



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA

Tese de Doutorado

**Estrutura populacional de quatro espécies de Pipridae na região de transição Cerrado -
Amazônia**



REGINA DE SOUZA YABE

**Brasília - DF
2015**

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA

**“Estrutura populacional de quatro espécies de Pipridae (Aves: Passeriformes) na
região de transição Cerrado-Amazônia”**

REGINA DE SOUZA YABE

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em
Ecologia, Instituto de Ciências Biológicas da
Universidade de Brasília, como requisito parcial
para a obtenção do título de Doutor em Ecologia.

Orientador: Prof. Dr. Miguel Ângelo Marini

Co-orientador: Pedro Manoel Galetti Junior

Tese de Doutorado

REGINA DE SOUZA YABE

Título:

“Estrutura populacional de quatro espécies de Pipridae na região de
transição Cerrado - Amazônia”

Banca Examinadora:



Prof. Dr. Miguel Ângelo Marini
Presidente
ZOO/UnB



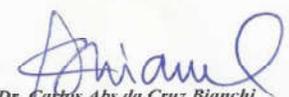
Prof. Dr. Fernando Pacheco Rodrigues
Membro Titular
GEM/UnB



Prof. Dr. Paulo Cesar Motta
Membro Titular
ZOO/UnB



Prof. Dr. Rosana Tidon
Membro Titular
GEM/UnB



Prof. Dr. Carlos Abs da Cruz Bianchi
Membro Titular
EI/UFG

Prof. Dr. Daniel Luis Mascia Vieira
Suplente
RGB/EMBRAPA

Brasília, 30 de abril de 2015.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu orientador **Miguel Ângelo Marini** e ao meu co-orientador **Pedro Manoel Galetti Junior**, da Universidade Federal de São Carlos (UFScar), sobretudo pela amizade, confiança e oportunidade, que foram essenciais para superar todas as etapas deste trabalho.

Aos membros da banca, professores **Carlos Abs da Cruz Bianchi**, **Fernando Pacheco Rodrigues**, **Paulo Cesar Motta** e **Rosana Tidon** e especialmente ao prof. **Renato Caparroz** pelas importantes contribuições que fizeram a este estudo, por meio de suas críticas e sugestões.

À **coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ecologia** da Universidade de Brasília. Especialmente à **Ivone Rezende Diniz**, sempre tão amigável e solícita com os alunos da pós-graduação e pela sua notória atuação como coordenadora.

Aos **professores do curso de pós-graduação em Ecologia e do departamento de Genética** da Universidade de Brasília, especialmente à professora **Lilian Giugliano** pelos conhecimentos que tão bem nos souberam repassar.

Aos coordenadores do Laboratório de Biodiversidade Molecular e Conservação (LBMC) da Universidade Federal de São Carlos, **Pedro Manoel Galetti Junior** e **Patrícia Domingues de Freitas**, por terem disponibilizado este laboratório para a realização das análises genéticas.

Aos professores **João Batista Pinho** da Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT), **Erika Martins Bragado** do Laboratório de Malária da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) e ao **Renato Torres Pinheiro** da Universidade Federal de Tocantins (UFT) e a pelo envio de parte das amostras utilizadas neste estudo.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão de bolsa de doutorado e ao Decanato de Pós-graduação da Universidade de Brasília (DPP) pelo financiamento concedido para a coleta de dados em campo.

Aos **amigos do LBMC** pela ótima convivência e bons momentos compartilhados no desenvolver deste estudo. Em especial à **Carla Guinart** e ao **Jorge Luis Ramirez Malaver** pelo auxílio nas análises e sugestões do capítulo 2 e a **Ueslei Lopes** e a **Carmen Helena** pela ajuda na produção

dos mapas. Sou grata também a **Carlos Congrains Castillo** do **Laboratório de Genética de Populações e Evolução** pelo auxílio com o programa Migrate.

Aos **amigos da Universidade de Brasília** que tornam o período inicial do meu doutorado muito mais prazeroso e divertido. Especialmente ao **Angelo Zerbini** por sua amizade e apoio e a toda turma da “**Serra Gaúcha**” e seus agregados.

Ao **Gabriel Horta** e todos os outros amigos da ECOPLAN em Ribeirão Cascalheira e também a **Gisele Lima**, pelo apoio logístico e, sobretudo pela amizade, durante a fase de coleta de dados no estado de Mato Grosso.

Agradeço aos **proprietários e gerentes** das fazendas Campo grande, Destino, Roncador, Sublime, Rancho 60, Guarujá, Santa Isabel, Rancharia, Jatobá e Curica no estado de Mato Grosso que disponibilizaram a área e as instalações da fazenda para que fossem obtidas parte das amostras utilizadas neste estudo. Também agradeço a todos os **funcionários** destas fazendas que auxiliaram na coleta de dados em campo.

Ao **Oswaldo Carvalho** do Instituto de Pesquisas da Amazônia (IPAM) que viabilizou a coleta de amostras na fazenda Tanguro em Querência – MT.

Ao meu **anjo da guarda** por sua proteção pelas estradas e fazendas do estado de Mato Grosso. Desculpe-me por este árduo trabalho.

Ao meu pai, **Yzauro Yabe**, por seu apoio, em especial, na fase inicial deste estudo.

E especialmente agradeço ao meu esposo **Phelipe Martins de Oliveira**, pelo seu carinho, companheirismo e paciência, sobretudo nos momentos mais difíceis, em que nenhum doutorando passa ileso! Também à sua família que tão bem me acolheu na cidade de São Carlos.

SUMÁRIO

RESUMO GERAL	9
ABSTRACT	12
APRESENTAÇÃO GERAL	15
	19
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	20
CAPÍTULO 1: ESTRUTURA POPULACIONAL DE TRÊS ESPÉCIES DE PIPRIDAE NA REGIÃO DE TRANSIÇÃO CERRADO – AMAZÔNIA AVALIADA POR MEIO DO GENE MITOCONDRIAL ND2	22
RESUMO	22
ABSTRACT	23
INTRODUÇÃO	24
MATERIAL E MÉTODOS	28
ESPÉCIES - ALVO	28
ÁREA DE ESTUDO	29
Ecótono Amazônia - Cerrado	29
Rio Xingu	31
Localidades amostradas	32
COLETA DE AMOSTRAS EM CAMPO	32
SEQUENCIAMENTO E ALINHAMENTO DO DNA MITOCONDRIAL	35
ANÁLISE DOS DADOS	36
Estimativas de variabilidade e Estrutura populacional	36
Estimativas de mudanças demográficas	38
RESULTADOS	39
Estimativas de variabilidade e estrutura populacional	39
Estimativas de mudanças demográficas	48
DISCUSSÃO	50
Estimativas de variabilidade, estrutura populacional e fluxo gênico	50
Estimativas de mudanças demográficas	58
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	60
CAPÍTULO 2: ANÁLISE GENÉTICA REVELA A OCORRÊNCIA DE DUAS LINHAGENS DE <i>PIPRA FASCIICAUDA</i> (HELLMAYR 1906) NO ESTADO DE MATO GROSSO	69

	8
RESUMO	69
ABSTRACT	70
INTRODUÇÃO	71
MATERIAL E MÉTODOS	75
ÁREA DE ESTUDO	75
Ecótono Amazônia - Cerrado	75
Rio Xingu	77
Rio Araguaia	77
Cerrado	78
Parque Estadual do Cantão	79
Pantanal	79
Localidades amostradas	80
COLETA DE AMOSTRAS EM CAMPO	82
SEQUENCIAMENTO E ALINHAMENTO DO DNA MITOCONDRIAL	82
ANÁLISE DOS DADOS	83
Estimativas de variabilidade e Estrutura populacional	83
Estimativas de mudanças demográficas	85
RESULTADOS	86
As linhagens de <i>Pipra fasciicauda</i>	87
Estimativas de variabilidade e estrutura populacional	89
Estimativas de mudanças demográficas	93
DISCUSSÃO	94
As linhagens de <i>Pipra fasciicauda</i>	94
Estimativas de variabilidade e estrutura populacional	98
Estimativas de mudanças demográficas	101
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	102
APÊNDICE	111
CONSIDERAÇÕES FINAIS	112

RESUMO GERAL

Os Pipridae são pequenos pássaros frugívoros de sub-bosque que habitam ambientes florestais da região Neotropical. Esta família se destaca por apresentar um sistema de acasalamento em leques poligínicos, com *displays* de corte, sons não vocais (“mecânicos”) e elaborada plumagem ornamental dos machos (Prum 1998). Apresentam a maior diversidade na região Amazônica com mais da metade das espécies encontradas no Brasil (ao norte do rio Negro e entre os rios Xingu e Purus) e entre os rios Madre de Dios, na Bolívia e Marañon, ao norte do Peru (Snow 2004).

Neste estudo investigou-se, por meio da análise de fragmentos do gene mitocondrial ND2 (subunidade 2 da NADH desidrogenase), a estrutura populacional de quatro espécies de Pipridae (*Machaeropterus pyrocephalus*, *Lepidothrix nattereri*, *Ceratopipra rubrocapilla* e *Pipra fasciicauda*) na região de contato do bioma Amazônico com o bioma Cerrado, incluindo também, áreas de Cerrado e de floresta Amazônica. Para as três primeiras espécies de Pipridae, as análises genéticas foram conduzidas com o intuito de determinar o modelo de estruturação populacional que as mesmas apresentaram na região de ecótono. Para isso, a variabilidade genética, grau de isolamento, fluxo gênico e distância genética entre as subpopulações destas espécies foram analisadas, bem como sua demografia histórica. A população de *M. pyrocephalus* apresentou-se fortemente subdividida entre a região de transição leste (alto rio Xingu) e oeste (sub-bacia do rio Guaporé e Juruena) e exibiu uma estrutura populacional em conformidade com o modelo de metapopulações, com baixas taxas de migração e isolamento pela distância. Entretanto, em direção às áreas de Cerrado, a migração foi bem mais acentuada, ocorrendo de modo mais restrito no sentido oposto. Com isso, os haplótipos constatados nas regiões de transição leste e oeste também estiveram presentes no Cerrado. Nesta região, não foram detectados haplótipos exclusivos, somente aqueles compartilhados com as áreas de transição dos extremos leste e oeste dos estados de Mato Grosso e Rondônia. Estas evidências sugerem a relevância das áreas amazônicas para a diversidade genética das subpopulações de *M. pyrocephalus*, situadas no Cerrado. Moderada estruturação genética foi evidenciada em *L. nattereri*, que também exibiu características concordantes com o modelo de metapopulações. Em *C. rubrocapilla* não houve subdivisão entre as regiões de transição leste e oeste em decorrência da combinação entre as maiores taxas de migração e menor tamanho populacional efetivo (do que *L. nattereri*). A organização espacial desta espécie, na região de transição, apresentou-se em conformidade com o modelo de populações em manchas, com taxas

mais elevadas de migração entre as subpopulações, formando um único agrupamento genético. As diferenças quanto à estrutura populacional destas aves podem ser consequência de suas particularidades ecológicas, tais como, maior associação ao ambiente de sub-bosque (em *M. pyrocephalus* - particularmente durante sua fase juvenil); dieta insetívora e menor massa corporal (em *L. nattereri*); habitat- generalista e maior massa corporal (em *C. rubrocapilla*). Todos estes fatores relacionam-se à vagilidade e, indiretamente, à habilidade de dispersão das aves. As características apresentadas pelas duas primeiras espécies estão vinculadas a uma menor vagilidade, o que pode conduzir à estruturação populacional. As características apresentadas pela última são comuns em espécies com maior vagilidade, o que pode direcionar para uma ausência de estruturação genética, dependendo do tamanho efetivo da população. No caso de *C. rubrocapilla*, a não subdivisão populacional ocorreu devido à combinação de uma taxa de migração ligeiramente mais elevada com um menor tamanho populacional efetivo. Em *Pipra fasciicauda*, ao se realizar as primeiras estimativas de variabilidade genética, verificou-se que suas populações se encontravam altamente diferenciadas e, portanto, deveriam ser avaliadas de modo diferenciado, com o uso de outras ferramentas de análise, que permitissem melhor investigar o nível de diferenciação destas populações. Deste modo, com a reconstrução das relações evolutivas dos espécimes, por meio dos métodos de máxima verossimilhança e de inferência Bayesiana, verificou-se a existência de duas linhagens notoriamente distintas, uma encontrada na região de ecótono, no oeste do estado de Mato Grosso e sudeste do estado de Rondônia, no cerrado ao sul do estado de Mato Grosso e no Pantanal, situado no sudoeste do estado de Mato Grosso (linhagem Sul-Oeste). A outra, detectada na região de ecótono no nordeste do estado de Mato Grosso, cerrado no noroeste do Estado de Tocantins e na região Amazônica e no estado do Pará (linhagem Norte-Leste). Estas linhagens devem corresponder às subespécies *P. f. calamae* (linhagem Sul-Oeste) e *P. f. scarlatina* (linhagem Norte-Leste) e possivelmente, se separaram durante o período do Pleistoceno. As análises de demografia histórica indicaram que a linhagem Sul-Oeste apresentou sinais de expansão populacional e sua rede haplotípica demonstrou que também teria sofrido uma expansão em sua distribuição, alcançando a região da linhagem Norte-Leste. Por último, também foi avaliado, o papel do médio rio Araguaia na estruturação genética das subpopulações da linhagem Norte-leste. A ausência de estruturação genética e o compartilhamento de haplótipo entre as subpopulações oriundas de margens opostas do médio rio Araguaia, sugeriram um baixo potencial deste rio em

promover divergência populacional desta espécie. A presença de ilhas ao longo do rio deve aumentar sua permeabilidade para os indivíduos de *P. fasciicauda*, que podem estar utilizando-as como *stepping stones* para se deslocar de uma margem a outra.

Palavras-chave: *Machaeropterus*, *Lepidothrix*, *Ceratopipra*, *Pipra*, ecótono Amazônia - Cerrado, dispersão, subespécies, fluxo gênico, *stepping stones*.

ABSTRACT

The Pipridae are small fruit-eating birds that live in the understory environment of the Neotropics's forest. Some notable characteristics of the manakins are their lek-based mating systems, extraordinary courtship displays, not vocal sounds ("mechanical") and males with ornamental plumage (Prum 1998). This family exhibits the greatest diversity in the Amazon region with more than half of the species found in Brazil (north of the Negro River and between the Xingu and Purus rivers) and between the Madre de Dios rivers, Bolivia and Marañon, in northern Peru (Snow 2004). In this study it was investigated the population structure of four species of Pipridae (*Machaeropterus pyrocephalus*, *Lepidothrix nattereri*, *Ceratopipra rubrocapilla* and *Pipra fasciicauda*), through the analysis of mitochondrial fragment ND2 gene (NADH dehydrogenase subunit 2), in the ecotone region of Amazon biome and the Cerrado biome. The analysis also includes areas of the Cerrado and the Amazon forest. For the first three Pipridae's species genetic analyzes were conducted in order to determine the population structure model that they showed in the ecotone region. For this, the genetic variability, degree of isolation, gene flow and genetic distance between subpopulations of these species were examined as well as its historical demographic. The population of *M. pyrocephalus* was strongly divided between the east transition region (upper Xingu River) and west region (sub-basin of the River Juruena and Guaporé). These species exhibited a population structure in accordance with the metapopulation model, with low rates migration and isolation by distance. However, towards the Cerrado areas, the migration was much more accentuated, being more limited in the opposite direction. Thus, the haplotypes observed in the east and west transition regions also occurred in the Cerrado. In this region unique haplotypes were detected, only those shared with the transition areas of the extreme east and west of Mato Grosso and Rondônia states. This evidence suggests the importance of the Amazon areas to the genetic diversity of subpopulations of *M. pyrocephalus*, located in the Cerrado. Moderate genetic structure was observed in *L. nattereri*, which also showed characteristics consistence with the metapopulation model. The *C. rubrocapilla* species showed no division between the regions of east and west transition due to the combination of the highest migration rates and lower effective population size (than *L. nattereri*).

The spatial organization of this species, in the transition region, agreed with the model populations in patches with higher rates of migration between subpopulations, forming a single genetic group. The differences in the population structure of these birds must be due to their

ecological characteristics, such as greater association with understory environment in the case of *M. pyrocephalus* (particularly during their juvenile stage). Another case is the insectivorous diet and lower body mass of *L. nattereri* and also the habitat generalist and higher body mass characteristics of the *C. rubrocapilla*. All these factors relate to vagility and indirectly to the dispersion ability of the bird. The characteristics shown by the first two species are linked to a lower vagility, which can lead to population structure. The features displayed in the latter are common in vagile species, which can direct to an absence of genetic structure, depending on the effective population size. In the case of *C. rubrocapilla*, the subdivision of the population did not occurred, due to the combination of a slightly higher migration rate with a smaller effective population size.

In *Pipra fasciicauda*, to be held the first estimates of genetic variability, it was found that their populations were highly differentiated and therefore should be assessed using other analysis tools, which allowed investigate the level of difference of these populations.

Thus, the reconstruction of specimens' evolutionary relationships by the methods of maximum likelihood and Bayesian analysis indicated the existence of two markedly distinct lineages. One of them (S-O lineage) was found in the ecotone region, (in the western state of Mato Grosso and southeastern state of Rondônia), in the Cerrado region (southern Mato Grosso) and in Pantanal region (southwestern Mato Grosso). The other one (N-L lineage) was detected in the ecotone region (in northeastern Mato Grosso), in the Cerrado region (northwestern state of Tocantins) and in the Amazon region (state of Pará). These lineages must correspond to *P. f. calamae* (S-O lineage) and *P. f. scarlatina* (N-L lineage) and possibly their sorting occurred during the Pleistocene period. The historical demographic analysis showed signs of population expansion for the S-O lineage, and the haplotype network suggested that this lineage experienced expansion of its distribution and it reached the area of occurrence of the N-L lineage. Finally, it was also evaluated the role of the middle Araguaia river in the genetic structure of the N-L lineage subpopulations. The lack of genetic structure and haplotype sharing among subpopulations from opposite banks of the middle Araguaia river, suggests a low potential of this river to promote population divergence for this species. The presence of islands along the river should increase its permeability for individuals of *P. fasciicauda* that may use them as stepping stones to move between the banks.

Keywords: *Machaeropterus*, *Lepidothrix*, *Ceratopipra*, *Pipra*, Amazon-Cerrado Ecotone, dispersal, historical demography, subspecies, stepping stones, gene flow.

APRESENTAÇÃO GERAL

Estudos relacionados com a genética de populações tratam da origem, quantidade e distribuição da variação genética presente em populações, bem como o destino desta variação no tempo e no espaço (Templeton 2011). Quando novas variantes genéticas surgem, encontram-se confinados a um ponto no espaço, sendo sua distribuição espacial influenciada por forças evolutivas recorrentes, tais como fluxo gênico, deriva genética e sistema de acasalamento e também por eventos históricos, tais como a fragmentação populacional, expansão da distribuição geográfica e gargalos populacionais. Todos esses fatores exercem influência no padrão de variação espacial e estruturação de uma população.

Um desafio central para os biólogos é estabelecer associações entre características ecológicas e comportamentais dos indivíduos e a evolução das espécies. Uma destas associações é esperada entre a habilidade de dispersão e a magnitude na qual as populações diferem genética ou ecologicamente. É bem conhecido que a dispersão é uma característica da história de vida que tem profundos efeitos nas populações, tanto em uma perspectiva ecológica como evolutiva (Johnson & Gaines 1990). Como um processo demográfico, a dispersão exerce um importante papel na distribuição dos organismos. Com seu potencial para o fluxo gênico, a dispersão desempenha um efeito crucial na estrutura genética das populações (Belliere *et al.* 2000).

A estrutura genética das populações é, primariamente, o resultado de forças opostas como a deriva genética e o fluxo gênico e também da variação espacial na seleção natural. A deriva genética, mudança aleatória na frequência dos alelos parentais ao longo do tempo, possibilita com que o acaso possa governar a sobrevivência e a reprodução da prole. Este processo é particularmente importante quando o tamanho da população é pequeno. O fluxo gênico, contrariamente à deriva genética, promove a homogeneização da variação genética espacial pelo movimento dos alelos através do espaço (Slatkin 1987). Barreiras para o fluxo gênico podem ser físicas, tais como rios ou cadeias de montanhas, as quais dificultam ou impedem com que indivíduos ou gametas movam-se entre regiões. Há também os limites impostos pela habilidade dos organismos à dispersão, que pode ser especialmente restritiva para as plantas e animais de menor porte. Em alguns casos, o fluxo gênico entre regiões pode ser reduzido a zero, mas frequentemente atinge algum nível. Quando o fluxo gênico é reduzido, a oportunidade de divergência entre as demes é aumentada, possibilitando a estruturação genética da população. Em populações que ocupam

regiões distintas, com forças seletivas diferenciais, qualquer variação no sucesso de um variante irá acarretar uma variação na frequência alélica. O fato de que a estrutura genética surge destes distintos fenômenos, significa que a observação da variação espacial na frequência dos alelos, pode ser usada para inferir os processos que dão origem a ela. Consequentemente, utilizando-se dados genéticos é possível fazer inferências sobre o fluxo gênico e, portanto, sobre o comportamento de dispersão (Burney & Brumfield 2009).

Seguindo esta lógica, inferências também podem ser feitas sobre o sistema de acasalamento, sistema social, estrutura filogeográfica e dinâmica populacional (Nutt 2008), sendo estes aspectos, fundamentais para o efetivo manejo das espécies. Informações sobre o fluxo gênico e estrutura populacional são potencialmente importantes para a conservação, pois estas informações podem servir como um alerta para as mudanças nos padrões de distribuição, como em decorrência, por exemplo, das mudanças climáticas (Jones & Wang 2012).

Determinar a estrutura genética de populações de vertebrados em ambiente tropical é essencial para testar hipóteses sobre os fatores responsáveis pelo processo de diversificação (Moritz *et al.* 2000). Para as espécies que ocorrem em habitats com altos níveis de fragmentação e destruição, informações sobre a estrutura genética também podem ajudar a identificar escalas espaciais adequadas para a definição de unidades de conservação (Moritz 1994; Paetkau *et al.* 2004), contribuindo para a compreensão dos efeitos genéticos da fragmentação futura na redução do fluxo gênico entre as populações (Francisco *et al.* 2007). A comparação dos resultados provenientes de diferentes marcadores moleculares, como sequências mitocondriais e microsatélites, pode justapor as mudanças na estrutura populacional, através do tempo evolutivo, com os recentes processos populacionais (Haig *et al.* 2011).

Diante do exposto, torna-se notório o reconhecimento da importância dos estudos de estrutura populacional para melhor compreensão da história evolutiva das espécies e para que se possa inferir sobre o destino das populações. No presente estudo, a estrutura das populações de quatro espécies de Pipridae, com distribuição nas regiões Norte e Central do Brasil, foram examinadas utilizando-se o gene mitocondrial ND2. O estudo concentrou-se principalmente na região de ecótono Amazônia- Cerrado, nos estados de Mato Grosso e Rondônia.

Em escala continental, o termo ecótono é usado para descrever uma transição entre dois biomas. Considerando-se a extensão de um determinado bioma, as populações que se propagam

em condições ambientais divergentes na periferia do bioma, diferenciam-se das populações do centro. Isto é possível por meio de pré-adaptações ao estresse fisiológico, proporcionado pela variação ambiental (Killeen & Solórzano 2008).

Os ecótonos apresentam um cenário ideal para estudar mecanismos evolutivos, organização das comunidades, distúrbios e mudanças no padrão da biodiversidade (Lacher Jr. & Alho 2001). Estas áreas podem ser essenciais para a produção e manutenção da biodiversidade em florestas tropicais (Smith *et al.* 1997; Schneider *et al.* 1999; Smith *et al.* 2001). Entretanto, a área de contato entre floresta Amazônica e Cerrado, localizada nos estados do Maranhão, Tocantins e Mato Grosso, é a zona de vegetação mais criticamente ameaçada e negligenciada da Amazônia (Fearnside & Ferraz 1995). No estado do Mato Grosso, a região de transição encontra-se sob forte pressão de desmatamento para fins agrícolas e madeireiros e sua descaracterização ou completa devastação é iminente (Ivanauskas 2002). A fragmentação da floresta tem múltiplos efeitos sobre a biota amazônica, podendo alterar a diversidade e a composição das comunidades nos fragmentos e mudar processos ecológicos como a polinização, a ciclagem de nutrientes e o estoque de carbono. A floresta amazônica é particularmente vulnerável aos efeitos de borda. Dentre estes efeitos estão o aumento na taxa de mortalidade de árvores, o que causa alterações nos gradientes físicos e na abundância das espécies nos fragmentos (Laurance & Vasconcelos 2009).

