

INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA – INPA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA

**Combinando filogeografia e genética da paisagem para compreender a evolução de
Xenopipo atronitens (Aves; Pipridae), uma espécie característica das campinas
Amazônicas.**

João Marcos Guimarães Capurucho

Manaus, Amazonas

Outubro de 2012

JOÃO MARCOS GUIMARÃES CAPURUCHO

**Combinando filogeografia e genética da paisagem para compreender a evolução de
Xenopipo atronitens (Aves; Pipridae), uma espécie característica das campinas
Amazônicas.**

Dra. CAMILA CHEREM RIBAS

Dra. CÍNTIA CORNELIUS

Dissertação apresentada ao
Instituto Nacional de Pesquisas da
Amazônia como parte dos
requisitos para a obtenção do título
de Mestre em Biologia (Ecologia).

Manaus, Amazonas

Outubro de 2012

Relação da banca julgadora:

1. Banca examinadora do trabalho de conclusão – versão escrita

Ana Carolina Carnaval (City University of New York) – Aprovada com correções

Fernando Mendonça d’Horta (Universidade de São Paulo) – Aprovada

Alexandre Aleixo (Museu Paraense Emílio Goeldi) – Aprovada com correções

2. Banca examinadora do trabalho de conclusão – defesa presencial

Tomas Hrbek (Universidade Federal do Amazonas) – Aprovado

Sergio Henrique Borges (Fundação Vitória Amazônica) – Aprovado

Marina Anciães (Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia) – Aprovado

C.255

Capurucho, João Marcos Guimarães

Combinando filogeografia e genética da paisagem para compreender a evolução de *Xenopipo atronitens* (Aves; Pipridae), uma espécie característica das campinas Amazônicas.
/ João Marcos Guimarães Capurucho.---Manaus: [s.n.], 2012.

ix, 84 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) --- INPA, Manaus, 2012.

Orientadora: Ribas, Camila Cherem

Coorientadora: Cornelius, Cíntia

Área de concentração: Ecologia

1. *Xenopipo atronitens*. 2. Genética da paisagem – Amazônia. 3. Filogeografia. 4. Amazônia. I. Título.

CDD 19. ed. 598.80415

Sinopse:

Foi realizada uma análise filogenética do gênero *Xenopipo* (Aves: Pipridae) para verificar a relação entre três das cinco espécies que compõem o gênero e a relação deste com outros gêneros na família. Foram realizadas análises filogeográficas e de genética da paisagem de *Xenopipo atronitens*, uma espécie que ocorre em habitats de campina e campinarana da Amazônia, a fim de identificar padrões de distribuição da diversidade genética, barreiras geográficas atuais e históricas e elementos da paisagem atual e histórica que influenciam a organização da diversidade genética na espécie.

Palavras-chave: barreiras geográficas, diversidade genética, crescimento demográfico, diversificação, Neotrópico.

Agradecimentos

Ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, pela estrutura e apoio à realização deste trabalho. Ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia. À CAPES pelo me conceder a bolsa de estudos. À FAPEAM e à FAPESP pelo financiamento dos projetos aos quais esta dissertação está associada.

À minha orientadora, Camila Cherem Ribas, que com toda a sua paciência me proporcionou o suporte para a execução deste trabalho, e por tudo que me ensinou nestes dois anos. À minha co-orientadora, Cíntia Cornelius, que também me ajudou e ensinou muito durante o mestrado. Deixo aqui registrada a dificuldade em pontuar as contribuições de todos que me ajudaram neste período, mas os agradecimentos são sinceros e verdadeiros.

Às pessoas que muito contribuíram com o trabalho de campo, direta e indiretamente: Sérgio Borges, Flávio Costa, Antenor, Ricardo Almeida, Elisama, dentre outros, que porventura, não foram citados.

Aos novos amigos do laboratório (LTBM-INPA) que muito me ensinaram e me ajudaram a enxergar coisas invisíveis: Saulo, Adriel, Luciana e Gisele.

À Casa da Velha, onde velhos amigos me abrigaram e me proporcionaram momentos de muita alegria. Aos que chegaram depois à Casa da Velha e se tornaram bons amigos. À Velha, que de tão espetacular deu-nos uma identificação.

À minha família. Ao amor incondicional que me faz ser feliz e ser quem eu sou. Pai e Mãe, este trabalho é, com certeza, resultado do esforço de todos estes anos sob seu apoio.

À minha amada, que tornou minha vida em Manaus mais feliz. Que continue assim seja onde for. Obrigado, Aninha.

“Mas se Deus é as árvores e as flores
 E os montes e o luar e o sol,
 Para que lhe chamo eu Deus?
 Chamo-lhe flores e árvores e montes e sol e luar;
 Porque, se ele se fez, para eu o ver,
 Sol e luar e flores e árvores e montes,
 Se ele me aparece como sendo árvores e montes
 E luar e sol e flores,
 É que ele quer que eu o conheça
 Como árvores e montes e flores e luar e sol.

E por isso eu obedeço-lhe,
 (que mais sei eu de Deus que Deus de si próprio?),
 Obedeço-lhe a viver, espontaneamente,
 Como quem abre os olhos e vê,
 E chamo-lhe luar e sol e flores e árvores e montes,
 E amo-o sem pensar nele,
 E penso-o vendo e ouvindo,
 E ando com ele a toda hora.”

Alberto Caeiro (F.P.)

“No meio do meu caminho
 Sempre haverá uma pedra
 Plantarei a minha casa
 Numa cidade de pedra.”

Milton Nascimento e
Fernando Brant

Resumo

A família Pipridae (Aves: Passeriformes) é exclusivamente neotropical e suas espécies ocorrem relacionadas principalmente aos habitats florestais. Os Pipridae encontram-se filogeneticamente relacionados às superfamílias Tyrannoidae e Cotingoidae. Porém, algumas relações entre gêneros dentro da família ainda encontram-se sem resolução. Particularmente, o gênero *Xenopipo* encontra-se sem posicionamento definido na filogenia da família. Três espécies do gênero ocorrem na região andina: *X. holochlora*, *X. flavicapilla* e *X. unicolor*. Uma espécie, *X. uniformis*, ocorre nos Tepuis (Brasil, Guiana e Venezuela) e por fim, *X. atronitens* ocorre nas terras baixas da Amazônia de maneira disjunta, associada às áreas onde ocorrem solos de areia branca (campinas/campinaranas). Foi estudada a relação filogenética entre *Xenopipo* e os outros gêneros da família e entre algumas das espécies que compõem o gênero, a fim de propor hipóteses sobre a sua origem. Duas espécies, *X. atronitens* e *X. uniformis*, formam um clado bem suportado, confirmando a relação filogenética entre as mesmas. Porém, *X. unicolor* não apresentou relação definida com as demais espécies de Pipridae, nem com as outras espécies de *Xenopipo*. Assim, a hipótese de monofilia para gênero *Xenopipo* não pôde ser confirmada e sua relação com os outros gêneros de piprídeos permanece incerta. A separação entre *X. atronitens* e *X. uniformis*, ocorreu há aproximadamente 8,85 Ma antes do presente. O isolamento entre as regiões de maior altitude e as terras baixas nos Tepuis durante o Mioceno pode ter iniciado o processo de separação de *X. atronitens* nas campinas e campinaranas e *X. uniformis* nas maiores elevações, através de especiação alopátrica. As campinas são ambientes abertos estritamente associados aos solos de areia branca distribuídos de forma heterogênea por toda Amazônia. *Xenopipo atronitens*, uma espécie característica das campinas e campinaranas da Amazônia, foi estudada como um modelo para inferir os efeitos que mudanças climáticas no passado recente tiveram sobre espécies de aves que hoje têm hábito restrito a estas formações. Além disso, foi investigada a importância relativa das diferentes características e elementos da paisagem atual em explicar a variabilidade genética de *X. atronitens*. Assim, foi realizada a análise filogeográfica de *X. atronitens* e estudada a relação entre métricas da paisagem e a diversidade genética da espécie. Foi encontrada pouca variabilidade genética entre as populações de *X. atronitens*, porém é observada estruturação populacional. As principais separações ocorreram entre as margens dos rios Amazonas, Branco e Madeira. Este resultado evidenciou a importância das áreas de várzea como barreiras ao fluxo gênico entre populações. Inversamente, as áreas de terra-firme e igapó parecem ser barreiras mais permeáveis para *X. atronitens*. A distância

geográfica também influenciou a distância genética entre populações. *Xenopipo atronitens* apresentou crescimento demográfico no passado recente (aprox. 25,000 anos antes do presente), o qual pode estar associado à gênese recente de áreas de areia branca, ou às variações climáticas durante o último máximo glacial. As análises da paisagem evidenciaram a importância de aspectos históricos e atuais em gerar a variabilidade genética da espécie. As populações da paisagem do Jaú foram influenciadas principalmente por fatores históricos. Enquanto que nas paisagens do Aracá e Uatumã, a variabilidade genética das populações de *X. atronitens* encontra-se relacionada à disponibilidade e proximidade dos habitats de campina.

Abstract. Combining phylogeography and landscape genetics to understand the evolution of *Xenopipo atronitens* (Aves; Pipridae), a species characteristic of the Amazonian white sand *campinas*.

The family Pipridae (Aves: Passeriformes) is exclusively Neotropical and its species occur mainly in forested habitats. The Pipridae are phylogenetically related to the Tyrannoidea and the Cotingoidae superfamilies albeit some relationships among genera in this family are still unresolved. Particularly, the phylogenetic position of the genus *Xenopipo* remains undefined. Three species of the genus occur on the Andes: *X. holochlora*, *X. flavicapilla*, *X. unicolor*. *Xenopipo uniformis* occurs on the Tepuis (Brazil, Guiana and Venezuela) while *X. atronitens* occurs on the Amazonian lowlands, with a disjunct distribution associated with areas of white-sand stunted forest (*campinas/campinaranas*). The relationships between *Xenopipo* and other genera in this family as well as those among species within this genus were studied. In the phylogenetic analysis, *X. atronitens* and *X. uniformis* appear as a well supported clade, confirming their sister relationship. *Xenopipo unicolor* showed no defined relationship with any of the Pipridae taxa, even with the other *Xenopipo* species. Therefore, the monophyly of the genus *Xenopipo* could not be confirmed and its relationship to the other Pipridae genera remains uncertain. The split between *X. uniformis* and *X. atronitens* occurred at 8.85 My ago, approximately. The isolation between high elevation habitats in the Tepuis and the Amazonian lowlands during the Miocene could have triggered the separation between *X. atronitens* on the *campinas* and *X. uniformis* on the Tepuis highlands through allopatric speciation. The *campinas* are open vegetation habitats strictly associated to white-sand soils heterogeneously distributed throughout Amazonia. *Xenopipo atronitens*, a white-sand stunted forest specialist bird species, was studied as a model to infer the effects of climate changes in the recent past on birds restricted to white-sand vegetation areas. Furthermore, the relative importance of different landscape characteristics in explaining the genetic variability of *X. atronitens* was estimated. Thus, a phylogeographic analysis of *X. atronitens* was carried out and the relationship between landscape metrics and genetic diversity of the species was studied. Low genetic variability among populations was found, but some population structure was detected. The main phylogeographic breaks were across the Amazonas, Branco and Madeira Rivers. This result indicates the importance of *várzea* habitats as a barrier to gene flow between populations. Conversely, *terra-firme* and *igapó* areas appear to be more permeable barriers to *X. atronitens*. Geographic distance also influenced the genetic distance between populations. *Xenopipo atronitens* showed demographic growth in the recent past

(25,000 years before present, aprox.) that may be related to a recent genesis of white-sand soil areas or to the climatic oscillations during the last glacial maximum. The landscape analysis showed the importance of historical and current aspects in generating genetic variability of the species. The genetic structure of Jaú populations were mostly influenced by historical factors, while genetic variability of populations in the Aracá and Uatumã landscapes are related to the availability and proximity of campina habitats.

Sumário

Introdução geral.....	11
Objetivos.....	14
Capítulo 1.....	15
Introdução.....	17
Material e métodos.....	19
Resultados.....	21
Discussão.....	22
Agradecimentos.....	26
Referências bibliográficas.....	26
Capítulo 2.....	29
Introdução.....	32
Material e métodos.....	34
Resultados.....	40
Discussão.....	51
Agradecimentos.....	58
Referências bibliográficas.....	59
Síntese.....	66
Referências bibliográficas.....	68
Apêndices.....	77

Introdução geral

Os padrões de diversidade de espécies são fortemente estruturados no espaço. Isso é consequência do fato de que os processos ecológicos e evolutivos ocorrem em um contexto geográfico, através da adaptação, seleção e deriva genética (Diniz-Filho *et al.* 2008). Estes processos que geram a diversidade intra e interespecífica podem ser considerados em diferentes escalas temporais, caracterizando então os processos atuais (ecológicos) e históricos (evolutivos) (Moritz *et al.* 2000, Morrone 2009). Sendo assim, as diferentes formas de investigar os processos e padrões de biodiversidade no tempo e no espaço levaram ao surgimento de diferentes métodos de pesquisa e análise. Através de estudos biogeográficos e filogeográficos é possível entender os fatores históricos que influenciam na distribuição da diversidade intra e interespecífica (Avice 2000). Já estudos em genética da paisagem identificam processos microevolutivos que geram a diversidade intra e interpopulacional (Manel *et al.* 2003). A confiabilidade em reconstruir o passado a partir do padrão de diversidade de uma espécie ou conjunto de espécies depende do grau com que as informações ecológicas são consideradas na inferência sobre os processos históricos (Tuomisto 2007). Portanto, a interação entre os diferentes enfoques fortalece a compreensão dos processos que geraram os padrões de diversidade tal qual são observados atualmente.

Estudos em filogeografia buscam compreender como processos históricos, como dispersão e vicariância, moldaram o padrão de distribuição de espécies relacionadas ou de linhagens intraespecíficas (Avice 2000). Como uma subdisciplina em biogeografia, a filogeografia estuda, em uma escala temporal ampla, as pressões ecológicas e evolutivas que moldam a distribuição espacial dos organismos (Avice 2000). Nesse sentido, é possível ampliar o entendimento de como processos demográficos, dispersão e isolamento geram assinaturas genéticas nas populações (Diniz-Filho *et al.* 2008).

A união das disciplinas genética de populações e ecologia da paisagem levou ao surgimento dos estudos em genética da paisagem. O foco desta nova disciplina é o estudo da interação entre características da paisagem e processos microevolutivos que moldam os padrões de diversidade (Manel *et al.* 2003). Ao obter dados e fazer análises em uma escala fina, estudos em genética da paisagem fornecem novas ferramentas para a compreensão de como processos microevolutivos (*e.g.* fluxo gênico, deriva genética e seleção) geram estrutura genética através do espaço (Manel *et al.* 2003). As análises são feitas quantificando explicitamente as características da paisagem e sua influência sobre o fluxo gênico e a

variabilidade genética (Storfer *et al.* 2007). Estudos desta natureza são importantes, pois auxiliam na compreensão de como os processos ecológicos são capazes de influenciar os padrões observados em outros estudos, como em biogeografia e filogeografia, que possuem uma escala espacial e temporal mais ampla.

A origem da grande diversidade de espécies que existe hoje na Amazônia é um exemplo de interação entre processos ecológicos e históricos, em que os diferentes fatores que colaboram ou colaboraram na geração e manutenção deste padrão de alta diversidade ainda são pouco conhecidos. As variações climáticas do Pleistoceno já foram consideradas como o principal fator responsável por influenciar os processos que geraram a alta diversidade na Amazônia (Haffer 1969). Porém, as evidências são poucas a respeito das mudanças ocorridas na paisagem Amazônica em decorrência dos ciclos glaciais (Hewitt 2000, Behling *et al.* 2010). Resultados obtidos com base em datação molecular apontam para a origem das espécies amazônicas tanto antes (Plioceno e Mioceno) como durante o Pleistoceno (Rull 2008, Patel *et al.* 2011, Rull 2011, Ribas *et al.* 2012). Deste modo, as variações climáticas do Pleistoceno e seus possíveis efeitos sobre a paisagem amazônica tornaram-se apenas mais uma das diversas hipóteses de diversificação formuladas para a região (Bonnacorso *et al.* 2006, Rull 2008, Rull 2011).

Se uma espécie é restrita a algum tipo de ambiente, as barreiras ao fluxo gênico podem variar em sua importância relativa devido à retração e expansão deste ambiente ao longo do tempo (Tuomisto 2007). Atualmente, ocorrem na Amazônia formações de vegetação aberta isoladas em meio à matriz florestal, as quais estão tipicamente associadas a solos com características específicas e com diferentes níveis de alagamento. Dentre estes ambientes se destacam as pouco conhecidas campinas e campinaranas, que estão associadas aos solos de areia branca (Anderson 1981). As populações de espécies que habitam as campinas podem estar isoladas entre si por potenciais barreiras ao fluxo gênico como as diferentes formações florestais ou os grandes rios amazônicos. Sendo assim, o estudo filogeográfico de espécies de campina pode auxiliar na compreensão de como os ciclos climáticos podem ter alterado, ou não, a paisagem na Amazônia. Dessa forma, a utilização de espécies não-florestais em estudos filogeográficos pode ser importante também para estimar a distribuição de florestas no passado recente (Antonelli *et al.* 2010). Além disso, o estudo da história evolutiva das espécies relacionadas às campinas pode contribuir para o conhecimento sobre a evolução deste habitat.

A família Pipridae inclui espécies associadas aos diferentes ambientes Amazônicos, incluindo uma espécie (*Xenopipo atronitens*) que ocorre preferencialmente em áreas de campinas e campinaranas (Hilty e Brown 1986, Borges 2004, Ridgely e Tudor 2009). Os Pipridae encontram-se filogeneticamente relacionados às superfamílias Tyrannoidea e Cotingoidea (*sensu* Tello *et al.* 2009). Poucos estudos foram realizados com o objetivo de identificar as relações entre as espécies de piprídeos. Nestes estudos foram utilizados dados comportamentais (Prum 1990), anatômicos (Prum 1992) e moleculares (McKay *et al.* 2010) para as análises filogenéticas. Porém, mesmo utilizando um conjunto de dados diverso, algumas relações filogenéticas entre os Pipridae não foram definidas ou apresentaram resultados divergentes. O gênero *Xenopipo* não teve seu posicionamento definido dentro da filogenia da família a partir das análises moleculares (McKay *et al.* 2010), divergindo dos resultados obtidos utilizando um conjunto de dados anatômicos (Prum 1992). As cinco espécies que hoje compõem o gênero *Xenopipo* (*Xenopipo atronitens* Cabanis 1847, *X. uniformis* Salvin e Godman 1884, *X. unicolor* Taczanowski 1884, *X. holochlora* Sclater 1888 e *X. flavicapilla* Sclater 1852) pertenciam a dois gêneros distintos: *Xenopipo* (*atrontens*) e *Chloropipo* (*uniformis*, *unicolor*, *holochlora*, *flavicapilla*). A partir da análise de Prum (1992), todas as cinco espécies foram incluídas no gênero *Xenopipo*, apesar de algumas relações interespecíficas não terem recebido suporte. Ainda assim, nenhuma outra análise filogenética foi realizada buscando verificar a validade do gênero e a relação entre as espécies que o compõem.

A partir das observações acima, foi realizada uma análise, a qual compõe o primeiro capítulo desta dissertação, com o objetivo de estudar a relação entre *Xenopipo* e os outros gêneros da família, testar a monofilia entre três das espécies do gênero (*atrontens*, *uniformis* e *unicolor*), a fim de propor hipóteses sobre a origem filogenética de *X. atronitens*.

O objetivo do segundo capítulo foi utilizar *Xenopipo atronitens* como um modelo para inferir os efeitos que mudanças climáticas no passado recente tiveram sobre espécies de aves que hoje têm hábito relacionado às campinas amazônicas. Além disso, foi investigada a relação entre diferentes características da paisagem atual e histórica e a diversidade genética de *X. atronitens*, caracterizando a história recente de suas populações a partir do estudo da variabilidade genética.

Objetivos

Objetivo geral: Caracterizar a distribuição espacial da diversidade genética em *Xenopipo atronitens* para determinar a importância relativa das diferentes características e elementos da paisagem atual e de processos históricos, como os ciclos glaciais do Pleistoceno, em explicar o padrão atual de diversidade.

Objetivos específicos:

- (1) Identificar as relações filogenéticas do gênero *Xenopipo* e da espécie foco deste estudo, *X. atronitens*, em relação aos outros gêneros e espécies da família Pipridae;
- (2) Descrever o padrão filogeográfico atual de *X. atronitens* na Amazônia;
- (3) Testar a ocorrência de variação demográfica no passado recente;
- (4) Com base no padrão filogeográfico, inferir a evolução recente da paisagem, em especial se há sinais de alterações na distribuição de áreas florestais e não florestais na Amazônia;
- (5) Identificar se existem e quais são as barreiras geográficas atuais ao fluxo gênico entre as populações de *X. atronitens*;
- (6) Avaliar a influência de características da paisagem atual na diversidade genética das populações de *X. atronitens*.

Capurucho, J.M.G.; Cornelius, C. & Ribas, C.C.

Relações filogenéticas no gênero *Xenopipo* e
espeiação no escudo das Guianas. Manuscrito
formatado para a *Revista Brasileira de Ornitologia*.

Relações filogenéticas no gênero *Xenopipo* e especiação no escudo das Guianas

João Marcos Guimarães Capurucho^{1,4}, Camila Cherem Ribas² e Cíntia Cornelius³

¹. PPG-Ecologia, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Av. André Araújo, 2936, Petrópolis, 69011-970, Manaus, AM.

². Coordenação de Pesquisa em Biodiversidade, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, AM.

³. Departamento de Biologia, Universidade Federal do Amazonas, Manaus.

⁴. jmcapurucho@yahoo.com.br

ABSTRACT: Phylogenetic relationships in the genus *Xenopipo* and speciation in the Guayanan Shield. Phylogenetic analyses of the Pipridae were performed with the objective of determining the placement of three species of the genus *Xenopipo* with respect to the remaining genera in the family, and determining the sister group of the Amazonian species *X. atronitens* using molecular data. Three *Xenopipo* species (*atronitens*, *uniformis*, *unicolor*) were added to a previously published phylogeny of the Pipridae. The relationship of *Xenopipo* with the other genera within the family remains uncertain. *Xenopipo unicolor* did not group with the other *Xenopipo* species and remains without a defined position in the phylogeny. *Xenopipo atronitens* and *X. uniformis* are sister species and their divergence was dated between 10.9 to 6.9 My before the present. This diversification event may be related to history of the white sand vegetation areas and the escarpments formation of the Tepuis by the intense erosion that occurred in the Miocene, leading to colonization of new habitats and the altitudinal isolation of the ancestors of the two species.

KEY-WORDS: Pipridae; Tepuis; Miocene; White-sand campinas.

RESUMO: Foi realizada uma análise filogenética da família Pipridae com o objetivo de determinar o posicionamento de três das cinco espécies do gênero *Xenopipo* em relação aos outros gêneros da família e identificar o grupo irmão da espécie amazônica *X. atronitens* utilizando dados moleculares. Foram incluídas três espécies do gênero *Xenopipo* (*atronitens*, *uniformis*, *unicolor*) em uma filogenia previamente publicada da família Pipridae. A relação

do gênero *Xenopipo* com os outros gêneros da família permaneceu incerta. *Xenopipo unicolor* não agrupou com as outras espécies do gênero analisadas, permanecendo sem relação definida. *Xenopipo atronitens* e *X. uniformis* são espécies irmãs, e a origem destas espécies a partir de um ancestral comum está datada entre 10.9 a 6.9 milhões de anos antes do presente. Esta origem pode estar relacionada à história das áreas de campina e com a formação dos escarpamentos nos Tepuis devido à intensa erosão ocorrida durante o Mioceno. Isto levaria à colonização de novos habitats e ao isolamento altitudinal dos ancestrais das duas espécies.

PALAVRAS-CHAVE: Pipridae; Tepuis; Mioceno; campinas.

Introdução

A família Pipridae (Aves: Passeriformes) é exclusivamente neotropical e suas espécies ocorrem relacionadas principalmente às florestas da região (Sick 1997). Em sua maioria, os piprídeos são aves pequenas, de cauda curta, dimórficas, frugívoras e polígamas. Os machos apresentam uma coloração viva, enquanto as fêmeas são de uma coloração discreta e muito semelhante entre as diversas espécies (Ridgely e Tudor 2009).

Os Pipridae encontram-se filogeneticamente relacionados às superfamílias Tyrannoidae e Cotingoidae (*sensu* Tello *et al.* 2009). Porém, algumas relações entre gêneros dentro da família ainda encontram-se sem resolução. As primeiras tentativas de reconstruir a filogenia do grupo foram realizadas por Prum (1990, 1992), baseadas em dados comportamentais e anatômicos. Além destes trabalhos, outros estudos foram realizados baseando-se principalmente em dados genéticos, os quais estavam focados na filogenia da família Pipridae, nas relações entre um conjunto de espécies de um gênero, ou buscavam relações em um nível taxonômico mais elevado, como entre famílias (*e.g.* Lanyon *et al.* 1985, Rêgo *et al.* 2007, Tello *et al.* 2009, McKay *et al.* 2010).

Particularmente, o gênero *Xenopipo* ainda se encontra sem posicionamento definido dentro da filogenia da família (McKay *et al.* 2010). As cinco espécies que hoje compõem o gênero *Xenopipo* (*Xenopipo atronitens* Cabanis 1847, *X. uniformis* Salvin e Godman 1884, *X. unicolor* Taczanowski 1884, *X. holochlora* Sclater 1888 e *X. flavicapilla* Sclater 1852) pertenciam a dois gêneros distintos: *Xenopipo* (*atrontens*, monoespecífico) e *Chloropipo* (*uniformis*, *unicolor*, *holochlora*, *flavicapilla*). Prum (1992) a partir de análises da anatomia da siringe de piprídeos identificou uma relação entre *Xenopipo atronitens* e as outras espécies

de *Chloropipo*. Nesta análise, *X. atronitens* e *C. uniformis* foram identificadas como espécies-irmãs. Porém, a relação entre as outras espécies de *Chloropipo* não foi totalmente resolvida (Prum 1992). Ainda assim, Prum (1992) sugeriu a inclusão de todas as cinco espécies em um único gênero (*Xenopipo*), sendo esta a nomenclatura adotada desde então. Entretanto, até o momento nenhuma outra análise filogenética foi realizada buscando verificar a validade do gênero e a relação entre as espécies que o compõem.

