonçalves Vinha e U. G. Mueller (2008) Paleodistributions and Comparative Molecular Phylogeography of Leafcutter Ants (*Atta* spp.) Provide New Insight into the Origins of Amazonian Diversity. *PLoS ONE* 3(7):e2738.
- Stotz, D. F., J. W. Fitzpatrick, T. A. Parker III e D. B. Moskovits (1996) *Neotropical birds: ecology and conservation*. University of Chicago Press, Chicago.
- Swofford, D. L. (2002) *PAUP. Phylogenetic analysis using with parsimony (and other methods)*. Version 4.0b10. Sinauer, Sunderland, Massachusetts.
- Tajima, F. (1989) Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics* 123:585-595.
- Tamura, K., e M. Nei (1993) Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Mol. Biol. and Evol.* 10:512-526.
- Tancredi, A. C. F. N. S e V. W. Serra (1986) *Hidrogeologia da Região Oriental da Ilha do Marajó*. IDESP, Relat. Pesq. Belém, 97 p.
- Vanzolini, P. E. e E. E. Willians (1970) South American anoles: the geographic differentiation and evolution of the *Anolis chrysolepis* group (Sauria, Iguanidae). *Arq. Zool. J. São Paulo*, 19:1-240.
- Wallace, A. R. (1852) On the monkeys of the Amazon. *Proc. of Zool. Soc. Lond.* 20:107-110.
- Wallace, A. R. (1853) *A narrative of travels on the Amazonas and Rio Negro*. London, Reves.
- Weir, J. T. (2006) Divergent timing and patterns of species accumulation in lowland and highland neotropical birds. *Evolution* 60(4):842-855.
- Weir, J. T. e D. Schluter (2008) Calibrating the avian molecular clock. *Mol. Ecol.* 17:2321-2328.

- Wilf, P. Cuneo N. R., Johnson K. R., Hicks J. F., Wing S. L, *et al.* (2003) High plant diversity in Eocene South America: Evidence from Patagonia. *Science* 300:122–125.
- Xia, X. e Z. Xie (2001) DAMBE: Data analysis in molecular biology and evolution. *J. of Heredity* 92:371-373.
- Zimmer, K. J. e M. L. Isler (2003) Family Thamnophilidae (Typical Antbirds). Pp. 448-681. Em: del Hoyo, J., A. Elliott e D. A. Christie, (eds.) *Handbook of the Birds of the World*. Vol. 8. Broadbills to Tapaculos. Lynx Editions, Barcelona.

**Anexo 1.** Lista de tecidos de *X. spixii* utilizados neste estudo, depositados na coleção do MPEG, número de tombo ou de campo (Tombo/campo), localidade de coleta (Localidade), área de endemismo (AE) e número da população (População).