Seguindo a mesma vertente, no Cerrado os impactos da degradação em decorrência das atividades antrópicas têm sido ainda maiores. Dos originais dois milhões de quilômetros quadrados, mais de 60% foram desmatados pela expansão da fronteira agrícola. Nenhum outro bioma no mundo tem sido destruído tão rapidamente. Neste cenário, a maior rede de drenagem do Cerrado, a bacia do rio Araguaia, vem sofrendo tremendo impacto e toda a região do médio Araguaia apresenta tendência à sedimentação, implicando em desequilíbrio e alterações geomorfológicas (Latrubesse *et al.* 2009).

Estudos filogeográficos, além de importantes para interpretação dos padrões biogeográficos, permitem a melhor compreensão dos processos microevolutivos associados à diversificação de características ecológicas, morfológicas e comportamentais (Avice 2009; Knowles 2009). Estudos genéticos com espécies não ameaçadas geram conhecimentos a serem empregados na biologia da conservação. Informações empíricas reveladas por técnicas moleculares, interpretadas por meio de ferramentas analíticas da genética de populações e da sistemática, permitem estimativas de

parâmetros que frequentemente sustentam implicações de manejo, tais como níveis de diversidade genética dentro de populações, magnitude do fluxo gênico entre populações, relações filogenéticas entre táxons, níveis de introgressão, entre outros aspectos relevantes (Avice 1996). Deste modo, conhecimentos gerados através da sistemática molecular e da genética de populações, combinados com análise de distribuições de espécies, variação fenotípica e história da paisagem, deveriam ser utilizados para aperfeiçoar as estratégias de conservação. É importante entender os processos relacionados à formação da diversidade genética e a riqueza de espécies nas comunidades e como o atual processo evolutivo está mantendo a diversidade fenotípica (Erwin 1991). Considerando que particularidades destes processos irão diferir entre sistemas, é recomendável elaborar estratégias de conservação que protejam tanto a diversidade genética atribuível ao isolamento histórico como as características das paisagens que promoveram a diversidade fenotípica, através do balanço entre o fluxo gênico e a seleção, sendo essencial manter esses processos evolutivos. Tais estratégias de conservação, orientadas pelos processos de diversificação, são mais efetivas em um mundo em transformação do que aquelas que assumem uma distribuição estática da diversidade (Bush 1996).

O presente estudo foi dividido em dois capítulos. No primeiro, a estrutura populacional de *Machaeropterus pyrocephalus*, *Lepidothrix nattereri* e *Ceratopipra rubrocapilla* (Figura 1) foi investigada, com o intuito de determinar o modelo de estrutura populacional apresentada por estas espécies na região de ecótono Amazônia-Cerrado.

Ao se realizar as primeiras estimativas de variabilidade genética de *Pipra fasciicauda* (Figura 1), verificou-se que suas populações se encontravam altamente diferenciadas e, portanto, deveriam ser avaliadas de modo diferenciado, com o uso de outras ferramentas de análise, que permitissem melhor investigar o nível de diferenciação destas populações. Deste modo, no segundo capítulo, é apresentada a análise da variabilidade genética das populações de *Pipra fasciicauda*, buscando-se verificar a existência de diferentes linhagens na região. Neste capítulo, foi também averiguado o papel do médio rio Araguaia na divergência genética das subpopulações desta espécie.



Figura 1: Espécies- alvo investigadas no presente estudo. (a) *Machaeropterus pyrocephalus*; (b) *Pipra fasciicauda*; (c) *Ceratopipra rubrocapilla* e (d) *Lepidothrix nattereri* (fotos da autora).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Avice, J.C. 2009. Phylogeography: retrospect and prospect. *Journal of Biogeography* 36: 3-15.
- Belliure, J. Sorci, G. Moller, A.P. & Clobert, J. 2000. Dispersal distances predict subspecies richness in birds. *Journal of Evolutionary Biology*.13: 480-487.
- Bush, M.B. 1996. Amazonian conservation in a changing world. *Biological Conservation* 76: 219-28.
- Burney, C. W. & Brumfield, Robb T. 2009. Ecology predicts levels of genetic differentiation in Neotropical Birds. *American Naturalist* 174: 358 – 368.
- Erwin, T.L. 1991. An evolutionary basis for conservation strategies. *Science* 253: 750-52.
- Fearnside, P.M.& Ferraz, J. 1995. Conservation gap analysis of Brazil's amazonian vegetation. *Conservation Biology* 9: 1134-1147.
- Francisco, M.R.; Gibbs, H.L.; Galetti, M.; Lunardi, V.O. & Galetti Jr., P.M. 2007. Genetic structure in a tropical lek-breeding bird, the Blue Manakin (*Chiroxiphia caudata*) in the Brazilian Atlantic Forest. *Molecular Ecology*. 16: 4908–4918.
- Haig, S.M.; Bronaugh, W.M.; Crowhurst, R.S.; D'Elia, J.; Eagles-Smith, C.A.; Epps, C.W.; Knaus, B.; Miller, M.P.; Moses, M.L.; Oyler-McCance, S.; Robinson, W.D. & Sidlauskas B. 2011. Genetic applications in avian conservation. *Auk* 128:205-229.
- Ivanauskas, N.M. 2002. *Estudo da vegetação presente na área de contato entre formações florestais em Gaúcha do Norte-MT*. Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Campinas, Campinas. 184p.
- Johnson, M.L. & Gaines, M.S. 1990. Evolution of dispersal theoretical models and empirical tests using birds and mammals. *Annual Review of Ecology and Systematics* 21: 449-480.
- Jones, O. R. & Wang, J. 2012. A comparison of four methods for detecting weak genetic structure from marker data. *Ecology and Evolution* 2: 1048–1055.
- Killeen, T.J. & Solórzano, L.A. 2008. Conservation strategies to mitigate impacts from climate. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*. 363: 1881-1888.
- Knowles, L. 2009. Statistical phylogeography. *Annual Review of Ecology and Systematics* 40: 593–612.
- Lacher, T.E. Jr. & Alho, C.J.R. 2001. Terrestrial small mammal richness and habitat associations in Amazon Forest–Cerrado Contact Zone. *Biotropica* 33: 171-181.

- Latrubesse, E.M.; Amsler, M.L.; Morais, R.P. & Aquino, S. 2009. The geomorphologic response of a large pristine alluvial river to tremendous deforestation in the South American tropics: the case of the Araguaia River. *Geomorphology* 113: 239–252.
- Laurance, W.F. & Vasconcelos, H. L. 2009. Consequências ecológicas da fragmentação florestal na Amazônia. *Oecologia Brasiliensis* 13: 434-451.
- Moritz, C. 1994. Defining evolutionary significant units for conservation. *Trends in Ecology & Evolution* 9: 373 – 375.
- Mortiz, C.; Patton, J.L.; Schneider, C.J.; Smith, T.B. 2000. Diversification of rainforest faunas: an integrated molecular approach. *Annual Review of Ecology and Systematics* 31: 533–563.
- Nutt, K. J. 2008. A comparison of techniques for assessing dispersal behaviour in gundis: revealing dispersal patterns in the absence of observed dispersal behaviour. *Molecular Ecology*. 17: 3541–3556.
- Paetkau, D.; Slade, R.; Burdens, M.; Estoup, A. 2004. Genetic assignment methods for the direct, real time estimation of migration rate: a simulation-based exploration of accuracy and power. *Molecular Ecology*. 13: 55 – 65.
- Schneider, C.J.; Smith, T.B.; Larison, B. & Moritz, C. 1999. A test of alternative models of diversification in tropical rain- forests: ecological gradients vs. rainforest refugia. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 96: 13869-13873.
- Slatkin, M. 1987. Gene flow and the geographic structure of natural populations. *Science* 236: 787–792.
- Smith, T.B.; Schneider, C.J. & Holder, K. 2001. Refugial isolation versus ecological gradients. Testing alternative mechanisms of evolutionary divergence in four rainforest vertebrates. *Genetica* 112–113: 383–398.
- Smith, T.B., Wayne, R.K.; Girman, D.J. & Bruford, M.W. 1997. A role for ecotones in generating rainforest biodiversity. *Science* 276: 1855-1857.
- Templeton, A.R. 2011. Genética de populações e teoria microevolutiva. Ribeirão Preto, Sociedade Brasileira de Genética. 705p.

**CAPÍTULO 1: Estrutura Populacional de três espécies de Pipridae na região de transição
Cerrado – Amazônia avaliada por meio do gene mitocondrial ND2**

RESUMO: neste estudo investigou-se, por meio da análise de fragmentos do gene mitocondrial ND2 (subunidade 2 da NADH desidrogenase), a estrutura populacional de três espécies de Pipridae (*Machaeropterus pyrocephalus*, *Lepidothrix nattereri* e *Ceratopipra rubrocapilla*), na região de contato do bioma Amazônico com o bioma Cerrado, incluindo também, áreas de Cerrado e de floresta Amazônica. A variabilidade genética, grau de isolamento, fluxo gênico e distância genética entre as subpopulações destas espécies foram analisadas, bem como sua demografia histórica. A população de *M. pyrocephalus* apresentou-se fortemente subdividida entre a região de transição leste (alto rio Xingu) e oeste (sub-bacia do rio Guaporé e Juruena) ($\Phi_{st} = 4,32$; $p < 0,00$), em decorrência da distância que separa suas subpopulações (cerca de 900 km) e exibiu uma estrutura populacional em conformidade com o modelo de metapopulações, com baixas taxas de migração e isolamento pela distância. Entretanto, em direção às áreas situadas na região de Cerrado, foram estimadas maiores taxas de migração, além de um maior compartilhamento dos haplótipos, que também ocorrem nas regiões de transição leste e oeste. A ausência de haplótipos únicos e a presença exclusiva de haplótipos compartilhados entre as áreas de Cerrado com as áreas de transição dos extremos leste e oeste do estado de Mato Grosso e Rondônia, indica a relevância das áreas amazônicas para a diversidade genética das subpopulações de *M. pyrocephalus*, situadas no Cerrado. Moderada estruturação genética foi evidenciada em *L. nattereri* ($\Phi_{st} = 0,150$; $p = 0,07$), que também exibiu características concordantes com o modelo de metapopulações. Em *C. rubrocapilla* não houve subdivisão entre as regiões de transição leste e oeste ($\Phi_{st} = 0,02$; $p = 0,74$), em decorrência da combinação entre as maiores taxas de migração e menor tamanho populacional efetivo (do que *L. nattereri*). A organização espacial desta espécie, na região de transição, apresentou-se em conformidade com o modelo de populações em manchas, com taxas mais elevadas de migração entre as subpopulações, formando um único agrupamento genético. As diferenças quanto à estrutura populacional destas aves devem ser consequência de suas particularidades ecológicas, relacionadas à habilidade de dispersão.

Palavras-chave: *Machaeropterus*, *Lepidothrix*, *Ceratopipra*, ecótono Amazônia - Cerrado, estrutura espacial da população, dispersão.

ABSTRACT: In this study we have used fragments of the mitochondrial gene ND2 (NADH dehydrogenase subunit 2) to investigate the population structure of three Pipridae species (*Machaeropterus pyrocephalus*, *Lepidothrix nattereri* and *Ceratopipra rubrocapilla*) in the contact region between the Amazon and the *Cerrado* biomes, and in areas of the *Cerrado* and the Amazon Forest. The genetic variability, degree of isolation, gene flow and genetic distance between the subpopulations of these species were analyzed, as well as their historical demography. The population of *M. pyrocephalus* is subdivided between the eastern transition zone (Upper Xingu River) and western transition zone (sub-basins of the Guaporé and Juruena rivers) ($\Phi_{st} = 0,432$; $p < 0,00$) because of the distance that separates its subpopulations (about 900 km) and exhibited a population structure in accordance with the metapopulations model, that is, it has a low rates of migration and isolation by distance. However, in areas located in the *Cerrado* biome, there were higher migration rates and higher levels of haplotypes sharing for *M. pyrocephalus*. Such haplotypes also occur in the eastern and western transition zones. The absence of single haplotypes and the exclusive presence of shared haplotypes between the *Cerrado* areas and the far eastern and western transitional areas in Mato Grosso and Rondônia demonstrate the relevance of Amazonian areas for the genetic diversity of *M. pyrocephalus* subpopulations located in the *Cerrado*. For *L. nattereri* median genetic structure was found ($\Phi_{st} = 0,150$; $p = 0,07$), which also showed features consistent with the metapopulation model. For *C. rubrocapilla*, was not observed subdivision between the east and west regions of transition ($\Phi_{st} = 0,02$; $p = 0,74$), due to the combination of the highest migration rates and lower effective population size (than *L. nattereri*). The spatial organization of this specie, in the transition zone, is in accordance with the model populations in patches, with higher migration rates among subpopulations, forming a single genetic cluster. The differences in the population structure of these birds must be due to their ecological characteristics, related to the dispersion capacity.

Keywords: *Machaeropterus*, *Lepidothrix*, *Ceratopipra*, Amazon-Cerrado Ecotone, spatial population structure, dispersal.

INTRODUÇÃO

Os Pipridae são, em sua maioria, pequenos pássaros com dieta predominantemente frugívora que habitam os ambientes florestais da região Neotropical (Snow 2004). Esta família se destaca por apresentar um sistema de acasalamento em leques poligínicos, com *displays* de corte, sons não vocais (“mecânicos”) e elaborada plumagem ornamental dos machos (Prum 1998). Apresentam a maior diversidade na região Amazônica com mais da metade das espécies encontradas no Brasil (ao norte do rio Negro e entre os rios Xingu e Purus) e entre os rios Madre de Dios, na Bolívia e Marañon, ao norte do Peru (Snow 2004).

Por ser um grupo com características tão notáveis, vários estudos têm sido realizados com as espécies desta família, investigando principalmente aspectos comportamentais (e.g. Bostwick 2000; Tello 2001; Castro-Astor *et al.* 2004), ecológicos (e.g. Anciães & Peterson 2006; Durães *et al.* 2008; Loiselle *et al.* 2007) e evolutivos (e.g. Prum 1998; Duval 2007). Recentemente, maior ênfase tem sido dada às análises filogeográficas, buscando melhor compreender a estrutura de suas populações, especialmente em função de barreiras físicas ou de outros aspectos que venham promover a redução do fluxo gênico, causando divergências genéticas entre as populações e perda de variabilidade (e.g. Cheviron *et al.* 2005; Francisco *et al.* 2007; Rêgo *et al.* 2010).

Estudos filogeográficos geralmente tratam de múltiplas populações distribuídas em uma determinada região (Avice 2000). O comportamento da espécie e/ou a existência de barreiras físicas, na atualidade ou no passado, podem limitar ou impedir a dispersão entre os indivíduos destas populações. Especialmente em espécies com limitada vagilidade, as populações podem se tornar parcialmente isoladas pela própria distância que as separam (Moore *et al.* 2008). Dependendo da permeabilidade da matriz poderá haver trocas gênicas entre as linhagens ou então, a supressão total do intercâmbio gênico, por um período substancial no tempo evolutivo (Mayer *et al.* 2009) As análises filogeográficas podem ser então utilizadas para inferir as forças contemporâneas e históricas que produziram a atual arquitetura genealógica das populações, auxiliando a elucidar os padrões históricos de dispersão das espécies. (Avice 2009).

Entender a conectividade entre as populações é um aspecto fundamental na ecologia de populações (Wiens 1997) e essencial componente para o manejo de populações com o objetivo de conservação. Geneticistas tem se interessado por este assunto desde que Wright (1931) demonstrou

que estimativas indiretas de Nm (número efetivo de indivíduos movendo-se entre populações por geração) poderiam gerar medidas de diferenciação genética entre populações (Paetkau *et al.* 2004).

Espécies em geral, ocorrem subdivididas em populações locais como consequência da heterogeneidade espacial do habitat. Sua organização espacial pode ser classificada em três modelos principais de estruturação populacional (Levins 1970). Estes modelos representam passos de um *continuum*, aqui apresentados em ordem de decrescente conectividade: (i) populações em manchas (populações distribuídas em manchas de habitat demograficamente reunidas); (ii) metapopulação e (iii) populações isoladas. Outras formas de organização espacial das subpopulações (continente-ilha e fonte-vazão) são muito similares entre si e apresentam um cenário exibido pelas populações em manchas e metapopulações (Mayer *et al.* 2009). Por exemplo, sistema fonte-vazão pode ocorrer tanto como metapopulações ou como populações em manchas. Elaborar predições específicas para distinguir a estrutura de uma população fonte-vazão de uma estrutura de metapopulação ou de uma população em manchas é difícil (se não impossível) (Mayer *et al. op.cit.*).

De acordo com o primeiro modelo, as subpopulações são consideradas parte de uma população em manchas (Harrison 1991). As subpopulações são bem conectadas pela dispersão e representam uma única população com pouco potencial para extinção local. O segundo modelo propõe que subpopulações são organizadas como uma metapopulação, aqui definida como subpopulações reprodutivas, suportadas em uma coleção de manchas de habitat parcialmente isoladas, com possibilidade de ocorrência de extinção e recolonização. Devido à recolonização de subpopulações extintas, geralmente a metapopulação como um todo, persiste muito mais do que cada uma das subpopulações locais (Levins 1970). No terceiro modelo, as subpopulações estão isoladas uma das outras, isto é, estão separadas em pequenas populações. “Subpopulações” podem representar fragmentos de uma população que era contínua antigamente no passado. Uma vez extintos, os fragmentos não podem ser recolonizados (Frankham *et al.* 2002) .

Os três modelos de estrutura populacional tem predições contrastantes com relação à dispersão e padrões de fluxo gênico e a distribuição da variação genética dentro e entre subpopulações locais (Mayer *et al.* 2009): (i) o modelo de populações em manchas prevê alta taxa de dispersão entre todas as subpopulações e conseqüentemente, uma substancial migração. Desde que o risco de extinção é baixo, espera-se que não ocorra extinção ou recolonização das subpopulações. Adicionalmente, não deverá ocorrer uma significativa diferenciação genética entre

subpopulações, em decorrência da alta taxa de fluxo gênico que irá evitar qualquer estruturação genética (Harrison 1991). Neste caso, os indivíduos de uma população distribuída em manchas formam um único agrupamento genético; (ii) O modelo de metapopulação prevê que a dispersão seja restrita e, portanto, a maior parte dela deverá ocorrer entre as subpopulações vizinhas. Deste modo, a migração dentro da metapopulação é baixa. Este modelo prediz a ocorrência de extinções e recolonizações das subpopulações (Hanski 1999). Todas as subpopulações tem uma substancial probabilidade de extinção, mas manchas que sofrem eventos de extinção local são recolonizadas por indivíduos provenientes de outras subpopulações. O fluxo gênico entre as populações mais afastadas é baixo, conseqüentemente, estas são significativamente diferenciadas quanto a sua estrutura. Desde que o intercâmbio de indivíduos ocorra principalmente entre subpopulações vizinhas, a diferenciação genética é explicada pelo isolamento por distância. Numa metapopulação espera-se haver mais de um agrupamento genético; (iii) O modelo de populações isoladas prediz que nenhuma dispersão ocorre entre as “subpopulações” e conseqüentemente, não há migração. Populações isoladas podem ser extintas, porém não serão recolonizadas. Devido ao seu isolamento, as populações são altamente diferenciadas umas das outras. Desde que estas evoluam independentemente, devido ao completo isolamento, diferenças genéticas entre as “subpopulações” não estão relacionadas com a distância geográfica (Hutchison & Templeton 1999). Como consequência do completo isolamento, o número de agrupamentos genéticos tenderá corresponder ao número de “subpopulações”, dependendo do tempo de isolamento e das forças evolutivas atuantes.

Aves neotropicais que habitam o sub-bosque da floresta são assumidas como muito mais sedentárias do que as espécies das regiões temperadas (Bates 2000; Brown *et al.* 2004), o que poderia levar a uma grande diferenciação genética entre as populações. Francisco *et al.* (2007) ressaltaram a importância do comportamento social dos Pipridae na estrutura genética destas aves. Como os leques permanecem no mesmo local por um longo período de tempo, espera-se que a dispersão dos machos seja limitada, embora as fêmeas (que se presume visitar diferentes leques) poderiam se dispersar mais amplamente. Estas características, combinadas com a reduzida dispersão das aves de sub-bosque, são aspectos que exercem impacto significativo na estrutura populacional dos Pipridae.

Considerando-se tais características, este estudo investigou a estrutura populacional de três espécies de Pipridae (*Machaeropterus pyrocephalus*, *Lepidothrix nattereri* e *Ceratopipra rubrocapilla*) utilizando-se fragmentos do gene mitocondrial ND2 (subunidade 2 da NADH desidrogenase), na região de contato do bioma Amazônico com o bioma Cerrado, incluindo também, áreas de Cerrado e de floresta Amazônica, com o intuito de determinar o modelo de estrutura genética das populações destas espécies. Para tanto, a variabilidade genética, grau de isolamento, fluxo gênico e distância genética entre as subpopulações destas espécies foram analisados, bem como sua demografia histórica.

Espera-se encontrar diferenciação genética entre as populações das distintas regiões de transição analisadas (separadas, aproximadamente, por 900 km de distância, nos extremos leste e oeste do estado de Mato Grosso). Entre estas regiões, não há qualquer grande barreira que possa reduzir ou eliminar o fluxo gênico. Tal resultado seria decorrência das baixas taxas de migração dos indivíduos dispersores, como consequência da menor vagilidade de aves de pequeno porte (Lees & Peres 2009; Yabe *et al.* 2010), da alta fidelidade ao leque (Hoglund & Shorey 2003; Borgella & Gavin 2005) e de um aumento potencial na mortalidade durante os eventos de dispersão (Johnson & Gaines 1990; Brooker *et al.* 1999; Warren & Baines 2002). Embora as características citadas acima apontem para um comportamento mais sedentário, as espécies aqui analisadas são aves frugívoras-insetívoras e espécies que incluem frutos em sua dieta tendem a apresentar maior vagilidade (Moore *et al.* 2008). Deste modo, este estudo testou a hipótese de que as populações de Pipridae, das espécies consideradas, apresentariam características genéticas que lhes permitiriam categorizá-las no modelo de metapopulações (conforme as predições assumidas por Mayer *et al.* 2009).

OBJETIVO GERAL

Determinar o modelo de estrutura populacional de *Machaeropterus pyrocephalus*, *Lepidothrix nattereri* e *Ceratopipra rubrocapilla*.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Estimar a variabilidade genética, grau de isolamento, fluxo gênico e diferenciação genética entre as subpopulações das três espécies de Pipridae consideradas;
- b) Analisar a demografia histórica destas espécies.

MATERIAL E MÉTODOS

ESPÉCIES - ALVO

- *Machaeropterus pyrocephalus* (P.L. Sclater, 1852) - Uirapuru-cigarra

Espécie de pequeno porte (8-9 cm de comprimento; peso 9,8g) estritamente florestal que habita o estrato alto das florestas tropicais ou subtropicais úmidas de baixa altitude. Alimenta-se de pequenos frutos, principalmente melastomatáceas, e de pequenos insetos. Os machos apresentam rêmiges secundárias altamente reforçadas e retorcidas que produzem sons mecânicos. Nestas penas, ostenta uma série de manchas em forma de olhos, que se destacam sobre um campo cinzento-claro convexo, sendo exibidas durante os cortejos nupciais. Sua vocalização metálica é semelhante a um zumbido de uma cigarra ou de um gafanhoto. A distribuição desta espécie abrange Brasil, Peru, Bolívia e Venezuela. No Brasil, ocorre do estado de Amazonas ao de Mato Grosso (até o rio das Mortes) e Goiás (até o rio das Almas) e nos estados de Amapá, Rondônia, Roraima, Pará, Maranhão e Tocantins. Duas subespécies são reconhecidas: *M. p. pallidiceps* (J. T. Zimmer, 1936,) que ocorre no sul da Venezuela e extremo norte do Brasil (norte de Roraima) e *M. p. pyrocephalus* (P. L. Sclater, 1852) que se distribui no leste do Peru (amplamente disperso), norte da Bolívia e Amazônia Brasileira (principalmente no sul e leste até o sul do Amapá) e também no estado de Goiás (Snow 2004).