O gênero *Xenopipo* é composto por espécies que ocorrem na região andina, na Amazônia e nos Tepuis. São caracterizadas por serem espécies inconspícuas e não apresentarem o comportamento característico da família, ou seja, as agregações de machos em *leks* (Ridgely e Tudor 2009). Três espécies do gênero ocorrem na região andina, desde altitudes elevadas até as terras baixas associadas a esta formação: *X. holochlora* (< 1,300 m), *X. flavicapilla* (1,200-2,400 m) e *X. unicolor* (950-1900 m). Uma espécie, *X. uniformis*, ocorre na região dos Tepuis (Brasil, Guiana e Venezuela), entre 800 m e 2,100 m de altitude. Por fim, *X. atronitens* ocorre nas terras baixas (< 700 m) da Amazônia de maneira disjunta, associada às áreas onde ocorrem solos de areia branca (Ridgely e Tudor 2009) (Figura 1). Esse tipo de solo caracteriza dois tipos de habitat na Amazônia, as campinas e campinaranas. A relação entre espécies de aves que ocorrem nos Tepuis e nos Andes com espécies das terras baixas da Amazônia já foi identificada em diversos trabalhos (*e.g.* Oren 1981, Brumfield e Edwards 2007, Ribas *et al.* 2007, Rheindt *et al.* 2008). Há exemplos em que é evidente uma relação entre as espécies das campinas amazônicas e as espécies da região dos Tepuis (Oren 1981, Prum 1992). Desta forma, a origem destas espécies pode estar relacionada a fatores históricos ligando estes dois ambientes. Compreender estas relações, assim como a origem destas espécies, pode ampliar o conhecimento acerca da origem da diversidade na região amazônica e áreas associadas.

Os objetivos deste trabalho foram: determinar a relação filogenética entre *Xenopipo atronitens* e outras espécies de piprídeos, representando todos os gêneros da família, e avaliar hipóteses alternativas sobre a origem de *X. atronitens*.

Material e Métodos

Amostragem

Para o presente estudo foram obtidas sequências do gene ND2 de quatro indivíduos de *Xenopipo atronitens* provenientes de diferentes localidades dentro da área de ocorrência da espécie, e quatro de *Xenopipo uniformis* provenientes de duas localidades distintas. As

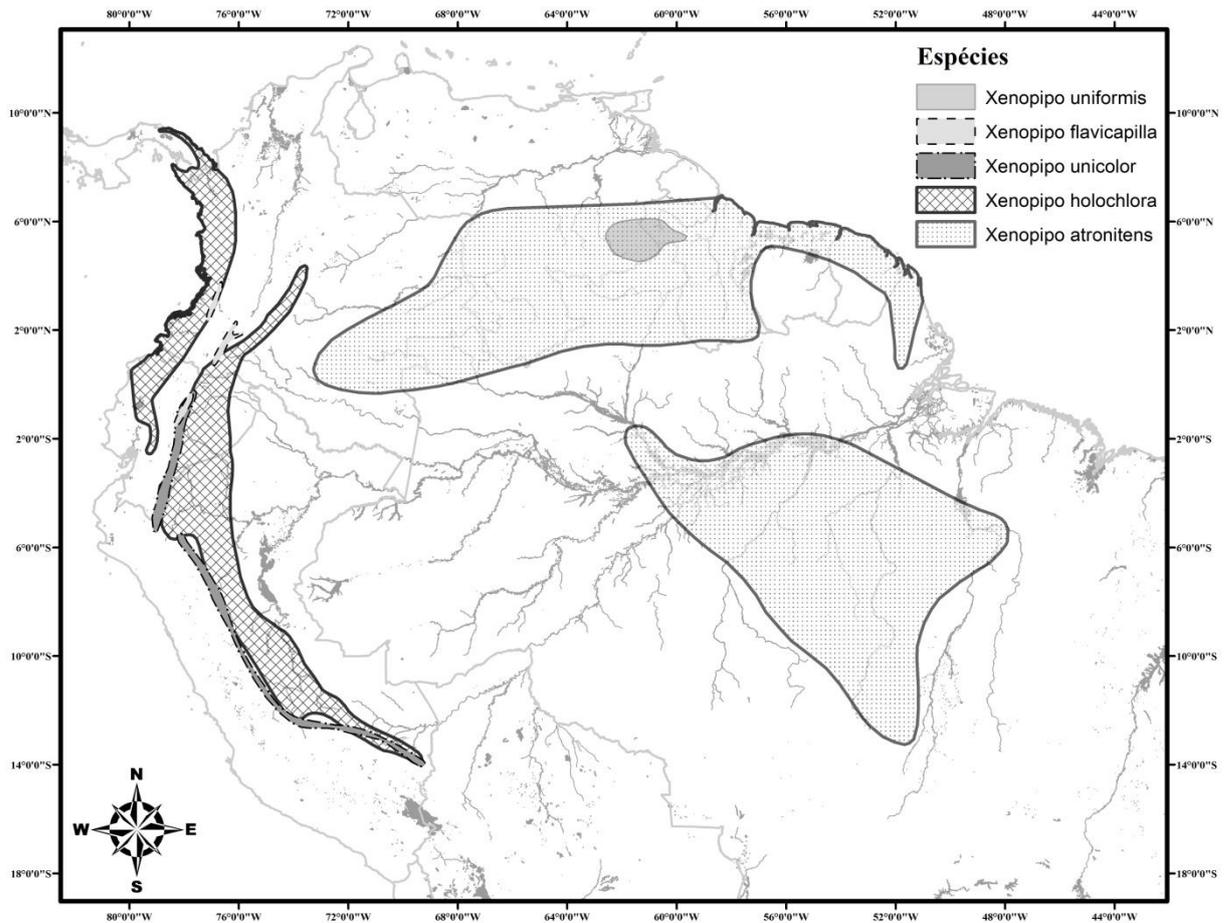


Figura 1. Distribuição conhecida das espécies de *Xenopipo* (<http://www.natureserve.org/infonatura>, acesso em 20/08/2011).

Figure 1. Known distribution of *Xenopipo* species (<http://www.natureserve.org/infonatura>, accessed in 20/08/2011).

sequências obtidas foram analisadas em conjunto com sequências do gene mitocondrial ND2 obtidas por McKay *et al.* (2010). Informações sobre as amostras encontram-se no Apêndice D e em McKay *et al.* (2010) (Tab.1, p.734). Este trabalho inclui, portanto, três espécies do gênero *Xenopipo* – *X. atronitens*, *X. uniformis* e *X. unicolor*, sendo esta última a única espécie do gênero representada na filogenia de McKay *et al.* (2010). A relação entre estas espécies

não foi estudada em nenhum trabalho anterior utilizando ferramentas moleculares. Inúmeros questionamentos já foram feitos sobre a utilização apenas de um gene mitocondrial em análises filogenéticas. Dentre eles se destacam a herança matrilineal dos genes mitocondriais, a ocorrência de saturação mais rápido do que em genes nucleares, e as diferenças nos tempos para a coalescência entre o mtDNA (rápido) e o nuDNA (lento) (Zink e Barrowclough 2008). Porém, como observado na revisão feita por Zink e Barrowclough (2008), a maioria dos resultados obtidos em análises conjuntas com mtDNA e nuDNA apresentaram os mesmos padrões, ou quando diferentes, foram consistentes com a teoria coalescente. A utilização de genes nucleares se mostra, portanto, complementar a utilização de genes mitocondriais. Sendo assim, a utilização apenas do gene mitocondrial ND2 é consistente para os objetivos do presente estudo. A inclusão de mais genes, incluindo genes nucleares, pode conferir maior robustez às análises, diminuindo intervalos de confiança e complementando os resultados obtidos para o gene ND2 (Zink e Barrowclough 2008).

Extração, amplificação e sequenciamento do DNA

O DNA das amostras de *X. atronitens* foi extraído utilizando o *DNA Purification Kit* (A1125) da Promega, seguindo o protocolo sugerido pelo fornecedor com modificações. Para a amplificação do gene mitocondrial ND2 foram utilizados os primers L5204 e H6313 (Sorenson *et al.* 1999), utilizando a seguinte ciclagem, implementada no termociclador Veriti da Applied Biosystems: 94°C por 4 minutos para desnaturação, seguido por 30 ciclos de 94°C por 1 min, 50°C por 1 min e 72°C por 2 min, finalizando a 72°C por 10 min. A purificação do produto amplificado foi realizada com PEG (polietilenoglicol) 8000 20% NaCl 2.5 M. A reação de sequenciamento foi realizada utilizando o protocolo elaborado por Platt *et al.* (2007) com modificações específicas para cada primer. Para o sequenciamento foi utilizado o kit BigDye[®] Terminator 3.1, e o sequenciador 3130x da Applied Biosystems.

Análise filogenética

As sequências foram alinhadas manualmente utilizando o programa MacClade v4.08 (Maddison e Maddison 2005). Foram utilizados três métodos para a reconstrução da filogenia dos Pipridae: Máxima Parcimônia (MP), Máxima Verossimilhança (ML) e Inferência Bayesiana (IB). Para seleção do melhor modelo que explique a evolução das sequências obtidas foi utilizado o programa ModelTest 3.7 (Posada e Crandall 1998), baseando-se no Critério de Informação de Akaike (AIC) para a seleção do modelo. O modelo selecionado foi então utilizado para reconstrução da árvore filogenética por ML e por IB. A reconstrução

filogenética por MP e ML foi realizada no programa PAUP 4.0 (Swofford 2002). A análise de *bootstrap* foi utilizada para obtenção do valor de suporte dos ramos, com 1000 e com 100 replicações, para MP e ML, respectivamente. Para a reconstrução por IB foi utilizado o programa MrBayes 3.2.1 (Ronquist *et al.* 2012). Este programa utiliza o método da cadeia de Markov Monte Carlo (MCMC), o qual estima a probabilidade posterior de árvores dado o conjunto de dados (matriz de sequências). Foram realizadas duas corridas simultâneas de 20,000,000 de iterações, descartando os 5,000,000 de valores iniciais (*burn-in*). Além disso, foram utilizadas três cadeias aquecidas e uma cadeia fria para melhor explorar o espaço de árvores possíveis. Em todas as análises foram utilizadas como grupo externo as espécies *Cotinga cayana*, *Piprites chloris* e *Schiffornis major*. Cada uma destas espécies é representante de um dos clados proximamente relacionados à família Pipridae (Cotingidae, Tyrannidae e Tityridae, respectivamente) (Tello *et al.* 2009). Estas espécies também foram utilizadas por McKay *et al.* (2010) como grupo externo para reconstrução filogenética a partir do gene ND2.

Foram geradas as estimativas de tempo até o ancestral comum para cada bifurcação da filogenia através de análises bayesianas implementadas no programa BEAST (Drummond *et al. in press*). Foi utilizada uma taxa de mutação para o gene ND2 de 2.1% de divergência entre sequências por milhão de anos (Weir e Schluter 2008). O programa utiliza dados moleculares para realizar buscas através das árvores possíveis pelo método MCMC. Este método possibilita a obtenção de valores para os parâmetros com maior probabilidade considerando a matriz de dados. Foi utilizado o modelo de Yule de ramificação da árvore filogenética com 10,000,000 de iterações, amostrando parâmetros a cada 1000 iterações e descartando os primeiros 1,000,000 de valores (*burn-in*).

Resultados

As árvores obtidas foram muito semelhantes entre si, desta forma, a Figura 2 apresenta apenas a árvore obtida por Máxima Verossimilhança e inclui os valores de suporte para os ramos estimados pelas três análises (MP, ML e IB). Duas espécies, *X. atronitens* e *X. uniformis*, formam um clado bem suportado, confirmando a relação filogenética entre as mesmas. Porém, *X. unicolor* permanece sem relação definida com as demais espécies de Pipridae, já que seu agrupamento com o clado *Antilophia*, *Chiroxiphia*, *Corapipo*, *Masius*, *Ilicura* teve baixo suporte em todas as análises. Esta espécie não foi identificada nas análises

como próxima às outras duas espécies de *Xenopipo*, evidenciando que o gênero pode não ser monofilético. Além disso, o posicionamento do clado *uniformis-atronitens* também não foi bem suportado, de modo que as relações entre as espécies de *Xenopipo* com as outras espécies de piprídeos permanecem incertas.

As estimativas de tempo até o ancestral comum de *atronitens-uniformis* foram tão antigas quanto a separação entre alguns gêneros de Pipridae. Mais especificamente, a separação entre as duas espécies monofiléticas de *Xenopipo* ocorreu há aproximadamente 8.85 Ma antes do presente (o intervalo de confiança de 95% abrange valores de 6.92 a 10.9 Ma antes do presente). As divergências intraespecíficas em *X. atronitens* chegam a 1.12 Ma antes do presente, enquanto que em *X. uniformis* o máximo é de 0.15 Ma antes do presente (Apêndice A).

Discussão

As espécies do gênero *Xenopipo* são geralmente inconspícuas apresentando pouco ou nenhum *display* comportamental conhecido (Ridgely e Tudor 2009). Essa característica comportamental as diferencia das outras espécies definidas como *true manakins*, ou tangarás verdadeiros (Prum 1990). Devido à ausência de conhecimento acerca de suas características comportamentais, as espécies de *Xenopipo* não foram incluídas nas análises filogenéticas de Prum (1990), sendo consideradas apenas em análises posteriores baseadas em características anatômicas (anatomia da siringe) (Prum 1992). Nesta segunda análise, Prum (1992) incluiu quatro das cinco espécies do gênero *Xenopipo* (*X. flavicapilla* não foi analisada por falta de dados). Alguns dos resultados das análises anatômicas de Prum (1992) são semelhantes aos apresentados neste trabalho, em que *atronitens* e *uniformis* são espécies-irmãs. Porém, neste estudo *unicolor* não possui uma posição definida, enquanto que os resultados de Prum (1992) definem que esta espécie em conjunto com *atronitens-uniformis* formam um grupo monofilético.

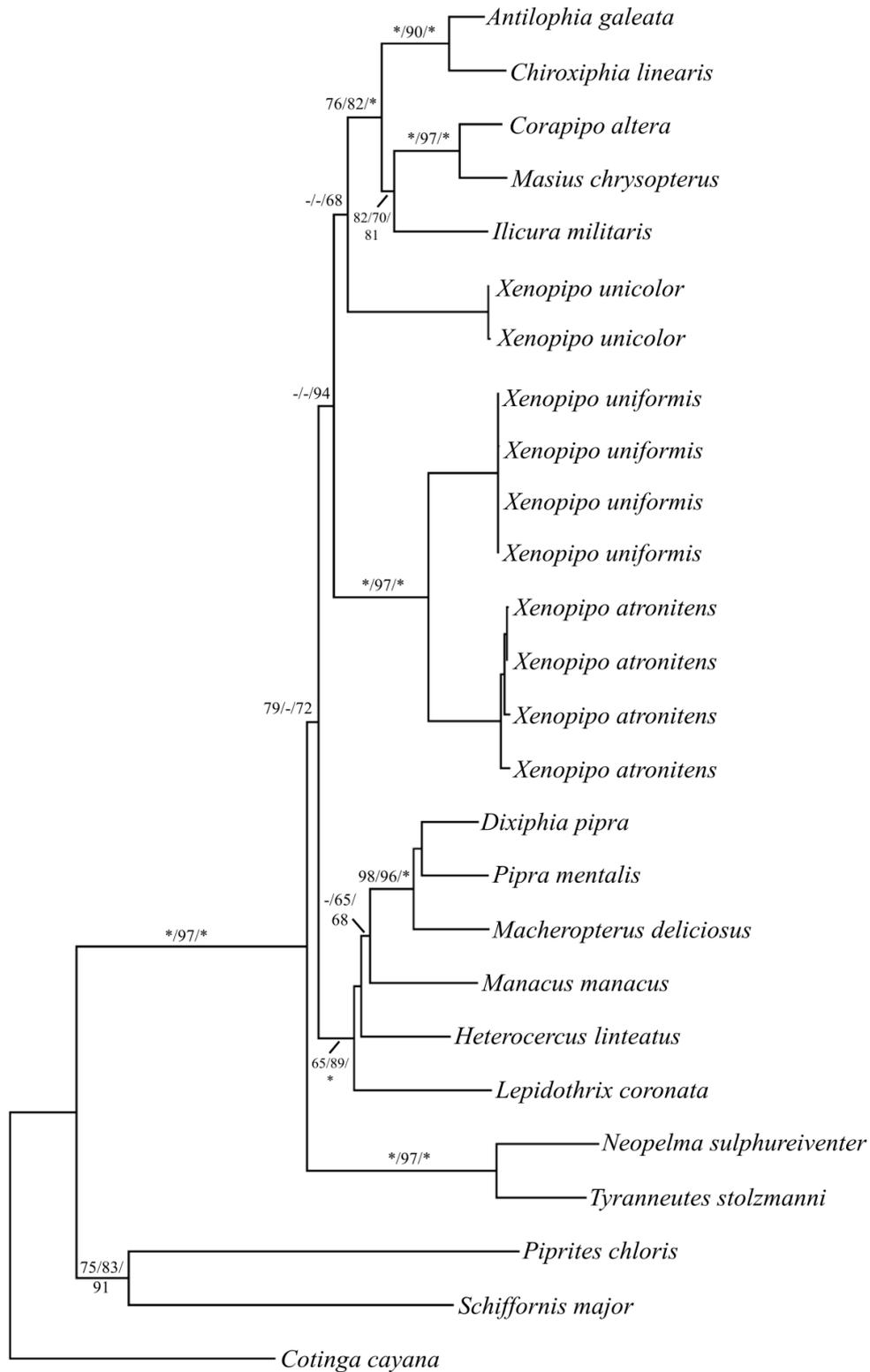


Figura 2. Árvore obtida a partir de Máxima Verossimilhança. São apresentados os valores de suporte para os ramos na seguinte ordem: máxima parcimônia/máxima verossimilhança/inferência bayesiana. (-) = suporte < 50%; (*) = suporte igual a 100%.

Figure 2. Phylogenetic tree obtained by maximum likelihood. The support values are presented for each branch in the following order: maximum parsimony/maximum likelihood/Bayesian inference. (-) = < 50% support; (*) = 100% support.

A relação do gênero *Xenopipo* entre os piprídeos é incerta e ainda não apresentou suporte nos diversos estudos em que foi analisada, considerando dados moleculares (Rêgo *et al.* 2007, Tello *et al.* 2009, McKay *et al.* 2010). A família inclui dois clados bem definidos, onde estão os tangarás verdadeiros (*sensu* Prum 1990), um primeiro que inclui os gêneros *Antilophia*, *Chiroxiphia*, *Corapipo*, *Masius* e *Ilicura*, e um segundo, com os gêneros *Dixiphia*, *Machaeropterus*, *Heterocercus*, *Manacus*, *Lepidothrix* e *Pipra*. O clado *X. atronitens/uniformis* não possui sua relação bem suportada com nenhum destes dois clados. Na análise bayesiana realizada neste estudo, o clado agrupou com *Antilophia*, *Chiroxiphia*, *Corapipo*, *Masius*, *Ilicura*, porém esta relação não foi evidenciada nas análises de parcimônia ou verossimilhança. Segundo Prum (1992), *Xenopipo* está relacionado ao clado *Dixiphia*, *Pipra*, *Macheropterus*, *Manacus*, *Heterocercus*, *Lepidothrix*. A mesma relação obtida neste trabalho foi observada por Tello *et al.* (2009), e da mesma forma apresentou um fraco suporte e apenas nas análises bayesianas.

Parte das formações geológicas dos Tepuis são de arenito (Maguire 1970, Briceño e Schubert 1990), ou seja, o material é semelhante ao das campinas e campinaranas das terras baixas da Amazônia, formadas em solos de areia branca (Anderson 1981). Possivelmente, o ancestral de *atronitens-uniformis* estaria distribuído em áreas caracterizadas por estes tipos de formação, desde as terras baixas até as áreas mais altas nos Tepuis. O isolamento entre as regiões de maior altitude e as terras baixas pode ter iniciado o processo de separação de *X. atronitens* nas campinas e campinaranas e *X. uniformis* nos Tepuis, através de especiação alopátrica. Segundo a estimativa da datação molecular, esse processo teve início no médio Mioceno, culminado ao final deste período. Sendo assim, o processo de erosão dos Tepuis, que foi acentuado durante o Mioceno, isolando os cumes das formações e caracterizando a paisagem da região como é observada atualmente (Maguire 1970), possivelmente influenciou o isolamento altitudinal do ancestral de *atronitens-uniformis*.

Apesar da diversificação das espécies nos Tepuis atualmente ser atribuída aos ciclos climáticos do Pleistoceno (Rull 2005), a separação entre *atronitens* e *uniformis* é bem mais antiga e remete a um período de maior estabilidade climática. Outro grupo de organismos,

Stegolepis, pertencente à família de plantas Rapateaceae, também é conhecido por ter diversificado durante o mesmo período (Givnish 2000). Para o gênero de anuros *Stefania* o mesmo padrão de especiação entre duas linhagens, uma de terras baixas e outras de terras altas, é observado durante o mesmo período em que ocorre a separação entre *X. atronitens* e *X. uniformis* (Salerno *et al.* 2012). Isto demonstra que este pode ter sido um padrão recorrente em diversos grupos durante o período, e que processos ainda desconhecidos podem ter facilitado estes eventos de especiação. Sendo assim, é possível que a separação entre *atronitens* e *uniformis* tenha ocorrido a partir do isolamento em um gradiente altitudinal, que foi capaz de interromper o fluxo gênico entre indivíduos isolados nas terras altas dos Tepuis e aqueles das campinas e campinaranas nas terras baixas da Amazônia.

Esta relação entre espécies dos Tepuis e espécies de campina foi identificada por Oren (1981). O autor relacionou a origem de certos endemismos da avifauna dos Tepuis com eventos de dispersão de espécies de campina para maiores altitudes e consequente especiação. Estes eventos de dispersão estariam relacionados aos ciclos climáticos do Pleistoceno (Oren 1981). Porém, como já mencionado, os eventos de especiação podem estar relacionados também a outros processos da história dos Tepuis, podendo inclusive estar relacionada à formação dos escarpamentos característicos da região. Além disso, o processo pode ser inverso, em que elementos dos Tepuis dão origem àqueles das campinas. Sendo assim, há provavelmente uma estreita relação entre as espécies relacionadas a estes ambientes que será melhor elucidada conforme o conhecimento sobre a evolução destas biotas é ampliado.

Este trabalho, ainda que incluindo três das cinco espécies de *Xenopipo*, não conseguiu resolver a posição do gênero na família. Além disso, a monofilia do gênero identificada através de dados anatômicos (Prum 1992), mas não corroborada por dados moleculares, permanece incerta. A inclusão das outras duas espécies do gênero (*X. holochlora* e *X. flavicapilla*) poderá dar mais suporte às análises, definindo a relação entre as espécies do gênero, assim como a posição deste na família. As duas espécies de ocorrência fora da região andina (*atronitens* e *uniformis*) parecem formar um grupo monofilético, e sua relação com a espécie andina analisada (*unicolor*) é incerta. Sendo assim, a inclusão de *X. holochlora* e *X. flavicapilla* – espécies de ocorrência restrita a região dos Andes – pode auxiliar na compreensão da relação entre as espécies de *Xenopipo* e a origem da diversidade neste grupo.

Agradecimentos

Às coleções de aves do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, do Museu Paraense Emílio Goeldi e do American Museum of Natural History pelo fornecimento das amostras e sequências utilizadas neste trabalho. As permissões para coleta e transporte de material biológico foram fornecidas pelo Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e dos Recursos Naturais (IBAMA). À CAPES pela concessão da bolsa de estudos ao primeiro autor. À FAPEAM e à FAPESP pelo financiamento do projeto.

Referências Bibliográficas

- Anderson, A.B. White-sand vegetation of Brazilian Amazonia. *Biotropica*, 13:199-210.
- Briceño, H.O. e Schubert, C. (1990). Geomorphology of the Gran Sabana, Guayana Shield, southeastern Venezuela. *Geomorphology*, 3:125-141.
- Brumfield, R.T. e Edwards, S.V. (2007). Evolution into and out of the Andes: a Bayesian analysis of historical diversification in *Thamnophilus antshrikes*. *Evolution*, 61:346-367.
- Drummond, A.J.; Suchard, M.A.; Xie, D. e Rambaut, A. Bayesian phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7. *Mol. Biol. Evol.* In press.
- Givnish, T.J.; Evans, T.M.; Zjhra, M.L.; Patterson, T.B.; Berry, P.E. e Sytsma, K.J. (2000). Molecular evolution, adaptive radiation, and geographic diversification in the amphiatlantic family Rapateaceae: evidence from *ndhF* sequences and morphology. *Evolution*, 54:1915-1937.
- InfoNatura (2007) Animals and Ecosystems of Latin America. Version 5.0. Arlington, Virginia (USA): NatureServe. <http://www.natureserve.org/infonatura> (acesso em 20/08/2011).
- Lanyon, S.M. (1985). Molecular perspectives on higher-level relationships in the Tyrannoidea (Aves). *Syst. Zool.*, 34:404-418.
- Maddison, D. R. e Maddison, W.P. (2005). MacClade 4: Analysis of phylogeny and character evolution. Version 4.08a. Disponível em: <http://macclade.org>.
- Maguire, B. (1970). On the flora of the Guayana Highland. *Biotropica*, 2: 85-100.

- McKay, B.D.; Barker, F.K.; Mays, H.L.; Doucet, S.M. e Hill, G.E. (2010) A molecular phylogenetic hypothesis for the manakins (Aves: Pipridae). *Mol. Phylogenet. Evol.*, 55:733-737.
- Oren, D.C. (1981). *Zoogeographic analysis of the white sand campina avifauna of Amazonia*. Tese de Doutorado, Harvard University, Cambridge, Massachusetts, 159pp.
- Platt, A.; Woodhall, R. e George, A. (2007). Improved DNA sequencing quality and efficiency using an optimized fast cycle sequencing protocol. *BioTechniques*, 43:58-62.
- Posada, R. e Crandall, K.A. (1998). MODELTEST: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics*, 14:817-818.
- Prum, R.O. (1990). Phylogenetic analysis of the evolution and display behavior in the Neotropical manakins (Aves: Pipridae). *Ethology*, 231:202-231.
- Prum, R.O. (1992). Syringeal morphology, phylogeny, and evolution of Neotropical manakins (Aves: Pipridae). *Am. Museum Novitates*, 3043:1-65.
- Rêgo, P.S.; Araripe, J.; Marceliano, M.L.V.; Sampaio, I. e Schneider, H. (2007). Phylogenetic analysis of the genera *Pipra*, *Lepidothrix*, and *Dixiphia* (Pipridae, Passeriformes) using parcial cytochrome b and 16S mtDNA genes. *Zool. Scripta*, 36:565-575.
- Rheindt, F.E.; Christidis, L. e Norman, J.A. (2008). Habitat shifts in the evolutionary history of a Neotropical flycatcher lineage from forest and open landscapes. *BMC Evol. Biol.*, 8:193.
- Ribas, C.C.; Moyle, R.G.; Miyaki, C.Y. e Cracraft, J. (2007). The assembly of montane biotas: linking Andean tectonics and climatic oscillations to independent regimes of diversification in *Pionus* parrots. *P. Roy. Soc. Lond. B Bio.*, 274:2399-2408.
- Ridgely, R.S. e Tudor, G. (2009). *Field guide to the songbirds of South America: the passerines*. Austin: University of Texas Press.
- Ronquist, F.; Teslenko, M.; van der Mark, P.; Ayres, D.L.; Darling, A.; Höhna, S.; Larget, B.; Liu, L.; Suchard, M.A. e Huelsenbeck, J.P. (2012). MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Syst. Biol.*, 61:1-4.