<b>Campo/tombo</b>	<b>Localidade</b>	<b>AE</b>	<b>População</b>
UHE357	Rio Xingu, margem direita, Senador José Porfírio (3o31'47.2"S, 51o43'58.6"W)	Xingu	4
UHE358	Rio Xingu, margem direita, Senador José Porfírio (3o31'47.2"S, 51o43'58.6"W)	Xingu	4
UHE384	Rio Xingu, margem direita, Senador José Porfírio (3o31'47.2"S, 51o43'58.6"W)	Xingu	4
UHE456	Rio Xingu, margem direita, Senador José Porfírio	Xingu	4
BR163-060	Altamira, 30 km SW Castelo dos Sonhos, Fazenda Jamanxin (8o23'55,5"S,55o23'08"W)	Tapajós	5
BR163-065	Altamira, 30 km SW Castelo dos Sonhos, Fazenda Jamanxin (8o23'55,5"S,55o23'08"W)	Tapajós	5
BR163-010	Altamira, 30 km SW Castelo dos Sonhos, Fazenda Jamanxin (8o23'55,5"S,55o23'08"W)	Tapajós	5
BR163-028	Altamira, 30 km SW Castelo dos Sonhos, Fazenda Jamanxin (8o23'22,9"S,55o22'12,8"W)	Tapajós	5
BR163-029	Altamira, 30 km SW Castelo dos Sonhos, Fazenda Jamanxin (8o23'22,9"S,55o22'12,8"W)	Tapajós	5
BR163-130	20 km SW de Novo Progresso (7o11'29,1"S,55o29'43.3"W)	Tapajós	6
BR163-145	20 km SW de Novo Progresso (7o11'29,1"S,55o29'43.3"W)	Tapajós	6
BR163-185	Itaituba, 7 km NW Moraes de Almeida (6o12'07,7"W,55o41'17,6"W)	Tapajós	7
BR163-212	Itaituba, 7 km NW Moraes de Almeida (6o12'07,7"W,55o41'17,6"W)	Tapajós	7
A07884	Pará, Município de Barcarena, Reserva do hotel Samaúma	Belém	1
MSMAR058	Ilha do Marajó, Breves, Sítio do Waldir (01o33'48,2"S,50o23'24"W)	Marajó	2
MSMAR066	Ilha do Marajó, Breves, Sítio do Waldir (01o33'48,2"S,50o23'24"W)	Marajó	2
MSMAR067	Ilha do Marajó, Breves, Sítio do Waldir (01o33'48,2"S,50o23'24"W)	Marajó	2
MSMAR071	Ilha do Marajó, Breves, Sítio do Waldir (01o33'48,2"S,50o23'24"W)	Marajó	2
PPBIO 061	Portel, FLONA do Caxiuanã, Plot PPBIO (01o57'S; 51o36'W)	Xingu	3
PPBIO 090	Portel, FLONA do Caxiuanã, Plot PPBIO (01o57'S; 51o36'W)	Xingu	3
PPBIO 096	Portel, FLONA do Caxiuanã, Plot PPBIO (01o57'S; 51o36'W)	Xingu	3
PPBIO 110	Portel, FLONA do Caxiuanã, Plot PPBIO (01o57'S; 51o36'W)	Xingu	3
PPBIO 165	Portel, FLONA do Caxiuanã, Plot PPBIO (01o57'S; 51o36'W)	Xingu	3
PPBIO 300	Portel, FLONA do Caxiuanã, Plot PPBIO (01o57'S; 51o36'W)	Xingu	3
MSPEG018	Gunma, Belém, 01°11'57,35''S 48°17'57''W	Belém	1

**Anexo 1.** Continuação.

<b>Campo/tombo</b>	<b>Localidade</b>	<b>AE</b>	<b>População</b>
MSPEG017	Gunma, Belém, 01°11'57,35''S 48°17'57''W	Belém	1
MSPEG001	Gunma, Belém, 01°11'57,35''S 48°17'57''W	Belém	1
PEG006	Gunma, Belém, 01°11'57,35''S 48°17'57''W	Belém	1
MSPEG024	Gunma, Belém, 01°11'57,35''S 48°17'57''W	Belém	1

**Anexo 2.** Lista de tecidos de *G. spirurus* utilizados neste estudo, depositados na coleção do MPEG, número de tombo ou de campo (Tombo/campo), localidade de coleta (Localidade), área de endemismo (AE) e número da população (População).