Lepidothrix nattereri (P.L. Sclater, 1865) – Uirapuru-de-chapéu-branco

Pequena espécie (macho com 8,5 cm de comprimento e peso de 8 g e fêmea com 9,2 cm de comprimento e peso de 8,8 g) que habita a floresta úmida, principalmente de terra firme até 500 m de altitude. Macho é verde dorsalmente com um contrastante boné branco, coloração também presente no dorso e coberteiras superiores da cauda. Alimenta-se de pequenos insetos e provavelmente de pequenos frutos. Duas subespécies são reconhecidas *L. n. nattereri* (P. L. Sclater, 1865) que ocorre no Brasil central e sul da Amazônia (do rio Madeira até o sul de Calama, Rondônia, e leste do rio Tapajós e seus afluentes) e *L. n. gracilis* (Hellmayr, 1903) que ocorre do sul ao extremo nordeste da Bolívia (Santa Cruz) e do alto rio Madeira até o leste do alto rio Xingu no estado de Mato Grosso (Snow 2004).

Ceratopipra rubrocapilla (Temminck, 1821) – Cabeça-encarnada

Macho é preto brilhante com a cabeça vermelha e mede 10 cm de comprimento, pesando de 11 a 14g e a fêmea de 12 a 17g. Habita os estratos baixo e médio das florestas úmidas e da vegetação secundária, até 500 m de altitude. Alimenta-se de frutos e insetos arrebatados em voo. Reproduz-se de setembro a abril. Macho realiza um complexo *display* em leque juntamente com outros machos. No Brasil, ocorre em toda a Amazônia (sul do rio Amazonas), de leste a norte do Maranhão, Rondônia e Mato Grosso. Sua distribuição abrange também o norte da Bolívia e o leste do Peru. Há uma população disjunta ocorrendo na costa de Pernambuco a sul do Rio de Janeiro (Snow 2004).

ÁREA DE ESTUDO

Ecótono Amazônia - Cerrado

A Bacia do Araguaia separa-se da Bacia do Xingu por uma distância média de 150 km, sendo a Serra do Roncador o divisor de águas entre elas (Eiten 1975). Assim, a região compreendida pela bacia dos altos cursos dos rios formadores do Xingu, representaria uma zona de transição entre a Amazônia e o Cerrado do Planalto Central. À medida que a floresta amazônica vai avançando para o sul, sua fisionomia também vai se modificando, em função do clima estacional. Já no contato com o Cerrado da região Centro-Oeste, o seu aspecto seria o de uma "mata seca", pois assume um caráter francamente semidecídúo, no período mais intenso da estiagem, e reduz-se às matas de galeria, vivendo à custa da umidade dos fundos dos vales estreitos junto aos cursos d'água como uma verdadeira intrusa no domínio das formações campestres ou savânicas (Soares 1953).

O clima da região é classificado como Tropical Chuvoso de Savana (Aw) pelo sistema de Köppen (Vianello & Alves 1991). Dados climáticos para os municípios de Porto dos Gaúchos, Gaúcha do Norte e Nova Xavantina obtidos por Ivanauskas *et al.* (2008) entre os anos de 1998 e 2000 indicaram que a temperatura média anual ($25,7 \pm 1,7$ °C) é praticamente constante e mantém-se sempre superior a 18°C, caracterizando um clima quente (Nimer 1977), sendo as temperaturas mais elevadas registradas na primavera, pouco antes do início da estação chuvosa. A precipitação é caracteristicamente tropical (Nimer 1977), já que mais de 70% ocorre durante o verão (dezembro a março), sendo o período seco (*sensu* Walter 1986) compreendido entre o final de maio e início de novembro. Portanto, a região do Alto Xingu apresenta um clima estacional, que não é úmido o

suficiente para sustentar uma floresta ombrófila, mas também não sofre o mesmo grau de estresse hídrico das florestas estacionais semidecíduais, o que resulta numa flora distinta de ambas as formações (Ivanauskas *et al.* 2008). Deste modo, a borda sul da província amazônica, nesta região, apresenta uma composição florística própria, sendo classificada na categoria de Floresta Estacional Perenifólia (Ivanauskas *et al.* 2008). Essa formação apresenta alta similaridade florística com as Florestas de Galeria do Planalto Central e também com as florestas de interflúvio da Bacia do Araguaia, consideradas monodominantes devido ao elevado destaque de *Brosimum rubescens* Taub. na estrutura da comunidade. A presença marcante desta espécie, que é endêmica da bacia amazônica, revela uma ligação florística com a Floresta Ombrófila, apesar do clima estacional, situando-as na condição de florestas de transição (Ivanauskas *et al.* 2008).

Os solos da Bacia do rio Xingu são caracterizados pela baixa disponibilidade de nutrientes e elevada toxidez por alumínio. Nas áreas de interflúvio, predomina o Latossolo Vermelho-Amarelo de textura média, com solos profundos e de melhor drenagem. O Neossolo Flúvico de textura argilosa está presente nas várzeas e, apesar da maior quantidade de potássio, possui problemas de drenagem e teores de alumínio mais altos (EMBRAPA 1999).

Nos municípios de Canarana e Ribeirão Cascalheira - estado de Mato Grosso, a região de ecótono apresenta faixas de cerradão distrófico com *Hirtella glandulosa*, *Emmotum nitens*, *Sclerolobium paniculatum* e *Vochysia haenkeana*, típicas espécies indicadoras. Essa região caracteriza-se por uma transição abrupta de Cerrado para Floresta Amazônica, com espécies que variam em suas afinidades florísticas, ocorrendo desde *Qualea grandiflora*, a árvore mais amplamente distribuída em área core do Cerrado, até espécies Amazônicas, como *Tetragastris altissima* e *Xylopia amazonica*, juntamente com generalistas de ampla distribuição em floresta e cerradão, como *Tapirira guianensis*, *Amaioua guianensis* e *Chaetocarpus echinocarpus* (Marimon *et al.* 2006). O solo predominante nesta região é o Latossolo Vermelho-Amarelo com textura argilo-arenosa e, em menor extensão, Neossolo Quartzarênico distrófico (EMBRAPA 1999).

O município de Comodoro (MT) situa-se nas sub-bacias do Guaporé e Juruena em uma área de tensão ecológica, com predomínio de Floresta Ombrófila com árvores até 30 m e Savana Florestada (Cerradão) com árvores até 12 m, com estratos herbáceos, arbustivos e arbóreos. O clima desta região é tropical continental sendo quente, úmido, a temperatura média anual de 23 °C e maior máxima 36 °C. A precipitação média anual chega a 2.000 mm (Amaral & Fonzar 1982). O município

de Chupinguaia (RO) situa-se também em uma área de tensão ecológica, com predomínio de Floresta Ombrófila com árvores até 25 m, Floresta Estacional semidecidual com representantes de até 20 m e Savana Florestada (Cerradão) com árvores até 15 m, com estratos herbáceos, arbustivos e arbóreos. O clima desta região é equatorial Am I (clima Tropical Chuvoso de Monção – caracterizado por apresentar breve estação seca e chuvas intensas durante o resto do ano (Ayode 1996)), sendo quente e úmido, com curta estação de seca, a temperatura média anual de 23°C. A precipitação anuais variam de 1.800 a 2.400 mm (Barros-Silva 1978). Na região de Jauru, o clima é quente, com quatro a cinco meses secos, apresentando temperatura média anual em torno de 25°C (Nimer 1979). A precipitação média na região é de 1400 mm (Bordini 2007) e as chuvas concentradas de outubro a março (estação chuvosa). A vegetação caracteriza-se como uma Savana Arbórea Aberta, com floresta de galeria. Sua estrutura é composta por árvores e arvoretas tortuosas e na maioria das espécies o córtex é bastante suberoso, espesso e sulcado. O estrato inferior é constituído por gramíneas associadas a outras herbáceas, subarbustos e arbustos. No Mato Grosso, a espécie arbórea característica, dominante neste tipo de formação é a *Qualea grandiflora* (Amaral & Fonzar 1982).

O estado de Mato Grosso apresenta extensas porções cobertas por áreas de tensão ecológica, principalmente entre os paralelos 10°S e 15°S (Marimon 2005). Na região de Jauru ocorre o contato Savana/ floresta estacional, caracterizando-se como savana (RADAMBRASIL 1982).

Rio Xingu

O rio Xingu possui uma extensão de 1.500 km, desde suas nascentes no Planalto Central Brasileiro até sua foz no rio Amazonas, e drena uma área de 540.000 km² (Miranda *et al.*, 1988). Nasce a oeste da Serra do Roncador e ao norte da Serra Azul, no leste do Mato Grosso e corre na direção sul-norte, paralelo aos rios Tapajós e Tocantins. Após percorrer pouco mais de 2.000 km deságua ao sul da ilha de Gurupá (Pará), na margem direita do Amazonas, do qual é um dos maiores afluentes. Na região do médio e baixo rio Xingu a vegetação predominante é floresta ombrófila densa que apresenta um dossel compacto e situado entre 30 e 35m de altura (Salomão *et al.* 2007).

Localidades amostradas

Amostras das três espécies de Pipridae foram oriundas de sete localidades da transição Amazônia - Cerrado, no leste do estado de Mato Grosso, compreendendo quatro municípios (Bom Jesus do Araguaia, Querência, São José do Xingu, Ribeirão Cascalheira). Com exceção do município de São José do Xingu, com apenas um ponto amostral, nos demais foram estabelecidos dois pontos amostrais. Estes pontos foram nomeados da seguinte forma e localização: F1 (município de São José do Xingu); F2 e F3 (município de Querência); T2 e C2 (município de Bom Jesus do Araguaia); C3 e T3 (município de Ribeirão Cascalheira). As abreviações F, T e C referem-se à maior proximidade do ponto amostral em relação à floresta do rio Xingu, sendo **F** = floresta; **T** = transição e **C** = Cerrado (Figura 1). Todos os pontos foram georreferenciados com o uso de GPS eTrex H Garmin.

Também foram analisadas amostras provenientes de outras cinco localidades: na região de ecótono (nos municípios de Comodoro - MT e de Chupinguaia- RO); em área de floresta Amazônica no Pará (no município de Altamira) e em área de Cerrado (nos municípios de Jauru - MT e Primavera do Leste - MT). Estas amostras foram obtidas da coleção ornitológica da Universidade Federal de Mato Grosso - UFMT (59 amostras de tecido).

As localidades que integram a área de estudo foram consideradas em cinco regiões: Região 1: floresta de transição oeste (Chupinguaia e Comodoro); Região 2: cerrado oeste (Jauru); Região 3: cerrado leste (Primavera do Leste); Região 4: floresta de transição leste (São José do Xingu, Querência, Bom Jesus do Araguaia e Ribeirão Cascalheira) e Região 5: Floresta Amazônica (Altamira) (Figura 1).

COLETA DE AMOSTRAS EM CAMPO

Exemplares das três espécies de Pipridae foram capturados em matas de galeria ou ciliares com o uso de redes de neblina de tamanhos variáveis (7 a 12m de comprimento; 2,00 a 2,50 m de altura; malha 16 mm), para coleta de amostras de sangue. Para a captura de *M. pyrocephalus* fez-se necessária a utilização de *playback* para a atração dos indivíduos dos estratos médio e alto da floresta para a área das redes. O sexo (macho, fêmea ou indeterminado) de cada indivíduo foi registrado. Dos exemplares adultos foram obtidas amostras de 0,1 ml de sangue (preservadas em etanol absoluto), a partir da veia braquial de cada espécime, utilizando-se agulha de insulina e tubo

capilar. Como cada localidade foi amostrada apenas uma única vez, não se fez necessária a utilização de anilhas e os espécimes foram marcados com um pequeno corte (cerca de 5 mm), na extremidade da rêmige primária esquerda mais externa, para evitar uma possível repetição da coleta de sangue de indivíduos recapturados. Após a realização destes procedimentos a ave foi fotografada e liberada no mesmo local da captura.

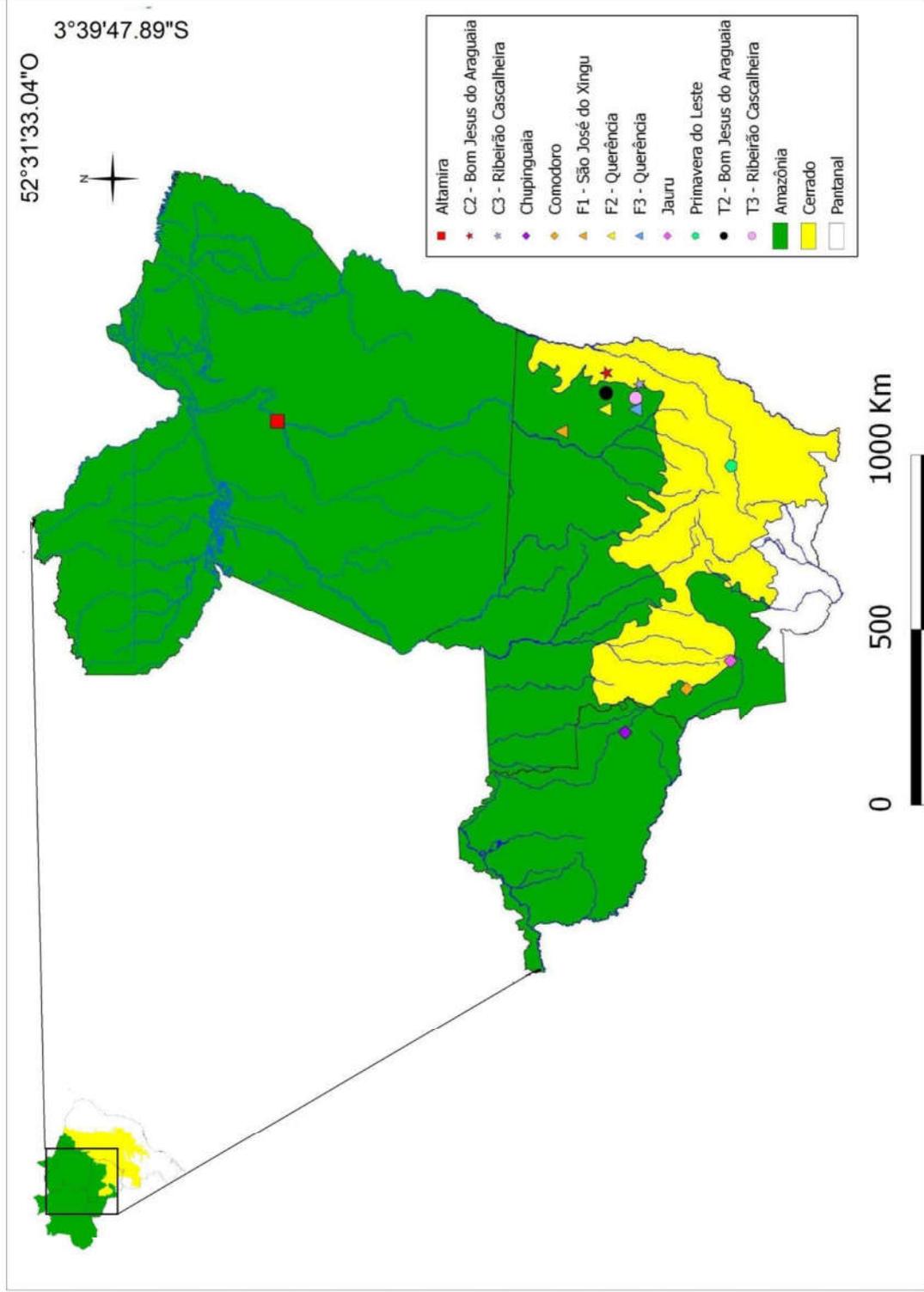


Figura 1: Mapa da área de estudo com a localização dos pontos amostrais situados na região leste (alto rio Xingu) e oeste do estado de Mato Grosso; Rondônia e Pará.

SEQUENCIAMENTO E ALINHAMENTO DO DNA MITOCONDRIAL

Foi sequenciado o gene mitocondrial ND2 (subunidade 2 da NADH desidrogenase), codificador de proteína, obtido de 70 amostras de sangue dos indivíduos capturados em sete pontos amostrais e das 59 amostras de tecido provenientes da UFMT. Primeiramente, o DNA genômico foi extraído por meio do protocolo de fenol-clorofórmio- álcool-isoamílico (Sambrook *et al.* 1989). A visualização do DNA total extraído foi realizada através da técnica de eletroforese em gel de agarose a 2%. Para amplificação do gene ND2 (1041pb) foram empregados os seguintes pares de *primers* L5215 (5'-TATCGGGCCCATAACCCCGAAAAT- 3') (Helm-Bychowski & Cracraft 1993) e H5578 (5'-CCTTGAAGCACTTCTGGGAATCAGA – 3') (Hackett 1996). Para amplificação de fragmentos menores (560pb), foram utilizados os seguintes os *primers* L5758 (5'-GGNGGNTGRRBHGGNYTDAAYCARAC-3') (Johnson & Sorenson 1998) e H 5766 (5'-DGADGARAADGCYARRAYYTDCG – 3') (Johnson & Sorenson 1998). Estes foram associados com os *primers* L5215 e H5578 formando os seguintes pares: L5215/ H 5766 e L5758/H5578.

Todas as reações em cadeia de polimerase (PCR) foram realizadas em volume final de 20 µL, consistindo de: 2 µL amostra de DNA (~50ng), 1 µL de cada *primer* (10pMol), 10 µL de goTaq Dna Polimerase (Invitrogen Life Technologies) e 6 µL de H₂O deionizada estéril. Foi empregado o termociclador Applied Biosystems nas seguintes condições: fase inicial de denaturação de 2 min a 94°C, seguido de 35 ciclos de 30 s a 94°C, 30 s a 50° e 2 min a 72°C com extensão final de 5 min a 72°C. Após a realização da PCR, o tamanho correto do fragmento e a presença de um único produto de amplificação foram confirmados via eletroforese em gel de agarose 2%.

O produto resultante da PCR foi tratado por meio do protocolo de purificação com Polietilenoglicol (PEG) a 20% e o processo de sequenciamento realizado pela companhia de biotecnologia Macrogen Inc. Os arquivos resultantes do sequenciamento foram transferidos para o programa Geneious R 8.0.4 para alinhamento das sequências (empregando-se o algoritmo Clustal-W) (Thompson *et al.* 1994), realizando-se inspeção visual do alinhamento e possível correção de inserções e deleções, se observadas.

Para investigar se os fragmentos de DNA não incluíram pseudogenes de origem nuclear, foi verificado se todos os códons correspondiam aos aminoácidos esperados e que nenhum códon de parada ocorresse dentro do *frame* de leitura. O programa *Data Analyses and Molecular Biology and Evolution* – DAMBE (Xia 2013) foi utilizado para avaliar a evidência de saturação de bases.

ANÁLISE DOS DADOS

Estimativas de variabilidade e Estrutura populacional

Utilizando-se a matriz de sequências alinhadas foram estimados os seguintes parâmetros de variabilidade utilizando-se o programa DNAsp (Rozas *et al.* 2003): número de haplótipos (H); diversidade haplotípica (Hd: probabilidade que dois haplótipos escolhidos aleatoriamente sejam diferentes em uma amostra) ($Hd = 1 - \sum f^2$, onde f é a frequência do i^{th} haplótipo; Nei 1987) e diversidade nucleotídica (π : número médio de diferenças nucleotídicas por local entre as sequências) ($\pi = \sum f_i f_j p_{ij}$ onde p_{ij} é a divergência de sequência entre o i^{th} e o j^{th} haplótipos; Nei 1987). As comparações dos valores da diversidade haplotípica (Hd) e diversidade nucleotídica (π), entre as subpopulações de diferentes localidades, foram realizadas empregando-se o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis, com posterior comparação dos tratamentos realizada pelo método de student-Newman-Keuls (sNK).

A análise de variância molecular - AMOVA (*Analysis of Molecular Variance*) foi realizada para verificar a variação genética inter e intra populacional. Empregou-se a análise hierárquica para estimar os análogos índices de fixação F_{st} (Φ_{st}), F_{ct} (Φ_{ct}) e F_{sc} (Φ_{sc}) que avaliam, respectivamente, a proporção de variação entre os grupos, entre as populações de diferentes grupos e entre as populações dentro dos grupos (Excoffier *et al.* 1992). As diferenças genéticas entre as populações, obtidas pelos valores de Φ_{st} , foram classificadas de acordo com Wright (1978) para o índice de fixação F_{st} : pequena diferenciação (0 a 0,05); moderada diferenciação (0,05 a 0,15); grande diferenciação (0,15 a 0,25) e muito grande variação (acima de 0,25) (Hartl & Clark 2010).

O grau de diferenciação entre as subpopulações foi também avaliado pela estimativa dos índices de fixação F_{st} par-a-par e sua significância ($p < 0,05$) testada por meio de permutações dos haplótipos (1023 permutações) entre as subpopulações, considerando como valor de significância (p) as proporções de permutações que têm um valor de F_{st} maior ou igual ao observado. Nesta análise é possível se obter valores negativos de F_{st} (Excoffier *et al.* 1992).

Também foram estimados os valores de distância genética par-a-par, sendo utilizados os valores corrigidos, calculados através da seguinte função: $pAB = pAB - (pA + pB)/2$, onde pAB é a média da divergência das sequências entre as populações A e B, e pA e pB são as médias de divergência das sequências dentro das populações A e B (Avice & Walker 1998). Empregou-se o

programa Arlequin 3.5.1.2. (Excoffier & Lischer 2010) para realização destas análises, bem como a análise de variância molecular – AMOVA.

Para a análise de F_{st} par-a-par e distância genética par-a-par *L. nattereri*, os dados das localidades da região de transição leste foram agrupados, devido ao pequeno tamanho amostral. O mesmo foi feito para *C. rubrocapilla*, mas somente para três localidades (F3, T3 e C3), separadas por até 30 km de distância.

A partir da matriz de sequências foram obtidas redes de haplótipos, utilizando-se o método de *median-joining* com posterior análise de máxima parcimônia, por meio do programa Network 4.2.0.1 (<http://www.fluxus-technology.com>; Polzin & Daneschmand 2003).

Com intuito de avaliar se há isolamento pela distância entre as populações, foi realizado o Teste de Mantel, que analisa a correlação entre distância genética e distância geográfica. Este procedimento foi realizado com o uso do programa Fstat 2.9.3. (Goudet 1995).

Para estimar o número de migrantes por geração (N_{em}) entre as regiões de transição leste e oeste e entre estas regiões e as áreas de cerrado (neste caso somente para *M. pyrocephalus*) utilizou-se uma análise de coalescência, implementada no programa Migrate 3.2.1 (Beerli & Felsenstein 2001). Os parâmetros θ ($N_e\mu$) e M (m/μ), onde μ é a taxa de mutação e m a taxa de migração) foram obtidos por meio da opção de inferência bayesiana e empregando-se o modelo completo (*full model*). Os valores iniciais do tamanho populacional efetivo e fluxo gênico foram estimados a partir do valor de Φ_{st} . Considerou-se uma taxa de erro de sequenciamento de 0,01. Cada corrida foi composta de 200 cadeias curtas e uma cadeia longa com um milhão de passos e *burn-in* (número de árvores descartadas por cadeia) de 50.000. Empregou-se o esquema de aquecimento estático com quatro cadeias de diferentes temperaturas (1,0; 1,5; 3,0 e 100.000,0) (Beerli & Palczewski 2010). A análise foi realizada cinco vezes para cada espécie, empregando-se diferentes números de sementes, gerados de forma randômica. Foi obtida a média dos resultados das análises, bem como o intervalo de confiança de 95% para o parâmetro M (M é a taxa de migração dimensionada pela taxa de mutação; $M = m/\mu$, que representa a importância da variabilidade trazida para uma população pela migração comparada com a variabilidade criada pela mutação) e N_{em} . Para obter o valor de N_{em} (número de migrantes por geração), θ ($\theta = N_e\mu$) foi multiplicado por M ($M = m/\mu$) (Beerli & Felsenstein 2012).

Com o objetivo de avaliar o efeito do tamanho efetivo populacional no nível de estruturação genética das diferentes espécies, o valor de N_e foi obtido por meio da seguinte expressão $N_e = \theta/4 \mu$ (Beerli & Felsenstein 2012), utilizando-se a taxa de mutação de 4% por sítio por milhões de anos ($2,0 \times 10^{-8}$ substituições por sítio por linhagem por ano), estimada para o gene ND2 em *Nesomimus* (família Mimidae) (Arbogast *et al.* 2006).