- Rull, V. (2005). Biotic diversification in the Guayana Highlands: a proposal. *J. Biogeogr.*, 32:921-927.
- Salerno, P.E.; Ron, S.R.; Señaris, J.C.; Rojas-Runjaic, F.J.M.; Noonan, B.P. e Cannatella, D.C. (2012). Ancient Tepui summits harbor Young rather than old lineages of endemic frogs. *Evolution*, no prelo.
- Sick, H. (1997). *Ornitologia brasileira*. Rio de Janeiro: Nova Fronteira.
- Sorenson, M.D.; Ast, J.C.; Dimcheff, D.E.; Yuri, T. e Mindell, D.P. (1999) Primers for a PCR-based approach to mitochondrial genome sequencing in birds and other vertebrates. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 12:105-114.
- Swofford, D. L. (2002). PAUP. Phylogenetic analysis using parsimony and other methods. Sunderland, MA: Sinauer Associates.
- Tello, J.G.; Moyle, R.G.; Marchese, D.J. e Cracraft, J. (2009). Phylogeny and phylogenetics classification of tyrant flycatchers, contingas, manakins and their allies (Aves: Tyrannides). *Cladistics*, 25:429-467.
- Weir, J.T. e Schluter, D. (2008). Calibrating the avian molecular clock. *Mol. Ecol.*, 17:2321-2328.
- Zink, R.M. e Barrowclough, G.F. (2008). Mitochondrial DNA under siege in avian phylogeography. *Mol. Ecol.*, 17:2107-2121.

Capurucho, J.M.G.; Cornelius, C. & Ribas, C.C.

Xenopipo atronitens (Aves: Pipridae), uma espécie das campinas amazônicas: filogeografia, crescimento demográfico e fluxo gênico entre populações aparentemente isoladas. Manuscrito formatado para a *Revista Brasileira de Ornitologia*.

***Xenopipo atronitens* (Aves: Pipridae), uma espécie das campinas amazônicas: filogeografia, crescimento demográfico e fluxo gênico entre populações aparentemente isoladas**

João Marcos Guimarães Capurucho^{1,4}, Camila Cherem Ribas² e Cíntia Cornelius³

¹. PPG-Ecologia, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Av. André Araújo, 2936, Petrópolis, 69011-970, Manaus, AM.

². Coordenação de Pesquisa em Biodiversidade, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, AM.

³. Departamento de Biologia, Universidade Federal do Amazonas, Manaus.

⁴. jmcapurucho@yahoo.com.br

ABSTRACT. *Xenopipo atronitens* (Aves: Pipridae) a white sand *campina* species: phylogeography, population growth and gene flow between populations apparently isolated. Campinas are open vegetation habitats related to white-sand soils and naturally fragmented. The goals of this study were: (1) analyze phylogeographic patterns in *Xenopipo atronitens*, an Amazonian white-sand stunted forest specialist species, (2) identify main barriers to gene flow among populations, (3) determine whether demographic variation occurred in the recent past, (4) identify factors that led to those phylogeographic patterns, (5) and analyze current landscape patterns that influence the genetic diversity of the species. Low genetic variability was found among *X. atronitens* populations, and the intraspecific phylogeny showed little resolution. However, the haplotype network showed groups restricted to some Amazonian regions. These were: the Branco and Negro rivers interfluvium, the Guayana shield, the regions north and south of the Amazon river and the regions east and west of the Madeira river. The most important barriers to gene flow between populations seem to be the *várzea* habitats associated with white water rivers, and isolation by distance. On the other hand, *terra-firme* and *igapó* habitats do not constitute strong barriers to gene flow. Demographic growth was found in the recent past, around 25,000 years before present. It may be related to the genesis of white-sand soil during the same period favoring a population expansion of *X. atronitens*. Alternatively, this may be related to a greater connectivity among campinas due to the expansion of open habitats during the last glacial

maximum. Both hypotheses are related to changes in the landscape due to climatic variations during the Pleistocene. *Xenopipo atronitens* did not show population structure at the landscape-scale studied. The Jaú landscape seems to receive a large influence of other regions leading to a higher genetic diversity in this landscape. Aracá and Uatumã landscapes had their genetic diversity explained, in part, by landscape characteristics such as the area of the campina in the studied sites. Thus, the genetic diversity of populations is related to historical and current processes in the studied landscapes.

KEY-WORDS: Landscape genetics; Genetic diversity; Last glacial maximum; Pleistocene.

RESUMO: As campinas são ambientes abertos e naturalmente fragmentados que ocorrem associados a solos essencialmente arenosos na Bacia Amazônica. Os objetivos deste trabalho foram: (1) realizar uma análise filogeográfica de *Xenopipo atronitens*, uma espécie característica das campinas e campinaranas amazônicas, (2) identificar as principais barreiras ao fluxo gênico entre populações, (3) determinar se ocorreram variações demográficas no passado, (4) entender os processos que causaram estes padrões filogeográficos e (5) analisar elementos da paisagem atual que influenciam a distribuição geográfica da diversidade genética da espécie. Foi encontrada pouca variabilidade genética entre as populações de *X. atronitens*, sendo que a genealogia da espécie apresentou pouca resolução. Porém, a rede haplótipos apresentou separações claras entre regiões da Amazônia. São elas: o interflúvio entre os rios Branco e Negro, o escudo das Guianas, as regiões ao norte e ao sul do rio Amazonas e entre margens opostas do rio Madeira. As principais barreiras ao fluxo gênico entre populações parecem ser os ambientes de várzea associados a rios de água branca e o isolamento por distância. Áreas de terra-firme e igapó não constituíram fortes barreiras ao fluxo gênico. Foi observado crescimento demográfico no passado recente, há aproximadamente 25,000 anos antes do presente. Este crescimento pode estar associado à gênese de solos de areia branca no passado recente, favorecendo a expansão populacional em *X. atronitens*. Alternativamente, ele pode estar associado a uma maior conectividade das campinas devido à expansão das áreas abertas durante o último máximo glacial. Ambas as hipóteses estão relacionadas a alterações no ambiente influenciadas pelas variações climáticas do Pleistoceno. As populações de *X. atronitens* não apresentaram estruturação populacional na escala da paisagem. Na paisagem do Jaú é possível identificar uma grande influência das outras duas paisagens estudadas (Aracá e Uatumã) que levou a um aumento na diversidade

genética. No Aracá e no Uatumã a diversidade genética foi explicada, em parte, pelas características da paisagem. Processos históricos e atuais estão associados à diversidade genética das populações nas paisagens estudadas.

PALAVRAS-CHAVE: Genética da paisagem; Diversidade genética; Último máximo glacial; Pleistoceno.

Introdução

Estudos em filogeografia e biogeografia estão contribuindo em larga escala para uma melhor compreensão da história evolutiva da Amazônia (Bates *et al.* 2008). Tais trabalhos também têm recebido e fornecido contribuições importantes para o desenvolvimento do conhecimento acerca da história geológica da Amazônia (Rossetti *et al.* 2004, Hoorn *et al.* 2010, Antonelli *et al.* 2010, Ribas *et al.* 2012). A busca pela compreensão dos processos que geraram os padrões de diversidade na região amazônica teve início com a formulação da Hipótese dos Refúgios, por Haffer em 1969, a partir da extrapolação dos resultados obtidos em regiões temperadas. Haffer (1969) pressupôs que os ciclos glaciais do Pleistoceno favoreciam a ocorrência de um clima mais seco na Amazônia, levando à expansão das áreas abertas na região e à consequente fragmentação da floresta. Em diferentes fragmentos, chamados de refúgios, populações isoladas poderiam diferenciar-se, levando ao surgimento de novas espécies. Após muitos anos de debate acerca da hipótese dos refúgios (*e.g.* Bush 1994, Colinvaux *et al.* 1996, Bush e Oliveira 2006), estudos recentes demonstraram que processos de especiação na Amazônia têm ocorrido de maneira praticamente contínua desde períodos anteriores ao Pleistoceno (Moritz *et al.*, 2000, Rull 2008, Rull 2011). Ainda assim, diversos estudos buscam compreender quais foram os reais efeitos que as mudanças climáticas ocorridas durante o Pleistoceno tiveram sobre a paisagem da Amazônia (Cowling *et al.* 2001, Anhuf *et al.* 2006, Beerling e Mayle 2006) e sobre a distribuição dos organismos (Bonaccorso *et al.* 2006), utilizando principalmente ferramentas de modelagem climática. Estes estudos apresentam resultados bastante diversos, que vão desde a fragmentação e redução das áreas florestadas, até menores alterações como mudanças na composição da floresta. Deste modo, a distribuição e organização espacial da diversidade na Amazônia provavelmente foram influenciadas pelos ciclos glaciais, mas seu impacto depende da intensidade com que estes causaram mudanças na paisagem da região.

Na Amazônia são encontrados dois tipos de habitats abertos, os relictos de cerrado e as campinas. Os primeiros são prováveis relictos de vegetação de savana anteriormente distribuída de forma mais ampla pela região (Werneck 2011). Já as campinas são ambientes estritamente associados aos solos de areia branca distribuídos de forma heterogênea por toda Amazônia (Anderson 1981). Caracterizam-se por manchas de vegetação de pequeno porte, formadas principalmente por ervas e arbustos esclerófilos, podendo estar isoladas por solo arenoso exposto, ou formando uma vegetação densamente agregada (Anderson 1981, Vicentini 2004). Estão associadas às campinaranas que, por sua vez, formam uma zona de transição entre a campina e a mata de terra-firme. As campinaranas ocorrem em solos arenosos com uma proporção maior de material argiloso do que no solo das campinas, o que proporciona uma maior concentração de matéria orgânica na faixa superficial do solo e a formação de uma vegetação com estrutura florestal (Ab'Sáber 2004).

As campinas não apresentam uma grande diversidade de espécies quando comparadas às formações florestais da Amazônia. Porém, algumas espécies de aves encontram-se associadas a este tipo de ambiente, enquanto outras o utilizam de maneira oportunística (Alonso e Whitney 2003, Borges 2004, Poletto e Aleixo 2005). Devido ao padrão de ocorrência deste habitat na Amazônia, as espécies associadas às campinas possuem um padrão de distribuição diferente do observado para as espécies florestais. Sendo assim, estudos filogeográficos de espécies de campinas podem contribuir para uma melhor compreensão da história da paisagem na Amazônia, pois estas espécies podem apresentar sinais das variações na disponibilidade de habitat não florestal no passado. Se uma espécie é restrita a algum tipo de ambiente, as barreiras ao fluxo gênico podem variar em sua importância relativa devido à retração e expansão deste ambiente ao longo do tempo (Tuomisto 2007), gerando padrões filogeográficos específicos. Como a disponibilidade de formações abertas na Amazônia atualmente é mais restrita, estas espécies podem ser mais sensíveis às alterações na paisagem, apresentando respostas mais rápidas a estas mudanças.

Com base nas ideias apresentadas acima, foi estudada uma espécie de ave (*Xenopipo atronitens*, Pipridae) característica das campinas e campinaranas da Amazônia como um modelo para inferir os efeitos que mudanças climáticas no passado recente tiveram sobre espécies de aves que hoje têm hábito restrito às formações associadas à areia branca. Além disso, foi determinada a relação entre diferentes características da paisagem e a variabilidade genética de *X. atronitens*, caracterizando a história recente de suas populações, a partir do estudo da variabilidade genética.

Material e Métodos

Espécie estudada

Xenopipo atronitens (Cabanis, 1847) (Aves: Pipridae), apresenta dimorfismo sexual, sendo o macho de coloração negra uniforme e bico grafite com a ponta negra, e a fêmea de coloração verde-olivácea e bico negro (Sick 1997). Possui a cauda mais longa do que o comum entre os piprídeos. Seu comportamento não é o característico da família, pois não apresenta os palcos ou áreas definidas onde ocorrem os *leks* comuns em outros piprídeos (Hilty e Brown 1986). É comum em áreas associadas à areia branca, como as campinas e campinaranas, estando distribuído por toda a Amazônia associado a estes tipos de habitat (Oren 1981, Ridgely e Tudor 2009).

Obtenção das amostras de X. atronitens

Para o estudo do padrão filogeográfico de *Xenopipo atronitens* foram utilizadas amostras de tecido ou sangue obtidas a partir das coleções ornitológicas do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), do Museu Paraense Emílio Goeldi (MPEG), do American Museum of Natural History (AMNH) e de coletas em campo (Apêndice D). Estas amostras contemplam localidades em quase toda a distribuição da espécie (Figura 1).

Devido ao delineamento utilizado nas análises da paisagem, o qual será detalhado a seguir, um maior número de indivíduos foi amostrado nas localidades (paisagens) denominadas Aracá, Jaú e Uatumã. As amostras oriundas destas paisagens foram obtidas a partir da coleta de sangue de indivíduos capturados em redes-de-neblina. Foi coletado um casal em cada um dos sítios amostrais como vouchers, os quais foram depositados na Coleção de Aves do INPA. Foram utilizadas sequências de *Xenopipo uniformis* como grupo externo nas reconstruções filogenéticas (ver Capítulo 1).

Análises da paisagem

A análise da paisagem foi realizada em três localidades (doravante paisagens) ao norte do rio Amazonas. Duas estão nas partes média e baixa da bacia do rio Negro, e uma paisagem no médio rio Uatumã (afluente do rio Amazonas). Uma das paisagens está localizada no interflúvio entre os rios Branco e Negro, numa região denominada Aracá (0°28'7.76"N e 63°28'32.20"W), município de Barcelos. Outra paisagem está localizada às margens do rio

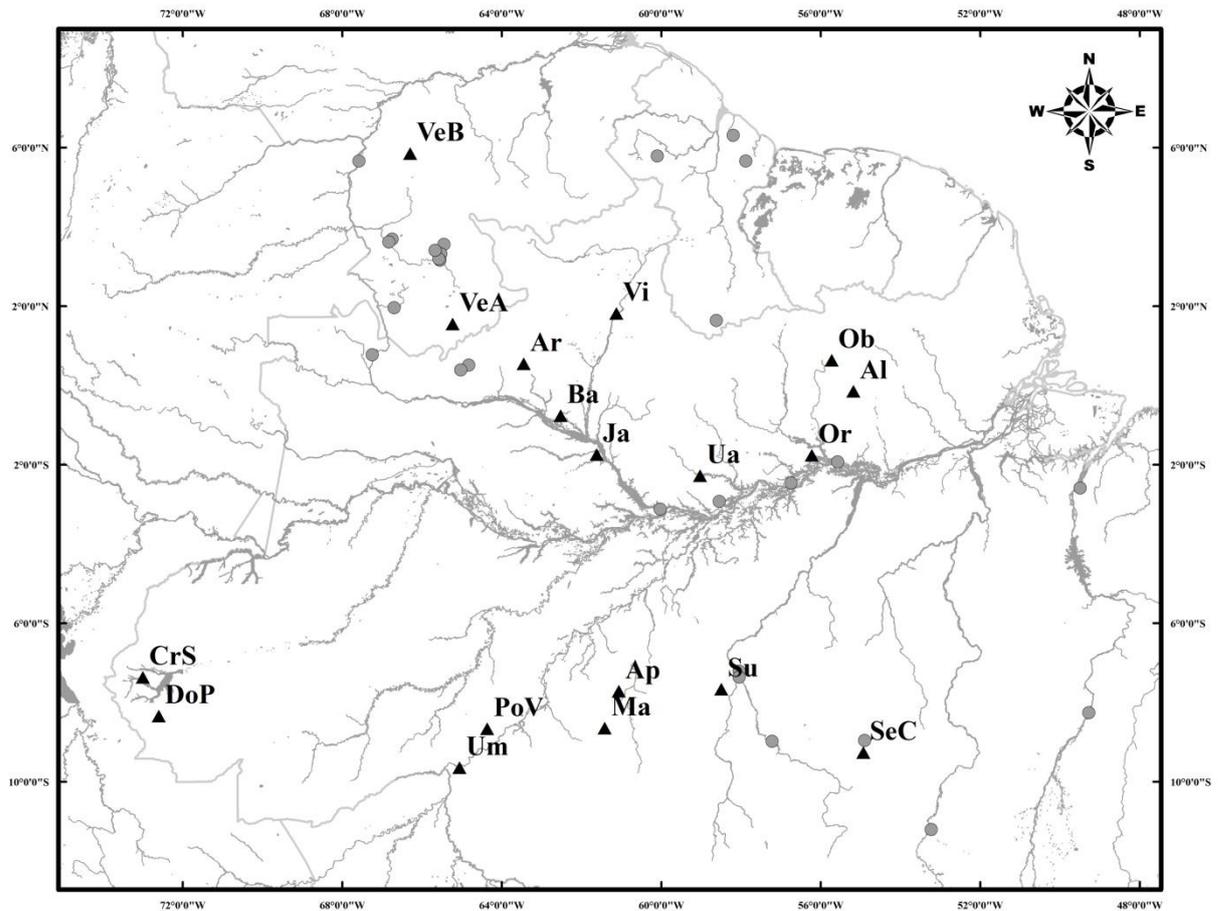


Figura 1. Mapa com a localização das amostras de *Xenopipo atronitens* analisadas (triângulos). VeB = Venezuela (Bolívar); VeA = Venezuela (Amazonas); Ar = Aracá; Ba = Barcelos; Ja = Jaú; Vi = Viruá; Ua = Uatumã; Or = Oriximiná; Al = Alenquer; Ob = Óbidos; CrS = Cruzeiro do Sul; DoP = Dois Portos; PoV = Porto Velho; Um = Umirizal; Ma = Manicoré; Ap = Apuí; Su = Sucunduri; SeC = Serra do Cachimbo. Os círculos em cinza representam registros obtidos por análises de espécimens em museus (MNRJ, NMNH, AMNH, MZUSP; dados de Marina Anciães).

Figure 1. Map with the location of the *Xenopipo atronitens* samples analyzed (triangles). VeB = Venezuela (Bolívar); VeA = Venezuela (Amazonas); Ar = Aracá; Ba = Barcelos; Ja = Jaú; Vi = Viruá; Ua = Uatumã; Or = Oriximiná; Al = Alenquer; Ob = Óbidos; CrS = Cruzeiro do Sul; DoP = Dois Portos; PoV = Porto Velho; Um = Umirizal; Ma = Manicoré; Ap = Apuí; Su = Sucunduri; SeC = Serra do Cachimbo. The gray circles are records obtained through the analysis of museum specimens (MNRJ, NMNH, AMNH, MZUSP; Marina Anciães data).

Uatumã, na área da Reserva do Desenvolvimento Sustentável do Uatumã (2°17'9.19"S e 58°51'53.92"W), pertencente aos municípios de Itapiranga e São Sebastião do Uatumã. A terceira paisagem está localizada na margem direita do rio Negro, no Parque Nacional do Jaú (1°48'57.61"S e 61°45'50.33"W), município de Novo Airão. Cada uma destas paisagens difere quanto à proporção de cobertura florestal e área das campinas. A região do Aracá é dominada

por vegetação de campina (45.33%, em uma área de 50 x 50 km), havendo pouca cobertura florestal. Por sua vez, o Jaú apresenta campinas mais isoladas e de área reduzida devido à maior proporção de cobertura florestal (cobertura de campina = 1.3%). E finalmente, a paisagem do Uatumã apresenta uma proporção de campina (0.8%) muito semelhante ao Jaú, porém a distribuição e tamanho das campinas são diferentes entre as duas paisagens (ver Apêndice B que apresenta os mapas de cada uma das paisagens).

Foram estudados seis sítios na paisagem do Aracá, seis no Uatumã e quatro no Jaú, que foram selecionados em cada paisagem em uma área pré-determinada de 50 x 50 km. Estes sítios possuem uma distribuição espacial e distâncias entre sítios semelhantes nas três paisagens, com o objetivo de padronizar a amostragem, possibilitando a comparação dos resultados obtidos entre paisagens que diferem na configuração da vegetação. Além disso, a escolha da disposição dos sítios de amostragem em cada paisagem foi realizada considerando a presença do principal rio (mais caudaloso), a presença de áreas de floresta de terra-firme, a distribuição e a distância geográfica entre sítios, que variou de 4 km a 43 km. A área de coleta (raio de 500 m) é equivalente em todos os sítios, permitindo a comparação da diversidade genética existente em áreas de amostragem equivalentes independente do tamanho da campina. Nestas áreas de coleta foram distribuídas 20 redes-de-neblina (12 x 3 m, 36 mm), divididas em quatro linhas de cinco redes. Com o objetivo de diminuir a probabilidade de amostrar apenas um grupo familiar, a cada dia ao menos duas linhas de rede eram deslocadas para cobrir outras partes da área de coleta. Cada sítio foi amostrado até atingir um número mínimo de dez indivíduos de *X. atronitens* por sítio. Após a captura os indivíduos eram marcados para identificação em caso de recapturas.

Extração, amplificação e sequenciamento do DNA

DNA foi extraído a partir das amostras de sangue ou tecido usando o *DNA Purification Kit* (A1125) da Promega, utilizando o protocolo rápido sugerido pelo fabricante com modificações. Foi amplificado o gene mitocondrial ND2, a partir dos primers L5204 e H6313 (Sorenson *et al.* 1999), realizada em um termociclador Veriti da Applied Biosystems, com a seguinte ciclagem: 94°C por quatro minutos para desnaturação, seguido por 30 ciclos de 94°C por um min, 50°C por um min e 72°C por dois min, finalizando com 72°C por 10 min. A purificação do produto amplificado foi realizada com PEG (polietilenoglicol) 8000 20% NaCl 2.5 M. A reação de sequenciamento foi realizada utilizando o protocolo definido

por Platt *et al.* (2007) com modificações específicas para cada primer. Foi utilizado o kit BigDye[®] Terminator 3.1, e o sequenciador 3130x da Applied Biosystems.

Análise dos dados

Rede de haplótipos e análise filogenética. Foi utilizado o programa BioEdit 7.1.3.0 (Hall 1999) para montagem das sequências consenso para cada indivíduo e alinhamento das mesmas. Para o alinhamento foi utilizada a ferramenta ClustalW, com posterior verificação e correção manual. Foram eliminados os sítios com ambiguidades nas extremidades das sequências. *Gaps* não foram observados.

Para testar a hipótese de neutralidade do marcador (ND2) foi realizado o teste de MacDonald e Kreitman (MK *test*) implementado no programa DNAsp v5.0 (Librado e Rozas 2009). O programa TCS 1.21 (Clement *et al.* 2000) foi utilizado para construção da rede de haplótipos para a espécie. A rede é calculada par-a-par por parcimônia estatística, a partir do número máximo de diferenças entre haplótipos que são resultado de substituições únicas, a uma probabilidade de 95% (Posada e Crandall 2001). Além disso, também foram construídas redes de haplótipos específicas para cada paisagem estudada (Aracá, Jaú e Uatumã) (Apêndice C).

Após a identificação dos haplótipos foi construída uma matriz contendo apenas um representante de cada haplótipo, e a partir desta foi realizada a inferência filogenética utilizando o programa PAUP 4.0 (Swofford 2002). Foi utilizado apenas o método de máxima parcimônia (MP) para reconstrução da árvore filogenética devido à baixa variabilidade do conjunto de dados e, portanto, pouca propensão à saturação. O suporte dos ramos foi estimado através de análises de *bootstrap* com 1000 replicações. A espécie *Xenopipo uniformis* foi utilizada como grupo externo.

Estrutura genética e fluxo gênico. Foi realizada uma Análise de Variância Molecular (AMOVA) para testar em diversos níveis se há estruturação entre populações de *X. atronitens*. Para isso, foram utilizadas apenas as três paisagens (Aracá, Jaú, Uatumã) e a localidade do Apuí que apresentou um número de amostras suficiente para análise. A partir da AMOVA é possível verificar onde está concentrada a variabilidade genética: entre grupos de populações (F_{CT}) (Aracá, Jaú, Uatumã e Apuí), entre populações dentro dos grupos (F_{SC}) (sítios em cada paisagem) e dentro das populações (F_{ST}) (cada sítio); e, desta forma testar se há estruturação em algum dos níveis. A AMOVA é calculada nos três níveis de estruturação a partir do

número mutações e da frequência dos diferentes haplótipos, utilizando o índice de fixação (F_{CT} , F_{SC} e F_{ST}) (Excoffier *et al.* 1992). A significância dos valores dos índices de fixação é testada por permutações não-paramétricas (10,000 permutações foram realizadas). Além disso, também foram calculadas as matrizes de distância genética (F_{ST}) entre os sítios de cada paisagem (Aracá, Jaú, Uatumã) e entre Aracá, Jaú, Uatumã e Apuí. Nos casos em que as distâncias genéticas (F_{ST}) foram significativas ($p < 0.05$), testes de Mantel foram realizados para testar se há relação entre a distância genética e a distância geográfica (distância euclidiana entre os pontos centrais de cada paisagem). O teste de Mantel também foi aplicado a toda a amostragem (com exceção das amostras localizadas na Venezuela, devido a menor especificidade com relação ao local da coleta; $n = 16$), utilizando também o índice de fixação (F_{ST}). As análises de estrutura genética descritas acima e os testes de Mantel foram implementados no programa Arlequin 3.1 (Excoffier *et al.* 2005).

Análises Demográficas. Foram realizados os testes R_2 de Ramos-Onsins e Rozas (2002), F_s de Fu (1997) e D de Tajima (1989), para detecção de possíveis variações demográficas de *X. atronitens*, todos implementados no programa DNAsp v.5.0 (Librado e Rozas 2009). Neste mesmo programa foram realizadas simulações, com 10,000 repetições cada, para obter o nível de significância para cada teste. As estatísticas citadas acima foram calculadas utilizando diferentes partições dos dados: (1) com todo o conjunto de sequências (214 indivíduos) distribuídas por toda a Amazônia e (2) utilizando apenas os indivíduos amostrados em cada uma das paisagens (Aracá, Jaú e Uatumã) e da região do Apuí. Desta forma, buscou-se caracterizar o padrão demográfico geral para a espécie, assim como especificidades relacionadas às áreas mais amostradas. Buscou-se relacionar os resultados das estatísticas com possíveis cenários paleoambientais específicos.