<b>Campo/tombo</b>	<b>Localidade</b>	<b>AE</b>	<b>População</b>
DPN 128	Município de Ourilândia do Norte	Xingu	6
DPN 95	Município de Ourilândia do Norte	Xingu	6
ACTA018	Viveiro Acta, 25 Km SW. Quatro Bocas, Tomé-Açú, 02°36'36''S; 48°20'42.2''W	Belém	3
A07869	Pará, Município de Barcarena, Reserva do hotel Samaúma	Belém	2
A07870	Pará, Município de Barcarena, Reserva do hotel Samaúma	Belém	2
A07871	Pará, Município de Barcarena, Reserva do hotel Samaúma	Belém	2
A07873	Pará, Município de Barcarena, Reserva do hotel Samaúma	Belém	2
MARJ 070	Ilha do Marajó, Ponta de Pedras, Fazenda Santa Maria (01o20'08,3"S, 48o57'10,8"W)	Marajó	9
MARJ 057	Ilha do Marajó, Ponta de Pedras, Sítio Chapéu Virado (01o20'08,5"S, 48o56'0,06"W)	Marajó	9
MARJ 149	Ilha do Marajó, Município de Chaves, cerca de 3 km S (00o12'10,8"S, 49o58'48,8"W)	Marajó	8
DPN 049	Rio Jari, margem esquerda, Laranjal do Jari, Cachoeira Santo Antonio (00o 39'S, 52o 30'W)	Guianas	14
UHE072	Rio Xingu, Altamira, Ilha da Taboca (UHE Belo Monte 3o23'36"S, 51o57'48"W)	Tapajós	5
A08248	Pará, Município de Alenquer, Fazenda Capintuba, Margem esquerda do rio Amazonas	Guianas	15
MSMAR 072	Ilha do Marajó, Breves, Sítio do Waldir (01o33'48,2"S,50o23'24"W)	Marajó	10
MSMAR 026	Ilha do Marajó, Breves, Sítio do Waldir (01o33'48,2"S,50o23'24"W)	Marajó	10
MSMAR 030	Ilha do Marajó, Breves, Sítio do Waldir (01o33'48,2"S,50o23'24"W)	Marajó	10
MSMAR 031	Ilha do Marajó, Breves, Sítio do Waldir (01o33'48,2"S,50o23'24"W)	Marajó	10
MSMAR 033	Ilha do Marajó, Breves, Sítio do Waldir (01o33'48,2"S,50o23'24"W)	Marajó	10
MSMAR 034	Ilha do Marajó, Breves, Sítio do Waldir (01o33'48,2"S,50o23'24"W)	Marajó	10
MSMAR 038	Ilha do Marajó, Breves, Sítio do Waldir (01o33'48,2"S,50o23'24"W)	Marajó	10
MSMAR 057	Ilha do Marajó, Breves, Sítio do Waldir (01o33'48,2"S,50o23'24"W)	Marajó	10
MSMAR 059	Ilha do Marajó, Breves, Sítio do Waldir (01o33'48,2"S,50o23'24"W)	Marajó	10
PEG003	Gunma, Belém, 01°11'57,35''S 48°17'57''W	Belém	1
A8678	Gunma, Belém, 01°11'57,35''S 48°17'57''W	Belém	1
A8683	Gunma, Belém, 01°11'57,35''S 48°17'57''W	Belém	1

**Anexo 2.** Continuação.

<b>Campo/tombo</b>	<b>Localidade</b>	<b>AE</b>	<b>População</b>
A8685	Gunma, Belém, 01°11'57,35''S 48°17'57''W	Belém	1
MLV09	Gunma, Belém, 01°11'57,35''S 48°17'57''W	Belém	1
PPBIO 269	Portel, FLONA do Caxiuanã, Plot PPBIO (01o57'S; 51o36'W)	Xingu	4
PPBIO 272	Portel, FLONA do Caxiuanã, Plot PPBIO (01o57'S; 51o36'W)	Xingu	4
PPBIO 084	Portel, FLONA do Caxiuanã, Plot PPBIO (01o57'S; 51o36'W)	Xingu	4
PPBIO 010	Portel, FLONA do Caxiuanã, Plot PPBIO (01o57'S; 51o36'W)	Xingu	4
PPBIO 003	Portel, FLONA do Caxiuanã, Plot PPBIO (01o57'S; 51o36'W)	Xingu	4
PPBIO 159	Portel, FLONA do Caxiuanã, Plot PPBIO (01o57'S; 51o36'W)	Xingu	4
PPBIO 002	Portel, FLONA do Caxiuanã, Plot PPBIO (01o57'S; 51o36'W)	Xingu	4
MPDS 483	Município de Ji-Paraná, Igarapé Lurdes, Aldeia Gaviões (10o26'S, 61o39"W)	Rondônia	11
MTMA 026	Canarana, Fazenda Tanguro (12o53'29,8"S,52o22'26,7"W)	Rondônia	7
AMZ 395	Rio Cuiuni, margem esquerda, Barcelos (00o47'00"S,63o16'54"W)	Imeri	13

**Anexo 3.** Lista de tecidos de *W. poecilotus* utilizados neste estudo, depositados na coleção do MPEG, número de tombo ou de campo (Tombo/campo), localidade de coleta (Localidade), área de endemismo (AE) e número da população (População).