Estimativas de mudanças demográficas

Para determinar os traços genéticos causados por possíveis mudanças demográficas históricas nas populações, tais como rápidas expansões populacionais ou efeito gargalo (*bottlenecks*), foram estimados os índices de neutralidade D (Tajima 1989), F_s (Fu 1997) e R_2 (Ramos-Onsins & Rozas 2002). O teste D'Tajima usa a média de diferenças par-a-par e o número de sítios segregantes e testa a hipótese de todas as mutações serem neutras. Valores negativos ($D < 0$) também podem ser interpretados como indicativo de populações que experimentaram mudanças de tamanho D (Tajima 1989). O teste de F_s (Fu, 1997) que se baseia na comparação entre um valor de θ ($\theta = 4N\mu$ onde N é o tamanho efetivo populacional e μ é a taxa de mutação por sequência por geração), estimado a partir do número de haplótipos (θH), e a partir da média de diferenças nucleotídicas entre duas sequências ($\theta\pi$). Valores de F_s significativos e negativos ($p < 0,01$) são gerados pelo excesso de mutações, o que caracteriza um sinal de expansão populacional.

A estatística R_2 é definida por meio da seguinte expressão (Ramos-Onsins & Rozas 2000):

$$R_2 = \frac{\left(\sum_{i=1}^n \left(U_i - \frac{K}{2} \right)^2 / n \right)^{1/2}}{S}$$

Onde n é o tamanho da amostra, S é o número total sítios segregantes, K o número médio de diferenças nucleotídicas entre duas sequências e U_i , o número de mutações na sequência i . A lógica desse teste é que o número esperado de mutações únicas, em um ramo da genealogia (depois de um recente e severo evento de crescimento populacional), é $K/2$; consequentemente, baixos valores de R_2 são esperados diante deste cenário demográfico (P é a probabilidade de se obter valores de R_2 simulado $\leq R_2$ observado, baseado em 1.000 simulações de coalescência. Neste caso, a hipótese nula é que o tamanho populacional seja constante).

Os autores sugerem utilizar a estatística R_2 para pequenos tamanhos amostrais (devido a maior robustez do teste nesta condição) e F_s para grandes tamanhos amostrais e alertam para

possíveis discrepâncias entre estes testes, devido às estatísticas R_2 e F_s usarem diferentes tipos de informação (Ramos-Onsins & Rozas 2000).

Foram Também calculadas as curvas de *Mismatch distributions* (Rogers 1995). O programa DNAsp (Rozas *et al.* 2003) foi utilizado para realização destas estimativas.

Na curva de *Mismatch distribution*, a frequência de pares de indivíduos de uma população, que diferem por um dado número de substituições nucleotídicas, são escolhidos randomicamente e as frequências esperadas sob um modelo de rápida expansão demográfica é então calculado. Estas frequências esperadas são sobrepostas às frequências observadas e a significância da diferença entre os valores observados e esperados é dada pela soma dos desvios dos quadrados (SSD) (P é a probabilidade de se obter valores de SSD simulados \geq SSD observados, baseado em 1.000 simulações de coalescência). Uma curva apresentando um padrão do tipo *Smooth Poisson mismatch* caracteriza rápida expansão demográfica e o índice *Raggedness* (R) (Harpending 1994) é usado para medir a suavidade (*smoothness*) da distribuição observada. Baixos índices são indicativos de rápida expansão demográfica. $P(R)$ é a probabilidade de se observar uma distribuição com os mais altos valores do índice *raggedness*, baseado em 1.000 simulações de coalescência (probabilidade de se obter valores de R simulado $\geq R$ observado). Estas análises foram realizadas o uso do programa Arlequin 3.5.1.2. (Excoffier & Lischer 2010).

RESULTADOS

Estimativas de variabilidade e estrutura populacional

Um total de 1041pb do gene ND2 foi analisado para os indivíduos das três espécies estudadas. Para *M. pyrocephalus* ($n= 63$), 977 sítios homólogos (informativos), sem nenhum *missing data*, compuseram a matriz de sequências alinhadas. Destes, 15 sítios foram variáveis, sendo nove parcimoniosamente informativos. Para *L. nattereri* ($n = 35$), dos 858pb informativos, 19 foram variáveis e destes, 13 sítios foram informativos para parcimônia. Finalmente, para *C. rubrocapilla* ($n = 31$), foram obtidos fragmentos contendo 929 sítios informativos, com 23 sítios variáveis e nove sítios parcimoniosamente informativos.

A composição de bases dos fragmentos das espécies estudadas apresentaram as seguintes frequências: *M. pyrocephalus* (A = 0,319; C = 0,319; G = 0,089; T = 0,272); *L. nattereri* (A = 0,300; C = 0,308; G = 0,109; T = 0,283) e *C. rubrocapilla* (A = 0,310; C = 0,310; G = 0,09; T = 0,285).

Na Tabela 1, estão apresentados os índices de diversidade haplotípica e nucleotídica das três espécies de Pipridae, bem como as localidades de onde foram providas as amostras de cada uma das espécies estudadas. Nota-se que em *M. pyrocephalus*, embora tenha sido amostrado um maior número de indivíduos (n = 63), encontrou-se a menor diversidade haplotípica (H = 11; Hd = 0,80±0,3) sendo esta, significativamente inferior às demais espécies (H = 8,07; $p < 0,02$). Os menores valores foram detectados em Chupinguaia e Jauru, localidades situadas na transição oeste, seguido por Bom Jesus do Araguaia (ponto C2), situada na transição leste. Destacam-se, quanto a maior diversidade haplotípica, as localidades de São José do Xingu (F1), Querência (F2) e Bom Jesus do Araguaia (T2), áreas posicionadas mais ao norte da região de transição leste e de maior proximidade com a floresta do rio Xingu e também a localidade de Primavera do Leste (Cerrado leste).

Foi também observada menor diversidade nucleotídica ($\pi = 2,19 \pm 0,23$) para esta espécie em relação às demais (H = 10,13; $p < 0,02$), obtendo-se na localidade de Bom Jesus do Araguaia (C2) o menor valor deste parâmetro ($\pi = 0,55 \pm 0,13$; n = 8) e nas localidades de Querência (F2) ($\pi = 3,07 \pm 0,83$; n = 9) e Primavera do Leste ($\pi = 3,41 \pm 1,16$; n = 3), os maiores valores.

L. nattereri apresentou uma diversidade haplotípica (H = 13; Hd = 0,87±0,04; n = 35) ligeiramente superior à encontrada para *M. pyrocephalus*, não sendo esta diferença significativa (sNK = 2,56; $p = 0,52$). O maior valor foi obtido na localidade de Bom Jesus do Araguaia (T2), na região de transição leste (Hd = 0,83±0,22; n = 4) e os menores, na região de transição oeste, onde as localidades de Chupinguaia (n = 7) e Comodoro (n = 6) apresentaram os mesmos valores de diversidade haplotípica (Hd = 0,80±0,09). Também em Bom Jesus do Araguaia verificou-se a maior diversidade nucleotídica ($\pi = 5,04 \pm 1,48$; n = 4). A diversidade nucleotídica desta espécie foi significativamente superior à *M. pyrocephalus* (sNK = 11,67 ; $p < 0,001$) e à *C. rubrocapilla* (sNK = 6,04 ; $p = 0,03$).

Quanto a maior diversidade haplotípica dentre as três espécies, esta foi encontrada para *C. rubrocapilla*, sendo significativamente superior a obtida para *M. pyrocephalus* (sNK = 7,93; $p < 0,02$), mas não em relação a *L. nattereri* (sNK = 5,37; $p = 0,18$). Já o valor de diversidade nucleotídica desta

espécie foi intermediário, em relação às outras duas espécies ($\pi = 3,86 \pm 0,45$) e em São José do Xingu encontrou-se a maior diversidade nucleotídica para esta espécie ($5,38 \pm 2,69$) (Tabela 1).

Tabela 1: Índices de diversidade genética para *M. pyrocephalus*, *L. nattereri* e *C. rubrocapilla*, obtidos em doze localidades no estado de Mato Grosso e Pará. N = número de indivíduos; H = número de haplótipos; Hd = diversidade haplotípica; π = diversidade nucleotídica; S = número de sítios polimórficos.

Espécie/ Região	N	H	Hd \pm SD	$\pi \pm$ SD ($\times 10^{-3}$)	S
<i>M. pyrocephalus</i>	63	11	0,80\pm0,03	2,19\pm0,23	15
Transição oeste					
Chupinguaia	5	2	0,40 \pm 0,24	0,41 \pm 0,24	1
Comodoro	7	3	0,60 \pm 0,21	1,02 \pm 0,46	3
Cerrado oeste					
Jauru	5	2	0,40 \pm 0,24	1,23 \pm 0,73	3
Transição leste					
São José do Xingu – F1	8	5	0,79 \pm 0,15	2,30 \pm 0,91	9
Querência – F2	9	7	0,92 \pm 0,09	3,07 \pm 0,83	12
Bom Jesus do Araguaia – T2	9	4	0,81 \pm 0,09	2,73 \pm 0,80	7
Bom Jesus do Araguaia – C2	8	2	0,54 \pm 0,12	0,55 \pm 0,13	1
Ribeirão Cascalheira – T3	9	4	0,73 \pm 0,12	1,05 \pm 0,26	3
Cerrado Leste					
Primavera do Leste	3	3	1,00 \pm 0,27	3,41 \pm 1,16	5
<i>L. nattereri</i>	35	13	0,87\pm0,04	4,84\pm0,31	19
Transição oeste					
Chupinguaia	14	7	0,80 \pm 0,09	4,74 \pm 0,61	12
Comodoro	14	6	0,80 \pm 0,09	4,43 \pm 0,75	12
Transição leste					
Bom Jesus do Araguaia – T2	4	3	0,83 \pm 0,22	5,04 \pm 1,48	8
São José do Xingu – F1	2	1	-	-	-
Querência – F2	1	1	-	-	-
<i>C. rubrocapilla</i>	31	15	0,90\pm0,03	3,86\pm0,45	23
Transição oeste					
Chupinguaia	5	5	1,00 \pm 0,13	4,31 \pm 0,99	9
Comodoro	3	3	1,00 \pm 0,27	2,15 \pm 0,59	3
Transição leste					
São José do Xingu – F1	2	2	1,00 \pm 0,50	5,38 \pm 2,69	5
Bom Jesus do Araguaia – C2	6	3	0,73 \pm 0,15	2,87 \pm 0,56	5
Bom Jesus do Araguaia – T2	4	3	0,83 \pm 0,22	2,87 \pm 0,93	5
Ribeirão Cascalheira – T3	5	5	1,00 \pm 0,13	3,23 \pm 0,98	3
Ribeirão Cascalheira – C3	2	2	1,00 \pm 0,50	3,23 \pm 1,61	3
Querência – F3	1	1	-	-	-
Região Norte					
Altamira	3	3	1,00 \pm 2,72	2,87 \pm 1,07	4

A análise de variância molecular (AMOVA) indicou que a população de *M. pyrocephalus* está fortemente estruturada entre as regiões de transição leste e oeste, conforme demonstrado pelo valor de Φ_{st} (F_{st} acima de 0,25, indica diferenciação genética muito grande, de acordo com a classificação de Wright (1978)) (Tabela 2). Todas as subpopulações situadas na região de transição leste se

diferenciaram significativamente da região de transição oeste, como pode ser verificado pelo resultado da análise de F_{st} par-a-par entre essas subpopulações (Tabela 3). O mesmo não foi evidenciado para a subpopulação situada na região de cerrado ao leste da área de estudo (Primavera do Leste). Esta subpopulação diferiu significativamente apenas das subpopulações situadas em Ribeirão Cascalheira (T3) e em Bom Jesus do Araguaia (C2), localizadas na região de transição leste.

Tabela 2: Análise da variância molecular (AMOVA) entre as subpopulações de *M. pyrocephalus* situadas nas regiões de floresta de transição a leste e oeste do estado de Mato Grosso e a sudeste do estado de Rondônia.

Análise	Fonte da variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Componentes da variação	Porcentagem da variação
Transição oeste X Transição leste	Entre grupos	1	14,87	0,604	42,72
	Entre populações dentro dos grupos	6	4,05	-0,020	-1,44
	Dentro das populações	52	43,17	0,830	58,73
	Total	59	62,08	1,413	
	Índices de Fixação	Φ_{sc} : -0,025	Φ_{st} : 0,413	Φ_{ct} : 0,427	
	Valores p	0,648±0,014	0,000±0,000	0,018±0,004	

O resultado obtido pelo teste de Mantel indicou haver isolamento pela distância entre as subpopulações desta espécie. A distância explicou 87,17% da variação genética obtida através dos valores de F_{st} par-a-par e 61,72% da variação genética obtida pela distância genética.

L. nattereri apresentou uma moderada estruturação populacional de acordo com a classificação de Wright (1978) (valores de F_{st} entre 0,05 a 0,15 indicam moderada diferenciação genética entre as populações). Apesar deste nível de estruturação genética ser assumido como moderado, segundo Wright (1978), na AMOVA este resultado não é considerado significativo (Tabela 4).

A análise de F_{st} par-a-par (Tabela 5) indicou uma subdivisão entre as subpopulações situadas nas regiões de transição leste e oeste, porém apenas a subpopulação encontrada em Comodoro se diferenciou significativamente das subpopulações situadas na região de transição

leste. Entre as subpopulações encontradas em Comodoro e Chupinguaia, ambas situadas na região de transição oeste, não houve estruturação populacional.

Tabela 3: Distância genética (corrigida) (diagonal acima) e F_{st} par-a-par (diagonal abaixo) entre as subpopulações de *M. pyrocephalus*, situadas no estado de Mato Grosso e sudeste do estado de Rondônia (* = $p < 0,05$). Com. = Comodoro; Chu. = Chupinguaia; Jau = Jauru; R.B. = Ribeirão Cascalheira; B.J.A. = Bom Jesus do Araguaia; S.J.X. = São José do Xingu; Que = Querência; P.L. = Primavera do Leste.

Localidades	Com.	Chu.	Jau.	R.B. (T3)	B.J.A. (T2)	B.J.A. (C2)	S.J.X. (F1)	Que. (F2)	P.L.
Comodoro		-0,000	-0,134	1,441*	0,823*	1,457*	0,928*	0,654*	-0,225
Chupinguaia	-0,016		0,000	2,111*	1,345*	2,127*	1,514*	1,175*	-0,000
Jauru	-0,135	0,000		1,181*	0,670*	1,318*	0,756*	0,501*	-0,270
Ribeirão Cascalheira (T3)	0,585*	0,713*	0,523*		0,113	0,047	-0,036	0,034	0,769*
Bom Jesus do Araguaia (T2)	0,273*	0,389*	0,214*	0,063		0,080	-0,168	-0,169	-0,149
Bom Jesus do Araguaia (C2)	0,667*	0,813*	0,632*	0,047	0,037		0,013	0,079	0,786*
São José do Xingu (F1)	0,340*	0,474*	0,273*	-0,012	-0,073	0,009		-0,253	0,087
Querência (F2)	0,208*	0,327*	0,145*	0,022	-0,062	0,031	-0,106		-0,093
Primavera do Leste	0,000	0,142	-0,0561	0,423*	-0,024	0,488*	0,078	-0,017	

*Valor- p do teste é obtido pela proporção de permutações de haplótipos entre as populações (1.023 permutações) que conduzem a um valor de F_{st} maior ou igual ao observado.

Tabela 4: Análise da variância molecular (AMOVA) entre as subpopulações de *L. nattereri* situadas nas regiões de floresta de transição a leste e oeste do estado de Mato Grosso e a sudeste do estado de Rondônia.

Análise	Fonte da variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Componentes da variação	Porcentagem da variação
Transição oeste X Transição leste	Entre grupos	1	5,71	0,31	13,49
	Entre populações dentro dos grupos	2	4,60	0,04	1,57
	Dentro das populações	31	61,41	1,98	84,94
	Total	34	71,72	2,33	
	Índices de Fixação	Φ_{sc} : 0,018	Φ_{st} : 0,150	Φ_{ct} : 0,135	
	Valores p	0,284±0,015	0,071 ±0,009	0,347 ±0,015	

Tabela 5: Distância genética (corrigida) (diagonal acima) e valores de F_{st} par-a-par (diagonal abaixo) entre as subpopulações de *L. nattereri*, situadas no estado de Mato Grosso e sudeste do estado de Rondônia (* = $p < 0,05$).

Localidades	Comodoro	Chupinguaia	Transição Leste
Comodoro		0,208	1,099*
Chupinguaia	0,049		0,405
Transição Leste (F1, F2 e T2)	0,224*	0,088	

*Valor- p do teste é obtido pela proporção de permutações de haplótipos entre as populações (1.023 permutações) que conduzem a um valor de F_{st} maior ou igual ao observado.

Enquanto *M. pyrocephalus* e *L. nattereri* apresentaram, respectivamente, alta e moderada subdivisão de suas populações, *C. rubrocapilla* se diferenciou destas espécies, por não apresentar estruturação populacional, conforme indicado pelo valor do índice de fixação Φ_{st} , obtido através da análise de variância molecular (AMOVA). Nesta análise, foram consideradas apenas as subpopulações das regiões de transição, portanto os haplótipos dos três indivíduos provindos da região norte não foram considerados (Tabela 6). Segundo a classificação de Wright (1978), valores do índice de fixação F_{st} até 0,05 indicam pequena diferenciação genética.

Tabela 6: Análise da variância molecular (AMOVA) entre as subpopulações de *C. rubrocapilla* situadas nas regiões de floresta de transição a leste e oeste do estado de Mato Grosso e a sudeste do estado de Rondônia.

Análise	Fonte da variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Componentes da variação	Porcentagem da variação
Transição oeste X Transição leste	Entre grupos	1	2,395	0,116	7,69
	Entre populações dentro dos grupos	3	3,039	-0,082	-5,42
	Dentro das populações	23	33,929	1,475	97,73
	Total	27	39,363	1,509	
	Índices de Fixação	Φ_{sc} : -0,059	Φ_{st}: 0,023	Φ_{ct} : 0,077	
	Valores P	0,526±0,016	0,737±0,012	0,096±0,010	

Ao se comparar as distâncias genéticas (corrigidas), entre as subpopulações desta espécie, verifica-se que há diferenciação da região de Altamira no Pará com as subpopulações das áreas situadas na região de transição leste e oeste (Tabela 7). O resultado do teste de Mantel indicou que

a distância geográfica explicou somente 37% da variação genética encontrada para *C. rubrocapilla*, não sendo este valor significativo.

Na Tabela 8 estão apresentados os parâmetros relacionados ao fluxo gênico entre as populações (M e N_{em}), estimados por meio do programa Migrate 3.2.1 e na Tabela 9, as estimativas do tamanho populacional efetivo (N_e) das populações das regiões de transição leste e oeste e das áreas de cerrado.

Tabela 7: Distância genética (corrigida) (diagonal acima) e valores de F_{st} par-a-par (diagonal abaixo) entre as subpopulações de *C. rubrocapilla* situadas nos estados de Mato Grosso, Rondônia e Pará. Os dados da região de transição leste referentes aos pontos F3, T3 e C3 foram agrupados (municípios de Querência e Ribeirão Cascalheira). Com. = Comodoro; Chu. = Chupinguaia; B.J.A. = Bom Jesus do Araguaia; (* = $p < 0,05$)

Localidades	Chu.	Com.	B.J.A. (C2)	B.J.A. (T2)	Transição leste (F3, T3 e C3)	Altamira
Chupinguaia		-0,067	-0,066	-0,067	-0,142	3,829*
Comodoro	-0,071		0,561	0,291	0,278	4,428*
Bom Jesus do Araguaia (C2)	-0,012	0,166		-0,326	-0,145	4,092*
Bom Jesus do Araguaia (T2)	-0,013	0,073	-0,132		-0,036	4,163*
Transição leste (F3, T3 e C3)	-0,029	0,065	-0,056	-0,012		4,032*
Altamira	0,509*	0,653*	0,603*	0,593*	0,590*	

*Valor- p do teste é obtido pela proporção de permutações de haplótipos entre as populações (1.023 permutações) que conduzem a um valor de F_{st} maior ou igual ao observado.

Em *M. pyrocephalus*, foram estimados os menores valores de N_{em} (número efetivo de migrantes) entre as regiões de transição leste e oeste ($N_{em} = 0,23$ de leste para oeste e $N_{em} = 0,33$ no sentido oposto). Para as outras espécies, os valores de N_{em} entre as regiões de transição foram duas vezes maior (aproximadamente), em pelo menos em uma das direções (em *L. nattereri*, no sentido oeste para leste; $N_{em} = 0,75$) e em *C. rubrocapilla* no sentido o oposto; ($N_{em} = 0,79$). Em *M. pyrocephalus* os valores de N_{em} , das regiões de transição (oeste e leste) para o Cerrado foram, respectivamente, cerca de duas $N_{em} = 0,54$) e três vezes ($N_{em} = 0,78$) superiores aos estimados entre as regiões de transição. Já no sentido oposto, do Cerrado para as regiões de transição leste e oeste, o número efetivo de migrantes estimados foi bem menor, com valores similares aos obtidos entre as regiões de transição ($N_{em} = 0,36$ do Cerrado para a região de transição leste e $N_{em} = 0,29$ do Cerrado para a região de transição oeste).

Tabela 8: Taxa de migração M (m/μ) e número efetivo de migrantes (N_{em}), das três espécies de Pipridae analisadas, estimados para as populações das regiões de transição leste e oeste e para as áreas de Cerrado (somente para *M. pyrocephalus*).

Parâmetros	M (95% I.C.)	N_{em} (95% I.C.)
<i>M. pyrocephalus</i>		
Trajetória		
Leste → Oeste	192,40 (189,27 - 195,59)	0,23 (0,21 - 0,25)
Oeste → Leste	173,70 (169,20 - 178,20)	0,33 (0,32 - 0,34)
Cerrado → Leste	213,90 (211,78 - 214,92)	0,36 (0,36 - 0,37)
Leste → Cerrado	262,43 (261,57 - 263,23)	0,78 (0,78 - 0,78)
Cerrado → Oeste	188,78 (175,02 - 202,53)	0,29 (0,17 - 0,42)
Oeste → Cerrado	171,30 (159,65 - 182,95)	0,54 (0,22 - 0,86)
<i>L. nattereri</i>		
Trajetória		
Leste → Oeste	128,83 (128,51 - 129,15)	0,40 (0,40 - 0,40)
Oeste → Leste	205,87 (205,42 - 206,31)	0,75 (0,75 - 0,75)
<i>C. rubrocapilla</i>		
Trajetória		
Leste → Oeste	247,95 (247,53 - 248,37)	0,792 (0,790 - 0,79)
Oeste → Leste	201,27 (200,75 - 201,79)	0,428 (0,424 - 0,43)

Tabela 9: Valores de θ e do tamanho efetivo das populações das regiões de transição leste e oeste estimado a partir da taxa de mutação de 4% por sítio por milhões de anos ($2,0 \times 10^{-8}$ substituições por sítio por linhagem por ano; Arbogast *et al.* 2006).

Espécie	Região de transição				N_e (total)
	Oeste		Leste		
	Θ	N_e	θ	N_e	
<i>M. pyrocephalus</i>	0,0018	22.521	0,0018	22.750	45.271
<i>L. nattereri</i>	0,0031	39.000	0,0037	45.625	84.625
<i>C. rubrocapilla</i>	0,0032	39.938	0,0021	26.563	66.500

As estimativas do tamanho populacional efetivo (N_e), indicaram que *L. nattereri* apresentou o maior tamanho populacional efetivo, sendo este, 1,3 vezes maior do que o *C. rubrocapilla*. Já *M. pyrocephalus* obteve o menor tamanho populacional efetivo, dentre as três espécies.

A rede haplotípica de *M. pyrocephalus* ($n = 63$), apresentada na Figura 2b1, mostra que entre as subpopulações encontradas nas regiões de transição leste e oeste somente um haplótipo foi compartilhado e isto se deu com a subpopulação de Comodoro, região da transição oeste de maior contato com o bioma Cerrado (Figura 2a). Entre as subpopulações da transição leste e a subpopulação de Chupinguaia, localizada mais ao norte, nenhum haplótipo foi compartilhado. Por outro lado, entre as subpopulações das regiões de transição (leste e oeste) e as subpopulações das áreas de Cerrado (Primavera do Leste e Jauru) se deu um maior compartilhamento de haplótipos.