Foi utilizado o programa BEAST 1.6.2 (Drummond e Rambaut 2007) para a construção do Bayesian Skyline Plot (BSP) utilizando todas as amostras de *X. atronitens*. A partir desta análise é calculado o tamanho efetivo populacional (N_e) através do tempo (neste caso, o tamanho efetivo de fêmeas devido à herança matrilinear dos genes mitocondriais). Para a seleção do melhor modelo de evolução das sequências obtidas foi utilizado o programa ModelTest 3.7 (Posada e Crandall 1998) baseando-se no Critério de Informação de Akaike (AIC) (TrN+I+G foi o modelo selecionado). O BSP foi gerado a partir de dez passos (pontos de mudanças populacionais), considerando a taxa de mutação do gene ND2 como 0,0105 substituições por sítio por milhão de anos (o que corresponde à taxa de 2.1% de divergência entre sequências por milhão de anos) (Weir & Schluter 2008) e um modelo de variação

demográfica linear entre pontos de mudança populacional. Foram geradas 80,000,000 de iterações, amostrando os parâmetros a cada 1,000 iterações, sendo as primeiras 8,000,000 descartadas como *burn-in*. O programa Tracer 1.5 (Rambaut e Drummond 2007) foi utilizado para verificar a eficiência das cadeias de Markov Monte-Carlo e o tamanho efetivo amostral, assim como para obter o gráfico resultante da análise.

A taxa de crescimento populacional (g) foi estimada utilizando o programa Lamarc 2.1.6 (Kuhner 2006). O programa utiliza o método da cadeia de Markov Monte-Carlo (MCMC) para estimar os parâmetros: tamanho populacional (θ), migração (m) e taxa de crescimento populacional (g). No caso da taxa de crescimento populacional, valores positivos indicam crescimento demográfico no passado e valores negativos indicam redução demográfica. Para estimar g foram realizadas dez cadeias iniciais amostrando um total de 5,000 valores a cada 20 iterações após descartar os primeiros 10,000 valores como *burn-in*, seguidas de duas cadeias finais amostrando 100,000 valores após descartar os primeiros 10,000. Foram utilizadas três cadeias “aquecidas” e uma “fria” para ampliar a eficiência da busca durante a MCMC.

Métricas da paisagem. Com base nos mapas categóricos de cobertura vegetal, foram calculadas duas métricas para cada uma das paisagens estudadas (Aracá, Jaú e Uatumã). Uma primeira métrica de área foi subdividida em dois cálculos diferentes: (1) proporção de habitat de campina em um raio de 5 km em torno do sítio amostral e (2) área da campina (ha) onde está localizado o sítio amostral. A segunda métrica calculada foi o índice de proximidade (*Prox*), uma medida de isolamento, em que é calculado o somatório das áreas das campinas em um raio de 5 km perpendicular a borda da campina em que está localizado o sítio amostral, dividido pelo somatório das distâncias entre as campinas vizinhas e a campina focal (borda-a-borda) ao quadrado, como expresso na fórmula:

$$Prox = \sum_{i=1}^n \frac{a_i}{d_i^2}.$$

Sendo a_i = área da campina i e d_i = distância da borda da campina i até a borda da campina onde está localizado o sítio amostral. Foi verificada a relação entre estas métricas de paisagem (as duas medidas de área e o índice de proximidade) e a diversidade nucleotídica (π) correspondente às populações de cada sítio amostral, através de modelos lineares generalizados (GLM) (Crawley 2007). Desta forma, as métricas da paisagem foram utilizadas como variáveis independentes e a diversidade nucleotídica é a variável dependente. Além

disso, foi realizada a análise dos resíduos para verificar a adequação do modelo à distribuição de erros utilizada nas análises (gaussiana). A diversidade nucleotídica foi calculada utilizando o programa MEGA 5.0 (Tamura *et al.* 2011). Para a elaboração dos mapas categóricos foram utilizadas imagens do satélite *LANDSAT TM5* e o programa Envi 4.6, no qual foi realizada uma classificação supervisionada utilizando o método de máxima verossimilhança. Para os cálculos das métricas da paisagem foram utilizados os programas ArcGIS 9.1 (ESRI 2005) e Fragstas 3.4 (McGarigal *et al.* 2002). A análise de GLM foi realizada no programa R 2.10.1 (R Development Core Team 2009).

Resultados

Filogeografia de X. atronitens

Foram obtidas as sequências do gene mitocondrial ND2 para 214 indivíduos de *X. atronitens* (Apêndice D). Foram sequenciados até 1050 sítios, sendo que a matriz com as sequências alinhadas sem nenhum *missing data* contem 915 sítios homólogos. No total foram observados 71 sítios variáveis e 37 sítios informativos para parcimônia. A partir do teste de MacDonald e Kreitman não foi rejeitada a hipótese de neutralidade do gene ND2 ($p > 0.1$).

Um total de 51 haplótipos foi obtido. A rede de haplótipos é apresentada na Figura 2. Foi observada a separação parcial entre os haplótipos localizados ao sul e ao norte do rio Amazonas. Ao norte deste rio, os haplótipos que ocorrem no interflúvio dos rios Negro-Branco (INB) encontram-se agrupados e parcialmente separados dos demais haplótipos. As populações dessa região compartilham um único haplótipo com a região do Jaú. Além disso, é observado outro haplótipo (representado por um único indivíduo) relacionado aos do INB que ocorre na margem direita do rio Negro (Jaú). Os haplótipos da região do escudo das Guianas (EG) também se separaram parcialmente dos demais, com apenas um haplótipo compartilhado com a região do Jaú e outro que ocorre também ao sul do rio Amazonas (Apuí). Os haplótipos distribuídos ao sul do rio Amazonas se diferenciaram das demais regiões, sendo apenas um haplótipo compartilhado entre o Apuí e o Uatumã. Dois conjuntos de haplótipos relacionados ao sul do rio Amazonas foram observados na rede. Estes dois conjuntos possuem haplótipos que ocorrem na mesma região, como por exemplo, no Apuí.

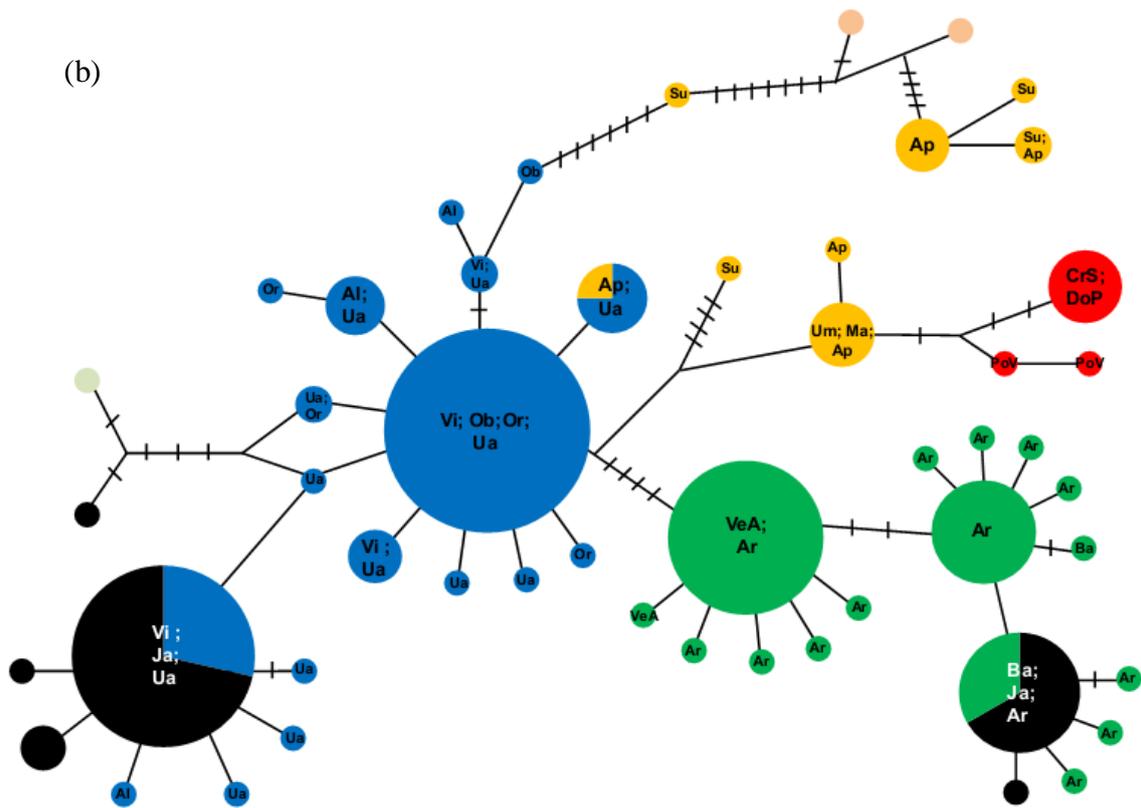
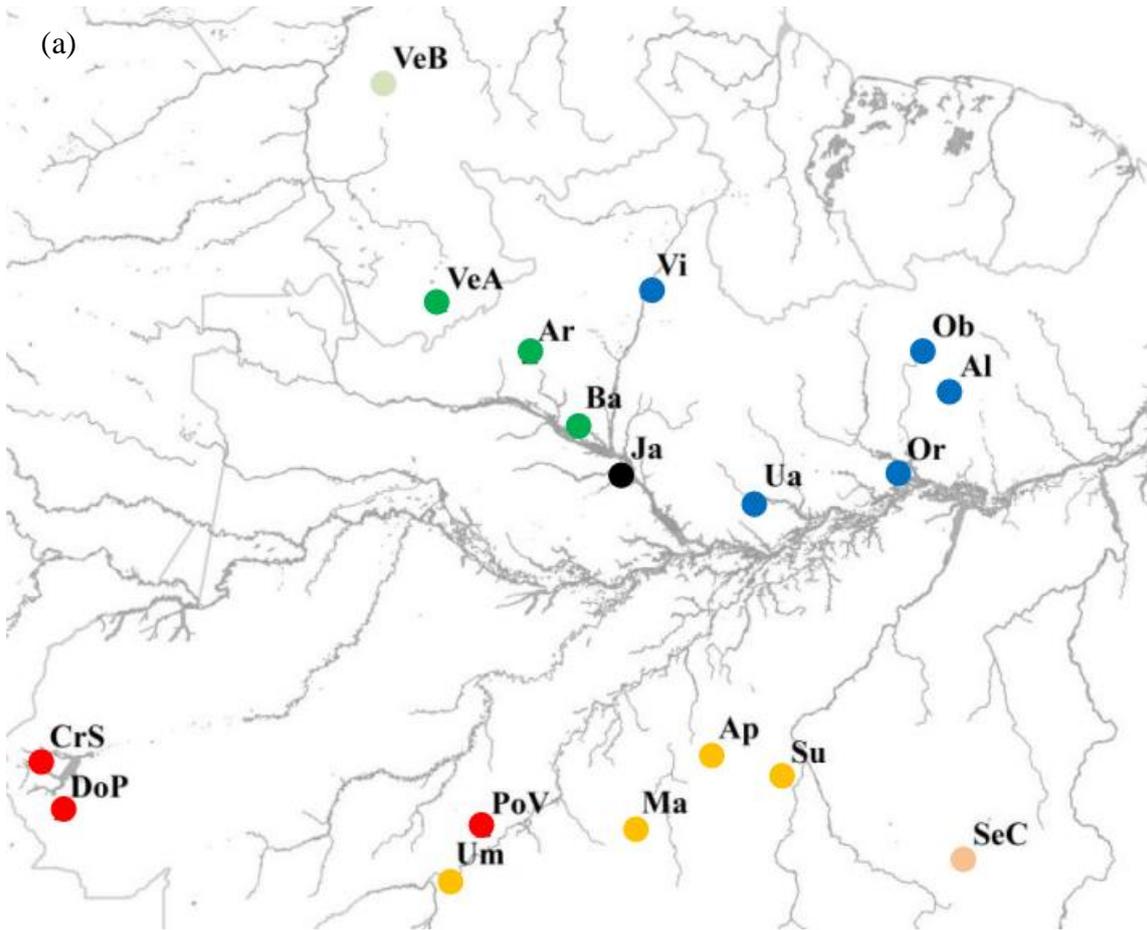


Figura 2. (a) mapa apresentando as localidades das amostras que foram sequenciadas. (b) rede de haplótipos; as cores e as siglas correspondem às localidades amostradas em (a) e o tamanho dos círculos corresponde ao número de indivíduos com cada haplótipo.

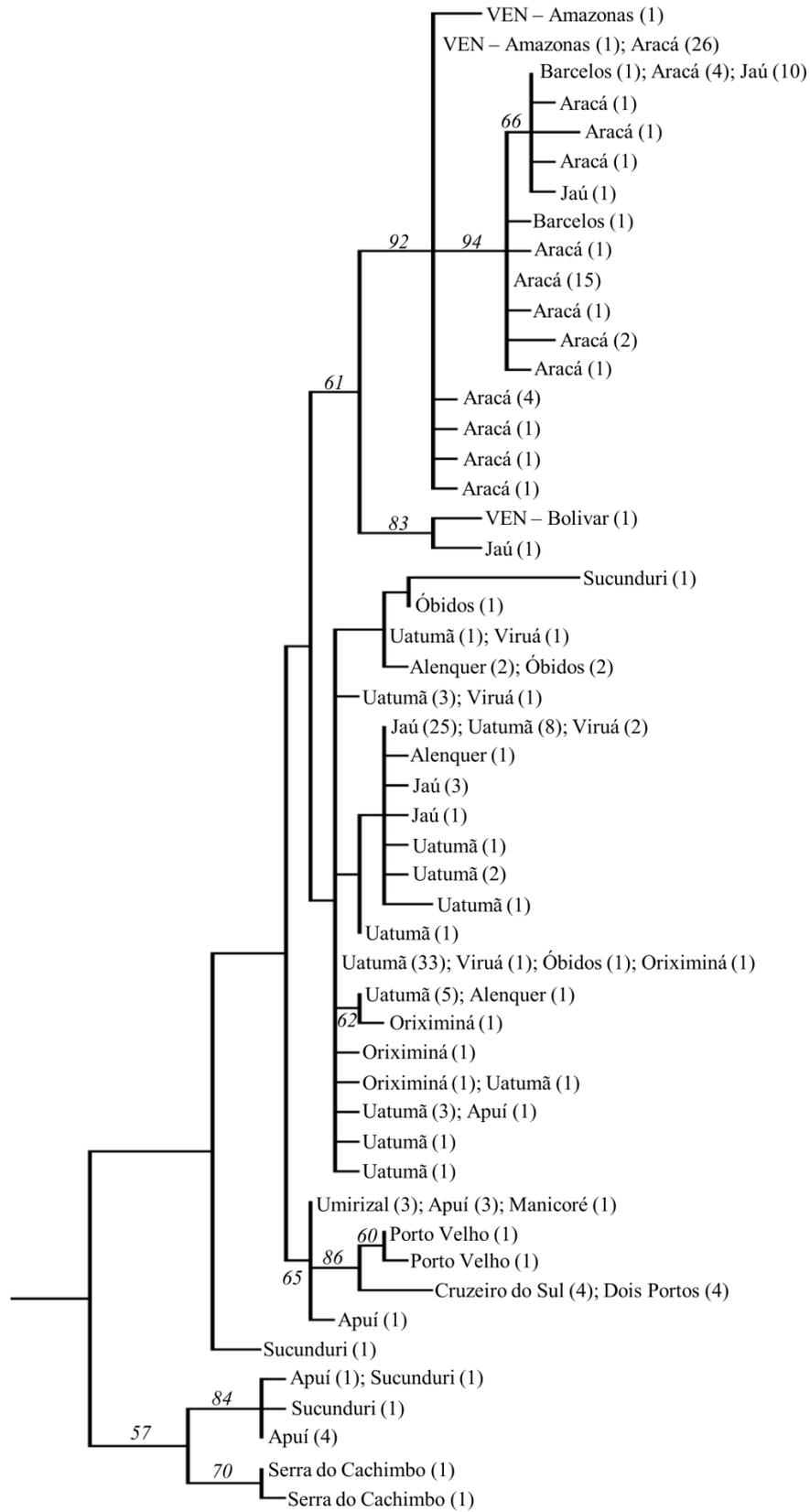
Figure 2. (a) map with the location from where the sequenced samples were obtained. (b) haplotype network; the colors and labels are related to the localities in (a) and the size of the circles are related to the number of individuals with each haplotype.

As redes de haplótipos para cada paisagem estudada indicam a ausência de estruturação populacional em pequena escala. Em cada paisagem os haplótipos identificados encontram-se distribuídos entre praticamente todos os sítios amostrados. As redes de haplótipos específicas do Aracá, Jaú e Uatumã estão no Apêndice C.

Foi encontrada pouca estrutura populacional em *X. atronitens* a partir da reconstrução filogenética, com apenas dois clados bem definidos e com alto suporte nas análises de *bootstrap* (Figura 3). Estes dois clados representam duas subdivisões dentro das distribuições ao norte e ao sul do rio Amazonas. Ao norte foram agrupados os haplótipos do interflúvio dos rios Negro-Branco e do Jaú junto com aqueles do extremo norte da distribuição da espécie (Venezuela) (suporte = 92%). E ao sul, é observada a separação dos haplótipos que se encontram a oeste do rio Madeira (área de endemismo Inambari) (suporte = 86%). Apenas parte da estruturação entre as populações evidenciada na rede haplótipos é observada na árvore, isto devido à pequena distância genética entre os mesmos.

Estrutura genética e fluxo gênico

Os resultados da AMOVA evidenciaram a ocorrência de estruturação genética entre Aracá, Jaú, Uatumã e Apuí ($F_{CT} = 0.6146$; $p < 0.001$). Porém, não foi observada estruturação no nível imediatamente inferior, ou seja, entre sítios dentro de uma paisagem ($F_{SC} = -0.0487$; $p > 0.1$). A variabilidade genética também foi grande em cada sítio ($F_{ST} = 0.5958$; $p < 0.001$), pois cada sítio apresenta vários haplótipos diferentes (Apêndice C). A variabilidade entre Aracá, Jaú, Uatumã e Apuí, e dentro de cada população correspondeu a 61.46% e 40.42% da variabilidade genética total em cada nível, respectivamente. Sendo assim, os haplótipos encontram-se amplamente distribuídos entre sítios em cada paisagem. Porém, os haplótipos que compõem cada uma das paisagens são diferentes, evidenciando o isolamento entre as mesmas.



– 1 change

Figura 3. Reconstrução filogenética de *Xenopipo atronitens* baseada em máxima parcimônia. Os valores de suporte (> 50) estão apresentados junto aos respectivos ramos. Os números após a localidade são referentes ao número de indivíduos observados com cada haplótipo. O grupo externo foi retirado da figura.

Figure 3. Phylogenetic reconstruction of Xenopipo atronitens by maximum parsimony. The support values (> 50) are show with its respective branch. The numbers after the localities are related to the number of individuals with each haplotype. The outgroup was removed from the figure.

Foram calculadas as distâncias genéticas (F_{ST}) par-a-par entre as paisagens, incluindo também a região do Apuí, ao sul do rio Amazonas (Tabela 1). Todos os resultados foram significativos à 5% de probabilidade, com as distâncias variando entre $F_{ST} = 0.786$ (Aracá/Uatumã) e $F_{ST} = 0.309$ (Jaú/Uatumã). O Aracá foi a paisagem que apresentou a maior distância genética com relação às outras paisagens. Este resultado complementa as observações feitas a partir da rede de haplótipos e da árvore genealógica, em que a região entre os rios Negro e Branco se apresenta como uma das regiões mais distintas.

Tabela 1. Valores para o índice de fixação (F_{ST}) entre cada uma das paisagens mais o Apuí e a distância entre as mesmas (km).

Table 1. Fixation index values (F_{ST}) among each of the landscapes plus the Apuí and the distance among them (km).

F_{ST} / km	Aracá	Jaú	Uatumã	Apuí
Aracá		311	585	925
Jaú	0.54		315	624
Uatumã	0.78	0.30		549
Apuí	0.74	0.46	0.66	

Além disso, também foram calculadas as distâncias genéticas entre as populações de cada paisagem. Como esperado a partir dos resultados da AMOVA e das redes de haplótipos específicas, os valores de F_{ST} não foram significativos em nenhuma das paisagens. A distância genética entre os sítios dentro de cada paisagem foi pequena, o que pode ser uma evidência da ocorrência de fluxo gênico na escala da paisagem estudada. Ou ainda, pode representar uma separação recente entre estas populações.

Como os resultados para distância genética (F_{ST}) foram significativos apenas entre Aracá, Jaú, Uatumã e Apuí, o teste de Mantel foi realizado apenas nesta escala de estudo. Foi então testado se há relação entre as distâncias genéticas e a distância geográfica entre as três paisagens e o Apuí. Não foi observada relação entre estas duas variáveis (coeficiente de

correlação = 0.64; $p = 0.11$), ou seja, somente a distância geográfica não foi capaz de explicar a variação na distância genética entre paisagens. Portanto, não apenas a distância geográfica impede a dispersão de indivíduos entre estas localidades. Outras barreiras podem estar restringindo o fluxo gênico entre estas regiões. Inversamente, podem ocorrer paisagens mais conectadas devido às características do ambiente que facilitam o fluxo gênico e a dispersão de indivíduos. Considerando todas as localidades amostradas ($n = 16$), a distância geográfica apresentou uma relação positiva com a distância genética entre populações de *X. atronitens* (coeficiente de correlação = 0.46; $p < 0.01$).

História demográfica

Para realizar as análises demográficas os indivíduos de *X. atronitens* foram divididos em diferentes agrupamentos. Estes agrupamentos foram: (1) todo o conjunto de amostras analisadas e (2) as três paisagens independentemente (Aracá, Jaú e Uatumã) e a região do Apuí, pois estas apresentam um número de amostras suficiente que permite uma análise em uma escala mais fina para cada região. Assim, buscou-se identificar padrões locais que pudessem ser relacionados à história de cada região.

O resultado para os testes envolvendo todos os indivíduos sequenciados foi significativo apenas para o teste F_s de Fu ($F_s = -16.893$; $p < 0.02$; Tabela 2), evidenciando a expansão demográfica no passado recente. Os outros testes, R^2 e D de Tajima, não apresentaram resultados significativos (Tabela 2). Apesar da incongruência dos resultados, o teste F_s de Fu é o mais robusto e indicado quando se utiliza um número grande de amostras (Ramos-Onsins & Rozas 2002). Assim, devido ao elevado número de amostras (214 indivíduos), o resultado para o teste F_s de Fu é o mais confiável na análise de todo o conjunto de populações.

Tabela 2. Valores de R_2 de Ramos-Onsins e Rozas (2002), F_s de Fu (1997) e D de Tajima (1989) para cada uma das paisagens, para o Apuí e para todos os indivíduos de *Xenopipo atronitens*.

Table 2. Values of Ramos-Onsins and Rozas' (2002) R_2 , Fu's F_s (1997) and Tajima's D (1989) tests for each landscape, Apuí and all individuals of *Xenopipo atronitens*.

População	R_2	F_s	D
Todas	0.0501	-16.893	-1.17382
Aracá	0.0607	-4.128	-1.20144
Jaú	0.1493	5.504	1.01254
Uatumã	0.0487	-6.942	-1.62952
Apuí	0.2264	3.624	1.90409

* Os valores em negrito foram significativos a 5% de significância, exceto no caso do F_s de Fu que é significativo a 2% de probabilidade.

Apenas a população do Uatumã apresentou evidências de crescimento populacional, tendo todos os testes apresentado resultado significativo, F_s de Fu ($F_s = -6.942$; $p < 0.02$), R_2 ($R_2 = 0.0487$; $p < 0.05$) e D de Tajima ($D = -1.6295$; $p < 0.05$). As populações das outras duas paisagens, Aracá e Jaú, e a região do Apuí analisadas isoladamente, não apresentaram sinais de alterações demográficas.

Os resultados do Bayesian Skyline Plot (BSP) foram de uma possível tendência à expansão populacional recente de *X. atronitens* (Figura 4). Isto devido ao intervalo de confiança para os valores de tamanho populacional no passado e no presente se sobreporem. A partir do BSP é possível observar que a tendência ao crescimento demográfico de *X. atronitens* em aproximadamente 10 vezes ocorre a partir de 25,000 anos antes do presente. Este período é correspondente ao último máximo glacial, que teve seu ápice há aproximadamente 21,000 anos antes do presente. Anteriormente a este período de crescimento a população se mostrou estável, até aproximadamente 0,6 Ma antes do presente, representando a escala temporal recuperada pela análise.

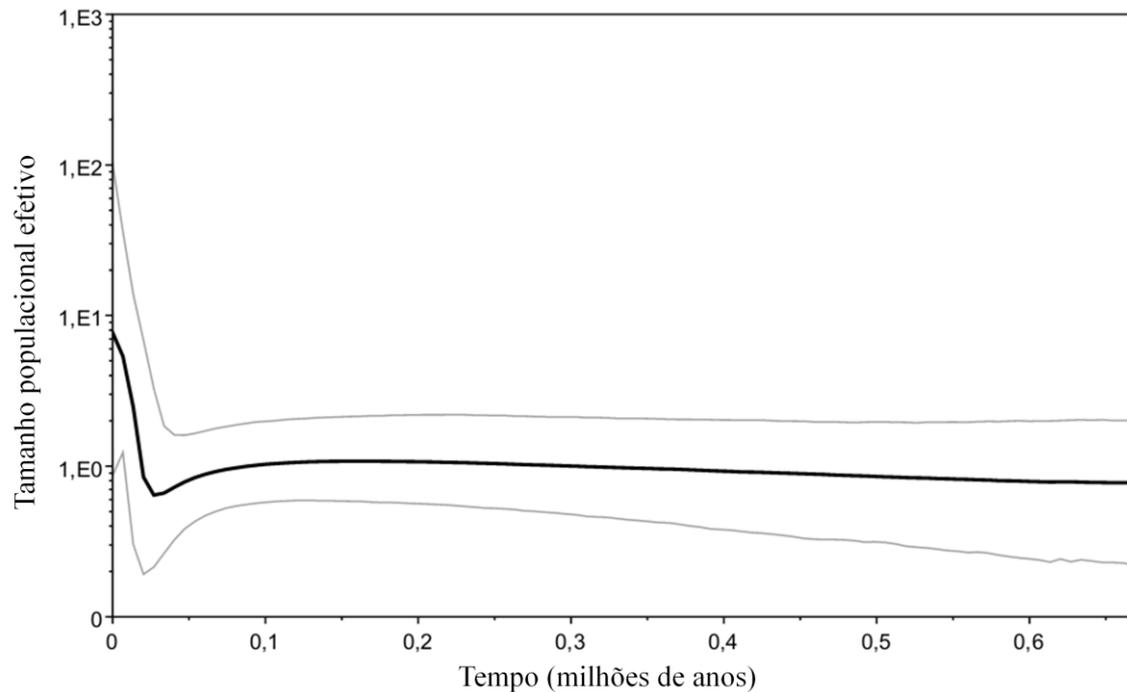


Figura 4. Variação demográfica de *Xenopipo atronitens* através do tempo. A linha preta corresponde à mediana e as linhas em cinza claro ao intervalo de confiança de 95%.

Figure 4. Demographic variation of Xenopipo atronitens through time. The black line corresponds to the median and gray lines to the confidence interval of 95%.