<b>Campo/tombo</b>	<b>Localidade</b>	<b>AE</b>	<b>População</b>
MAYA 028	Ilha do Marajó, Breves, Sítio do Waldir (01o33'48,2"S,50o23'24"W)	Marajó	8
MAYA 029	Ilha do Marajó, Breves, Sítio do Waldir (01o33'48,2"S,50o23'24"W)	Marajó	8
MAYA 046	Ilha do Marajó, Breves, Sítio do Waldir (01o33'48,2"S,50o23'24"W)	Marajó	8
MAYA 047	Ilha do Marajó, Breves, Sítio do Waldir (01o33'48,2"S,50o23'24"W)	Marajó	8
MAYA 068	Ilha do Marajó, Breves, Sítio do Waldir (01o33'48,2"S,50o23'24"W)	Marajó	8
MAYA 074	Ilha do Marajó, Breves, Sítio do Waldir (01o33'48,2"S,50o23'24"W)	Marajó	8
DPN 91	Município de Ourilândia do Norte	Xingu	5
UHE003	Rio Xingu, Altamira, Ilha da Taboca (UHE Belo Monte 3o22'63"S, 51o57'57"W)	Xingu	6
PPBIO 106	Portel, FLONA do Caxiuanã, Plot PPBIO (01o57'S; 51o36'W)	Xingu	6
PPBIO 111	Portel, FLONA do Caxiuanã, Plot PPBIO (01o57'S; 51o36'W)	Xingu	6
PPBIO 267	Portel, FLONA do Caxiuanã, Plot PPBIO (01o57'S; 51o36'W)	Xingu	6
PPBIO 268	Portel, FLONA do Caxiuanã, Plot PPBIO (01o57'S; 51o36'W)	Xingu	6
PPBIO 283	Portel, FLONA do Caxiuanã, Plot PPBIO (01o57'S; 51o36'W)	Xingu	6
PPBIO 030	Portel, FLONA do Caxiuanã, Plot PPBIO (01o57'S; 51o36'W)	Xingu	6
PPBIO 031	Portel, FLONA do Caxiuanã, Plot PPBIO (01o57'S; 51o36'W)	Xingu	6
MPDS 509	Município de Ji-Paraná, Igarapé Lurdes, Aldeia Gaviões (10o26'S, 61o39"W)	Rondônia	11
DED 251	Município Sinop, margem direita Rio Teles Pires, Fazenda Missioneira (11o36,3'S, 55o40,3'W)	Tapajós	9
ACTA020	Viveiro Acta, 25 Km SW. Quatro Bocas, Tomé-Açú, 02°36'36''S; 48°20'42.2''W	Belém	2
BR163-061	Altamira, 30 km SW Castelo dos Sonhos, Fazenda Jamanxin (8o23'55,5"S,55o23'08"W)	Tapajós	10
MSPEG020	Gunma, Belém, 01°11'57,35''S 48°17'57''W	Belém	1
GUN106	Gunma, Belém, 01°11'57,35''S 48°17'57''W	Belém	1
GUNMA141	Gunma, Belém, 01°11'57,35''S 48°17'57''W	Belém	1
GUNMA174	Gunma, Belém, 01°11'57,35''S 48°17'57''W	Belém	1

**Anexo 3.** Continuação.

<b>Campo/tombo</b>	<b>Localidade</b>	<b>AE</b>	<b>População</b>
MAR 005	Manicoré, Rodovia do Estanho, km 136 (08o41'14,3"S, 61o24'29,4"W)	Rondônia	11
02D	Tucuruí, margem direita	Belém	3
07D	Tucuruí, margem direita	Belém	3
10D	Tucuruí, margem direita	Belém	3
12D	Tucuruí, margem direita	Belém	3
15D	Tucuruí, margem direita	Belém	3
16D	Tucuruí, margem direita	Belém	3
33D	Tucuruí, margem direita	Belém	3
36D	Tucuruí, margem direita	Belém	3
BI02	Tucuruí, margem esquerda	Xingu	4
BI06	Tucuruí, margem esquerda	Xingu	4