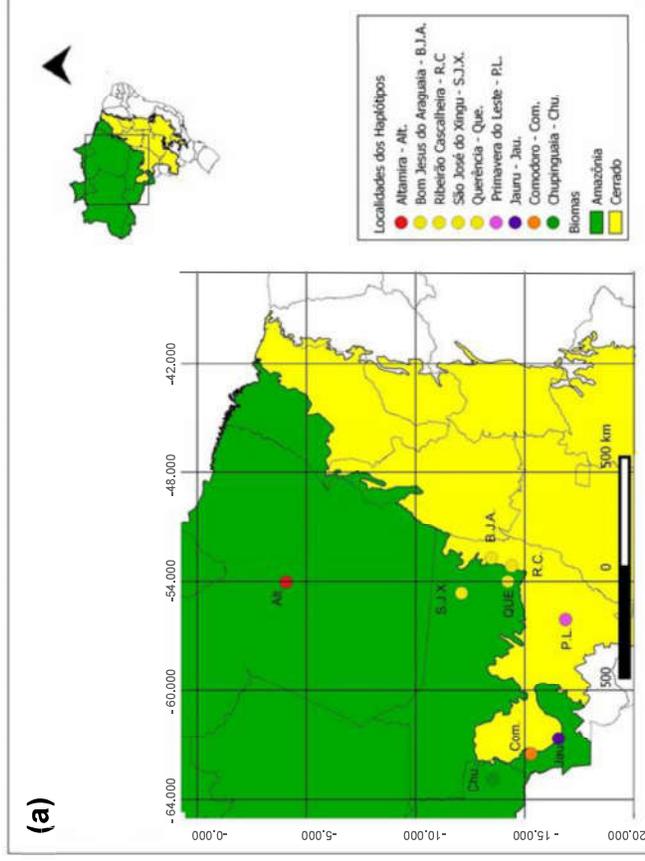
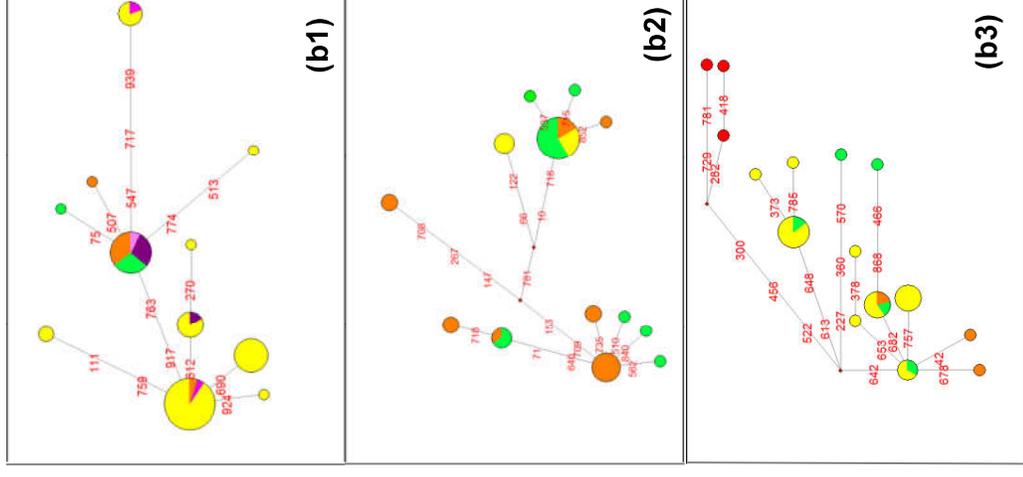


Figura 2: (a) Localidades de ocorrência dos haplótipos das três espécies de Pipridae; (b) Rede haplotípica das populações. (b1) *M. pyrocephalus*; (b2) *C. nattereri* e (b3) *C. rubrocapilla*. O tamanho do círculo é proporcional ao número de indivíduos com cada haplótipo e as cores correspondem à localidade de ocorrência apresentada na imagem. Cada linha representa o número de passos mutacionais (números em vermelho nas linhas).

A rede haplotípica de *L. nattereri* (n = 35; Figura 2b2) mostra um compartilhamento de haplótipos que ocorreu entre as subpopulações de Chupinguaia e Comodoro e entre estas duas subpopulações e aquelas situadas na região de transição leste. Mostra também uma separação entre o agrupamento que contém os haplótipos da região de transição leste (em amarelo, à direita) do agrupamento de haplótipos pertencentes somente aos indivíduos da região de transição oeste (haplótipos de cores verde e laranja à esquerda). Entretanto, essa subdivisão foi mais acentuada entre Comodoro e a região de transição leste, conforme corroborado pelos resultados do teste de F_{st} par-a-par.

Para *C. rubrocapilla* (n = 31; Figura 2b3), contrariamente ao que se observou no caso de *M. pyrocephalus*, encontrou-se um maior compartilhamento entre haplótipos oriundos da região leste e de Chupinguaia (região de transição oeste). Os três únicos haplótipos compartilhados, incluíram aqueles provindos destas duas regiões. Mais distantes e diferenciados das áreas de transição, estão os haplótipos procedentes da região norte, não havendo compartilhamento com as demais regiões, resultado corroborado pelos dados de distância genética. Observam-se também vários haplótipos não compartilhados (somente três dos 15 haplótipos obtidos para esta espécie foram compartilhados) nas extremidades da rede.

Estimativas de mudanças demográficas

Os resultados obtidos para as espécies estudadas com relação às mudanças demográficas históricas, ocorridas na região de transição Cerrado – Amazônia, foram mais uniformes do que o observado para a estruturação de suas populações. As três espécies apresentaram sinais de rápida expansão populacional, conforme indicaram as curvas de *mismatch distribution*, com um padrão do tipo *Smooth Poisson Distribution*, característico de populações que passaram por um processo de expansão populacional pretérita (Figura 3). Os valores do índice *Raggedness* e da soma dos desvios dos quadrados (SSD) não foram significativos, resultados esperados para populações que apresentaram um padrão de curva *mismatch distribution*, que não se diferenciaram do modelo esperado de expansão (Harpending 1994). Em *L. nattereri*, a curva observada foi a que mais se diferenciou da esperada ($p = 0,052$).

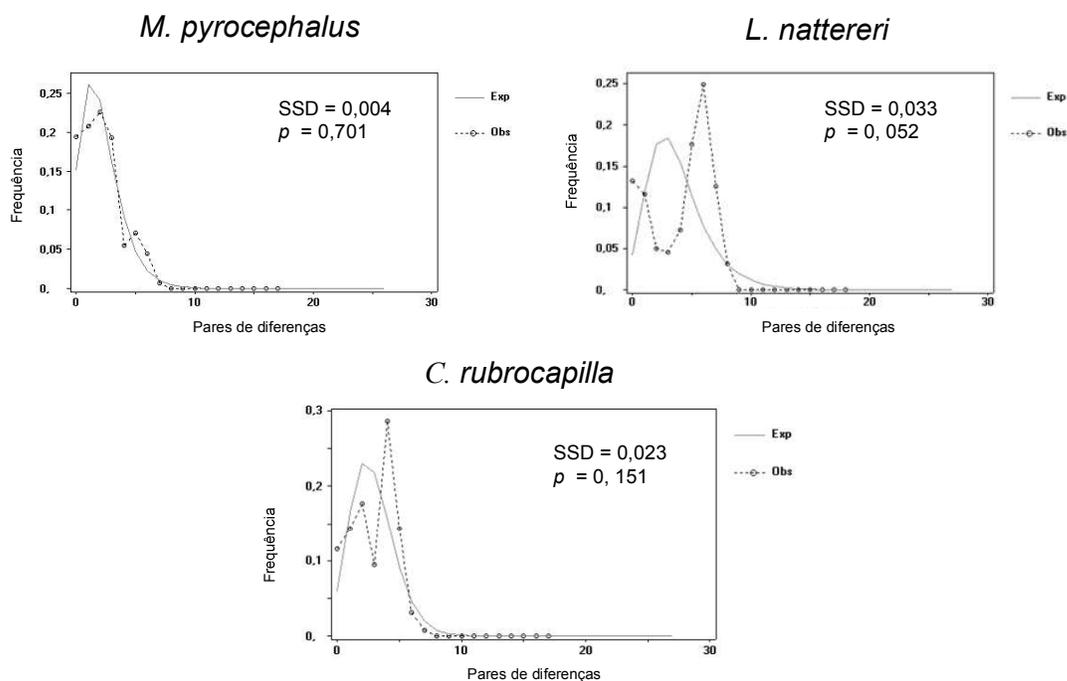


Figura 3: Curva de *Mismatch distribution* apresentadas por (a) *M. pyrocephalus*; (b) *L. nattereri* e (c) *C. rubrocapilla* na região de transição Cerrado – Amazônia nos estados de Mato Grosso e Rondônia.

Valores negativos dos testes de Tajima'D e Fu's Fs também são indicativos de populações que sofreram processo de expansão, porém, somente os testes Fu's Fs e R_2 apresentaram resultados significativos e apenas para *C. rubrocapilla* (Tabela 10).

Tabela 10: Testes de neutralidade realizados para as populações três espécies de Pipridae encontradas na região de transição Cerrado – Amazônia nos estados de Mato Grosso e Rondônia (* = $p < 0,05$).

Espécies	<i>M. pyrocephalus</i>	<i>L. nattereri</i>	<i>C. rubrocapilla</i>
N	63	35	28
D	-0,972	-0,335	-1,026
Fu's Fs	-1,978	-1,943	-3,686*
R	0,023	0,046	0,078
R_2	0,069	0,102	0,081*

DISCUSSÃO

Estimativas de variabilidade, estrutura populacional e fluxo gênico

A composição de bases dos fragmentos, das três espécies estudadas, apresentou um déficit de guaninas, tendência típica dos genes mitocondriais das aves (Joseph *et al.* 2002).

Dentre as três espécies analisadas, *M. pyrocephalus* obteve os menores índices de diversidade haplotípica e nucleotídica. As localidades mais próximas da floresta do rio Xingu, na região de transição leste, apresentaram os maiores valores de diversidade haplotípica, contribuindo em maior proporção para a variabilidade genética desta espécie, na região de abrangência deste estudo. Também para a subpopulação de Primavera do Leste, foi observado um alto valor de diversidade haplotípica. Porém, ao contrário do que se observa nas regiões de transição, onde foram obtidos vários haplótipos exclusivos, em Primavera do Leste, as três amostras obtidas resultaram em três haplótipos compartilhados, seja com a região de transição leste (dois haplótipos), seja com a região de transição oeste (um haplótipo). Na localidade de Jauru, também em área de Cerrado, a mesma situação foi verificada. A ausência de haplótipos únicos e a presença exclusiva de haplótipos compartilhados entre as áreas de Cerrado com as áreas de transição dos extremos leste e oeste do estado de Mato Grosso e Rondônia, é um indicativo da relevância das áreas amazônicas para a diversidade genética das subpopulações situadas no Cerrado. Silva (1996) já havia relatado a importância do intercâmbio entre a Amazônia e Cerrado para a biodiversidade do Cerrado. O mesmo pode ser inferido para a variabilidade genética das populações de origem Amazônica que adentram o Cerrado por meio das matas ciliares. Evidências da influência das populações da Amazônia nas populações de Cerrado foram obtidas pelas estimativas de fluxo gênico para *M. pyrocephalus*. O número efetivo de migrantes (N_{em}), das populações das regiões de transição leste e oeste, em direção ao Cerrado, foi aproximadamente duas vezes maior ($N_{em} = 0,782$ da região leste e $N_{em} = 0,542$ da região oeste), do que o número de migrantes estimados para o sentido oposto, isto é, do Cerrado para as regiões de transição. ($N_{em} = 0,365$ para a região leste e $N_{em} = 0,292$ para região oeste).

Conforme indicaram os resultados da análise de variância molecular, *M. pyrocephalus* apresentou uma subdivisão populacional entre as regiões leste e oeste do estado de Mato Grosso. Este resultado foi corroborado nas estimativas de fluxo gênico e pelo menor compartilhamento de haplótipos entre as populações destas regiões. Como mencionado anteriormente, em ambas as

áreas de Cerrado há compartilhamento de haplótipos com as regiões de transição. Entretanto, entre as áreas de transição o compartilhamento se deu com menor frequência. Deste modo, entre subpopulações mais próximas (separadas por 150 km a 300 km, aproximadamente) houve um maior compartilhamento de haplótipos, embora um haplótipo, ocorrente nas subpopulações da região de transição leste, tenha sido compartilhado com a subpopulação de Jauru (área de Cerrado da região oeste), e estas subpopulações se encontram distanciadas por cerca de 750 km.

Este resultado sugere que, nesta espécie, deve ter havido um considerável fluxo gênico por meio das áreas de Cerrado e tal evidência foi corroborada pelas estimativas obtidas nas análises de migração. Como mencionado anteriormente, o número de migrantes por geração (N_{em}) das áreas de transição em direção às áreas de cerrado foi, aproximadamente, o dobro do observado entre as regiões de transição. Isto provavelmente se deu em função da menor distância que separa estas subpopulações, conforme indicado pelo teste de Mantel, de isolamento pela distância. Atualmente, com a fragmentação do habitat cada vez mais pronunciada, é provável que o nível de estruturação das populações, das áreas de transição leste e oeste, esteja mais elevado, ocasionando assim maior isolamento e, conseqüentemente, maior diferenciação das mesmas. O valor estimado de N_{em} entre estas áreas, obtido para *M. pyrocephalus*, foi a menor dentre as três espécies aqui analisadas.

Para *M. pyrocephalus*, o valor estimado de N_{em} da região leste para oeste ($N_{em} = 0,235$) pode ser considerado negligenciável, de acordo com Bowie *et al.* (2006), e no sentido oposto, também foi baixo ($N_{em} = 0,329$). Portanto, baseando-se no número estimado de migrantes, a estruturação genética desta espécie na região de transição, realmente seria esperada.

A estruturação populacional de *L. nattereri* se deu em menor grau em relação ao evidenciado para *M. pyrocephalus*, sendo considerada moderada pela classificação de Wright (1978) (porém não significativa pela análise de variância molecular – AMOVA. $\Phi_{st} = 0,150$; $p = 0,071$). Uma subdivisão significativa, obtida na análise de F_{st} par-a-par, ocorreu apenas entre Comodoro e as subpopulações da região de transição leste. A rede haplotípica desta espécie corrobora este resultado, pois apresenta uma separação parcial dos haplótipos das regiões de transição leste e oeste. Além disso, o haplótipo mais frequente na subpopulação de Chupinguaia é compartilhado com a subpopulação de Comodoro e as subpopulações da transição leste. Já o haplótipo mais frequente em Comodoro, não foi compartilhado com Chupinguaia nem com as subpopulações da região de transição leste.

A organização espacial apresentada por *M. pyrocephalus* na região de transição, em que o fluxo gênico entre as populações mais afastadas é reduzido (o que promove a diferenciação significativa quanto a sua estrutura) e em que o intercâmbio de indivíduos ocorre principalmente entre subpopulações vizinhas (diferenciação genética explicada pelo isolamento por distância), é característico do modelo de metapopulação (Levins 1970).

A organização espacial de *L. nattereri* também apresentou características do modelo de metapopulação. Embora as subpopulações da transição leste e oeste ainda não estejam significativamente diferenciadas, como em *M. pyrocephalus* (conforme resultado obtido pela AMOVA), elas exibiram uma tendência à estruturação (indicado na análise de F_{st} par-a-par), com uma subdivisão populacional entre a população de Comodoro (transição oeste) e as subpopulações da transição leste. A estruturação moderada observada nesta espécie deve ser consequência da maior migração entre suas subpopulações. O número efetivo de migrantes (N_{em}) estimado para *L. nattereri* foi de 0,40 (da região leste para oeste) e 0,75 (da região oeste para leste). Portanto, uma quantidade maior de migrantes foi estimada para esta espécie, em relação ao obtido para *M. pyrocephalus*, sendo compatível com seu nível de estruturação genética.

No modelo de metapopulação a migração entre as subpopulações é baixa e todas as subpopulações tem uma substancial probabilidade de extinção, mas as áreas que sofrem eventos de extinção local podem ser recolonizadas por indivíduos provenientes de outras subpopulações (Hanski 1999). Considerando que a região de transição Cerrado – Amazônia tem sofrido acelerada fragmentação e degradação de seus habitats naturais (Nogueira *et al.* 2007; Brando *et al.* 2013), populações isoladas que vierem a se extinguir não mais poderão ser recolonizadas, o que poderá promover alterações na estrutura populacional de *M. pyrocephalus* e *L. nattereri*, com consequências negativas para a conservação destas espécies.

Finalmente, para *C. rubrocapilla* foram encontrados os maiores valores de diversidade haplotípica. Das nove localidades amostradas, somente duas (ambas situadas em Bom Jesus do Araguaia) não apresentaram um haplótipo para cada indivíduo. Nas demais, a proporção indivíduo - haplótipo foi 1:1, demonstrando uma alta variação genética local desta espécie.

A rede haplotípica desta espécie demonstrou um agrupamento mais notório entre os haplótipos oriundos de Altamira no Pará, região Norte que se diferenciou significativamente das outras regiões avaliadas, quanto à distância genética. Os três haplótipos que foram compartilhados,

incluíram aqueles provenientes da região de transição leste e de Chupinguaia (apontando para a possibilidade de maior intercâmbio gênico entre as mesmas) e somente um destes haplótipos foi compartilhado com Comodoro. Deste modo, migrantes de ambas as áreas podem ter percorrido, com maior frequência, uma trajetória posicionada mais ao norte da faixa de transição considerada neste estudo, onde atualmente comporta uma vegetação de maior porte e mais densa, do que aquela encontrada em áreas mais ao sul, em ambiente com maior contato com a vegetação de cerrado. As maiores taxas de migração estimadas para esta espécie permitem supor que o padrão de compartilhamento de haplótipos acima descrito seja em consequência de sua maior capacidade de dispersão, ocasionando assim, o padrão observado de compartilhamento de haplótipos.

Mediante uma taxa de migração mais elevada e um menor tamanho efetivo populacional, *C. rubrocapilla*, não apresentou estruturação populacional. Consequentemente, o valor de Φ_{st} obtido para esta espécie foi bem inferior ao das demais. Tais resultados vão ao encontro dos atributos que caracterizam modelo de populações em manchas: i) alta taxa de dispersão entre as subpopulações; ii) ausência de significativa diferenciação genética entre subpopulações (consequência de taxas mais elevadas de fluxo gênico que irão homogeneizar qualquer estruturação genética); iii) a população é composta por um único agrupamento genético. Diante deste modelo, o risco de extinção é baixo e por isso, não se espera haver extinção ou recolonização das subpopulações (Harrison 1991). Considerando que *C. rubrocapilla* apresente uma estrutura populacional mais coesa, esta espécie seria menos vulnerável, em relação aos outros dois Pipridae estudados, quanto ao isolamento dos habitats que vem ocorrendo na região de transição Cerrado – Amazônia em decorrência do desmatamento e degradação ambiental.

Nota-se que, na região de transição, basicamente uma mesma quantidade de migrantes efetivos (N_{em}) foi estimada para *C. rubrocapilla* ($N_{em} = 0,43$ de oeste para leste e $N_{em} = 0,79$ de leste para oeste) e *L. nattereri* ($N_{em} = 0,40$ de leste para oeste e $N_{em} = 0,75$ de oeste para leste). Entretanto, o nível de estruturação genética destas espécies diferiu fortemente ($\Phi_{st} = 0,02$ em *C. rubrocapilla* e $\Phi_{st} = 0,150$ em *L. nattereri*). Esta diferença nos valores de Φ_{st} se deve a diferenças no tamanho populacional efetivo destas espécies, que em *L. nattereri* é 1,3 vezes maior do que *C. rubrocapilla*. Portanto, taxas similares de fluxo gênico podem ter impactos muito diferentes na estrutura populacional, se o tamanho efetivo das populações for consideravelmente diferenciado (Templeton 2011).

Uma explicação alternativa para a falta de estruturação genética observada para *C. rubrocapilla* é a possibilidade desta espécie ter sofrido uma expansão populacional recente. Como será discutido em maior detalhe mais adiante, as três espécies de Pipridae apresentaram resultados que indicaram uma tendência à expansão populacional. Entretanto, somente para *C. rubrocapilla* obteve-se um valor negativo e significativo para o teste F_u 's F_s . É possível que uma expansão populacional recente ocorrida nesta espécie esteja influenciando o padrão de estruturação desta espécie.

A evidência de expansão populacional também tem sido sugerida como uma possível explicação para a falta de estruturação populacional observada em espécies de aves que habitam o Cerrado (Bates *et al.* 2003), que ocorrem ao longo de rios da Amazônia (Aleixo 2006) e em ambientes aquáticos nos Andes e Amazônia (Cadena *et al.* 2011). Os dois argumentos utilizados para explicar a falta de estruturação populacional não são excludentes, um deles ou ambos (alta taxa de dispersão e expansão populacional) podem estar influenciando o padrão observado (Aleixo 2006; Cadena *et al.* 2011).

Deve-se ressaltar que os resultados obtidos, quanto à estruturação populacional das espécies de Pipridae consideradas, também podem estar sendo influenciados pelo número de amostras analisadas nas regiões de transição leste e oeste. O ideal seria obter quantidades similares de amostras oriundas destas duas regiões, abrangendo também um maior universo amostral. No caso de *M. pyrocephalus*, seria mais apropriado considerar um maior conjunto de amostras providas das áreas de Cerrado, obtendo-se assim, informações mais detalhadas sobre a variabilidade genética desta espécie nesta região.

Os estudos que abordaram a estruturação populacional nas espécies de Pipridae, realizados em áreas contínuas ou fragmentadas, abrangeram áreas de menor extensão do que aqui considerado. Nestas condições, não foi detectada estruturação populacional ou então, apenas uma pequena subdivisão foi observada para todas as cinco espécies analisadas. Populações de *Chiroxiphia linearis* ocorrentes em duas áreas de floresta na Costa Rica separadas por 115 km, não apresentaram divergência significativa (McDonald 2003) e o mesmo foi obtido para *Manacus manacus* em uma área de 16 km² em Trinidad, onde nove *leks* desta espécie foram analisados (Höglund & Shorey 2003). Fraca estruturação populacional (F_{st} com valores que variaram de 0,014 a 0,029) foi encontrada para *Corapipo altera* em uma área fragmentada na Costa Rica, com

fragmentos separados por até 30 km de distância (Barnett *et al.* 2007). Em *Chiroxipha caudata*, numa região abrangendo 414 km de floresta contínua na Mata Atlântica, Francisco *et al.* (2007) detectaram uma pequena, mas significativa estruturação genética, considerando - se tratar de uma área não fragmentada (F_{st} com valores que variaram de 0,012 a 0,023). Finalmente em *Antilophia bokermanni*, Rêgo *et al.* (2010) não detectaram estruturação populacional ao comparar as subpopulações das regiões leste e oeste de uma área de 30 km², na Chapada do Araripe (nordeste do Brasil), onde esta espécie endêmica de Pipridae encontra-se distribuída. Com exceção do estudo realizado por Rêgo *et al.* (2010), que utilizou sequências mitocondriais, nos demais estudos a estruturação populacional foi avaliada por meio de análises com microssatélites.

Em uma escala muito mais ampla, resultados bem diferentes foram verificados. Entre três diferentes paisagens da região Amazônica (Aracá, Jaú e Uatumã), cujas distâncias variaram de 311 a 925 km, uma forte estruturação populacional foi observada em *Xenopipo atronitens* (Φ_{st} com valores que variaram de 0,30 a 0,78), revelada pelas análises de sequências mitocondriais do gene ND2 (Capuruchu 2012). Dentre as espécies consideradas no presente estudo, somente *M. pyrocephalus* apresentou um alto nível de estruturação genética ($\Phi_{st} = 0,413$; $p = 0,000$), semelhante ao obtido em *X. atronitens*. Para *L. nattereri* o nível de estruturação foi moderado ($\Phi_{st} = 0,150$; $p = 0,071$) e para *C. rubrocapilla*, baixo ($\Phi_{st} = 0,023$; $p = 0,737$).

Verificou-se, portanto, que não houve uniformidade quanto à estruturação populacional, entre as três espécies de Pipridae analisadas, mesmo na ausência de qualquer barreira efetiva (como grandes rios ou cadeias de montanhas) que pudesse reduzir fortemente o fluxo gênico entre as populações situadas nos extremos leste e oeste do estado de Mato Grosso. A distância neste caso, exerceu importante influência na diferenciação genética, verificada para as populações de *M. pyrocephalus* e *L. nattereri*. Somente para *C. rubrocapilla* não houve evidências de estruturação populacional, resultado que aponta para uma maior capacidade de dispersão desta espécie em relação às demais.