A estimativa da taxa de crescimento populacional (g) foi correspondente aos resultados das análises anteriores, também evidenciando o crescimento demográfico no passado recente. O valor estimado para g foi 2.18, incluindo valores de 0.29 a 4.94 no intervalo de confiança de 95%, o que é um fraco indício de crescimento demográfico. Isto devido ao intervalo de confiança incluir valores muito próximos de zero, e as estimativas calculadas pelo programa Lamarc serem ligeiramente enviesadas para valores positivos (Kuhner 2006).

Análises em genética da paisagem

Os valores de diversidade nucleotídica (π) e diversidade haplotípica para cada paisagem e cada sítio amostral estão sumarizados nas Tabelas 3 e 4. A região do Apuí, seguida da paisagem do Jaú, apresentaram os maiores valores de diversidade nucleotídica.

Este resultado é devido a ambas as regiões apresentam dois conjuntos de haplótipos distantes na rede (Figura 2).

Como esperado se o contexto (histórico e atual) da paisagem é importante, não foi observada relação entre disponibilidade de habitat de campina em um raio de 5 km, métrica de área (1), e a diversidade nucleotídica (π) de cada população ($F = 0.0545$; $p = 0.81$) quando todos os sítios das três paisagens são considerados na análise (Figura 5a). As populações da paisagem do Jaú apresentaram uma π maior do que as populações da paisagem do Uatumã, em áreas com disponibilidade de habitat similares. Além disso, a π na paisagem do Jaú foi maior do que na paisagem do Aracá, que por sua vez apresenta uma maior disponibilidade de habitat. Porém, quando a análise é realizada com o Aracá e o Uatumã apenas, é observada uma relação positiva entre a área de habitat disponível e a π ($F = 15.628$; $p < 0.01$) (Figura 5b).

Foi realizada a conversão dos valores de área e do índice de proximidade, utilizando o logaritmo na base natural (\ln) para melhor adequação dos dados ao modelo (GLM). Com relação à métrica de área da campina onde está localizado o sítio amostral e o índice de proximidade, os resultados não foram significativos ($F = 0.0614$; $p = 0.8$, e $F = 0.0029$; $p = 0.95$, respectivamente) quando todos os sítios foram considerados na análise (Figuras 5c e 5e). Porém, assim como foi feito anteriormente, ao considerar apenas o Aracá e o Uatumã, há uma relação significativa entre π e a área da campina, e entre π e o índice de proximidade ($F = 6.4752$; $p < 0.05$, e $F = 6.3262$; $p < 0.05$, respectivamente) (Figuras 5d e 5f). Este resultado demonstra que a relação da diversidade genética com as características da paisagem é dependente do contexto da paisagem considerada. Sendo assim, existe uma grande diferença entre o padrão de diversidade na paisagem do Jaú e das outras duas paisagens, tal que diferentes processos podem determinar a diversidade genética nestas paisagens.

Tabela 3. Diversidade nucleotídica (π), diversidade haplotípica (Hd), com os respectivos erros padrão (EP) e número de haplótipos (Hn) referentes a cada paisagem estudada e à região do Apuí.

Table 3. Nucleotide diversity (π), haplotype diversity (Hd), with the respective standard errors (EP) and the number of haplotypes (Hn) within each studied landscape and the Apuí region.

Paisagem	π	EP	Hd	EP	Hn	Número de indivíduos
Aracá	0.00255	0.0002	0.75	0.045	14	60
Jaú	0.00577	0.00084	0.576	0.071	6	41
Uatumã	0.00147	0.0002	0.687	0.061	13	61
Apuí	0.01002	0.00129	0.8	0.1	5	10

Tabela 4. Diversidade nucleotídica (π), haplotípica (Hd) e número de haplótipos (Hn) de cada sítio amostral.

Table 4. Nucleotide diversity (π), haplotype diversity (Hd) and the number of haplotypes (Hn) of each sampling site.

Paisagem	π	Hd	Hn
AR1	0,00243	0,644	4
AR2	0,00361	0,867	6
AR3	0,00243	0,711	4
AR4	0,00221	0,711	4
AR5	0,00324	0,911	7
AR7	0,00199	0,6	3
JA1	0,00775	0,764	5
JA3	0,00494	0,511	3
JA4	0,00619	0,467	2
JA5	0,00491	0,622	3
UT12	0,0014	0,711	4
UT10	0,00193	0,855	6
UT1	0,00133	0,667	5
UT2	0,00209	0,822	5
UT3	0,00044	0,2	2
UT5	0,00155	0,711	4

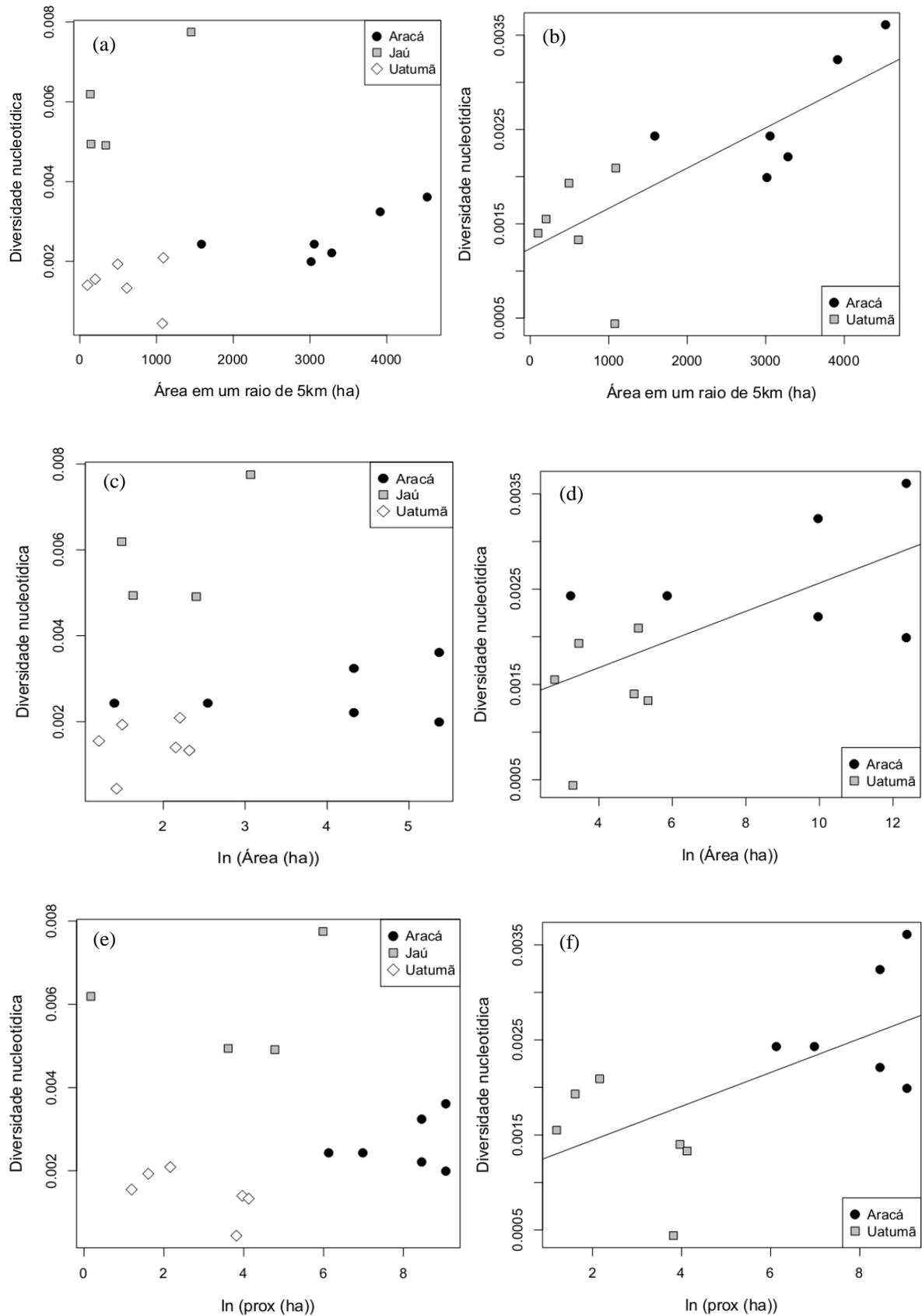


Figura 5. Gráficos apresentando a relação entre as métricas da paisagem e a diversidade nucleotídica (π). (a) relação entre π e a área de campina em um raio de 5 km em torno do sítio amostral, e em (b) a mesma relação, porém excluindo a paisagem do Jaú. (c) relação entre π e a área total da campina onde está localizado o sítio

amostral, e em (d) a mesma relação, porém excluindo a paisagem do Jaú. (e) relação entre π e o índice de proximidade (*Prox*) de cada sítio amostral, e em (f) a mesma relação, porém excluindo a paisagem do Jaú.

*Figure 5. Graphics showing the relation among the landscape metrics and the nucleotide diversity (π). (a) relation among π and the campina area at a 5 km radius around the sampling site, and in (b) the same relation, but excluding the Jaú landscape. (c) relation among π and the total area of the campina where is located the sampling site, and in (d) the same relation, but excluding the Jaú landscape. (e) relation among π and proximity index (*Prox*) of each sampling site, and in (f) the same relation, but excluding the Jaú landscape.*

Discussão

Filogeografia de X. atronitens

As campinas amazônicas apresentam uma distribuição geográfica diferente de outras formações abertas características da América do Sul. Primeiramente, as campinas estão estritamente associadas aos solos de areia branca (Anderson 1981). Devido às características do solo, essencialmente arenoso, é uma formação aberta em uma região dominada por habitats florestais. Sendo assim, sua distribuição é disjunta e insular, ocorrendo em maior extensão e conectividade apenas na região noroeste da Amazônia (Anderson 1981). As campinas, portanto, diferem dos outros tipos de formações abertas da América do Sul, como o cerrado e o chaco, que apresentam uma distribuição mais contínua e, portanto, com maior conectividade (Werneck 2011). Os estudos relacionados ao histórico das campinas concentram-se no final do Pleistoceno e Holoceno (Dubroeuq e Volkoff 1998, Carneiro-Filho *et al.* 2002, Horbe *et al.* 2003, Teeuw e Rhodes 2004). O histórico de formação, distribuição no passado e idade das campinas amazônicas é desconhecido. No entanto, foi identificada a gênese recente de áreas de campina nos estudos realizados, a qual pode estar relacionada aos períodos glaciais (Carneiro-Filho *et al.* 2002, Horbe *et al.* 2003, Teeuw e Rhodes 2004).

Como é possível observar na rede de haplótipos (Figura 2), *Xenopipo atronitens* apresentou conjuntos de haplótipos geograficamente estruturados, apesar da baixa divergência genética. Estes conjuntos de haplótipos estão delimitados por grandes rios Amazônicos de água branca. Não são conhecidos outros estudos filogeográficos envolvendo espécies de campina, e a distribuição peculiar deste ambiente torna difícil a comparação com outros ambientes de fisionomia semelhante. Ainda assim, parte do padrão filogeográfico de *X. atronitens* é coerente com o observado na distribuição da diversidade genética em espécies das florestas de terra-firme da Amazônia (Marks *et al.* 2002, Aleixo 2004, Ribas *et al.* 2012),

porém, com menor isolamento do que é observado nas espécies de terra-firme. Diversas espécies de terra-firme já estudadas apresentam linhagens ou espécies delimitadas pelos maiores rios da Amazônia (Aleixo e Rossetti 2007), que por sua vez caracterizam as áreas de endemismo da região (Cracraft 1985). Este padrão de distribuição da diversidade também foi observado, em parte, para as linhagens de *Xenopipo atronitens*, porém a divergência genética entre os mesmos é pequena quando comparado às espécies de terra-firme. Em espécies de terra-firme é comum observar grupos monofiléticos e com alto suporte nas análises filogenéticas (Marks *et al.* 2002, Aleixo 2004, Ribas *et al.* 2012), diferentemente dos resultados do presente estudo. Por outro lado, espécies de áreas abertas apresentam, na maioria das vezes, menor divergência genética (*e.g.* Bates *et al.* 2003, Cabanne *et al.* 2011) e não é comum ser observada estruturação genética como observado para *Xenopipo*, em que há pouco ou nenhum compartilhamento de haplótipos entre áreas. Assim, a combinação entre processos históricos e ecológicos têm contribuído para a estruturação populacional de *Xenopipo*, moldando o padrão filogeográfico da espécie, com populações geograficamente estruturadas, mas com baixa divergência genética.

A área de distribuição ancestral de uma espécie está normalmente associada a uma maior diversidade genética e uma posição central dos haplótipos dessa região na rede de haplótipos (Templeton 1998). Apesar da população com maior diversidade nucleotídica ser a do Apuí, os haplótipos centrais da rede são exclusivos do escudo das Guianas. Além disso, a alta diversidade genética do Apuí e também do Jaú podem estar associadas à processos históricos, como a ocorrência de fluxo gênico com outras áreas ou estas terem mais de uma origem. Isto devido a ambas as regiões apresentarem haplótipos distribuídos em dois conjuntos distintos e terminais na rede. A espécie filogeneticamente mais próxima de *X. atronitens* é *X. uniformis*, uma espécie endêmica dos Tepuis, formação vizinha ao Escudo das Guianas (Capítulo 1). As outras três espécies do gênero (*X. unicolor*, *X. flavicapilla* e *X. holochlora*) estão distribuídas na região Andina. Sendo assim, com base na rede de haplótipos e na distribuição da espécie-irmã de *X. atronitens*, estima-se que a distribuição ancestral da linhagem que deu origem à *X. atronitens* seria na região do escudo das Guianas.

A separação entre as espécies *X. atronitens* e *X. uniformis* ocorreu durante o Mioceno, tendo o processo culminado há aproximadamente 6.9 milhões de anos atrás (intervalo de confiança de 95% = 10.9 – 6.9 m.a.) (Capítulo 1). Considerando uma origem antiga como observado para *X. atronitens*, o esperado é que haja grande variabilidade intraespecífica se há estruturação geográfica entre as linhagens. Porém, a diversidade intraespecífica é

relativamente baixa e a estruturação geográfica em *X. atronitens* somente foi distinguida a partir da rede de haplótipos, evidenciando populações próximas, enquanto que filogeograficamente estruturadas em diferentes regiões da Amazônia.

É possível que as diferentes formações florestais (várzea e igapó, que são florestas inundáveis, e as matas de terra-firme, não inundáveis) apresentem diferente permeabilidade à dispersão de *X. atronitens*. Neste sentido, as florestas de igapó e de terra-firme se mostraram permeáveis ao fluxo gênico, tanto em uma escala ampla (análise filogeográfica), quanto na escala das paisagens. Aparentemente, apenas quando a distância entre as margens dos rios de água preta é somada à distância geográfica entre localidades, pode-se verificar algum efeito barreira, pois não há estruturação entre populações separadas pelos rios Aracá, Jaú e Uatumã, enquanto que é observada restrição ao fluxo gênico entre populações separadas pelo rio Negro. *Xenopipo atronitens* já foi registrado em florestas de igapó (Oren 1981, Borges 2004, Pinheiro e Dornas 2009), porém nenhum registro para as florestas de terra-firme e de várzea foram encontrados na literatura. Isto explica em parte a maior permeabilidade das florestas de igapó, mas não das matas de terra-firme. As florestas de terra-firme apresentam uma grande heterogeneidade ambiental, tal que são encontrados associados a ela, enclaves de campinarana. A presença deste tipo de ambiente pode estar relacionada à permeabilidade das florestas de terra-firme, facilitando a dispersão de indivíduos de *Xenopipo*.

Por outro lado, o padrão filogeográfico de *X. atronitens* também pode ter sido causado através de um isolamento recente das populações. Assim, uma população antes panmítica teria se fragmentado recentemente a partir de alterações na paisagem. Isto também poderia ocasionar as separações sutis entre linhagens e a baixa diversidade genética. Este cenário é possível considerando o proposto por Haffer (1969) para os refúgios florestais do Pleistoceno. A expansão das áreas abertas poderia favorecer a conectividade entre as populações de *Xenopipo* levando à formação de uma população panmítica. Neste caso, é necessário considerar que *X. atronitens* é capaz de se movimentar através de áreas de savana, que segundo Haffer (1969) dominariam parte da paisagem Amazônica. Sendo assim, este processo de formação de uma população panmítica e posterior isolamento teria se repetido ao longo de todo o Pleistoceno acompanhando as variações climáticas do período.

O compartilhamento de haplótipos entre as populações do Jaú e aquelas do Aracá e do Uatumã pode ser resultado tanto da maior permeabilidade dos ambientes de igapó, quanto das características do rio Negro. O rio Negro possui ao longo de seu curso diversos estreitamentos

de canais e formação de ilhas. Dois importantes estreitamentos em conjunto com um complexo de ilhas são conhecidos, o de Mariuá e o de Anavilhanas (Latrubesse e Franzinelli 2005). O complexo de Mariuá é formado antes do encontro entre os rios Branco e Negro, e possui aproximadamente 275 km de extensão. O complexo de Anavilhanas encontra-se mais próximo ao delta do rio Negro e é constituído de grandes ilhas (Latrubesse e Franzinelli 2005). A presença destes estreitamentos de canais e das ilhas podem facilitar a dispersão de indivíduos de *X. atronitens* entre margens opostas do rio. A formação destes arquipélagos é bastante recente, tendo ocorrido entre aproximadamente 14 até 1 mil anos atrás (Latrubesse e Franzinelli 2005). É possível que devido à formação desta conexão entre margens do rio Negro a partir dos arquipélagos tenha favorecido o estabelecimento do fluxo gênico recente entre as populações do Jaú e as das margens opostas do rio Negro. Ou ainda, a colonização da região do Jaú pode ser extremamente recente, a partir da imigração de indivíduos advindos da região das Guianas e do INB.

Por outro lado, as florestas de várzea, associadas a rios de água branca, parecem constituir uma barreira ao fluxo gênico. As linhagens mais diferenciadas de *X. atronitens*, com a maior distância genética, são separadas pelos rios Branco, Amazonas e Madeira, todos rios de água branca. Portanto, as florestas de várzea parecem ter constituído, em conjunto com a largura entre as margens dos rios e a distância geográfica, as principais barreiras ao fluxo gênico entre populações de *X. atronitens*.

Alonso e Whitney (2003), a partir de estudos da comunidade de aves associada às áreas de areia branca no Peru e de dados geológicos, sugerem o escudo das Guianas como a região ancestral dos elementos da avifauna das campinas do Peru. Segundo os autores, existia uma conexão entre a região das Guianas e o oeste da Amazônia até a base dos Andes. Esta conexão se daria através de corredores arenosos no sul da Venezuela, norte do Brasil e oeste da Colômbia. Após o isolamento edáfico entre estas áreas, fatores como a capacidade de dispersão e adaptação a novas condições e os diversos níveis de fragmentação entre populações atuaram moldando a comunidade de aves das campinas do sudoeste da Amazônia (Alonso e Whitney 2003). No presente estudo, as populações do extremo oeste da distribuição de amostras encontram-se relacionadas às populações do sudeste da Amazônia. É possível que a distribuição ancestral de *X. atronitens* seja no escudo das Guianas corroborando o proposto por Alonso e Whitney (2003) para a origem das espécies associadas às campinas e campinaranas. Porém, a dispersão dos indivíduos e colonização das áreas do sudoeste da

Amazônia pode ter ocorrido a partir do sudeste, como parece ser o caso de *Xenopipo*, e não pelo noroeste como proposto por estes autores.

Variação demográfica durante o último máximo glacial

Parte dos testes realizados apresentou como resultado a expansão demográfica das populações de *X. atronitens* no passado recente. O gráfico gerado pelo Bayesian Skyline Plot sugere que a expansão demográfica teve início há aproximadamente 25,000 anos. A expansão demográfica observada pode ser explicada pela expansão recente das áreas de campina. A maioria dos estudos relacionados à formação dos solos arenosos na Amazônia concentra-se ao norte da região, principalmente na bacia do rio Negro (Dubroeuq e Volkoff 1998, Carneiro-Filho *et al.* 2002, Horbe *et al.* 2003, Teeuw e Rhodes 2004). Os estudos de Horbe *et al.* (2003) e Carneiro-Filho *et al.* (2002) evidenciam uma gênese recente (final do Pleistoceno e Holoceno) de áreas de areia branca na região ao norte de Manaus (AM) e um aumento na atividade de paleodunas ao norte de Barcelos, respectivamente. As populações de *X. atronitens* localizadas no escudo das Guianas (Uatumã) apresentaram evidências de crescimento populacional no passado recente. Sendo assim, esta expansão pode estar relacionada a um aumento na distribuição das áreas de campina ocasionado pelo desenvolvimento recente de áreas de solo arenoso na região. Neste caso, há uma maior probabilidade da gênese e da expansão de áreas de solo arenoso ocorrerem durante ciclos glaciais, relacionadas a um aumento na velocidade dos ventos, aridez e redução na cobertura vegetal, comumente associados aos períodos de clima seco (Carneiro-Filho *et al.* 2002, Teeuw e Rhodes 2004). Porém, assim como as análises paleoecológicas, os estudos sobre a história geológica da Amazônia ainda são incipientes (Rossetti *et al.* 2005) e, apesar de demonstrarem uma estreita relação com a formação dos padrões de biodiversidade na região, muitos estudos ainda são necessários para compreender os padrões e processos resultantes desta interação (Rossetti *et al.* 2005, Hoorn e Wesselingh 2010).

Os dados obtidos a respeito das variações climáticas ocorridas durante o último máximo glacial (LGM), assim como seus efeitos sobre os organismos, são baseados principalmente nas regiões temperadas (Hewitt 2001, Clark *et al.* 2009). Ainda existem poucas evidências de seus efeitos na região Amazônica (Hewitt 2000, Behling *et al.* 2010), o que gerou muitos debates desde a concepção da hipótese dos refúgios por Haffer (1969). Haffer (1969) propôs que durante os ciclos glaciais do Pleistoceno, assim com nas regiões

temperadas, as florestas tropicais teriam retraído e se fragmentado, sendo substituídas por ambientes de savana. Os debates deixaram de se concentrar nos ciclos glaciais no momento em que, a partir de análises utilizando datação molecular, foi observado que a origem das espécies na Amazônia não está concentrada somente no Pleistoceno (Rull 2008, Antonelli *et al.* 2011). Entretanto, a organização da diversidade genética intraespecífica pode ter sido influenciada pelos ciclos glaciais, como foi recentemente proposto para anuros da Floresta Atlântica (Carnaval *et al.* 2009). O importante é que, apesar de não ser considerado o principal fator desencadeador de processos de especiação, os ciclos climáticos do Pleistoceno podem também ter afetado a distribuição e diversidade genética dos organismos na Amazônia (Bonaccorso *et al.* 2006).

Neste sentido, a datação para expansão demográfica de *X. atronitens* coincide com o período de maior extensão das calotas polares durante o LGM, que ocorreu entre 26.5 e 19 mil anos atrás (Clark *et al.* 2009). *Xenopipo atronitens* apresenta uma preferência por áreas de vegetação arbustiva densa, e áreas de transição campina/campinarana (Diaz *et al.* 1995). Um aumento da extensão das áreas abertas e menos úmidas na Amazônia, fisionomicamente semelhantes às campinas e campinaranas, como áreas de savana, pode favorecer a conectividade entre populações de *X. atronitens* anteriormente isoladas. Estas áreas de vegetação fisionomicamente semelhante às campinas podem ser mais permeáveis à movimentação da espécie do que áreas de vegetação florestal. Sendo assim, se estas considerações estiverem corretas, a datação para a expansão demográfica de *X. atronitens* e sua relação com o LGM apontam para mudanças na paisagem amazônica durante esse período. Mais estudos, como p.ex., a modelagem de nicho, podem ajudar a compreender como alterações na paisagem podem ter influenciado a expansão demográfica de *X. atronitens* durante o LGM.

Processos que influenciam a diversidade genética local em X. atronitens

Bull *et al.* (2011) enfatizam a importância de se estudar diferentes paisagens, replicando a amostragem, para então compreender como os atributos da paisagem são capazes de influenciar o fluxo gênico. Esta observação foi contemplada pelo presente estudo, pois as paisagens com características distintas apresentaram padrões diferentes de diversidade genética. Os resultados em conjunto para as paisagens do Aracá e Uatumã evidenciaram como as características da paisagem (área da campina, disponibilidade de habitat de campina e

presença de outras campinas próximas) podem influenciar a diversidade genética das populações de *X. atronitens*. Porém, as populações do Jaú não responderam a estas mesmas características da paisagem. Por outro lado, as populações da paisagem do Jaú evidenciaram a importância também de processos históricos em moldar a diversidade genética. Isto se torna mais evidente a partir das análises filogeográficas que evidenciam o compartilhamento de haplótipos entre o Jaú e as paisagens do Aracá e Uatumã, e o isolamento entre estas duas últimas. Assim, há provavelmente a ocorrência de fluxo gênico entre o Jaú e as outras duas paisagens, o que influenciou a alta diversidade genética do Jaú, apesar da pouca disponibilidade de áreas de campina.

Apesar de determinados atributos da paisagem influenciarem a diversidade genética, não foi observada estruturação populacional. Em cada uma das três paisagens estudadas ocorre o compartilhamento de haplótipos entre sítios amostrais (Apêndice C). Apesar de não haver restrição ao fluxo gênico, fatores como a proximidade a outras campinas favoreceram a diversidade genética. Sendo assim, paisagens mais conectadas, como Aracá, favorecem a dispersão de indivíduos entre campinas, possibilitando, desta forma, o aumento da diversidade genética nestas regiões. Por outro lado, a ausência de estrutura pode ser um efeito do isolamento recente. Neste caso, ainda haverá tempo suficiente para que haplótipos únicos fossem fixados em cada população.

Diferentemente do esperado, as populações de *X. atronitens* nas campinas, que são ambientes naturalmente fragmentados, não apresentaram nenhuma estruturação populacional na escala da paisagem. Em outros ambientes, que por sua vez foram fragmentados pela atividade humana, as espécies de aves estudadas apresentaram uma redução no fluxo gênico entre populações e na diversidade genética (Pavlacky *et al.* 2009, Shanahan *et al.* 2011). O contrário é observado no presente trabalho, em que na paisagem do Jaú, a qual possui baixa disponibilidade de habitat de campina e um elevado grau de isolamento, a diversidade genética foi a maior entre as três paisagens. Em ambientes naturalmente fragmentados as espécies podem estar mais adaptadas a transpor áreas de não habitat. Sendo assim, populações em habitats isolados apresentariam um constante fluxo gênico com populações de outras áreas, levando à manutenção da diversidade genética sem a ocorrência de estruturação populacional. Nestes ambientes naturalmente fragmentados, os fatores históricos têm grande relevância, pois as áreas estão isoladas há muito tempo. Por outro lado, em paisagens antropogênicas, processos ecológicos, ou seja, atuais, são determinantes na distribuição da diversidade genética e estruturação das populações. Mas é justamente a interação entre os

processos ecológicos e evolutivos que geram os padrões de diversidade tal qual são observados atualmente (Bates 2002), por isso a importância de realizar estudos em diferentes escalas temporais e espaciais.