Burney & Brumfield (2009) ao examinarem a variação genética de aves em populações isoladas, em ambos os lados de três grandes barreiras geográficas (Andes, rio Amazonas e rio Madeira) verificaram que diferenças ecológicas entre as espécies foram responsáveis pela variação interespecífica nos níveis de diferenciação genética entre as populações. A maior propensão à dispersão proporcionaria maior movimento de alelos entre as populações e conseqüentemente,

menor variação genética entre as demes. Dentre as características ecológicas consideradas, o estrato de forrageamento foi a variável que exerceu maior influência na diferenciação genética entre as localidades opostas da barreira. Espécies de dossel obtiveram valores de divergência genética significativamente inferiores, através dos Andes e dos dois rios da Amazônia, do que as espécies de sub-bosque, devido sua maior capacidade de dispersão. A maior propensão à dispersão das espécies de dossel se deve ao fato destas aves habitarem uma superfície bidimensional, com uma grande descontinuidade vertical e horizontal (clareiras criadas pelas quedas das árvores) (Terborgh *et al.* 1990). Deste modo, experimentam maior variação na intensidade luminosa do que aquelas que habitam os estratos inferiores sombreados. Como consequência, as espécies de dossel tendem a ocorrer em uma maior variedade de habitats do que as espécies de sub-bosque, incluindo áreas externas à floresta primária como, por exemplo, a borda da floresta e áreas de clareiras, onde a superfície bidimensional e as condições de luz se assemelham ao dossel (Walther 2002). A maior propensão à dispersão das aves de dossel também está associada aos padrões de disponibilidade espacial e temporal de recursos, que são mais heterogêneos no exterior da floresta em comparação com o sub-bosque (Levey & Stiles 1994). Devido a grande heterogeneidade na disponibilidade dos recursos encontrados nas copas das árvores, as espécies de dossel tendem a exibir maior flutuação sazonal em sua abundância (Stiles 1980; Loiselle 1988). Estes padrões provêm evidência indireta de que as aves do dossel apresentam maior propensão à dispersão (vagilidade) do que as aves de sub-bosque.

Considerando-se as características ecológicas das espécies de Pipridae analisadas neste estudo, nota-se que *M. pyrocephalus* é a única que habita o dossel, entretanto, contrariamente ao que seria esperado (conforme o estudo realizado por Burney & Brumfield (2009)), esta espécie apresentou-se estruturada entre as regiões de transição leste e oeste do estado de Mato Grosso. Contudo, ressalva-se que os indivíduos desta espécie parecem também ocupar o estrato inferior da floresta durante a fase juvenil. Tal fato foi evidenciado durante as capturas dos exemplares para a coleta de amostras de sangue. Em uma das expedições de coleta, na região de transição do leste de Mato Grosso, vários espécimes jovens foram capturados com redes de neblina, encontrados, em sua maioria, a menos de um metro do solo. Nas amostragens realizadas subsequentemente, somente exemplares adultos foram capturados e para garantir o sucesso de captura, fez-se necessária a utilização de *playback* para a atração dos indivíduos dos estratos médios e da floresta para a área

das redes, que alcançavam entre dois metros e meio a três metros de altura do solo. Sem a utilização do *playback* não a captura dos exemplares desta espécie com redes de neblinas seria extremamente morosa, tornando-se inviável para este estudo. Considerando-se que os jovens de *M. pyrocephalus* também utilizam (ou que utilizam predominantemente) o sub-bosque da floresta, poderia se esperar que esta espécie possa também apresentar um comportamento mais sedentário durante a fase juvenil.

Estudos sobre a distância de dispersão, com uma ampla variedade de aves, mostraram que a distância da dispersão natal é maior do que a distância da dispersão reprodutiva (Paradis *et al.* 1998). A definição de dispersão mais utilizada pelos ecólogos de vertebrados consiste-se no movimento permanente que um indivíduo faz desde seu local de nascimento para o local onde se reproduz ou teria se reproduzido se tivesse sobrevivido e encontrado um parceiro (Greenwood & Harvey 1982). Esta definição refere-se explicitamente ao movimento de indivíduos pré-reprodutivos. Embora a dispersão esteja frequentemente associada aos juvenis, adultos podem também mover-se de um sítio de reprodução para outro. As causas e consequências da dispersão diferem entre estas duas categorias, portanto é importante esclarecer a distinção entre elas. *Dispersão natal* é o movimento do indivíduo do local ou grupo onde se deu seu nascimento para aquele de sua primeira reprodução ou potencial de reprodução. Subsequente movimento do indivíduo entre locais ou grupos é denominado de *dispersão reprodutiva*. Quando há sucesso na tentativa de reprodução em ambos os tipos de dispersão, esta é denominada de *dispersão efetiva* (Greenwood & Harvey *op. cit.*).

Se durante a fase juvenil, quando ocorre a dispersão natal (de maior extensão) os indivíduos de *M. pyrocephalus* de fato apresentarem um comportamento mais sedentário, como esperado para as aves de sub-bosque (Willis 1974; Karr 1976; revisado por Harris & Reed 2002), seria razoável supor que esta característica ecológica esteja contribuindo para proporcionar a estruturação populacional encontrada para esta espécie, conforme previsto por Burney & Brumfield (2009).

Características de *L. nattereri* que apontam para uma tendência ao sedentarismo são o reduzido tamanho corporal (a menor dentre as três espécies com peso médio de $8g \pm 0,67$; $n = 11$) e dieta predominantemente insetívora. Tais características poderiam explicar a moderada estruturação genética encontrada em *L. nattereri*. Estudos indicam uma correlação positiva entre massa corporal e vagilidade (Lees & Peres 2009; Yabe *et al.* 2010) e massa corporal e distância de dispersão (Paradis *et al.* 1998). A menor mobilidade dos insetívoros pode ser justificada como decorrência da relativa

homogeneidade na distribuição dos insetos e outros artrópodes, e sua estabilidade no ambiente, o que proporcionaria menor transitoriedade dos indivíduos insetívoros (Karr 1971; Poulin *et al.* 1994). Porém, este comportamento também pode ser interpretado como uma falta de prontidão da maioria das espécies de insetívoros de sub-bosque em atravessar áreas abertas (Stouffer & Bierregaard Jr. 1995).

C. rubrocapilla foi a única espécie a não apresentar estruturação populacional entre as regiões de transição leste e oeste. Diante deste resultado, é esperada uma maior habilidade de dispersão deste Pipridae em relação aos demais. Esta espécie apresentou maior massa corporal (peso médio de $13g \pm 0,96$; $n = 24$) do que *M. pyrocephalus* (peso médio de $9g \pm 0,73$; $n = 51$) (sNK = 37,56; $p < 0,0001$) e *L. nattereri* ($8g \pm 0,67$; $n = 11$) (sNK = 56,64; $p < 0,0001$). Como mencionado anteriormente, esta característica associa-se com a maior aptidão à dispersão. Além de apresentar maior porte, *C. rubrocapilla* apresenta maior versatilidade quanto ao uso do habitat e espécies habitat-generalistas exibem maior capacidade para atravessar clareiras e áreas abertas do que as aves exclusivamente florestais (Stouffer *et al.* 2005), podendo assim, se dispersar por maiores distâncias (Owens *et al.* 1999). Conforme verificado por Belliure *et al.* (2000) a dispersão pode ter um efeito homogeneizador nas populações (como o caso de *C. rubrocapilla*) e a baixa habilidade em se dispersar pode resultar em diferenciação genética e subdivisão populacional (como observado para *M. pyrocephalus* e *L. nattereri*).

Deve-se ressaltar que as informações aqui obtidas baseiam-se em um gene mitocondrial, cuja herança é materna. Portanto, as evidências de estruturação populacional e fluxo gênico são matrilineares. Considerando que a dispersão natal e reprodutiva nas aves ocorre predominantemente nas fêmeas (revisado por Greenwood 1980) e que dentre os Pipridae os machos exibem comportamento mais sedentário (Snow 1962; Robbins 1983), o intercâmbio gênico ocorrido entre as regiões estudadas se deve essencialmente à movimentação das fêmeas sendo, portanto, detectados pelo marcador molecular aqui utilizado.

Estimativas de mudanças demográficas

Para as três espécies de Pipridae, sinais de expansão populacional pretérita foram detectados através do padrão unimodal ou do tipo *Smooth Poisson mismatch distribution* da curva *mismatch distribution* (sem desvios significativos do modelo esperado de expansão). Foram obtidos

também, valores negativos dos testes de Tajima'D e Fu's Fs para as três espécies, embora os mesmos não tenham sido significativos para *M. pyrocephalus* e *L. nattereri*. Somente para *C. rubrocapilla* o nível de significância foi alcançado para os testes Fu's Fs e R_2 . Deste modo, esta última espécie foi a que mais apresentou indicações de expansão pretérita. Já em *L. nattereri*, os valores observados da curva *mismatch distribution* foram os que mais se diferenciaram dos valores esperados. Para esta espécie e também para *M. pyrocephalus* as evidências de expansão populacional são menores. Deste modo, ou estas apresentaram uma situação maior estabilidade de suas populações no passado, ou estes resultados são consequência do menor poder desses testes em detectar a expansão populacional.

Situação similar foi encontrada por Cheviron *et al.* (2005), para *Lepidothrix coronata*. De acordo com estes autores, não se pode rejeitar o modelo de rápida expansão apresentada pelo padrão claramente unimodal ou do tipo *Smooth Poisson mismatch distribution* das curvas de *mismatch distribution*, sendo mais provável, a falta de poder estatístico dos testes de neutralidade em detectar a expansão.

A região centro-norte do Mato Grosso compreende, praticamente, toda a borda sul da Floresta Amazônica, expandindo-se em área na bacia do Rio Xingu. Nesta região, o gradiente climático é acompanhado pelo gradiente vegetacional (Ratter *et al.* 1973). Segundo Ivanauskas *et al.* (2008), a borda sul da província amazônica, na região do Alto Rio Xingu, apresenta composição florística própria, que a rigor não é similar à flora presente nas formações de entorno, que seriam a Floresta Ombrófila no domínio Amazônico e a Floresta Estacional no domínio Cerrado. Sua origem parece estar relacionada ao processo dinâmico de expansão-regressão do *continuum* florestal formado pela "Ponte Noroeste-Sudeste", durante as variações paleoclimáticas no período Quaternário. Do ponto de vista fitogeográfico senso estrito, a maior parte do Alto Xingu ainda é considerada amazônica, já do ponto de vista morfoclimático é uma área de transição para o domínio do Cerrado, quando não o próprio domínio do Cerrado (Ab'Saber 1966). A partir das áreas de transição, as espécies de aves florestais, com centro de distribuição na Amazônia, lentamente vão expandindo suas populações no interior do Cerrado seguindo a expansão de florestas ribeirinhas (Silva 1996). Mudanças na composição florística e na estrutura destas matas restringiriam a expansão da maioria das aves florestais Amazônicas no Bioma Cerrado (Silva *op. cit.*). Considerando os aspectos acima descritos, é provável que a resposta de pelo menos duas espécies de Pipridae,

(*C. rubrocapilla* e *M.pyrocephalus*) quanto a mudanças demográficas, esteja refletindo a história geológica recente desta região. Bates (2000) também verificou expansão populacional para três das cinco espécies de Passeriformes investigadas na região de ecótono Amazônia- Cerrado em uma região situada entre o Brasil e a Bolívia. Segundo este autor tal resultado seria esperado, considerando que a borda sul da Amazônia também é o limite da distribuição destas espécies e que a floresta Amazônica, na região de ecótono, teria sofrido uma expansão nos últimos 3.000 anos (Mayle *et al.* 2000). Conforme verificaram estes autores, a região de transição Amazônia- Cerrado é altamente sensível às mudanças climáticas e os limites atuais da floresta, representam sua maior extensão ao sul, nos últimos 50 mil anos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aleixo, A. 2006. Historical diversification of floodplain forest specialist species in the Amazon: a case study with two species of the avian genus *Xiphorhynchus* (Aves: Dendrocolaptidae). *Biological Journal of the Linnean Society*. 89: 383–395.
- Amaral, D.L. & Fonzar, B.C. 1982. Vegetação. As regiões fitoecológicas, sua natureza e seus recursos econômicos, Folhas SC.21, v. 26. Projeto RADAMBRASIL. Rio de Janeiro. Ministério de Minas e Energia.
- Anciães, M. & Peterson, A.T. 2006. Climate change effects on Neotropical manakin diversity based on ecological niche modeling. *Condor* 108: 778-791.
- Arbogast, B.S.; Drovetski, S.V.; Curry, R.L.; Boag, P.T.; Seutin, C. & Grant, P.R. 2006. The origin and diversification of Galapagos Mockingbirds. *Evolution* 60: 370–382.
- Avise, J.C. 2009. Phylogeography: retrospect and prospect. *Journal of Biogeography* 36: 3-15.
- Avise, J.C. & Walker, D. 1998. Pleistocene phylogeographic effects on avian populations and the speciation process. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 265: 457–463.
- Ayoade, J.O. 1996. *Introdução à climatologia para os trópicos*. 4ªed. Bertrand Brasil. Rio de Janeiro. 322p.
- Bates, J.M. 2000. Allozymic genetic structure and natural habitat fragmentation: data for five species of Amazonian forest birds. *Condor* 102: 770–783.
- Bates, J.M.; Tello, J.G. & Silva, J.M.C. 2003. Initial assessment of genetic diversity in ten bird species of South American Cerrado. *Studies on Neotropical Fauna and Environment* 38: 87–94.

- Barros-Silva, S.; Silva, M. T. M.; Silva, F. C. F. & Costa, E. P. 1978. Vegetação: as regiões fitoecológicas, sua natureza e seus recursos econômicos, Folhas SC.20, v.16. Projeto RADAMBRASIL. Rio de Janeiro. Ministério de Minas e Energia.
- Beerli, P. 2012. *Migrate documentation: version 3.2.1. User's Manual*. (<http://popgen.sc.fsu.edu/Migrate/Migrate-n.html>)
- Beerli, P. & Felsenstein, J. 2001. Maximum likelihood estimation of a migration matrix and effective population sizes in n subpopulations by using a coalescent approach. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 98: 4563–4568.
- Beerli, P. & Palczewski, M. 2010. Unied framework to evaluate panmixia and migration direction among multiple sampling locations. *Genetics* 185:313-326.
- Belliure, J. Sorci, G. Moller, A.P. & Clobert, J. 2000. Dispersal distances predict subspecies richness in birds. *Journal of Evolutionary Biology*.13: 480-487.
- Bordini, M.C.P. 2007. Manejo da regeneração natural de vegetação de cerrado, em áreas de pastagem, como estratégia de restauração na Fazenda Santa Maria do Jauru, município de Porto Esperidião, MT. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo/ Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba. 92p.
- Borgella, R. & Gavin, T.A. 2005. Avian community dynamics in a fragmented tropical landscape. *Ecological Applications* 15:1062–1073.
- Bostwick, K.S. 2000. Display behaviors, mechanical sounds, and evolutionary relationships of the Club-winged Manakin (*Machaeropterus deliciosus*). *Auk* 112: 203-219.
- Brooker, L.; Brooker, M. & Cale, P. 1999. Animal dispersal in fragmented habitat: measuring habitat connectivity, corridor use, and dispersal mortality. *Conservation Ecology* [online] 3: 4.
- Brown, L.M.; Ramey II, R.R.; Tamburini, B.& Gavin, T.A. 2004. Population structure and mitochondrial DNA variation in sedentary Neotropical birds isolated by forest fragmentation. *Conservation Genetics* 5: 743–757.
- Bowie, R.C.K., Fjeldså, J.; Hackett, S.J.; Bates, J.M. & Crowe, T.M. 2006. Coalescent models reveal the relative roles of ancestral polymorphism, vicariance, and dispersal in shaping phylogeographical structure of an African montane forest robin. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 38: 171–188.

- Cadena, C.D.; Gutiérrez-Pinto, N.; Nicolás, D. & Chesser, R.T. 2011. No population genetic structure in a widespread aquatic songbird from the Neotropics. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 58: 540–545.
- Capurro, J.M.G. 2012. *Combinando filogeografia e genética da paisagem para compreender a evolução de Xenopipo atronitens (Aves; Pipridae), uma espécie característica das campinas Amazônicas*. Dissertação de Mestrado. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus. 85p.
- Castro-Astor, I.N.; Alves, M.A.S. & Cavalcanti, R.B. 2007. Display behavior and spatial distribution of white-crowned manakin in the Atlantic forest of Brazil. *Condor* 109: 155-166.
- Cheviron, Z.A.; Hackett, S.J. & Capparella, A.P. 2005. Complex evolutionary history of a Neotropical lowland forest bird (*Lepidothrix coronata*) and its implication for historical hypotheses of the origin of Neotropical avian diversity. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 36: 338–357.
- Durães, R.; Loiselle, B.A. & Blake, J.G. 2007. Intersexual spatial relationships in a lekking species: blue-crowned manakins and female hot spots. *Behavioral Ecology* 18: 1029-1039.
- Duval, E.H. 2007. Adaptive advantages of cooperative courtship for subordinate male lance-tailed manakins. *American Naturalist* 169: 423-432.
- Eiten, G. 1975. The Cerrado Vegetation of Brazil. *Botanical Review* 38: 201-341
- EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. 1999. *Sistema brasileiro de classificação de solos*. Embrapa Solos, Rio de Janeiro. 412p.
- Excoffier, L.; Smouse, P.E. & Quattro, J.M. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics* 131: 479-491.
- Excoffier, L. & Lischer, H.E.L. 2010. Arlequin suite version 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources* 10: 564-567.
- Francisco, M. R.; Gibbs, H. L.; Lunardi, V.O.; Galetti, M.P. & Galetti Jr. M.P. 2007. Genetic structure in a tropical lek-breeding bird, the blue-manakin, (*Chiroxiphia caudata*), in Brazilian Atlantic forest. *Molecular Ecology*. 16: 4908-4918.
- Frankham, R.; Ballou J.D. & Briscoe, D.A. 2002. *Introduction to Conservation Genetics*. Cambridge University Press, Cambridge, UK.

- Fu, Y.-X. 1997. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics* 147: 915-925.
- Fu, Y.-X. & Li, W.-H. 1993. Statistical tests of neutrality of mutations. *Genetics* 133: 693-709.
- Goudet, J. 1995. FSTAT (version 1.2): a computer program to calculate F-statistics. *Journal of Heredity* 86: 458-486.
- Greenwood, P.J. 1980. Mating systems, philopatry and dispersal in birds and mammals. *Animal Behaviour* 28: 1140-1162.
- Greenwood, P.J. & Harvey, P.H. 1982. Natal and breeding dispersal in birds. *Annual Review of Ecology and Systematics* 13: 1-21.
- Joseph, L., Wilke, T. & Alpers, D. 2002. Reconciling genetic expectations from host specificity with historical population dynamics in an avian brood parasite, Horsfield's Bronze Cuckoo *Chalcites basalis* of Australia. *Molecular Ecology*. 11: 829-837.
- Hackett, S.J. 1996. Molecular phylogenetics and biogeography of tanagers in the genus *Ramphocelus* (Aves). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 5: 368-382.
- Hanski, I. 1999. *Metapopulation Ecology*. Oxford University Press, New York.
- Harpending, H., 1994. Signature of ancient population growth in a low resolution mitochondrial mismatch distribution. *Human Biology* 66: 131-137.
- Harris, R. J. & Reed, J. M. 2002. Behavioral barriers to non-migratory movements of birds. *Annales Zoologici Fennici* 39: 275-290.
- Harrison, S. 1991. Local extinction in a metapopulation context: an empirical evaluation. *Biological Journal of the Linnean Society* 42: 73-88.
- Hartl, D.L. & Clark, A.G. 2010. *Princípios de genética de populações*. 4ed. Artmed, Porto Alegre. 659p.
- Helm-Bychowski, K. & Cracraft, J. 1993. Recovering phylogenetic signal from DNA sequences: Relationships within the corvine assemblage (Class Aves) as inferred from complete sequences of the mitochondrial DNA cytochrome-b gene. *Molecular Biology and Evolution* 10: 1196-1214.
- Höglund, J. & Shorey, L. 2003. Local genetic structure in a white-bearded manakin population. *Molecular Ecology*. 12: 2457-2463.

- Hutchison, D.W. & Templeton, A.R. 1999. Correlation of pairwise genetic and geographic distance measures: inferring the relative influences of gene flow and drift on the distribution of genetic variability. *Evolution* 53: 1898–1914.
- Ivanauskas, N.M., Monteiro, R. & Rodrigues, R. R. 2008. Classificação fitogeográfica das florestas do Alto rio Xingu. *Acta Amazônica* 38: 387 - 402.
- Johnson, K.P. & Sorenson, M.D. 1998. Comparing molecular evolution in two mitochondrial protein coding genes (cytochrome-b and ND2) in the dabbling ducks (Tribe: Anatini). *Molecular Phylogenetic Evolution* 10: 82–94.
- Johnson, M.L. & Gaines, M.S. 1990. Evolution of dispersal theoretical models and empirical tests using birds and mammals. *Annual Review of Ecology and Systematics* 21: 449–480.
- Karr, J.R. 1971. Ecological, behavioral and distributional notes on some central Panama birds. *Condor* 73: 107–111.
- Karr, J. R. 1976. Seasonality, resource availability, and community diversity in tropical bird communities. *American Naturalist* 110: 973–994.
- Lees, A.C. & Peres, C.A. 2009. Gap-crossing movements predict species occupancy in Amazonian forest fragments. *Oikos* 118: 280–290.
- Levey, D.J. & Stiles, F.G. 1992. Evolutionary precursors of long-distance migration: resource availability and movement patterns in Neotropical landbirds. *American Naturalist* 140: 447–476.
- Levey, D.J. & Stiles, F.G. 1994. La Selva, ecology and natural history of a Neotropical rain forest. In: McDade, L.; Bawa, K.S.; Hespenheide, H.A.; & Hartshorn, G.S. (eds.). *Birds: ecology, behavior, and taxonomic affinities*. University of Chicago Press, Chicago. pp. 217–228.
- Levins, R.A. 1970. Extinction. *Lectures on Mathematics in the Life Sciences* 2: 75–107.
- Loiselle, B.A.; Blake, J.G. Durães, R. Ryder, T.B. & Tori, W.P. 2007. Environmental segregation in lek sites among co-occurring species of manakins (Aves: Pipridae) in eastern Ecuador. *Auk* 124: 420–431.
- Marimon, B.S. 2005. Dinâmica de uma floresta monodominante de *Brosimum rubescens* Taub. e comparação com uma floresta mista em Nova Xavantina-MT. Tese de Doutorado Universidade de Brasília, Brasília. 244p.
- Mayer, C.; Schiegg, K & Pasinelli, G. 2009. Patchy population structure in a short-distance migrant: Evidence from genetic and demographic data. *Molecular Ecology*: 18 2353 – 2364.

- Mayle, F.E.; Burbridge, R. & Killeen, T.J. 2000. Millennial scale dynamics of southern Amazonian rain forests. *Science* 290: 2291-2294.
- Miranda, E.E.; Miranda, J.R. & Santos, E.P.F. 1988. Efeitos ecológicos das barragens do Xingu: uma avaliação preliminar. In: Leinad, A.; Santos, O. & Andrade, L.M.M. (Orgs.). *As hidrelétricas do Xingu e os povos indígenas*. Comissão Pró-Índio de S. Paulo, São Paulo. 196 p.
- McDonald, D.B. 2003. Microsatellite DNA evidence for gene flow in neotropical lek-mating long-tailed manakin. *Condor* 105: 580–586.
- Moore, R.P.; Robinson, W.D.; Lovette, I.J. & Robinson, T.R. 2008. Experimental evidence for extreme dispersal limitation in tropical forest birds. *Ecology Letters* 11: 960–968.
- Nei, M. 1987. *Molecular evolutionary genetics*. Columbia University Press, New York.
- Nimer, E. 1989. Clima. In: IBGE-Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. *Geografia do Brasil: Região Centro-Oeste*. IBGE, rio de Janeiro. pp. 23-34.
- Nogueira, E.M.; Fearnside, P.M.; Nelson, B.W. & França, M.B. 2007. Wood density in forests of Brazil's 'arc of deforestation': implications for biomass and flux of carbon from land-use change in Amazonia. *Forest Ecology and Management* 248: 119-135.
- Owens, I. P. F., Bennett, P. M. & Harvey, P. H. 1999. Species richness among birds: body size, life history, sexual selection or ecology? *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 266: 933– 939.
- Paetkau, D.; Slade, R.; Burdens, M. & Estoup, A. 2004. Genetic assignment methods for the direct, real time estimation of migration rate: a simulation based exploration of accuracy and power. *Molecular Ecology*. 13: 55 – 65.
- Paradis, E., Baillie, S.R., Sutherland, W.J. & Gregory, R.D. 1998. Patterns of natal and breeding dispersal in birds. *Journal of Animal Ecology* 67: 518-536.
- Polzin, T. & Daneschmand, S.V. 2003. On Steiner trees and minimum spanning trees in hypergraphs. *Operations Research Letters* 31: 12-20.
- Poulin, B.; Lefebvre, G. & McNeill, R. 1994. Characteristics of feeding guilds and variation in diets of bird species of three adjacent tropical sites. *Biotropica* 26: 187-197.
- Prum, R.O. 1998. Sexual selection and the evolution of mechanical sound production in manakins (Aves: Pipridae). *Animal Behaviour* 55: 977-994.

- RADAMBRASIL. 1982. Levantamento de Recursos Naturais. Folha SD 21, Cuiabá. v.26. Brasília, MME/SG.
- Ramos-Onsins, S. & Rozas, J. 2002. Statistical properties of new neutrality tests against population growth. *Molecular Biology and Evolution* 19: 2092–2100.
- Ratter, J.A.; Richards, P.W.; Argent, G. & Gifford, D.R. 1973. Observations on the vegetation of northeastern Mato Grosso. I. The woody vegetation types of the Xavantina-Cachimbo Expedition area. *Philosophical Transactions of the Royal Society* 226: 449-492.
- Rêgo, P.S.; Araripe, J.; Silva, W.A.G.; Albano, C.; Pinto, T.; Campos, A.; Vallinoto, M.; Sampaio, I. & Schneider, H. 2010. Population genetic studies of mitochondrial pseudo-control region in the endangered Araripe Manakin (*Antilophia bokermanni*). *Auk* 127: 335–342.
- Robbins, M.B. 1983. The display repertoire of the band-tailed manakin (*Pipra fasciicauda*). *Wilson Bulletin* 95: 321-504.
- Rogers, A.R. 1995. Genetic evidence for a Pleistocene population explosion. *Evolution* 4: 608–615.
- Rozas, J.; Sánchez-Del Barrio, J.C.; Messeguer, X. & Rozas, R. 2003. DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods. *Bioinformatics* 19: 2496-2497.
- Salomão, R.P.; Vieira, I. C. G.; Suemitsu, C.; Rosa, N. A; Almeida, S. S. de; Amaral, D. D. do & Menezes, M. P.M. 2007. As florestas de Belo Monte na grande curva do rio Xingu, Amazônia Oriental. *Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi*. 2: 57–153.
- Sambrook, J; Fritsch, E.F. & Maniatis, T. 1989. *Molecular cloning: a laboratory manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.
- Sick, H. 1997. *Ornitologia Brasileira*. Editora Nova Fronteira, Rio de Janeiro.
- Silva, J.M.C. 1996. Distribution of Amazonian and Atlantic birds in gallery forests of the Cerrado region, South América. *Ornitologia Neotropical* 7: 1-18.
- Snow, D. W. 1962. A field study of the black and white manakin, *Manacus manacus*, in Trinidad. *Zoologica* 47: 183-198
- Snow, D. 2004. Family Pipridae (Manakins). In: del Hoyo, J.; Elliot, A. & Christie, D. (eds.). *Handbook of Birds of the World*, vol. 9. Lynx Edicions, Barcelona. pp. 110–169.
- Soares, L.C. 1953. Limites meridionais e orientais da área de ocorrência da Floresta Amazônica em Território Brasileiro. *Revista brasileira de Geografia* 1: 3-122.

- Stouffer, P.C. & Bierregaard Jr, R.O. 1995. Use of Amazonian forest fragments by understory insectivorous birds. *Ecology* 76: 2429-2445.
- Stouffer, P.C. Bierregaard Jr., R.O.; Strong, C. & Lovejoy, T.E. 2005. Long-Term Landscape Change and Bird Abundance in Amazonian Rainforest Fragments. *Conservation Biology* 20: 1212–1223.
- Tajima, F. 1989. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics* 123: 585-595.
- Tello, J. G. 2001. Lekking behavior of the round- tailed manakin. *Condor* 103: 298-321.
- Terborgh, J.; Robinson, S.K.; Parker, T.A.; Munn, C.A. & Pierpont, N. 1990. Structure and organization of an Amazonian forest bird community. *Ecological Monographs* 60: 213–238.
- Thompson, J.D.; Higgins, D.G. & Gibson, T.J. 1994. Clustal-W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research* 22: 4673–4680.
- Vianello, R.L.& Alves, A.R. 1991. *Meteorologia básica e aplicações*. UFV, Viçosa. 449p.
- Walter, H. 1986. *Vegetação e zonas climáticas*. EPU, São Paulo.
- Walther, B.A. 2002. Grounded ground birds and surfing canopy birds: variation of foraging stratum breadth observed in Neotropical forest birds and tested with simulation models using boundary constraints. *Auk* 119:658–675.
- Wang, J. 2004. Application of the one-migrant-per-generation rule to conservation and management. *Conservation Biology* 18: 332–343.
- Warren, P.K. & Baines, D. 2002. Dispersal, survival and causes of mortality in black grouse *Tetrao tetrix* in northern England. *Wildlife Biology* 8: 91-97.
- Wiens, J.A. 1997. Metapopulation dynamics and landscape ecology. In: Hanski, I.A. & Gilpin, M.W. (eds.). *Metapopulation Biology*. Academic Press, San Diego. pp. 43 – 63.
- Willis, E.O. 1974. Populations and local extinctions of birds on Barro Colorado Island, Panama. *Ecological Monographs* 44: 153–169.
- Wright, S. 1931. Evolution in Mendelian populations. *Genetics* 16: 97 – 159.
- Wright, S. 1978. *Evolution and the genetics of populations*. Vol. 4: Variability within and among natural populations. University of Chicago Press, Chicago.
- Yabe, R.S.; Marques, E.J. & Marini, M.Â. 2010. Movements of birds among natural vegetation patches in the Pantanal, Brazil. *Bird Conservation International* 20:400–409.

Xia, X. 2013. DAMBE5: A comprehensive software package for data analysis in molecular biology and evolution. *Molecular Biology and Evolution* 30: 1720-1728.

Capítulo 2: Análise genética revela a ocorrência de duas linhagens de *Pipra fasciicauda* (Hellmayr 1906) no estado de Mato Grosso

RESUMO: Neste estudo avaliamos a variação genética de *Pipra fasciicauda* nas regiões Norte e Central do Brasil, incluindo áreas de ecótono Amazônia- Cerrado, Cerrado e Amazônia, a partir da análise do gene mitocondrial ND2. A reconstrução das relações evolutivas dos espécimes, por meio dos métodos de máxima verossimilhança e de inferência Bayesiana, indicou a existência de duas linhagens notoriamente distintas, uma encontrada na região de ecótono no oeste do estado de Mato Grosso e sudeste do estado de Rondônia, no cerrado ao sul do estado de Mato Grosso e no Pantanal, no sudoeste do estado de Mato Grosso (linhagem Sul-Oeste). A outra, detectada na região de ecótono no nordeste do estado de Mato Grosso, cerrado no noroeste do Estado de Tocantins e na região Amazônica e no estado do Pará (linhagem Norte-Leste). Estas linhagens devem corresponder às subespécies *P. f. calamae* (linhagem Sul-Oeste) e *P. f. scarlatina* (linhagem Norte-Leste) e possivelmente, se separaram durante o período do Pleistoceno. As análises de demografia histórica indicaram que a linhagem Sul-Oeste apresentou sinais de expansão populacional e sua rede haplotípica demonstrou que também teria sofrido uma expansão em sua distribuição, alcançando a região da linhagem Norte-Leste. A ausência de estruturação genética e o compartilhamento de haplótipo entre as subpopulações oriundas de margens opostas do médio rio Araguaia, sugere um baixo potencial deste rio em promover divergência populacional desta espécie. A presença de ilhas ao longo do rio deve aumentar sua permeabilidade para os indivíduos de *P. fasciicauda*, que podem estar utilizando-as como *stepping stones* para se deslocar de uma margem a outra.

Palavras- chave: Pipridae, Ecótono Amazônia – Cerrado, Neotropical, subespécies, fluxo gênico *stepping stones*.

Genetic analysis reveals the occurrence of two *Pipra fasciicauda* (Hellmayr 1906) lineages in the Mato Grosso state

ABSTRACT: In this study, we assessed the genetic variation of *Pipra fasciicauda* in northern and central Brazil, including areas in the Cerrado, the Amazon and the Amazon-Cerrado ecotone, from the analysis of mitochondrial ND2 gene. The reconstruction of specimens' evolutionary relationships by the methods of maximum likelihood and Bayesian analysis indicated the existence of two markedly distinct lineages. One of them (S-O lineage) was found in the ecotone region, (in the western state of Mato Grosso and southeastern state of Rondônia), in the Cerrado region (southern Mato Grosso) and in Pantanal region (southwestern Mato Grosso). The other one (N-L lineage) was detected in the ecotone region (in northeastern Mato Grosso), in the Cerrado region (northwestern state of Tocantins) and in the Amazon region (state of Pará). These lineages must correspond to *P. f. calamae* (S-O lineage) and *P. f. scarlatina* (N-L lineage) and possibly their sorting occurred during the Pleistocene period. The historical demographic analysis showed signs of population expansion for the S-O lineage, and the haplotype network suggested that this lineage experienced lineage expansion of its distribution and it reached the area of occurrence of the N-L lineage. Finally, it was also evaluated the role of the middle Araguaia river in the genetic structure of the N-L lineage subpopulations. The lack of genetic structure and haplotype sharing among subpopulations from opposite banks of the middle Araguaia river, suggests a low potential of this river to promote population divergence for this species. The presence of islands along the river should increase its permeability for individuals of *P. fasciicauda* that may use them as stepping stones to move between the banks.

Keywords: Pipridae, population structure, Amazon-Cerrado Ecotone, Neotropical, historical demography, stepping stones, gene flow.

INTRODUÇÃO

Pipra fasciicauda (uirapuru-laranja) é uma espécie neotropical de pequeno porte (cerca de 11cm de comprimento e peso variando entre 11,5 a 15g) pertencente à subordem Suboscine e família Pipridae, um dos grupos mais distintivos e carismáticos, dentre as aves Neotropicais. Habita o sub-bosque e estrato médio de matas secas, matas de transição, matas de galeria e cerradão. Sua distribuição abrange o Peru, norte e nordeste da Bolívia, sudeste do Paraguai e extremo norte da Argentina (Misiones). No Brasil, distribui-se na Amazônia Meridional e Brasil Central, incluindo sul do Mato Grosso do Sul, sul de Goiás e oeste de Minas Gerais. Ocorre também no noroeste de São Paulo e apresenta populações isoladas no nordeste. Inclui cinco subespécies com as seguintes distribuições geográficas: *P. f. fasciicauda*: sudeste do Peru (norte de Puno), norte e nordeste da Bolívia (próximo de Cochabamba nos Andes e norte de Santa Cruz); *P. f. calamae*: área limitada ao alto Rio Madeira e extremo noroeste do Mato Grosso; *P. f. saturata*: zona tropical do norte do Peru e leste dos Andes (San Martin); *P. f. purusiana*: leste Peru e sul da Amazônia (sul Loreto até Cusco) e oeste do Brasil (Acre, acima do rio Purus no estado do Amazonas); *P. f. scarlatina*: interior do Brasil do centro do Pará (ao sul de Belém) até Mato Grosso do Sul, sul de Goiás, oeste da Bolívia (Pando, Beni), sudeste do Paraguai e extremo nordeste da Argentina (Misiones) (Snow 2004).

A avaliação dos polimorfismos genéticos em populações naturais é um procedimento chave para compreensão dos fenômenos evolutivos, demográficos e ecológicos (Avice 2000). As análises filogenéticas, utilizando dados moleculares contextualizados geograficamente, conforme proposto por Avice *et al.* (1987), integram os mais diversos campos da ecologia e da biologia evolutiva buscando elucidar os mecanismos que direcionam a variação genética entre populações e a especiação (Hickerson *et al.* 2010). O DNA mitocondrial (mtDNA) possui características que proporcionam maior facilidade e eficiência para reconstrução da história filogenética de um grupo, tais como ausência de recombinação, assumida neutralidade, pequeno tamanho efetivo populacional e, conseqüentemente, um menor período para se recuperar a monofilia recíproca entre os indivíduos procedentes de diferentes regiões geográficas (Avice 2000). Além destas características, os dados de mtDNA frequentemente corroboram informações dos marcadores nucleares, nos padrões da história populacional das aves (revisado por Zink & Barrowclough 2008). Por todos esses aspectos, o mtDNA tem sido o principal marcador molecular utilizado nos estudos com animais.

Uma questão fundamental para a biologia da conservação trata-se da identificação de unidades evolutivamente significantes (ESUs), que podem existir abaixo do nível de espécie. Estas unidades demandariam atenção especial devido a suas peculiaridades genéticas e/ ou ecológicas (Ryder 1986). Embora diferentes definições de ESU tenham sido propostas (e.g. Ryder 1986; Moritz 1994), todas incorporam algum grau no qual as populações são historicamente isoladas bem como uma avaliação de suas particularidades ecológicas (Crandall *et al.* 2000). Uma abordagem para identificar as ESUs é usar informações genéticas para caracterizar linhagens distintas filogeneticamente. Tais unidades podem requerer proteção, por conter significantes componentes da história evolutiva de uma espécie (Moritz 1994).

Se as prioridades de conservação são baseadas em espécies, subespécies ou unidades evolutivamente significantes (ESUs), estudos genéticos têm sido cada vez mais utilizados, para determinar os limites geográficos e evolutivos destas entidades. Apesar da importância em se definir estas unidades, as delimitações de espécies, subespécies e populações nem sempre são claras e os avanços na genética da conservação tem sido úteis para resolver algumas questões pendentes por longos períodos (Haig *et al.* 2011).

Deste modo, estudos de sistemática molecular abaixo do nível de espécie podem auxiliar a determinação taxonômica em nível de subespécie. A análise da variação de sequências do mtDNA, dentro e entre as subespécies pode revelar se estas estão evoluindo de forma independente ou se estão em algum estágio intermediário de isolamento. Em particular, se uma subespécie está evoluindo de forma independente, a análise filogenética, baseada em um gene mitocondrial, deverá mostrar que todas as sequências de uma subespécie compartilham uma mesma ancestral comum, que não é encontrado nos indivíduos de outras subespécies, padrão denominado de monofilia recíproca (Avice 2000).

Enquanto há um consenso sobre a importância de se conservar as espécies para a manutenção da biodiversidade, a existência, identificação e conservação de subespécies não têm sido consensual (Zink 2004; Winker & Haig 2010). Segundo Mayr (1982), subespécies podem ser consideradas como membros integrantes de uma espécie politípica, que reúne várias populações diferenciadas uma das outras, de acordo com as variações geográficas encontradas na área de distribuição da espécie, mas entre as quais ocorre fluxo gênico. Subespécies também podem ser definidas como populações que apresentam genótipos ou fenótipos (ou ambos) distinguíveis e

mensuráveis, ocupando uma área geográfica distinta, dentro da distribuição geográfica da espécie (Remsen 2010). O agrupamento abaixo do nível de espécie pode incorporar respostas evolutivas à heterogeneidade espacial, devido à seleção diferencial ou a processos neutros e estocásticos. Alguns dos mais fortes argumentos sobre a validade do conceito de subespécie recaem sobre a tentativa de delinear os seus limites (Winker 2010), isto é, até que ponto a variação geográfica nos indivíduos é consideravelmente diferenciada que justificaria considerá-los como uma subespécie e qual seria o nível de diferenciação que poderia promover uma subespécie alcançar o status de espécie.

Embora as espécies (e subespécies) sejam tradicionalmente definidas por meio de caracteres morfológicos e comportamentais, com os avanços na biologia molecular, têm-se empregado marcadores moleculares (seletivamente neutros), que podem prover um caminho adicional para a delimitação taxonômica (Winker & Haig 2010). Entretanto, em muitos casos, as informações moleculares não são congruentes com a definição de subespécies pelos métodos tradicionais (Zink *et al.* 2010). Esta falta de concordância tem levado alguns autores a sugerirem que métodos moleculares (isto é, monofilia recíproca entre sequências mitocondriais) deveriam ser preferencialmente utilizados para definir as unidades de conservação (Moritz 1994; Zink 2004).

Outros sugerem que a discordância deveria ser esperada, ao se comparar informações de dados moleculares neutros (para se examinar níveis de divergência), com informações fenotípicas que, provavelmente, são reflexo de um processo seletivo (isto é, não neutro). O caso mais evidente para identificação de uma ESU é quando as variações filogeográficas (indicativas da história) e a variação fenotípica (indicativo das particularidades ecológicas) coincidem, sugerindo longo isolamento das linhagens sob pressão da seleção divergente, o qual tem levado a diferenças adaptativas entre as populações (Crandall *et al.* 2000).

O entendimento sobre a contribuição relativa de fatores neutros e adaptativos (bem como, a interação entre estas duas forças) é de fundamental importância para compreensão dos mecanismos evolutivos de diversificação (Milá *et al.* 2009). Um número crescente de estudos, com ampla variedade de táxons tem documentado o papel da seleção em promover a diferenciação fenotípica, mesmo na presença de fluxo gênico, ao longo de gradientes ecológicos entre populações parapátricas (Smith *et al.* 1997, 2005; Orr & Smith 1998; Schneider *et al.* 1999; Ogden & Thorpe 2002; Petren *et al.* 2005; Nosil *et al.* 2008). Entretanto, nas latitudes tropicais, caracterizadas por

altos níveis de diversidade biológica, um grande conjunto de evidências, tem dado suporte ao papel dos fatores alopátricos, em direcionar a divergência genética entre as populações e a especiação (e.g. Aleixo 2004; Cheviron *et al.* 2005; González *et al.* 2011; Patel *et al.* 2011; Naka *et al.* 2012).

Um dos mecanismos alopátricos, baseado em barreiras geográficas, é conhecido como Hipóteses dos Rios (de A. R. Wallace). O mais importante papel da separação geográfica é restringir e não necessariamente eliminar o fluxo gênico entre populações, impedindo a existência de populações adaptadas à habitats intermediários ao longo de uma clina e que manteriam o fluxo gênico entre populações selecionadas de forma divergente (Rice & Hostert 1993). Sick (1967), apoiado em observações realizadas por Wallace e Snethlage, propôs que os precursores de muitas espécies de aves contemporâneas são anteriores à atual configuração da drenagem dos rios amazônicos. O estabelecimento da drenagem atual poderia ter promovido o isolamento geográfico das populações, causando divergência genética e especiação, sendo o “efeito barreira” dos rios, mais intenso para espécies florestais. Este autor ainda ressaltou a importância de ilhas dispersas nos grandes rios da Amazônia. Por meio delas, a largura das barreiras aquáticas seria diminuída consideravelmente, caso contrário, a travessia de rios de grande porte por diversas espécies de aves deveria ocorrer raríssimas vezes.

Neste estudo, foi avaliada a variabilidade genética de populações de *P. fasciicauda* em diferentes regiões da área de transição Amazônia- Cerrado, buscando verificar a existência de diferentes linhagens na região. Também foi investigada a importância do médio rio Araguaia, entre os estados de Mato Grosso e Tocantins, como barreira para esta espécie.

OBJETIVO GERAL

Avaliar a variabilidade genética das populações de *P. fasciicauda* na região de transição Amazônia – Cerrado, Cerrado e Amazônia e averiguar o papel do médio Rio Araguaia na divergência de suas subpopulações.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Analisar a estrutura genética e a história demográfica das populações;
- b) Avaliar a influência da distância geográfica na diferenciação genética das populações;
- c) Determinar a distância genética entre as populações;
- d) Determinar a diversidade haplotípica e nucleotídica das subpopulações;

- e) Estimar o tempo de diversificação das linhagens.

MATERIAL E MÉTODOS

ÁREA DE ESTUDO

Ecótono Amazônia - Cerrado

A Bacia do Araguaia separa-se da Bacia do Xingu por uma distância média de 150 km, sendo a Serra do Roncador o divisor de águas entre elas (Eiten 1975). Assim, a região compreendida pela bacia dos altos cursos dos rios formadores do Xingu, representaria uma zona de transição entre a Amazônia e o Cerrado do Planalto Central. À medida que a floresta amazônica vai avançando para o sul, sua fisionomia também vai se modificando, em função do clima estacional. Já no contato com o Cerrado da região Centro-Oeste, o seu aspecto seria o de uma "mata seca", pois assume um caráter francamente semidecíduo, no período mais intenso da estiagem, e reduz-se às matas de galeria, vivendo à custa da umidade dos fundos dos vales estreitos junto aos cursos d'água como uma verdadeira intrusa no domínio das formações campestres ou savânicas (Soares 1953).

O clima da região é classificado como Tropical Chuvoso de Savana (Aw) pelo sistema de Köppen (Vianello & Alves 1991). Dados climáticos para os municípios de Porto dos Gaúchos, Gaúcha do Norte e Nova Xavantina obtidos por Ivanauskas *et al.* (2008) entre os anos de 1998 e 2000 indicaram que a temperatura média anual ($25,7 \pm 1,7$ °C) é praticamente constante e mantém-se sempre superior a 18°C, caracterizando um clima quente (Nimer 1977), sendo as temperaturas mais elevadas registradas na primavera, pouco antes do início da estação chuvosa. A precipitação é caracteristicamente tropical (Nimer 1977), já que mais de 70% ocorre durante o verão (dezembro a março), sendo o período seco (*sensu* Walter 1986) compreendido entre o final de maio e início de novembro. Portanto, a região do Alto Xingu apresenta um clima estacional, que não é úmido o suficiente para sustentar uma floresta ombrófila, mas também não sofre o mesmo grau de estresse hídrico das florestas estacionais semidecíduais, o que resulta numa flora distinta de ambas as formações (Ivanauskas *et al.* 2008). Deste modo, a borda sul da província amazônica, nesta região, apresenta uma composição florística própria, sendo classificada na categoria de Floresta Estacional Perenifólia (Ivanauskas *et al.* 2008). Essa formação apresenta alta similaridade florística com as Florestas de Galeria do Planalto Central e também com as florestas de interflúvio da Bacia do Araguaia, consideradas monodominantes devido ao elevado destaque de *Brosimum rubescens*

Taub. na estrutura da comunidade. A presença marcante desta espécie, que é endêmica da bacia amazônica, revela uma ligação florística com a Floresta Ombrófila, apesar do clima estacional, situando-as na condição de florestas de transição (Ivanauskas *et al.* 2008).

Os solos da Bacia do rio Xingu são caracterizados pela baixa disponibilidade de nutrientes e elevada toxidez por alumínio. Nas áreas de interflúvio, predomina o Latossolo Vermelho-Amarelo de textura média, com solos profundos e de melhor drenagem. O Neossolo Flúvico de textura argilosa está presente nas várzeas e, apesar da maior quantidade de potássio, possui problemas de drenagem e teores de alumínio mais altos (EMBRAPA 1999).

Nos municípios de Canarana e Ribeirão Cascalheira - estado de Mato Grosso, a região de ecótono apresenta faixas de cerradão distrófico com *Hirtella glandulosa*, *Emmotum nitens*, *Sclerolobium paniculatum* e *Vochysia haenkeana*, típicas espécies indicadoras. Essa região caracteriza-se por uma transição abrupta de Cerrado para Floresta Amazônica, com espécies que variam em suas afinidades florísticas, ocorrendo desde *Qualea grandiflora*, a árvore mais amplamente distribuída em área core do Cerrado, até espécies Amazônicas, como *Tetragastris altissima* e *Xylopia amazonica*, juntamente com generalistas de ampla distribuição em floresta e cerradão, como *Tapirira guianensis*, *Amaioua guianensis* e *Chaetocarpus echinocarpus* (Marimon *et al.* 2006). O solo predominante nesta região é o Latossolo Vermelho-Amarelo com textura argilo-arenosa e, em menor extensão, Neossolo Quartzarênico distrófico (EMBRAPA 1999).

O município de Comodoro situa-se nas sub-bacias do Guaporé e Juruena em uma área de tensão ecológica, com predomínio de Floresta Ombrófila com árvores até 30 m e Savana Florestada (Cerradão) com árvores até 12 m, com estratos herbáceos, arbustivos e arbóreos. O clima desta região é tropical continental sendo quente, úmido, a temperatura média anual de 23 °C e maior máxima 36 °C. A precipitação média anual chega a 2.000 mm (Amaral & Fonzar 1982). O município de Chupinguaia (RO) situa-se também em uma área de tensão ecológica, com predomínio de Floresta Ombrófila com árvores até 25 m, Floresta Estacional semidecidual com representantes de até 20 m e Savana Florestada (Cerradão) com árvores até 15 m, com estratos herbáceos, arbustivos e arbóreos. O clima desta região é equatorial Am I (clima Tropical Chuvoso de Monção – caracterizado por apresentar breve estação seca e chuvas intensas durante o resto do ano (Ayoade 1996)), sendo quente e úmido, com curta estação de seca, a temperatura média anual de 23°C. A precipitação anuais variam de 1.800 a 2.400 mm (Barros-Silva 1978).