Agradecimentos

Às coleções de aves do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, do Museu Paraense Emílio Goeldi e do American Museum of Natural History pelo fornecimento das amostras e sequências utilizadas neste trabalho. As permissões para coleta e transporte de material biológico foram fornecidas pelo Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e dos Recursos Naturais (IBAMA). Ao apoio logístico fornecido pela Fundação Vitória Amazônica (FVA) e pelo Instituto de Conservação e Desenvolvimento Sustentável do Amazonas (IDESAM) nos trabalhos de campo. À CAPES pela concessão da bolsa de estudos ao primeiro autor. À FAPEAM e à FAPESP pelo financiamento do projeto. À todas as pessoas que auxiliaram nos trabalhos de campo e laboratório.

Referências bibliográficas

- Ab'Sáber, A.N. (2004). *A Amazônia: do discurso à práxis*. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo.
- 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. e Rossetti, D.F. (2007). Avian gene trees, landscape evolution, and geology: towards a modern synthesis of Amazonian historical biogeography? *J. Ornithol.*, 148:443-453.
- Alonso, J.A. e Whitney, B.M. (2003). New distributional records of birds from white-sand forests of the Northern Peruvian Amazon, with implications for biogeography of Northern South America. *Condor*, 105:552-566.
- Anderson, A.B. White-sand vegetation of Brazilian Amazonia. *Biotropica*, 13:199-210.

- Anhuf, D.; Ledru, M.P.; Behling, H.; Cruz, F.W.; Cordeiro, R.C.; van der Hammen, T.; Karmann, I.; Marengo, J.A.; Oliveira, P.E.; Pessenda, L.; Siffedine, A.; Albuquerque, A.L. e Dias, P.L.S. (2006). *Palaeogeog. Palaeocl.*, 239:510-527.
- Antonelli, A.; Quijada-Mascareñas, A.; Crawford, A.J.; Bates, J.M.; Velazco, P.M. e Wüster, W. (2010). Molecular studies and phylogeography of Amazonian tetrapods and their relation to geological and climatic models, p. 386-404. Em: Hoorn, C. e Wesselingh, F.P. (eds.). *Amazonia: landscape and species evolution*. Oxford: Blackwell Publishing.
- Bates, J.M. (2002). The genetic effects of forest fragmentation on five species of Amazonian birds. *J. Avian Biol.*, 33:276-294.
- Bates, J.M.; Cadena, C.D.; Tello, J.G. e Brumfield, R.T. (2008). Diversification in the Neotropics: phylogenetic patterns and historical processes. *Ornitol. Neotropical*, 19:427-432.
- Bates, J.M.; Tello, J.G. e Silva, J.M.C. (2003). Initial assessment of genetic diversity in ten bird species of South American Cerrado. *Stud. Neotrop. Fauna E.*, 38:87-94.
- Behling, H.; Bush, M. e Hooghiemstra, H. (2010). Biotic development of Quaternary Amazonia: a palynological perspective, p. 335-345. Em: Hoorn, C. e Wesselingh, F.P. (eds.). *Amazonia: landscape and species evolution*. Oxford: Blackwell Publishing.
- Beerling, D.J. e Mayle, F.E. (2006). Contrasting effects of climate and CO₂ on Amazonian ecosystems since the last glacial maximum. *Glob. Change Biol.*, 12:1977-1984.
- Bonaccorso, E.; Koch, I. e Peterson, A.T. (2006). Pleistocene fragmentation of Amazon species' ranges. *Diversity Distrib.*, 12:157-164.
- Borges, S.H. (2004). Species poor but distinct: bird assemblages in white-sand vegetation in Jaú National Park, Brazilian Amazon. *Ibis*, 146:114-124.
- Bull, R.A.S.; Cushman, S.A.; Mace, R.; Chilton, T.; Kendall, K.C.; Landguth, E.L.; Schwartz, M.K.; McKelvey, K.; Allendorf, F.W. e Luikart, G. (2011). Why replication is important in landscape genetics: American black bear in the Rocky Mountains. *Mol. Ecol.*, 20:1092-1107.
- Bush, M. (1994). Amazonian speciation: a necessarily complex model. *J. Biogeogr.*, 21:5-17.

- Bush, M. e Oliveira, P.E. (2006). The rise and fall of the Refugial Hypothesis of Amazonian speciation: a paleo-ecological perspective. *Biota Neotropica*, 6:s.p.
- Cabanne, G.S.; D'Horta, F.M.; Meyer, D.; Silva, J.M.C. e Miyaki, C.Y. (2011). Evolution of *Dendrocolaptes platyrostris* (Aves: Furnariidae) between the South American open vegetation corridor and the Atlantic Forest. *Biol. J. Linn. Soc.*, 103:801-820.
- Carnaval, A.C.; Hickerson, M.J.; Haddad, C.F.B.; Rodrigues, M.T. e Moritz, C. (2009). Stability predicts genetic diversity in the Brazilian Atlantic forest hotspot. *Science*, 323:785-789.
- Carneiro-Filho, A.; Schwartz, D.; Tatum, S.H. e Rosique, T. (2002). Amazonian Paleodunes Provide Evidence for Drier Climate Phases during the Late Pleistocene-Holocene. *Quaternary Res.*, 58:205-209.
- Clark, P.U.; Dyke, A.S.; Shakun, J.D.; Carlson, A.E.; Clark, J.; Wohlfarth, B.; Mitrovica, J.X.; Hostetler, S.W. e McCabe, A. M. (2009). The last glacial maximum. *Science*, 325:710-714.
- Clement, M.; Posada, D. e Crandall, K.A. (2000). TCS: a computer program to estimate gene genealogies. *Mol. Ecol.*, 9:1657-1660.
- Colinvaux, P.A.; Oliveira, P.E.; Moreno, J.E.; Miller, M.C. e Bush, M.B. (1996). A long pollen Record from lowland Amazonia: Forest and colling in glacial times. *Science*, 274:85-88.
- Cowling, S.A.; Maslin, M.A. e Sykes, M.T. (2001). Paleovegetation simulations of lowland Amazonia and implications for Neotropical allopatry and speciation. *Quaternary Res.*, 55:140-149.
- Cracraft, J. (1985). Historical biogeography and patterns of differentiation within the South American avifauna: areas of endemism. *Ornithol. Monographs*, 36:49-84.
- Crawley, M.J. (2007). *The R book*. West Sussex: John Wiley & Sons Ltd.
- Diaz, M.; Stiles, F.G. e Telleria, J.L. (1995). La comunidad de Aves en un gran claro permanente de la selva Amazonica: la Sierra de Chiribiquete (Colombia). *Ardeola*, 42:191-200.

- Drummond, A.J.; Suchard, M.A.; Xie, D. e Rambaut, A. Bayesian phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7. *Mol. Biol. Evol.* In press.
- Dubroeuq, D. e Volkoff, B. (1998). From Oxisols to Spodosols and Histosols: evolution of the soil mantles in the Rio Negro basin (Amazonia). *Catena*, 32:245-280.
- Environmental Systems Research Institute (ESRI). (2005). ArcGIS, version 9.1. Environmental Systems Research Institute, Incorporated, Redlands, USA.
- Excoffier, L.; Laval, G. e Schneider, S. (2005). Arlequin ver. 3.0: an integrated software package for population genetics data analysis. *Evol. Bioinformatics Online*, 1:47-50.
- Excoffier, L.; Smouse, P. e Quattro, J. (1992). Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, 131:479-491.
- Fu, Y.X. (1997). Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking, and background selection. *Genetics*, 147:915-925.
- Haffer, J. (1969). Speciation in Amazonian forest birds. *Science*, 165:131-137.
- Hall, T.A. (1999). BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucl. Acids. Symp. Ser.*, 41:95-98.
- Hewitt, G. (2000). The genetic legacy of the Quaternary ice ages. *Nature*, 405:907-913.
- Hewitt, G. (2001). Speciation, hybrid zones and phylogeography - or seeing genes in space and time. *Mol. Ecol.*, 10:537-549.
- Hilty, S.L. e Brown, W.L. (1986). *Birds of Colombia*. Princeton: Princeton University Press.
- Hoorn, C. e Wesselingh, F.P. (2010). Introduction: Amazonia, landscape and species evolution, p.1-6. Em: Hoorn, C. e Wesselingh, F.P. (eds.). *Amazonia: landscape and species evolution*. Oxford: Blackwell Publishing.
- Hoorn, C.; Wesselingh, F.P.; ter Steege, H.; Bermudez, M.A.; Mora, A.; Sevink, J.; Sanmartín, I.; Sanchez-Mesenguier, A.; Anderson, C.L.; Figueiredo, J.P.; Jaramillo, C.; Riff, D.; Negri, F.R.; Hooghiemstra, H.; Lundberg, J.; Stadler, T.; Särkinen, T. e Antonelli, A. (2010). Amazonia through time: Andean uplift, climate change, landscape evolution, and biodiversity. *Science*, 330:927-931.

- Horbe, A.M.C.; Horbe, M.A. e Suguio, K. (2003). Origem dos depósitos de areias brancas no nordeste do Amazonas. *Rev. Bras. Geociências*, 33:41-50.
- Kuhner, M.K. (2006). LAMARC 2.0: maximum likelihood and bayesian estimation of population parameters. *Bioinformatics*, 22:768-770.
- Latrubesse, E. e Franzinelli, E. (2005). The late Quaternary evolution of the Negro River, Amazon, Brazil: Implications for island and floodplain formation in large anabranching tropical systems. *Geomorphology*, 70:372-397.
- Librado, P. e Rozas, J. (2009). DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 25:1451-1452.
- Marks, B.D.; Hackett, S.J. e Capparella, A.P. (2002). Historical relationships among Neotropical lowland forest areas of endemism as determined by mitochondrial DNA sequence variation within the Wedge-billed Woodcreeper (Aves: Dendrocolaptidae: *Glyphorynchus spirurus*). *Mol. Phylogenet. Evol.*, 24:153-167.
- McGarigal, K.; Cushman, S.A.; Neel, M.C.; e Ene, E. (2002). FRAGSTATS v3: Spatial Pattern Analysis Program for Categorical Maps. Computer software program produced by the authors at the University of Massachusetts, Amherst. Disponível no sítio: <http://www.umass.edu/landeco/research/fragstats/fragstats.html>.
- Moritz, C.; Patton, J.L.; Schneider, C.J. e Smith, T.B. (2000). Diversification of rainforest faunas: an integrated molecular approach. *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, 31:533-563.
- Oren, D.C. (1981). *Zoogeographic analysis of the white sand campina avifauna of Amazonia*. Tese de Doutorado, Harvard University, Cambridge, Massachusetts, 159pp.
- Pavlacky, D.C.; Goldizen, A.W.; Prentis, P.J.; Nicholls, J.A. e Lowe, A.J. (2009). A landscape genetics approach for quantifying the relative influence of historic and contemporary habitat heterogeneity on the genetic connectivity of a rainforest bird. *Mol. Ecol.*, 18:2945-2960.
- Pinheiro, R.T. e Dornas, T. (2009). Novos registros ornitológicos para o Parque Estadual do Cantão : distribuição e conservação da avifauna do ecótono Amazônia-Cerrado. *Rev. Bras. Ornitol.*, 17:73-76.

- Platt, A.; Woodhall, R. e George, A. (2007). Improved DNA sequencing quality and efficiency using an optimized fast cycle sequencing protocol. *BioTechniques*, 43:58-62.
- Poletto, F. e Aleixo, A. (2005). Implicações biogeográficas de novos registros ornitológicos em um enclave de vegetação de campina no sudoeste da Amazônia brasileira. *Rev. Bras. Zool.*, 22:1196-1200.
- Posada, R. e Crandall, K.A. (1998). MODELTEST: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics*, 14:817-818.
- Posada, D. e Crandall, K.A. (2001). Intraspecific gene genealogies: trees grafting into networks. *Trends Ecol. Evol.*, 16:37-45.
- R Development Core Team. (2009). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0. Disponível no sítio: <http://www.R-project.org/>.
- Ramos-Onsins, S.E. e Rozas, J. (2002). Statistical properties of new neutrality tests against population growth. *Mol. Biol. Evol.*, 19:2092-2100.
- Ribas, C.C.; Aleixo, A.; Nogueira, A.C.R.; Miyaki, C.Y. e Cracraft, J. (2012). A palaeobiogeographic model for biotic diversification within Amazonia over the past three million years. *P. Roy. Soc. Lond. B Bio.*, 279:681-689.
- Ridgely, R.S. e Tudor, G. (2009). Field guide to the songbirds of South America: the passerines. Austin: University of Texas Press.
- Rossetti, D.F.; Toledo, P.M.; Moraes-Santos, H.M. e Santos, A.E.A. (2004). Reconstructing habitats in central Amazonia using megafauna, sedimentology, radiocarbon, and isotope analyses. *Quaternary Res.*, 61:289-300.
- Rossetti, D.F.; Toledo, P.M. e Góes, A.M. (2005). New geological framework for Western Amazonia (Brazil) and implications for biogeography and evolution. *Quaternary Res.*, 63:78-89.
- Rull, V. (2008). Speciation timing and Neotropical biodiversity: the Tertiary-Quaternary debate in the light of molecular phylogenetic evidence. *Mol. Ecol.*, 17:2722-2729.

- Rull, V. (2011). Neotropical biodiversity: timing and potential drivers. *Trend Ecol. Evol.*, 26:508-513.
- Shanahan, D.F.; Possingham, H.P. e Riginos, C. (2011). Models based on individual level movement predict spatial patterns of genetic relatedness for two Australian forest birds. *Landscape Ecol.*, 26:137-148.
- Sick, H. (1997). *Ornitologia brasileira*. Rio de Janeiro: Nova Fronteira.
- Sorenson, M.D.; Ast, J.C.; Dimcheff, D.E.; Yuri, T. e Mindell, D.P. (1999) Primers for a PCR-based approach to mitochondrial genome sequencing in birds and other vertebrates. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 12:105-114.
- Swofford, D. L. (2002). PAUP. Phylogenetic analysis using parsimony and other methods. Sunderland, MA: Sinauer Associates.
- Tajima, F. (1989). Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics*, 123:585-595.
- Tamura, K.; Peterson, D.; Peterson, N.; Stecher, G.; Nei, M. e Kumar, S. (2011). MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Mol. Biol. Evol.*, 28:2731-2739.
- Teeuw, R.M. e Rhodes, E.J. (2004). Aeolian activity in northern Amazonia: optical dating of Late Pleistocene and Holocene palaeodunes. *J. Quaternary Sci.*, 19:49-54.
- Templeton, A.R. (1998). Nested clade analyses of phylogeographic data: testing hypotheses about gene flow and population history. *Mol. Ecol.*, 7:381-397.
- Toumisto, H. (2007). Interpreting the biogeography of South America. *J. Biogeogr.*, 34:1294-1295.
- Vicentini, A. (2004). A vegetação ao longo de um gradiente edáfico no Parque Nacional do Jaú. Em: Borges, S.H.; Iwanaga, S.; Durigan, C.C. e Pinheiro, M.R. (eds.). *Janelas para a Biodiversidade no Parque Nacional do Jaú: uma estratégia para o estudo da biodiversidade na Amazônia*. Manaus: Fundação Vitória Amazônica.
- Weir, J.T. e Schluter, D. (2008). Calibrating the avian molecular clock. *Mol. Ecol.*, 17:2321-2328.

Werneck, F.P. (2011). The diversification of eastern South American open vegetation biomes: historical biogeography and perspectives. *Quaternary Sci. Rev.*, 30:1630-1648.

Síntese

A partir da análise filogenética dos Pipridae, foi observado que *Xenopipo atronitens* e *X. uniformis* são espécies irmãs. As duas espécies estão distribuídas no escudo das Guianas. *Xenopipo uniformis* é endêmica dos Tepuis, enquanto *X. atronitens* ocorre em toda a Amazônia nos ambientes associados aos solos de areia branca. A separação entre as duas espécies ocorreu entre 10.9 e 6.9 milhões de anos atrás, durante o Mioceno. Durante este período os Tepuis estavam em intensa erosão, que levou ao isolamento das cadeias de montanha observadas atualmente (Maguire 1970). Provavelmente a separação entre as duas espécies ocorreu a partir do isolamento altitudinal devido à formação dos escarpamentos dos Tepuis e consequente vicariância. Outro resultado que reforça esta hipótese, em que o ancestral destas espécies ocorre no escudo das Guianas (Tepuis), é a rede de haplótipos de *X. atronitens*. O haplótipo central e mais comum na rede está distribuído no escudo das Guianas, sendo assim, estima-se que a distribuição ancestral da linhagem que deu origem à *X. atronitens* seria nesta mesma região.

A relação de *X. unicolor* com as outras espécies de *Xenopipo* não foi resolvida a partir da análise realizada. E ainda, a posição do gênero na família permanece incerta. A adição das outras duas espécies do gênero (*flavicapilla* e *holochlora*) podem ajudar a resolver tais incertezas, assim como determinar a validade taxonômica do gênero.

Xenopipo atronitens apresentou uma baixa diversidade genética, apresentando pouca resolução na análise filogenética. Mas, a partir da rede de haplótipos foi possível observar estruturação espacial da diversidade genética na espécie. Houve a separação entre as populações que ocorrem nas regiões do interflúvio entre os rios Negro e Branco, no escudo das Guianas a partir da margem esquerda dos rios Negro e Branco, ao norte e sul do rio Amazonas, e por fim, a leste e a oeste do rio Madeira. Desta forma, a principal barreira ao fluxo gênico entre populações são os ambientes de várzea associados aos rios de água branca. Este padrão observado para *X. atronitens* também ocorre (com algumas diferenças) em espécies de aves de terra-firme da Amazônia, apesar de que estas espécies costumam apresentar clados monofiléticos e maior diversidade genética (Marks *et al.* 2002, Aleixo 2004, Ribas *et al.* 2012). Comparado com espécies de áreas abertas, *X. atronitens* apresenta maior diversidade genética e populações mais estruturadas (*e.g.* Cabanne *et al. in press*). Além disso, também foi observado isolamento por distância entre populações de *X. atronitens*.

As populações de *X. atronitens* apresentaram crescimento demográfico no passado recente, o qual teve seu início estimado para aproximadamente 25,000 anos atrás. Esta estimativa é correspondente com o último máximo glacial (Clark *et al.* 2010). Estima-se que um aumento nas áreas de vegetação aberta na Amazônia durante os ciclos glaciais pode favorecer a conectividade entre campinas. Esta maior conectividade favoreceria a expansão populacional da espécie durante os ciclos glaciais do Pleistoceno. Por outro lado, as áreas de solo de areia branca também apresentaram uma expansão no passado recente (Carneiro-Filho *et al.* 2002, Horbe *et al.* 2003). Sendo assim, esta expansão (que por sua vez também pode estar relacionada aos ciclos glaciais) poderia favorecer o crescimento demográfico de *X. atronitens* através da colonização de novas áreas.

Por fim, as análises da paisagem permitiram observar a importância relativa de processos históricos e ecológicos na formação e manutenção da diversidade genética em *Xenopipo*. A região do Jaú tem influência histórica das regiões do Aracá e Uatumã, o que provavelmente gerou a alta diversidade genética nesta região. Já a diversidade genética nas outras duas regiões (Aracá e Uatumã), foi influenciada positivamente por características da paisagem, como a área das campinas e a proximidade a outras campinas. Sendo assim, as análises filogeográficas e em genética da paisagem permitiram distinguir entre os processos ecológicos e evolutivos que estariam caracterizando a diversidade genética em *X. atronitens*.

Referências bibliográficas

- Ab'Sáber, A.N. (2004). *A Amazônia: do discurso à práxis*. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo.
- 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. e Rossetti, D.F. (2007). Avian gene trees, landscape evolution, and geology: towards a modern synthesis of Amazonian historical biogeography? *J. Ornithol.*, 148:443-453.
- Alonso, J.A. e Whitney, B.M. (2003). New distributional records of birds from white-sand forests of the Northern Peruvian Amazon, with implications for biogeography of Northern South America. *Condor*, 105:552-566.
- Anderson, A.B. White-sand vegetation of Brazilian Amazonia. *Biotropica*, 13:199-210.
- Anhuf, D.; Ledru, M.P.; Behling, H.; Cruz, F.W.; Cordeiro, R.C.; van der Hammen, T.; Karmann, I.; Marengo, J.A.; Oliveira, P.E.; Pessenda, L.; Siffedine, A.; Albuquerque, A.L. e Dias, P.L.S. (2006). *Palaeogeog. Palaeocl.*, 239:510-527.
- Antonelli, A.; Quijada-Mascareñas, A.; Crawford, A.J.; Bates, J.M.; Velazco, P.M. e Wüster, W. (2010). Molecular studies and phylogeography of Amazonian tetrapods and their relation to geological and climatic models, p. 386-404. Em: Hoorn, C. e Wesselingh, F.P. (eds.). *Amazonia: landscape and species evolution*. Oxford: Blackwell Publishing.
- Avise, J.C. (2000). *Phylogeography: the history and formation of species*. Cambridge: Harvard University Press.
- Bates, J.M. (2002). The genetic effects of forest fragmentation on five species of Amazonian birds. *J. Avian Biol.*, 33:276-294.
- Bates, J.M.; Cadena, C.D.; Tello, J.G. e Brumfield, R.T. (2008). Diversification in the Neotropics: phylogenetic patterns and historical processes. *Ornitol. Neotropical*, 19:427-432.

- Behling, H.; Bush, M. e Hooghiemstra, H. (2010). Biotic development of Quaternary Amazonia: a palynological perspective, p. 335-345. Em: Hoorn, C. e Wesselingh, F.P. (eds.). *Amazonia: landscape and species evolution*. Oxford: Blackwell Publishing.
- Beerling, D.J. e Mayle, F.E. (2006). Contrasting effects of climate and CO₂ on Amazonian ecosystems since the last glacial maximum. *Glob. Change Biol.*, 12:1977-1984.
- Bonaccorso, E.; Koch, I. e Peterson, A.T. (2006). Pleistocene fragmentation of Amazon species' ranges. *Diversity Distrib.*, 12:157-164.
- Borges, S.H. (2004). Species poor but distinct: bird assemblages in white-sand vegetation in Jaú National Park, Brazilian Amazon. *Ibis*, 146:114-124.
- Bull, R.A.S.; Cushman, S.A.; Mace, R.; Chilton, T.; Kendall, K.C.; Landguth, E.L.; Schwartz, M.K.; McKelvey, K.; Allendorf, F.W. e Luikart, G. (2011). Why replication is important in landscape genetics: American black bear in the Rocky Mountains. *Mol. Ecol.*, 20:1092-1107.
- Bush, M. (1994). Amazonian speciation: a necessarily complex model. *J. Biogeogr.*, 21:5-17.
- Bush, M. e Oliveira, P.E. (2006). The rise and fall of the Refugial Hypothesis of Amazonian speciation: a paleo-ecological perspective. *Biota Neotropica*, 6:s.p.
- Briceño, H.O. e Schubert, C. (1990). Geomorphology of the Gran Sabana, Guayana Shield, southeastern Venezuela. *Geomorphology*, 3:125-141.
- Brumfield, R.T. e Edwards, S.V. (2007). Evolution into and out of the Andes: a Bayesian analysis of historical diversification in *Thamnophilus antshrikes*. *Evolution*, 61:346-367.
- Cabanne, G.S.; D'Horta, F.M.; Meyer, D.; Silva, J.M.C. e Miyaki, C.Y. (2011). Evolution of *Dendrocolaptes platyrostris* (Aves: Furnariidae) between the South American open vegetation corridor and the Atlantic Forest. *Biol. J. Linn. Soc.*, 103:801-820.
- Carnaval, A.C.; Hickerson, M.J.; Haddad, C.F.B.; Rodrigues, M.T. e Moritz, C. (2009). Stability predicts genetic diversity in the Brazilian Atlantic forest hotspot. *Science*, 323:785-789.

- Carneiro-Filho, A.; Schwartz, D.; Tatumi, S.H. e Rosique, T. (2002). Amazonian Paleodunes Provide Evidence for Drier Climate Phases during the Late Pleistocene-Holocene. *Quaternary Res.*, 58:205-209.
- Clark, P.U.; Dyke, A.S.; Shakun, J.D.; Carlson, A.E.; Clark, J.; Wohlfarth, B.; Mitrovica, J.X.; Hostetler, S.W. e McCabe, A. M. (2009). The last glacial maximum. *Science*, 325:710-714.
- Clement, M.; Posada, D. e Crandall, K.A. (2000). TCS: a computer program to estimate gene genealogies. *Mol. Ecol.*, 9:1657-1660.
- Colinvaux, P.A.; Oliveira, P.E.; Moreno, J.E.; Miller, M.C. e Bush, M.B. (1996). A long pollen Record from lowland Amazonia: Forest and colling in glacial times. *Science*, 274:85-88.
- Cowling, S.A.; Maslin, M.A. e Sykes, M.T. (2001). Paleovegetation simulations of lowland Amazonia and implications for Neotropical allopatry and speciation. *Quaternary Res.*, 55:140-149.
- Cracraft, J. (1985). Historical biogeography and patterns of differentiation within the South American avifauna: areas of endemism. *Ornithol. Monographs*, 36:49-84.
- Crawley, M.J. (2007). *The R book*. West Sussex: John Wiley & Sons Ltd.
- Diaz, M.; Stiles, F.G. e Telleria, J.L. (1995). La comunidad de Aves en un gran claro permanente de la selva Amazonica: la Sierra de Chiribiquete (Colombia). *Ardeola*, 42:191-200.
- Diniz-Filho, J.A.F.; Telles, M.P.C.; Bonatto, S.L.; Eizirik, E.; Freitas, T.R.O.; Marco, P.; Santos, F.R.; Sole-Cava, A. e Soares, T.N. (2008). Mapping the evolutionary twilight zone: molecular markers, populations and geography. *J. Biogeogr.*, 35:753-763.
- Drummond, A.J.; Suchard, M.A.; Xie, D. e Rambaut, A. Bayesian phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7. *Mol. Biol. Evol.* In press.
- Dubroeuq, D. e Volkoff, B. (1998). From Oxisols to Spodosols and Histosols: evolution of the soil mantles in the Rio Negro basin (Amazonia). *Catena*, 32:245-280.

- Environmental Systems Research Institute (ESRI). (2005). ArcGIS, version 9.1. Environmental Systems Research Institute, Incorporated, Redlands, USA.
- Excoffier, L.; Laval, G. e Schneider, S. (2005). Arlequin ver. 3.0: an integrated software package for population genetics data analysis. *Evol. Bioinformatics Online*, 1:47-50.
- Excoffier, L.; Smouse, P. e Quattro, J. (1992). Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, 131:479-491.
- Fu, Y.X. (1997). Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking, and background selection. *Genetics*, 147:915-925.
- Givnish, T.J.; Evans, T.M.; Zjhra, M.L.; Patterson, T.B.; Berry, P.E. e Sytsma, K.J. (2000). Molecular evolution, adaptive radiation, and geographic diversification in the amphiatlantic family Rapateacea: evidence from ndhF sequences and morphology. *Evolution*, 54:1915-1937.
- Haffer, J. (1969). Speciation in Amazonian forest birds. *Science*, 165:131-137.
- Hall, T.A. (1999). BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucl. Acids. Symp. Ser.*, 41:95-98.
- Hewitt, G. (2000). The genetic legacy of the Quaternary ice ages. *Nature*, 405:907-913.
- Hewitt, G. (2001). Speciation, hybrid zones and phylogeography - or seeing genes in space and time. *Mol. Ecol.*, 10:537-549.
- Hilty, S.L. e Brown, W.L. (1986). *Birds of Colombia*. Princeton: Princeton University Press.
- Hoorn, C. e Wesselingh, F.P. (2010). Introduction: Amazonia, landscape and species evolution, p.1-6. Em: Hoorn, C. e Wesselingh, F.P. (eds.). *Amazonia: landscape and species evolution*. Oxford: Blackwell Publishing.
- Hoorn, C.; Wesselingh, F.P.; ter Steege, H.; Bermudez, M.A.; Mora, A.; Sevink, J.; Sanmartín, I.; Sanchez-Mesenguier, A.; Anderson, C.L.; Figueiredo, J.P.; Jaramillo, C.; Riff, D.; Negri, F.R.; Hooghiemstra, H.; Lundberg, J.; Stadler, T.; Särkinen, T. e Antonelli, A. (2010). Amazonia through time: Andean uplift, climate change, landscape evolution, and biodiversity. *Science*, 330:927-931.

- Horbe, A.M.C.; Horbe, M.A. e Suguio, K. (2003). Origem dos depósitos de areias brancas no nordeste do Amazonas. *Rev. Bras. Geociências*, 33:41-50.
- InfoNatura (2007) Animals and Ecosystems of Latin America. Version 5.0. Arlington, Virginia (USA): NatureServe. <http://www.natureserve.org/infonatura> (acesso em 20/08/2011).
- Kuhner, M.K. (2006). LAMARC 2.0: maximum likelihood and bayesian estimation of population parameters. *Bioinformatics*, 22:768-770.
- Lanyon, S.M. (1985). Molecular perspectives on higher-level relationships in the Tyrannoidea (Aves). *Syst. Zool.*, 34:404-418.
- Latrubesse, E. e Franzinelli, E. (2005). The late Quaternary evolution of the Negro River, Amazon, Brazil: Implications for island and floodplain formation in large anabranching tropical systems. *Geomorphology*, 70:372-397.
- Librado, P. e Rozas, J. (2009). DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 25:1451-1452.
- Maddison, D. R. e Maddison, W.P. (2005). MacClade 4: Analysis of phylogeny and character evolution. Version 4.08a. Disponível em: <http://macclade.org>.
- Maguire, B. (1970). On the flora of the Guayana Highland. *Biotropica*, 2: 85-100.
- Manel, S.; Schwartz, M.K.; Luikart, G. e Taberlet, P. (2003). Landscape genetics: combining landscape ecology and population genetics. *Trends Ecol. Evol.*, 18:189-197.
- Marks, B.D.; Hackett, S.J. e Capparella, A.P. (2002). Historical relationships among Neotropical lowland forest areas of endemism as determined by mitochondrial DNA sequence variation within the Wedge-billed Woodcreeper (Aves: Dendrocolaptidae: *Glyphorynchus spirurus*). *Mol. Phylogenet. Evol.*, 24:153-167.
- McGarigal, K.; Cushman, S.A.; Neel, M.C.; e Ene, E. (2002). FRAGSTATS v3: Spatial Pattern Analysis Program for Categorical Maps. Computer software program produced by the authors at the University of Massachusetts, Amherst. Disponível no sítio: <http://www.umass.edu/landeco/research/fragstats/fragstats.html>.

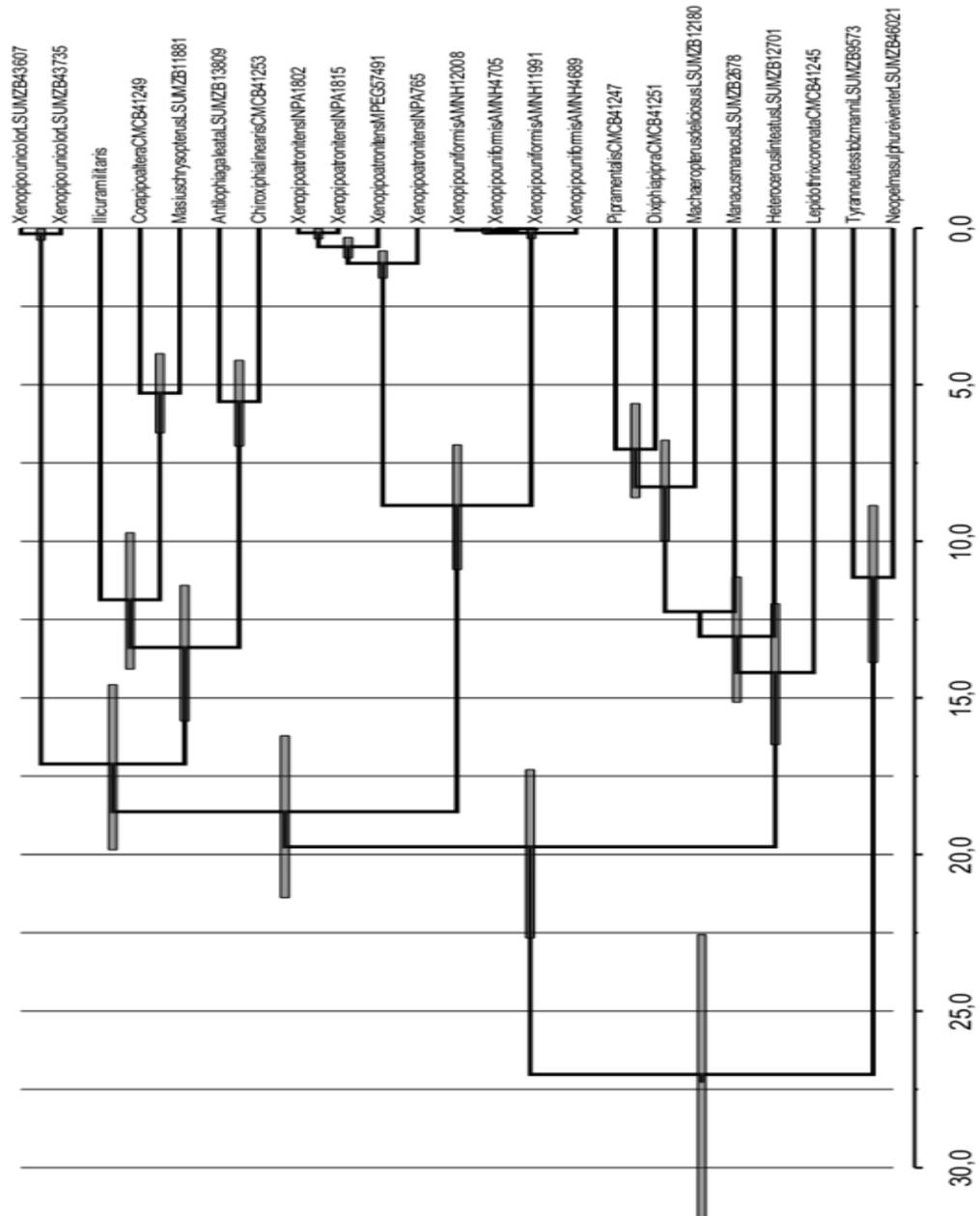
- McKay, B.D.; Barker, F.K.; Mays, H.L.; Doucet, S.M. e Hill, G.E. (2010) A molecular phylogenetic hypothesis for the manakins (Aves: Pipridae). *Mol. Phylogenet. Evol.*, 55:733-737.
- Moritz, C.; Patton, J.L.; Schneider, C.J. e Smith, T.B. (2000). Diversification of rainforest faunas: an integrated molecular approach. *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, 31:533-563.
- Morrone, J.J. (2009). *Evolutionary biogeography: an integrative approach with case studies*. New York: Columbia University Press.
- Oren, D.C. (1981). *Zoogeographic analysis of the white sand campina avifauna of Amazonia*. Tese de Doutorado, Harvard University, Cambridge, Massachusetts, 159pp.
- Patel, S.; Weckstein, J.D.; Patané, J.S.L.; Bates, J.M. e Aleixo, A. (2011). Temporal and spatial diversification of *Pteroglossus* arcaçaris (Aves: Ramphastidae) in the neotropics: constant rate of diversification does not support an increase in radiation during the Pleistocene. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 58:105-115.
- Pavlacky, D.C.; Goldizen, A.W.; Prentis, P.J.; Nicholls, J.A. e Lowe, A.J. (2009). A landscape genetics approach for quantifying the relative influence of historic and contemporary habitat heterogeneity on the genetic connectivity of a rainforest bird. *Mol. Ecol.*, 18:2945-2960.
- Pinheiro, R.T. e Dornas, T. (2009). Novos registros ornitológicos para o Parque Estadual do Cantão : distribuição e conservação da avifauna do ecótono Amazônia-Cerrado. *Rev. Bras. Ornitol.*, 17:73-76.
- Platt, A.; Woodhall, R. e George, A. (2007). Improved DNA sequencing quality and efficiency using an optimized fast cycle sequencing protocol. *BioTechniques*, 43:58-62.
- Poletto, F. e Aleixo, A. (2005). Implicações biogeográficas de novos registros ornitológicos em um enclave de vegetação de campina no sudoeste da Amazônia brasileira. *Rev. Bras. Zool.*, 22:1196-1200.
- Posada, R. e Crandall, K.A. (1998). MODELTEST: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics*, 14:817-818.
- Posada, D. e Crandall, K.A. (2001). Intraspecific gene genealogies: trees grafting into networks. *Trends Ecol. Evol.*, 16:37-45.

- Prum, R.O. (1990). Phylogenetic analysis of the evolution and display behavior in the Neotropical manakins (Aves: Pipridae). *Ethology*, 231:202-231.
- Prum, R.O. (1992). Syringeal morphology, phylogeny, and evolution of Neotropical manakins (Aves: Pipridae). *Am. Museum Novitates*, 3043:1-65.
- R Development Core Team. (2009). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0. Disponível no sítio: <http://www.R-project.org/>.
- Ramos-Onsins, S.E. e Rozas, J. (2002). Statistical properties of new neutrality tests against population growth. *Mol. Biol. Evol.*, 19:2092-2100.
- Rêgo, P.S.; Araripe, J.; Marceliano, M.L.V.; Sampaio, I. e Schneider, H. (2007). Phylogenetic analysis of the genera *Pipra*, *Lepidothrix*, and *Dixiphia* (Pipridae, Passeriformes) using parcial cytochrome b and 16S mtDNA genes. *Zool. Scripta*, 36:565-575.
- Rheindt, F.E.; Christidis, L. e Norman, J.A. (2008). Habitat shifts in the evolutionary history of a Neotropical flycatcher lineage from forest and open landscapes. *BMC Evol. Biol.*, 8:193.
- Ribas, C.C.; Aleixo, A.; Nogueira, A.C.R.; Miyaki, C.Y. e Cracraft, J. (2012). A palaeobiogeographic model for biotic diversification within Amazonia over the past three million years. *P. Roy. Soc. Lond. B Bio.*, 279:681-689.
- Ribas, C.C.; Moyle, R.G.; Miyaki, C.Y. e Cracraft, J. (2007). The assembly of montane biotas: linking Andean tectonics and climatic oscillations to independent regimes of diversification in *Pionus* parrots. *P. Roy. Soc. Lond. B Bio.*, 274:2399-2408.
- Ridgely, R.S. e Tudor, G. (2009). Field guide to the songbirds of South America: the passerines. Austin: University of Texas Press.
- Ronquist, F.; Teslenko, M.; van der Mark, P.; Ayres, D.L.; Darling, A.; Höhna, S.; Larget, B.; Liu, L.; Suchard, M.A. e Huelsenbeck, J.P. (2012). MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Syst. Biol.*, 61:1-4.
- Rossetti, D.F.; Toledo, P.M.; Moraes-Santos, H.M. e Santos, A.E.A. (2004). Reconstructing habitats in central Amazonia using megafauna, sedimentology, radiocarbon, and isotope analyses. *Quaternary Res.*, 61:289-300.

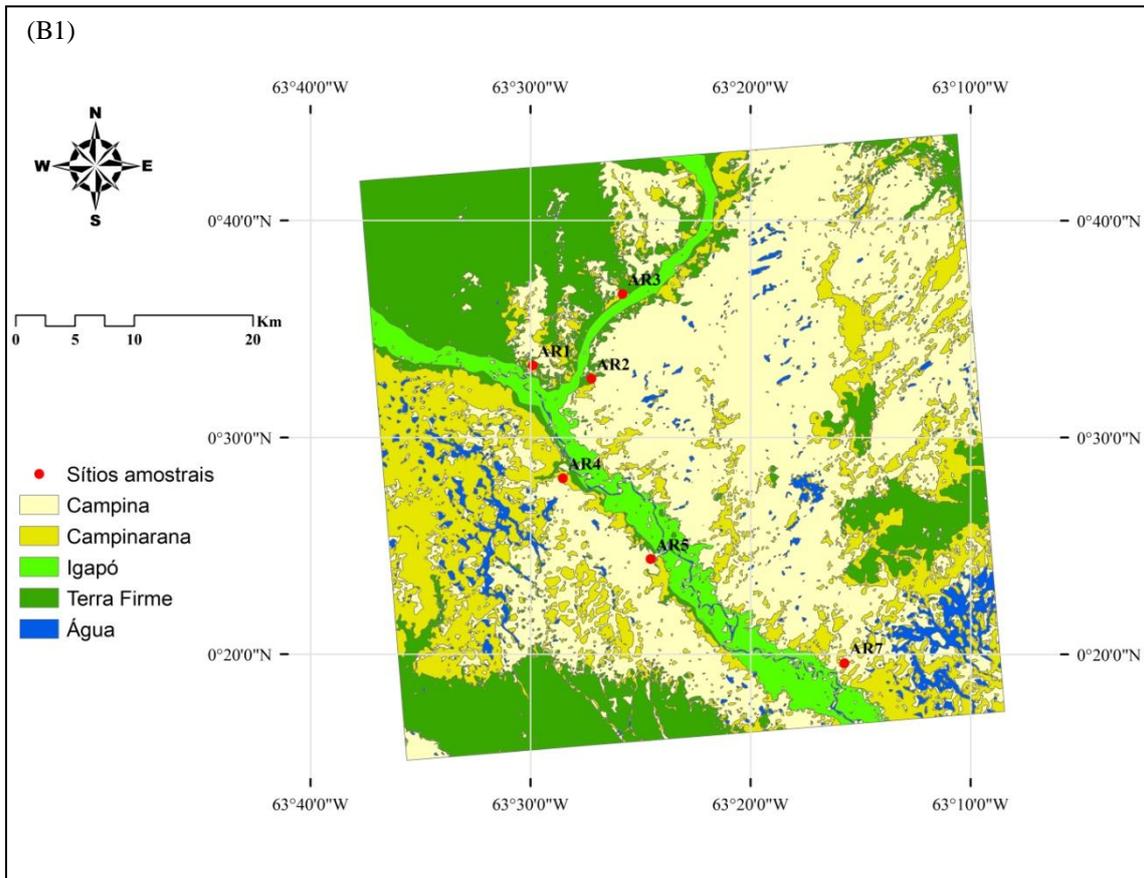
- Rossetti, D.F.; Toledo, P.M. e Góes, A.M. (2005). New geological framework for Western Amazonia (Brazil) and implications for biogeography and evolution. *Quaternary Res.*, 63:78-89.
- Rull, V. (2005). Biotic diversification in the Guayana Highlands: a proposal. *J. Biogeogr.*, 32:921-927.
- Rull, V. (2008). Speciation timing and Neotropical biodiversity: the Tertiary-Quaternary debate in the light of molecular phylogenetic evidence. *Mol. Ecol.*, 17:2722-2729.
- Rull, V. (2011). Neotropical biodiversity: timing and potential drivers. *Trend Ecol. Evol.*, 26:508-513.
- Salerno, P.E.; Ron, S.R.; Señaris, J.C.; Rojas-Runjaic, F.J.M.; Noonan, B.P. e Cannatella, D.C. (2012). Ancient Tepui summits harbor Young rather than old lineages of endemic frogs. *Evolution*, no prelo.
- Shanahan, D.F.; Possingham, H.P. e Riginos, C. (2011). Models based on individual level movement predict spatial patterns of genetic relatedness for two Australian forest birds. *Landscape Ecol.*, 26:137-148.
- Sick, H. (1997). *Ornitologia brasileira*. Rio de Janeiro: Nova Fronteira.
- Sorenson, M.D.; Ast, J.C.; Dimcheff, D.E.; Yuri, T. e Mindell, D.P. (1999) Primers for a PCR-based approach to mitochondrial genome sequencing in birds and other vertebrates. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 12:105-114.
- Storfer, A.; Murphy, M.A.; Evans, J.S.; Goldberg, C.S.; Robinson, S.; Spear, S.F.; Dezzani, R.; Delmelle, E.; Vierling, L. e Waits, L.P. (2007). Putting the “landscape” in landscape genetics. *Heredity*, 98:128-142.
- Swofford, D. L. (2002). PAUP. Phylogenetic analysis using parsimony and other methods. Sunderland, MA: Sinauer Associates.
- Tajima, F. (1989). Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics*, 123:585-595.

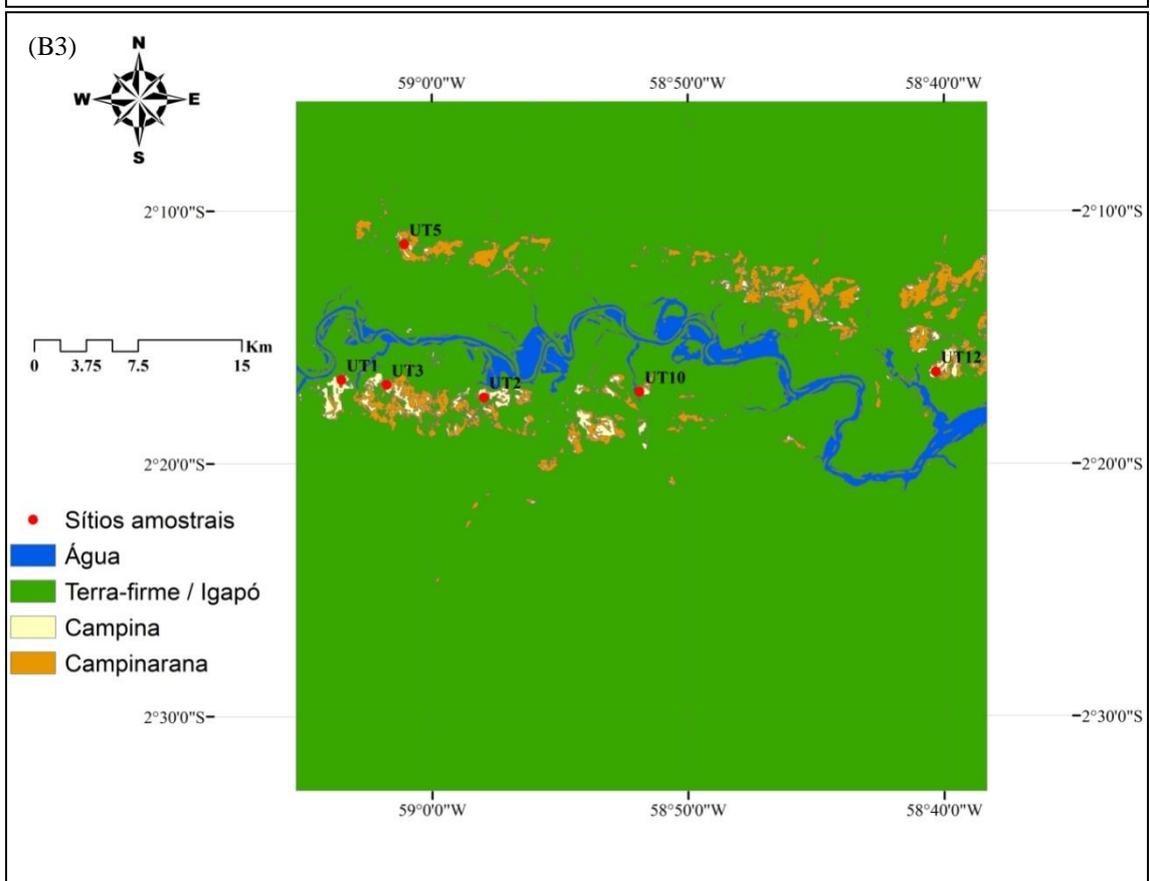
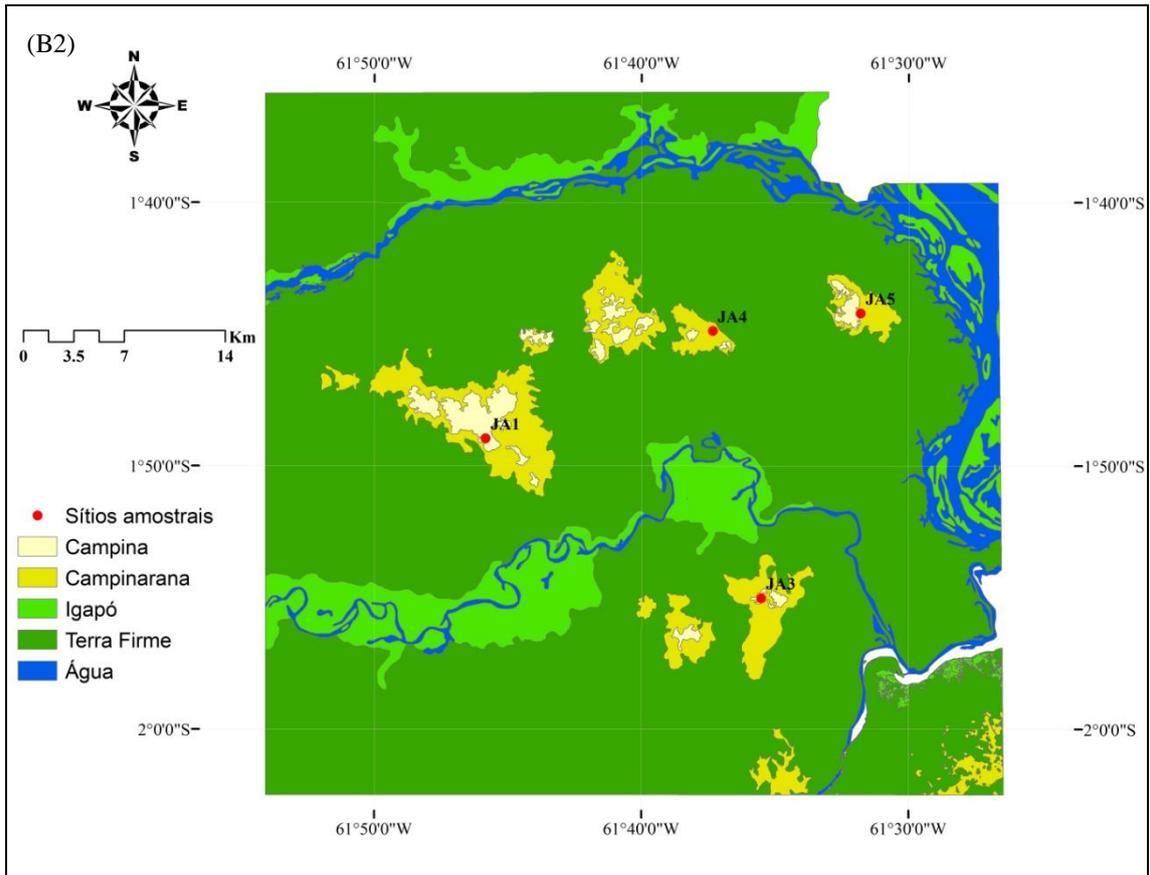
- Tamura, K.; Peterson, D.; Peterson, N.; Stecher, G.; Nei, M. e Kumar, S. (2011). MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Mol. Biol. Evol.*, 28:2731-2739.
- Teeuw, R.M. e Rhodes, E.J. (2004). Aeolian activity in northern Amazonia: optical dating of Late Pleistocene and Holocene palaeodunes. *J. Quaternary Sci.*, 19:49-54.
- Tello, J.G.; Moyle, R.G.; Marchese, D.J. e Cracraft, J. (2009). Phylogeny and phylogenetics classification of tyrant flycatchers, contingas, manakins and their allies (Aves: Tyrannides). *Cladistics*, 25:429-467.
- Templeton, A.R. (1998). Nested clade analyses of phylogeographic data: testing hypotheses about gene flow and population history. *Mol. Ecol.*, 7:381-397.
- Toumisto, H. (2007). Interpreting the biogeography of South America. *J. Biogeogr.*, 34:1294-1295.
- Vicentini, A. (2004). A vegetação ao longo de um gradiente edáfico no Parque Nacional do Jaú. Em: Borges, S.H.; Iwanaga, S.; Durigan, C.C. e Pinheiro, M.R. (eds.). *Janelas para a Biodiversidade no Parque Nacional do Jaú: uma estratégia para o estudo da biodiversidade na Amazônia*. Manaus: Fundação Vitória Amazônica.
- Weir, J.T. e Schluter, D. (2008). Calibrating the avian molecular clock. *Mol. Ecol.*, 17:2321-2328.
- Werneck, F.P. (2011). The diversification of eastern South American open vegetation biomes: historical biogeography and perspectives. *Quaternary Sci. Rev.*, 30:1630-1648.
- Zink, R.M. e Barrowclough, G.F. (2008). Mitochondrial DNA under siege in avian phylogeography. *Mol. Ecol.*, 17:2107-2121.

APÊNDICE A – Árvore filogenética da família Pipridae contendo a escala de tempo com a datação da separação entre *atronitens-uniformis*, incluindo o intervalo de confiança.

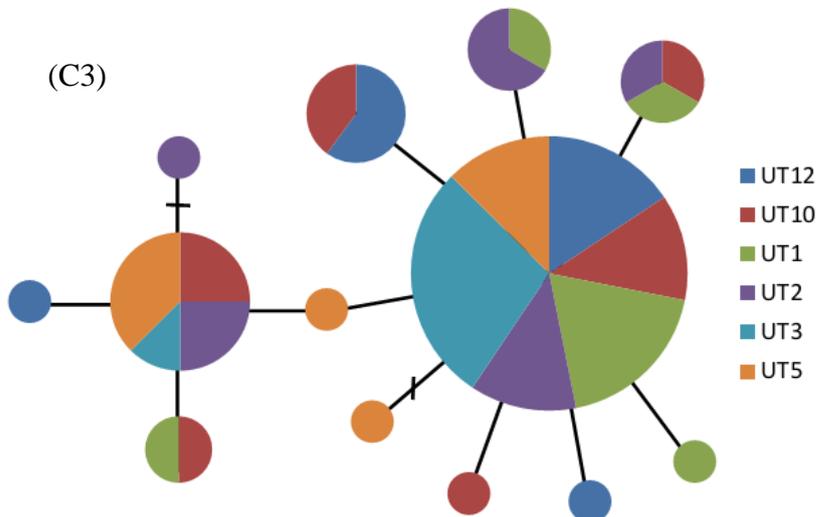
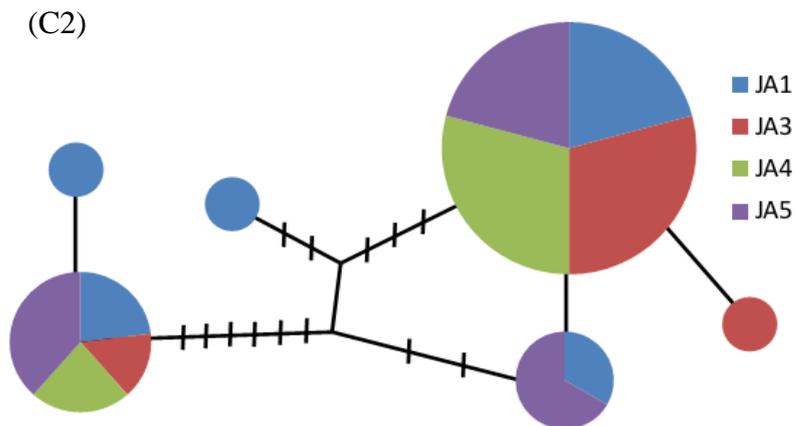
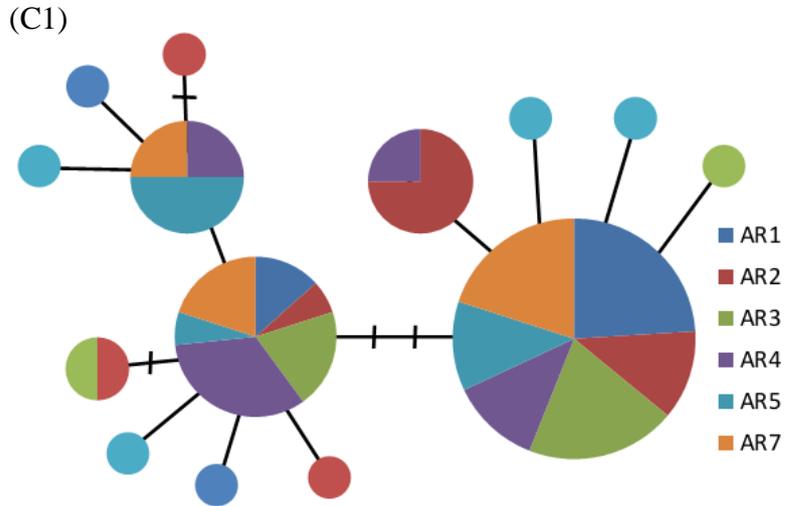


APÊNDICE B – Mapas referentes a cada uma das paisagens estudadas. (B1) Aracá; (B2) Jaú; (B3) Uatumã.





APÊNDICE C – Redes de haplótipos correspondentes à cada uma das paisagens analisadas:
(C1) Aracá, (C2) Jaú e (C3) Uatumã.



APÊNDICE D – Tabela com informações sobre as amostras sequenciadas para o presente estudo (AR = Aracá; JA = Jaú; UT = Uatumã).

Número	Código projeto	Localidade	Espécie	Coleção	Tipo
377	n.p.	Umizal (RO)	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	tecido
380	n.p.	Umizal (RO)	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	tecido
382	n.p.	Umizal (RO)	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	tecido
765	n.p.	Parque Estadual Sucunduri (AM)	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	tecido
766	n.p.	Parque Estadual Sucunduri (AM)	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	tecido
779	n.p.	Parque Estadual Sucunduri (AM)	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	tecido
990	n.p.	Parque Nacional do Viruá (RR)	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	tecido
1011	n.p.	Parque Nacional do Viruá (RR)	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	tecido
1457	n.p.	Ramal do Mucuí (AM)	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	tecido
1472	n.p.	Ramal do Mucuí (AM)	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	tecido
1802	n.p.	Parque Nacional do Viruá (RR)	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	tecido
1815	n.p.	Parque Nacional do Viruá (RR)	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	tecido
1818	n.p.	Parque Nacional do Viruá (RR)	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	tecido
1852	n.p.	Parque Nacional do Viruá (RR)	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	tecido
2287	n.p.	Barcelos (AM)	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	tecido
2290	n.p.	Barcelos (AM)	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	tecido
2967	JA745	JA1	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
2969	JA754	JA1	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
2970	JA755	JA1	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
2971	JA756	JA1	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
2972	JA759	JA1	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	tecido
2973	JA760	JA1	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
2974	JA763	JA1	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
2975	JA768	JA1	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
2976	JA780	JA1	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
2977	JA779	JA1	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
2981	JA783	JA1	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
2895	JA580	JA3	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
2899	JA594	JA3	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
2900	JA598	JA3	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
2907	JA616	JA3	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
3064	JA832	JA3	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
3066	JA834	JA3	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
3067	JA839	JA3	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
3365	JA593	JA3	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	tecido
3370	JA620	JA3	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	tecido
2920	JA647	JA4	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue

2921	JA652	JA4	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
2923	JA651	JA4	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
2924	JA648	JA4	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
2927	JA654	JA4	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
2942	JA700	JA4	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
2946	JA697	JA4	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
3373	JA670	JA4	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	tecido
3374	JA657	JA4	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	tecido
3375	JA671	JA4	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	tecido
2953	JA719	JA5	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
2954	JA717	JA5	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
2955	JA718	JA5	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
2961	JA734	JA5	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
2962	JA735	JA5	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
2963	JA736	JA5	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
2966	JA743	JA5	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
3388	JA715	JA5	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	tecido
3389	JA705	JA5	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	tecido
3396	JA726	JA5	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	tecido
3403	JA742	JA5	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	tecido
3211	AR34	AR1	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	tecido
3212	AR42	AR1	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	tecido
3216	AR75	AR1	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	tecido
3218	AR19	AR1	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	tecido
3739	AR52	AR1	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
3741	AR57	AR1	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
3743	AR59	AR1	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
3744	AR61	AR1	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
3745	AR66	AR1	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
3747	AR81	AR1	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
3228	AR125	AR2	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	tecido
3231	AR164	AR2	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	tecido
3756	AR113	AR2	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
3758	AR126	AR2	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
3761	AR133	AR2	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
3762	AR134	AR2	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
3767	AR146	AR2	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
3768	AR147	AR2	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
3774	AR159	AR2	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
3775	AR160	AR2	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
3776	AR165	AR3	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
3778	AR167	AR3	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
3782	AR177	AR3	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
3788	AR188	AR3	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
3789	AR190	AR3	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
3792	AR201	AR3	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
3793	AR207	AR3	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
3794	AR208	AR3	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue

3795	AR214	AR3	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
3797	AR216	AR3	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
3245	AR269	AR4	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	tecido
3247	AR306	AR4	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	tecido
3808	AR229	AR4	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
3813	AR236	AR4	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
3815	AR242	AR4	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
3848	AR322	AR4	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
3849	AR323	AR4	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
3851	AR328	AR4	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
3852	AR332	AR4	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
3853	AR333	AR4	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
3854	AR336	AR5	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
3855	AR339	AR5	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
3856	AR343	AR5	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
3858	AR348	AR5	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
3862	AR352	AR5	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
3875	AR380	AR5	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
3876	AR381	AR5	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
3882	AR389	AR5	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
3893	AR414	AR5	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
3896	AR421	AR5	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
3916	AR484	AR7	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
3918	AR489	AR7	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
3919	AR490	AR7	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
3928	AR503	AR7	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
3934	AR515	AR7	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
3935	AR516	AR7	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
3946	AR540	AR7	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
3953	AR554	AR7	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
3955	AR556	AR7	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
3958	AR560	AR7	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
3293	UT930	UT12	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	tecido
3294	UT946	UT12	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	tecido
3969	UT869	UT12	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
3970	UT877	UT12	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
3972	UT885	UT12	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
3973	UT886	UT12	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
3974	UT887	UT12	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
3976	UT892	UT12	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
3978	UT900	UT12	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
3982	UT927	UT12	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
3989	UT981	UT10	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
3991	UT988	UT10	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
4000	UT1018	UT10	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
4001	UT1026	UT10	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
4002	UT1036	UT10	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
4003	UT1039	UT10	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue

4004	UT1047	UT10	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
4005	UT1050	UT10	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
4007	UT1059	UT10	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
4008	UT1066	UT10	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
4010	UT1073	UT10	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
4286	UT1426	UT1	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
4292	UT1424	UT1	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
4297	UT1438	UT1	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
4302	UT1453	UT1	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
4306	UT1461	UT1	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
4307	UT1462	UT1	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
4309	UT1457	UT1	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
4329	UT1403	UT1	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
4330	UT1407	UT1	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
4331	UT1408	UT1	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
4288	UT1476	UT2	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
4289	UT1477	UT2	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
4290	UT1470	UT2	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
4304	UT1484	UT2	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
4348	UT1507	UT2	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
4351	UT1505	UT2	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
4356	UT1531	UT2	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
4357	UT1522	UT2	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
4359	UT1525	UT2	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
4360	UT1521	UT2	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
4400	UT1543	UT3	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
4401	UT1544	UT3	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
4408	UT1557	UT3	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
4409	UT1558	UT3	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
4419	UT1571	UT3	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
4421	UT1590	UT3	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
4432	UT1622	UT3	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
4437	UT1630	UT3	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
4440	UT1637	UT3	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
4442	UT1645	UT3	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
4367	UT1309	UT5	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
4369	UT1311	UT5	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
4370	UT1312	UT5	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
4371	UT1313	UT5	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
4372	UT1314	UT5	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
4375	UT1320	UT5	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
4376	UT1324	UT5	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
4377	UT1326	UT5	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
4381	UT1356	UT5	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
4382	UT1362	UT5	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	sangue
57487	aa11	Cruzeiro do Sul (AC)	<i>Xenopipo atronitens</i>	MPEG	tecido
57490	aa14	Cruzeiro do Sul (AC)	<i>Xenopipo atronitens</i>	MPEG	tecido
57491	aa04	Cruzeiro do Sul (AC)	<i>Xenopipo atronitens</i>	MPEG	tecido

57492	aa06	Cruzeiro do Sul (AC)	<i>Xenopipo atronitens</i>	MPEG	tecido
57765	mar227	Manicoré (AM)	<i>Xenopipo atronitens</i>	MPEG	tecido
57988	ch315	Serra do Cachimbo (PA)	<i>Xenopipo atronitens</i>	MPEG	tecido
57989	ch309	Serra do Cachimbo (PA)	<i>Xenopipo atronitens</i>	MPEG	tecido
62141	ufac0975	Dois Portos (AC)	<i>Xenopipo atronitens</i>	MPEG	tecido
62142	ufac0966	Dois Portos (AC)	<i>Xenopipo atronitens</i>	MPEG	tecido
62145	ufac1026	Dois Portos (AC)	<i>Xenopipo atronitens</i>	MPEG	tecido
62146	ufac1051	Dois Portos (AC)	<i>Xenopipo atronitens</i>	MPEG	tecido
65513	cn516	Alenquer (PA)	<i>Xenopipo atronitens</i>	MPEG	tecido
65514	cn515	Alenquer (PA)	<i>Xenopipo atronitens</i>	MPEG	tecido
65515	cn498	Alenquer (PA)	<i>Xenopipo atronitens</i>	MPEG	tecido
65516	cn445	Alenquer (PA)	<i>Xenopipo atronitens</i>	MPEG	tecido
66721	cn1421	Óbidos (PA)	<i>Xenopipo atronitens</i>	MPEG	tecido
66722	cn1416	Óbidos (PA)	<i>Xenopipo atronitens</i>	MPEG	tecido
66725	cn1357	Óbidos (PA)	<i>Xenopipo atronitens</i>	MPEG	tecido
66726	cn1356	Óbidos (PA)	<i>Xenopipo atronitens</i>	MPEG	tecido
66836	orx54	Oriximiná (PA)	<i>Xenopipo atronitens</i>	MPEG	tecido
69896	orx138	Oriximiná (PA)	<i>Xenopipo atronitens</i>	MPEG	tecido
69897	orx139	Oriximiná (PA)	<i>Xenopipo atronitens</i>	MPEG	tecido
69898	orx161	Oriximiná (PA)	<i>Xenopipo atronitens</i>	MPEG	tecido
4052	n.p.	Apuí (AM)	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	tecido
4162	n.p.	Apuí (AM)	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	tecido
4167	n.p.	Apuí (AM)	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	tecido
4200	n.p.	Apuí (AM)	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	tecido
4201	n.p.	Apuí (AM)	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	tecido
4209	n.p.	Apuí (AM)	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	tecido
4228	n.p.	Apuí (AM)	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	tecido
4266	n.p.	Apuí (AM)	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	tecido
4267	n.p.	Apuí (AM)	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	tecido
4275	n.p.	Apuí (AM)	<i>Xenopipo atronitens</i>	INPA	tecido
4292	n.p.	Venezuela (Amazonas)	<i>Xenopipo atronitens</i>	AMNH	tecido
8833	n.p.	Venezuela (Amazonas)	<i>Xenopipo atronitens</i>	AMNH	tecido
9694	n.p.	Venezuela (Bolívar)	<i>Xenopipo atronitens</i>	AMNH	tecido
4689	n.p.	Venezuela	<i>Xenopipo uniformis</i>	AMNH	tecido
4705	n.p.	Venezuela	<i>Xenopipo uniformis</i>	AMNH	tecido
11991	n.p.	Venezuela	<i>Xenopipo uniformis</i>	AMNH	tecido
12008	n.p.	Venezuela	<i>Xenopipo uniformis</i>	AMNH	tecido

APÊNDICE E – Parecer dos avaliadores trabalho escrito (não presencial).



Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA
Programa de Pós-graduação em Ecologia



Avaliação de dissertação de mestrado

Título: **Combinando filogeografia e genética da paisagem para compreender a evolução de *Xenopipo atronitens* (Aves; Pipridae), uma espécie característica das campinas Amazônicas**

Aluno: **JOÃO MARCOS GUIMARÃES CAPURUCHO**

Orientador: **Camila C. Ribas**

Co-orientador: **Cintia Cornelius**

Avaliador: **Ana Carolina Carnaval**

Por favor, marque a alternativa que considerar mais apropriada para cada item abaixo, e marque seu parecer final no quadro abaixo

	Muito bom	Bom	Necessita revisão	Reprovado
Relevância do estudo	(x)	()	()	()
Revisão bibliográfica	(x)	()	()	()
Desenho amostral/experimental	(x) no capítulo 2	(x) no capítulo 1	()	()
Metodologia	(x)	()	()	()
Resultados	(x)	()	()	()
Discussão e conclusões	(x) no capítulo 2	(x) no capítulo 1	()	()
Formatação e estilo texto	(x)	()	()	()
Potencial para publicação em periódico(s) indexado(s)	(x) para o capítulo 2	()	(x) para o capítulo 1	()

PS – Considero o capítulo 1 bom para fins de conclusão da dissertação – mas tal como indicado em meus comentários ao aluno, acho que ele requer a adição de amostras de outras espécies e possivelmente de mais marcadores genéticos para fins de publicação. Dada a falta de dados e o baixo suporte da genealogia publicada, a discussão ainda está um pouco especulativa. Uma revisão – atrelada à coleta de dados adicionais – será importante para que esse capítulo resulte em uma publicação mais relevante.

O Capítulo 2 certamente possui dados, análises e discussões para fins de publicação imediata. Meus comentários e sugestões vão em anexo, no texto editado.

Meus parabéns ao aluno e suas co-orientadoras.

PARECER FINAL

() **Aprovada** (indica que o avaliador aprova o trabalho sem correções ou com correções mínimas)

(x) **Aprovada com correções** (indica que o avaliador aprova o trabalho com correções extensas, mas que não precisa retornar ao avaliador para reavaliação)

() **Necessita revisão** (indica que há necessidade de reformulação do trabalho e que o avaliador quer reavaliar a nova versão antes de emitir uma decisão final)

() **Reprovada** (indica que o trabalho não é adequado, nem com modificações substanciais)

____ Nova Iorque _____
Local

____ 30/junho/2012, _____
Data

Ana Carnaval
Assinatura

Comentários e sugestões podem ser enviados como uma continuação desta ficha, como arquivo separado ou como anotações no texto impresso ou digital da tese. Por favor, envie a ficha assinada, bem como a cópia anotada da tese e/ou arquivo de comentários por e-mail para pgecologia@gmail.com e claudiakeller23@gmail.com ou por correio ao endereço abaixo. O envio por e-mail é preferível ao envio por correio. Uma cópia digital de sua assinatura será válida.



Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA
Programa de Pós-graduação em Ecologia



Avaliação de dissertação de mestrado

Título: Combinando filogeografia e genética da paisagem para compreender a evolução de *Xenopipo atronitens* (Aves; Pipridae), uma espécie característica das campinas Amazônicas

Aluno: JOÃO MARCOS GUIMARÃES CAPURUCHO

Orientador: Camila C. Ribas

Co-orientador: Cintia Cornelius

Avaliador: Fernando Mendonça d'Horta

Por favor, marque a alternativa que considerar mais apropriada para cada item abaixo, e marque seu parecer final no quadro abaixo

	Muito bom	Bom	Necessita revisão	Reprovado
Relevância do estudo	<input checked="" type="checkbox"/> (X)	<input type="checkbox"/> ()	<input type="checkbox"/> ()	<input type="checkbox"/> ()
Revisão bibliográfica	<input checked="" type="checkbox"/> (X)	<input type="checkbox"/> ()	<input type="checkbox"/> ()	<input type="checkbox"/> ()
Desenho amostral/experimental	<input checked="" type="checkbox"/> (X)	<input type="checkbox"/> ()	<input type="checkbox"/> ()	<input type="checkbox"/> ()
Metodologia	<input type="checkbox"/> ()	<input checked="" type="checkbox"/> (X)	<input type="checkbox"/> ()	<input type="checkbox"/> ()
Resultados	<input checked="" type="checkbox"/> (X)	<input type="checkbox"/> ()	<input type="checkbox"/> ()	<input type="checkbox"/> ()
Discussão e conclusões	<input type="checkbox"/> ()	<input checked="" type="checkbox"/> (X)	<input type="checkbox"/> ()	<input type="checkbox"/> ()
Formatação e estilo texto	<input checked="" type="checkbox"/> (X)	<input type="checkbox"/> ()	<input type="checkbox"/> ()	<input type="checkbox"/> ()
Potencial para publicação em periódico(s) indexado(s)	<input checked="" type="checkbox"/> (X)	<input type="checkbox"/> ()	<input type="checkbox"/> ()	<input type="checkbox"/> ()

PARECER FINAL

Aprovada (indica que o avaliador aprova o trabalho sem correções ou com correções mínimas)

Aprovada com correções (indica que o avaliador aprova o trabalho com correções extensas, mas que não precisa retornar ao avaliador para reavaliação)

Necessita revisão (indica que há necessidade de reformulação do trabalho e que o avaliador quer reavaliar a nova versão antes de emitir uma decisão final)

Reprovada (indica que o trabalho não é adequado, nem com modificações substanciais)

São Paulo - SP

Local

27 de junho de 2012

Data

Assinatura

Comentários e sugestões podem ser enviados como uma continuação desta ficha, como arquivo separado ou como anotações no texto impresso ou digital da tese. Por favor, envie a ficha assinada, bem como a cópia anotada da tese e/ou arquivo de comentários por e-mail para pgecologia@gmail.com e claudiakeller23@gmail.com ou por correio ao endereço abaixo. O envio por e-mail é preferível ao envio por correio. Uma cópia digital de sua assinatura será válida.

Endereço para envio de correspondência:

**Claudia Keller
DCEC/CPEC/INPA
CP 478
69011-970 Manaus AM
Brazil**



Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA
Programa de Pós-graduação em Ecologia



Avaliação de dissertação de mestrado

Título: **Combinando filogeografia e genética da paisagem para compreender a evolução de *Xenopipo atronitens* (Aves; Pipridae), uma espécie característica das campinas Amazônicas**

Aluno: **JOÃO MARCOS GUIMARÃES CAPURUCHO**

Orientador: **Camila C. Ribas**

Co-orientador: **Cintia Cornelius**

Avaliador: **Alexandre Aleixo**

Por favor, marque a alternativa que considerar mais apropriada para cada item abaixo, e marque seu parecer final no quadro abaixo

	Muito bom	Bom	Necessita revisão	Reprovado
Relevância do estudo	(X)	()	()	()
Revisão bibliográfica	(X)	()	()	()
Desenho amostral/experimental	()	(X)	()	()
Metodologia	(X)	()	()	()
Resultados	()	(X)	()	()
Discussão e conclusões	()	(X)	()	()
Formatação e estilo texto	(X)	()	()	()
Potencial para publicação em periódico(s) indexado(s)	()	(X)	()	()

PARECER FINAL

- () **Aprovada** (indica que o avaliador aprova o trabalho sem correções ou com correções mínimas)
- (X) **Aprovada com correções** (indica que o avaliador aprova o trabalho com correções extensas, mas que não precisa retornar ao avaliador para reavaliação)
- () **Necessita revisão** (indica que há necessidade de reformulação do trabalho e que o avaliador quer reavaliar a nova versão antes de emitir uma decisão final)
- () **Reprovada** (indica que o trabalho não é adequado, nem com modificações substanciais)

Belém

9 de julho de 2012

Local

Data

Assinatura

Comentários e sugestões podem ser enviados como uma continuação desta ficha, como arquivo separado ou como anotações no texto impresso ou digital da tese. Por favor, envie a ficha assinada, bem como a cópia anotada da tese e/ou arquivo de comentários por e-mail para pgecologia@gmail.com e claudiakeller23@gmail.com ou por correio ao endereço abaixo. O envio por e-mail é preferível ao envio por correio. Uma cópia digital de sua assinatura será válida.

Endereço para envio de correspondência:

Claudia Keller
 DCEC/CPEC/INPA
 CP 478
 69011-970 Manaus AM
 Brazil

APÊNDICE F – Ata da aula de qualificação.



AULA DE QUALIFICAÇÃO

PARECER

Aluno(a): JOÃO MARCOS GUIMARÃES CAPURUCHO
 Curso: ECOLOGIA
 Nível: MESTRADO
 Orientador(a): CAMILA C. RIBAS
 Co-orientador(a): CÍNTIA CORNELIUS

Título:

“Variabilidade genética em espécie de Ave restrita às Campinas Amazônicas: estrutura da paisagem atual e evolução paleoambiental na bacia do rio Negro”.

BANCA JULGADORA:

TITULARES:

Mario Cohn Haft (INPA)
 Tomas Hrbek (UFAM)
 Pedro Ivo Simões (INPA)

SUPLENTES:

Izeni Pires Farias (UFAM)
 Jorge Ivan R. Porto (INPA)

	PARECER	ASSINATURA
Mario Cohn Haft (INPA)	<input checked="" type="checkbox"/> Aprovado	<input type="checkbox"/> Reprovado
Tomas Hrbek (UFAM)	<input checked="" type="checkbox"/> Aprovado	<input type="checkbox"/> Reprovado
Pedro Ivo Simões (INPA)	<input checked="" type="checkbox"/> Aprovado	<input type="checkbox"/> Reprovado
Izeni Pires Farias (UFAM)	<input type="checkbox"/> Aprovado	<input type="checkbox"/> Reprovado _____
Jorge Ivan R. Porto (INPA)	<input type="checkbox"/> Aprovado	<input type="checkbox"/> Reprovado _____

Manaus(AM), 13 de abril de 2011

OBS: A BANCA SUGERE QUE O ALUNO INSIRA SEU PROJETO MAIS FIRMEMENTE EM UM CONTEXTO DE ECOLOGIA DE PISAGENS, SELEÇÃO DE HABITAT E GENÉTICA DE POPULAÇÕES, AO INVÉS DE ABORDAR HIPÓTESES SOBRE A ORIGEM DA DIVERSIDADE AMAZÔNICA.

INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA INPA
 PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA PPG-ECO/INPA

Av. Efigênio Sales, 2239 – Bairro: Aleixo – Caixa Postal: 478 – CEP: 69.011-970, Manaus/AM.
 Fone: (+55) 92 3643-1909
 site: <http://pg.inpa.gov.br>

Fax: (+55) 92 3643-1909
 e-mail: pgeco@inpa.gov.br

APÊNDICE G – Ata da defesa da dissertação de mestrado (presencial).



ATA DA DEFESA PÚBLICA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA DO INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA.

Aos 18 dias do mês de setembro do ano de 2012, às 09:00 horas, no auditório do Programa de Pós Graduação em Biologia de Água Doce e Pesca Interior - PPG BADPI/INPA, reuniu-se a Comissão Examinadora de Defesa Pública, composta pelos seguintes membros: o(a) Prof(a). Dr(a). **Tomas Hrbek**, da Universidade Federal do Amazonas - UFAM, o(a) Prof(a). Dr(a). **Sérgio Henrique Borges**, da Fundação Vitória Amazônica – FVA e o(a) Prof(a). Dr(a). **Marina Anciães**, do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA, tendo como suplentes o(a) Prof(a). Dr(a). Alberto Vicentini, do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia e o(a) Prof(a). Dr(a). Paulo Estefano Dineli Bobrowiec, do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA/CENBAM/PDBFF, sob a presidência do(a) primeiro(a), a fim de proceder a arguição pública do trabalho de **DISSERTAÇÃO DE MESTRADO** de **JOÃO MARCOS GUIMARÃES CAPURUCHO**, intitulado “Combinando filogeografia e genética da paisagem para compreender a evolução de *Xenopipo atronitens* (Aves; Pipridae), uma espécie característica das campinas Amazônicas”, orientado pelo(a) Prof(a). Dr(a). Camila Cherem Ribas, do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA e co-orientado pelo(a) Prof(a). Dr(a). Cíntia Cornelius Frische, do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA.

Após a exposição, o(a) discente foi arguido(a) oralmente pelos membros da Comissão Examinadora, tendo recebido o conceito final:

APROVADO(A) REPROVADO(A)
 POR UNANIMIDADE POR MAIORIA

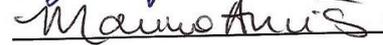
Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que, após lida e aprovada, foi assinada pelos membros da Comissão Examinadora.

Prof(a).Dr(a). Tomas Hrbek

Prof(a).Dr(a). Sérgio Henrique Borges

Prof(a).Dr(a). Marina Anciães







Coordenação PPG-ECO/INPA