Rio Xingu

O rio Xingu possui uma extensão de 1.500 km, desde suas nascentes no Planalto Central Brasileiro até sua foz no rio Amazonas, e drena uma área de 540.000 km² (Miranda *et al.*, 1988). Nasce a oeste da Serra do Roncador e ao norte da Serra Azul, no leste do Mato Grosso e corre na direção sul-norte, paralelo aos rios Tapajós e Tocantins. Após percorrer pouco mais de 2.000 km deságua ao sul da ilha de Gurupá (Pará), na margem direita do Amazonas, do qual é um dos maiores afluentes. Na região do médio e baixo rio Xingu a vegetação predominante é floresta ombrófila densa que apresenta um dossel compacto e situado entre 30 e 35m de altura (Salomão *et al.* 2007).

Na região de Altamira, município localizado na grande curva do baixo rio Xingu, as principais unidades de paisagens são as florestas ombrófilas úmidas (podendo ser abertas ou densas); a vegetação aluvial (diretamente influenciada pelo sistema hidrológico do rio Xingu); as florestas secundárias recentes e antigas; as áreas de capoeiras abandonadas pela agricultura familiar e uso agropecuário; as pastagens. Em média, cerca de 60% da cobertura vegetal original já foram convertidos para uso agropecuário (Salomão *et al.* 2007). A precipitação média anual é de 2.214 mm. O trimestre mais chuvoso é o de fevereiro a abril, que corresponde a 44% da precipitação anual, e o período menos chuvoso, de junho a novembro, com uma estação seca marcada de quatro meses. De acordo com o Instituto Nacional de Meteorologia, a temperatura do ar no Estado do Pará apresenta pequena variação sazonal, com temperaturas médias acima de 25°C em todos os meses do ano. A umidade relativa é elevada, com valores acima de 80% em todos os meses do ano (Moraes *et al.* 2005).

Rio Araguaia

O rio Araguaia, principal rede de drenagem totalmente inserida no domínio do bioma Cerrado, estende-se por 2.110 km até desaguar no rio Tocantins. O médio curso, desde Registro do Araguaia até Conceição do Araguaia, apresenta 1.160 km de extensão. Neste setor o rio aumenta consideravelmente sua área de drenagem, como consequência da entrada de importantes tributários como o rio das Mortes, alcançando uma área aproximada de 321.000 km². O canal flui através de uma planície aluvial bem desenvolvida até alcançar as terras baixas da planície do Bananal. Com mais de 90.000 km², esta planície ocupa aproximadamente 23% da bacia fluvial (Latrubesse &

Stevaux 2006). O clima na área da bacia é do tipo continental tropical úmido (Cw) na classificação de Köppen, com temperatura média anual de 22°C, precipitação média entre 1.300 a 1.800 mm (Nimer, 1989) e duas estações bem definidas, a chuvosa, entre novembro e abril, e a seca que se estende de maio até outubro (Latrubesse & StevauX 2006).

A vegetação na região da foz do rio das Mortes com o rio Araguaia, onde se situam os municípios de Novo Santo Antônio e Luciara, é composta por matas inundáveis, capões, cerradões, cerrados, campos de murunduns (localmente denominados de 'varjão'), campos cerrados de *Vochysia rufa* e campos de *Byrsonima orbignyana*. As principais famílias de plantas são Caesalpiniaceae, Annonaceae, Myrtaceae, Arecaceae, Euphorbiaceae, Fabaceae e Rubiaceae. Destaca-se a ocorrência de várias espécies de *Eugenia* e *Byrsonima*, que produzem frutos potencialmente importantes para a fauna silvestre. Dentre as plantas mais frequentes estão *Alibertia edulis*, *Andira cuyabensis*, *Maprounea guianensis*, *Byrsonima orbignyana* e *Caryocar* sp. (Marimon & Lima 2001).

Cerrado

O Bioma Cerrado é composto por uma matriz predominante de vegetação savânica em que ocorrem outras formações vegetais, totalizando 11 diferentes fitofisionomias (Ribeiro & Walter 2008). Entre as fitofisionomias savânicas, destaca-se o cerrado sentido restrito, que possui cobertura arbórea variando de 10 a 60% (Eiten 1979) e pode ser subdividido em cerrado denso, cerrado típico, cerrado ralo e cerrado rupestre, com base nas densidades dos componentes arbustivo-arbóreo e subarbustivo-herbáceo, bem como nas propriedades do substrato (Ribeiro & Walter 2008). Na região leste do estado de Mato Grosso, onde se situam os municípios de Primavera do Leste, Barra do Garças, a vegetação de cerradão caracteriza-se pela presença de espécies como *Hirtella glandulosa* Spreng., *Sclerolobium paniculatum* Vog. e *Xylopia aromatica* (Lam.) Mart., enquanto no cerrado *sensu stricto*, destacam-se *Qualea parviflora* Mart., *Davilla elliptica* A. St.-Hil. e *Roupala montana* Aubl. (Marimon & Haridasan 2005). No município de Jangada a vegetação predominante é savana arbórea aberta (Campo Cerrado). Esta formação ocupa grandes áreas, apresentando diferentes tipos de solo e relevo, caracterizando-se por uma fisionomia campestre com arvoretas e um estrato gramíneo contínuo (RADAMBRASIL 1992).

O clima da região é do tipo AW (clima quente e úmido) de acordo com a classificação de Köppen, com duas estações bem definidas. Em Barra do Garças o verão chuvoso ocorre de outubro a março e o inverno seco de abril a setembro. A precipitação média anual é de 1600 mm e a temperatura média anual 25,6 °C. No período de outubro a março, ocorrem as maiores precipitações pluviométricas e as primeiras chuvas ocorrem no mês de setembro. A precipitação média no período chuvoso (outubro a março) é 1400 mm e a temperatura 26,3 °C. No período seco (abril a setembro) a precipitação média é 180 mm e a temperatura 24,9 °C (Bartimachi *et al.* 2008) e em Primavera do Leste, a precipitação pluviométrica é em torno de 1.560 mm/ano, variando de 5 mm a 300 mm como média mensal, sendo abundante no verão entre outubro a abril, com o inverno seco de maio a agosto. A umidade relativa do ar tem a média variando de 65% a 87% e temperatura média variando de 18°C a 24°C, com temperatura mínima oscilando entre 10°C e 19°C e a temperatura máxima variando entre 29°C e 34°C (Santana *et al.* 2008).

Parque Estadual do Cantão

Localiza-se no município de Pium e possui uma extensão de 90.000 ha, sendo circundado por três rios: o Javaés ao sul, o Araguaia a oeste e o Coco a leste, com a confluência dos dois últimos no extremo norte do parque. No período chuvoso (outubro a abril) toda a planície é alagada, havendo um aumento de 7 a 10 m no nível da água dos rios. No período de estiagem (maio a setembro), o clima é seco, com significativa redução do nível das águas, o que faz emergir vários bancos de areia nos leitos dos canais e rios da região. No Parque foram definidos cinco ecossistemas naturais: águas interiores (lagos e rios), ilhas fluviais, varjões, matas de terra firme (localmente denominada de mata de torrão) e matas de várzea (Tocantins 2004).

Pantanal

O município de Cáceres localiza-se em região noroeste do Pantanal Mato-grossense, na bacia do alto rio Paraguai. A sub-região de Cáceres possui uma área de 12.456 km² ocupando 9,01% da planície pantaneira (Silva & Abdon 1998) e agrega áreas parciais dos municípios de Cáceres e Lambari D'Oeste. Delimita-se a Oeste pelo rio Corixo Grande; ao Norte pelo planalto adjacente; a Leste pelo rio Paraguai e Serra das Araras e ao Sul pelos rios Paraguai e Corixo

Grande. As fitofisionomias de maior ocorrência nessa sub-região são, em ordem decrescente, os contatos florísticos do tipo ecótono entre formações pioneiras e cerrado, savana arborizada (cerrado) e savana gramíneo-lenhosa (campo). Estas três fitofisionomias representam aproximadamente 75% da cobertura vegetal da sub-região de Cáceres (Abdon & Silva 2008). O clima é quente, com o semestre de inverno seco e regime de precipitação marcadamente estival, que define o caráter estacional Aw, segundo Köppen. A pluviosidade oscila entre 800 e 1400 mm/ano, com 80% das chuvas ocorrendo entre os meses de novembro e março (Cadavid-Garcia 1984).

Localidades amostradas

Amostras de *P. fasciicauda* foram oriundas de três localidades da transição Amazônia - Cerrado, no leste do estado de Mato Grosso (Ribeirão Cascalheira, Novo Santo Antônio e Luciara). Também foram analisadas amostras obtidas de coleções científicas (da coleção Ornitológica da Universidade do Estado de Mato Grosso (n = 17) e do banco de tecidos do laboratório de Malária da Universidade Federal de Minas Gerais; n = 4), provenientes de localidades situadas em região de ecótono (Comodoro - MT e Chupinguaia- RO), em região do Pantanal Mato-grossense (município de Cáceres), bem como em área de Floresta Amazônica no Pará (município de Altamira), de Cerrado situado no estado de Mato Grosso (municípios de Jangada, Primavera do Leste e Barra do Garças) e estado de Tocantins (Parque Estadual do Cantão situado no município de Pium) (Figura 1).

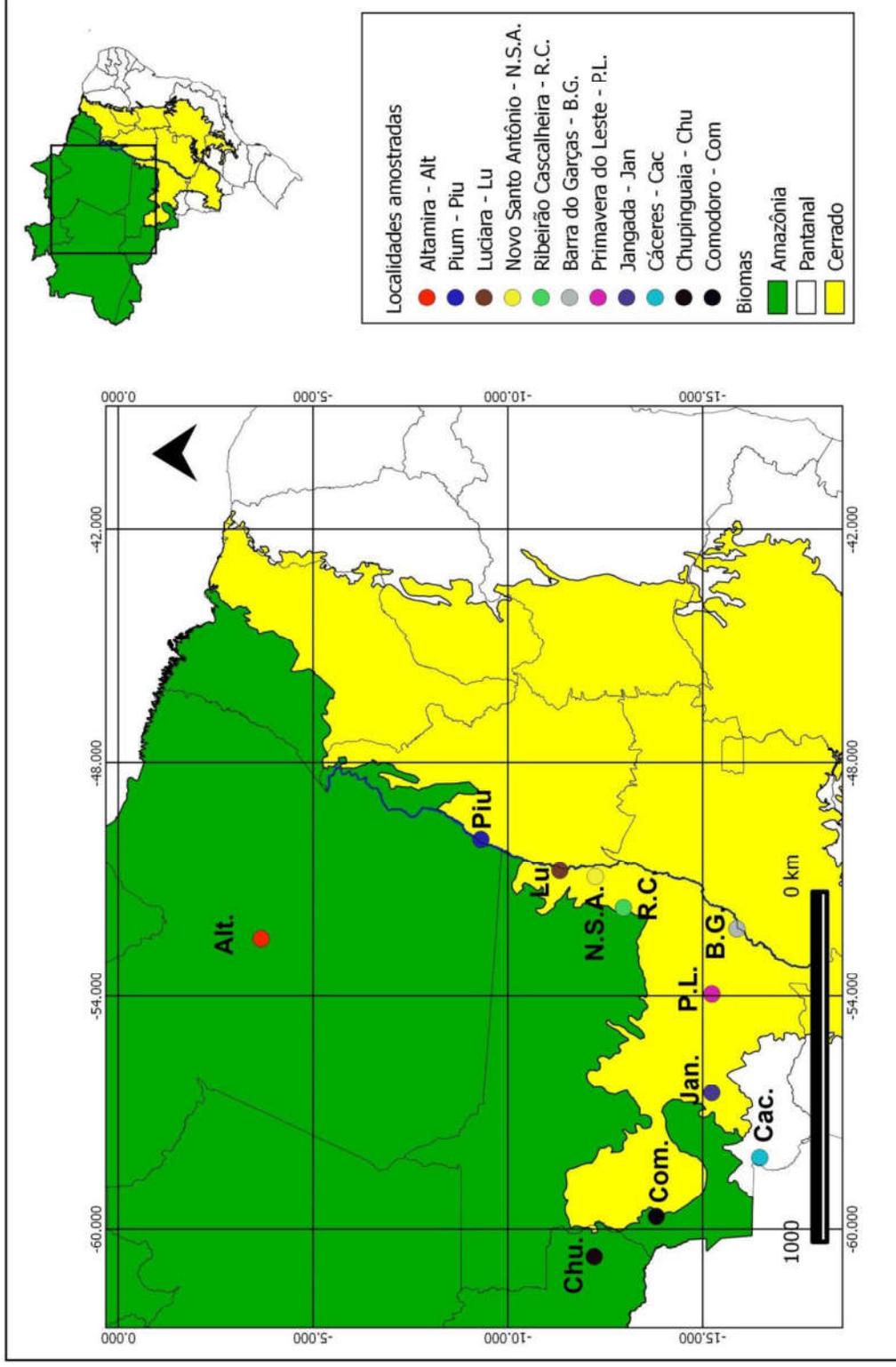


Figura 1: Mapa da área de estudo com a localização dos pontos amostrais situados na região leste (médio rio Araguaia) e oeste do estado de Mato Grosso; Rondônia; Tocantins e Pará.

Coleta de amostras em campo

Exemplares de *P. fasciicauda* foram capturados com redes de neblina para coleta de amostras de sangue. Três caixas de som portáteis, colocadas próximo às redes de neblina logo após sua abertura, permaneceram ligadas emitindo a vocalização de *P. fasciicauda*, com o intuito de atrair os indivíduos em direção às redes.

Como cada localidade foi amostrada apenas uma única vez, não se fez necessária a utilização de anilhas e os espécimes foram marcados com um pequeno corte (cerca de 5 mm), na extremidade da rêmige primária esquerda mais externa, para evitar uma possível repetição da coleta de sangue de indivíduos recapturados.

O sexo (macho, fêmea ou indeterminado) de cada indivíduo foi registrado. Dos exemplares adultos foram obtidas amostras de 0,1 ml de sangue (preservadas em etanol absoluto), a partir da veia braquial de cada espécime, utilizando-se agulha de insulina e tubo capilar. Em cada local amostrado, dois espécimes foram coletados como material biológico testemunho e serão depositados na Coleção Ornitológica Marcelo Bagno do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília os demais espécimes capturados foram liberados no mesmo local da captura, após terem sido fotografados.

Sequenciamento e alinhamento do DNA mitocondrial

Foi sequenciado o gene mitocondrial ND2 (subunidade 2 da NADH desidrogenase), codificador de proteína.

Primeiramente, o DNA genômico foi extraído por meio do protocolo de fenol-clorofórmio-álcool-isoamílico (Sambrook *et al.* 1989). A visualização do DNA total extraído foi realizada através da técnica de eletroforese utilizando-se gel de agarose a 2%. Para amplificação do gene ND2 (1041pb) foram empregados os seguintes pares de *primers* L5215 (5'-TATCGGGCCCATACCCCGAAAAT- 3') (Helm-Bychowski & Cracraft 1993) e H5578 (5'-CCTTGAAGCACTTCTGGGAATCAGA – 3') (Hackett 1996). Para amplificação de fragmentos menores (560pb), foram utilizados os seguintes os *primers* L5758 (5'-GGNGGNTGRRBHGGNYTDAAYCARAC-3') (Johnson & Sorenson 1998) e H 5766 (5'-DGADGARAADGCYARRAYYTTDCG – 3') (Johnson & Sorenson 1998). Estes foram associados com os *primers* L5215 e H5578 formando os seguintes pares: L5215/ H 5766 e L5758/H5578.

Todas as reações em cadeia de polimerase (PCR) foram realizadas em volume final de 20 μ L, consistindo de: 2 μ L amostra de DNA (~50ng), 1 μ L de cada *primer* (10pMol), 10 μ L de goTaq Dna Polimerase (Invitrogen Life Technologies) e 6 μ L de H₂O deionizada estéril. Foi empregado o termociclador Applied Biosystems nas seguintes condições: fase inicial de denaturação de 2 min a 94°C, seguido de 35 ciclos de 30 s a 94°C, 30 s a 50° e 2 min a 72°C com extensão final de 5 min a 72°C. Após a realização da PCR, o tamanho correto do fragmento e a presença de um único produto de amplificação foram confirmados via eletroforese em gel de agarose 2%.

O produto resultante da PCR foi tratado por meio do protocolo de purificação com polietilenoglicol (PEG) a 20% e o processo de sequenciamento realizado pela companhia de biotecnologia Macrogen Inc. Os arquivos resultantes do sequenciamento foram transferidos para o programa Geneious R 8.0.4 (Biomatters Ltd.) para alinhamento das sequências (empregando-se o algoritmo Clustal- W) (Thompson *et al.* 1994), realizando-se inspeção visual do alinhamento e possível correção de inserções e deleções, se observadas.

Para investigar se os fragmentos de DNA não incluíram pseudogenes de origem nuclear, foi verificado se todos os códons foram traduzidos em aminoácidos e que nenhum códon de parada ocorresse dentro do *frame* de leitura. O programa *Data Analyses and Molecular Biology and Evolution* – DAMBE (Xia 2013) foi utilizado para evidência de saturação de bases.

ANÁLISE DOS DADOS

Estimativas de variabilidade e Estrutura populacional

Foram estimadas as medidas de variabilidade genética de *P. fasciicauda*, por localidade, exceto no caso de Chupinguaia e Comodoro – MT, localidades adjacentes com vegetação de floresta de transição, situadas na região oeste da área de estudo. Devido a menor quantidade de amostras e por serem áreas adjacentes, com maior proximidade, os dados destas duas localidades foram agrupados, sendo denominados de floresta de transição Oeste.

Utilizando-se a matriz de sequências alinhadas foram estimados os seguintes parâmetros de variabilidade, utilizando-se - programa DNAsp (Rozas *et al.* 2003): número de haplótipos (h); diversidade haplotípica (Hd), probabilidade que dois haplótipos escolhidos aleatoriamente sejam diferentes em uma amostra e diversidade nucleotídica (π : número médio de diferenças nucleotídicas

por local entre as sequências) (Nei 1987). A comparação entre os valores da diversidade haplotípica (Hd) e diversidade nucleotídica (π) foi realizada empregando-se o teste não-paramétrico de Mann-Whitney (Teste U de Wilcoxon-Mann-Whitney).

As relações filogenéticas das populações foram construídas, com auxílio do programa RAxMLv.7.0.4 (Stamatakis 2006), empregando-se o método de máxima verossimilhança e o método de análise Bayesiana, implementado no programa MrBayes 3.1.2 (Huelsenbeck & Ronquist 2001). A significância e a robustez dos nós das árvores, obtidas pelo método de máxima verossimilhança, foram estimadas por análise de *bootstrap* com 1.000 réplicas e o suporte para a árvore Bayesiana foi avaliado utilizando-se a probabilidade posterior. O modelo evolutivo considerado nos métodos de máxima verossimilhança e análise Bayesiana foi obtido com o uso do programa jModelTest 2.1.5 (Darriba *et al.* 2012). A espécie utilizada nas reconstruções filogenéticas como grupo externo foi *Pipra filicauda* e sua sequência foi obtida no banco de dados do *GenBank* (www.ncbi.nlm.nih.gov). A utilização desta espécie como grupo externo foi determinada pela sua proximidade filogenética com *P. fasciicauda* (Rêgo *et al.* 2007; Ohlson *et al.* 2013), também evidenciada por meio das comparações realizadas através do recurso BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) do *GenBank* (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/blast.cgi>). Este recurso permite consultar a base de dados de sequências nucleotídicas do NCBI (*National Center for Biotechnology Information*), com uma determinada sequência, a ser comparada com outras depositadas no banco de dados, a fim de se encontrar as espécies que apresente sequências de maior similaridade com a sequência de entrada.

O tempo de divergência até o ancestral comum mais recente foi estimado, através de uma abordagem bayesiana, assumindo-se o modelo *Yule speciation prior*. Para esta análise, foi utilizado o programa BEAST 2.1.3 (Drumond & Rambaut 2007). O modelo evolutivo foi determinado por meio do programa jModelTest 2.1.5 (Darriba *et al.* 2012) e o arquivo utilizado criado por meio do aplicativo BEATi 2.1.3. As taxas de calibração utilizadas foram de 2,1% de substituições nucleotídicas por milhão de anos (Weir & Schluter 2008) e a taxa de 4,0% de substituições nucleotídicas por milhão de anos (taxa intraespecífica do gene mitocondrial ND2, estimada para espécies de *Nesomimus* em Galápagos) (Arbogast *et al.* 2006). As análises foram executadas por 10 milhões de gerações com árvores e parâmetros estimados a cada 1.000 gerações. O resultado para a convergência foi verificado no programa TRACER 1.6, assegurando que a amostragem da distribuição posterior tenha alcançado o tamanho efetivo mínimo suficiente para garantir as estimativas dos parâmetros.

Com intuito de avaliar se há isolamento pela distância entre as subpopulações, foi realizado o Teste de Mantel, que analisa a correlação entre distância genética e distância geográfica. Este procedimento foi realizado com o uso do programa Fstat 2.9.3. (Goudet, 1995). O grau de diferenciação entre os grupos de indivíduos, provenientes de diferentes localidades, foi avaliado pela estimativa dos índices de fixação F_{st} par-a-par, empregando-se o programa Arlequin 3.5.1.2. e sua significância ($p < 0,05$) testada por meio de permutações dos haplótipos (1023 permutações) entre as subpopulações, considerando como valor de significância (p) as proporções de permutações que têm um valor de F_{st} maior ou igual ao observado. Nesta análise é possível se obter valores negativos de F_{st} (Excoffier *et al.* 1992).

A distância genética média entre as populações foi calculada utilizando-se o modelo de distância de Kimura 2- Parâmetros (K2P; Kimura 1980) no programa MEGA 6.06.

A partir da matriz de sequências foram obtidas redes de haplótipos, utilizando-se o método de *median-joining* com posterior análise de máxima parcimônia, por meio do programa Network 4.2.0.1 (Polzin & Daneschmand 2003).

Estimativas de mudanças demográficas

Para determinar os traços genéticos causados por possíveis mudanças demográficas históricas nas populações, tais como rápidas expansões populacionais ou efeito gargalo (*bottlenecks*), foram estimados os índices de neutralidade D (Tajima 1989), F_s (Fu 1997) e R_2 (Ramos-Onsins & Rozas 2002). O teste D'Tajima usa a média de diferenças par-a-par e o número de sítios segregantes e testa a hipótese de todas as mutações serem neutras. Valores negativos ($D < 0$) também podem ser interpretados como indicativo de populações que experimentaram mudanças de tamanho D (Tajima 1989). O teste de F_s (Fu, 1997) que se baseia na comparação entre um valor de θ ($\theta = 4N\mu$ onde N é o tamanho efetivo populacional e μ é a taxa de mutação por sequência por geração), estimado a partir do número de haplótipos (θH), e a partir da média de diferenças nucleotídicas entre duas sequências ($\theta\pi$). Valores de F_s significativos e negativos ($p < 0,01$) são gerados pelo excesso de mutações, o que caracteriza um sinal de expansão populacional.

A estatística R_2 é definida por meio da seguinte expressão (Ramos-Onsins & Rozas 2000):

$$R_2 = \frac{\left(\sum_{i=1}^n \left(U_i - \frac{k}{2} \right)^2 / n \right)^{1/2}}{S}$$

Onde n é o tamanho da amostra, S é o número total sítios segregantes, K o número médio de diferenças nucleotídicas entre duas sequências e U_i , o número de mutações na sequência i . A lógica desse teste é que o número esperado de mutações únicas em um ramo da genealogia depois de um recente e severo evento de crescimento populacional é $K/2$; consequentemente, baixos valores de R_2 são esperados diante deste cenário demográfico (P é a probabilidade de se obter valores de R_2 simulado $\leq R_2$ observado, baseado em 1.000 simulações de coalescência. Neste caso, a hipótese nula é de que o tamanho populacional permaneceu constante).

Conforme sugerido por Ramos-Onsins & Rozas (2000), a estatística R_2 seria mais apropriada para pequenos tamanhos amostrais (devido a maior robustez do teste nesta condição), enquanto o teste Fu's F_s para grandes tamanhos amostrais. Estes autores alertam para possíveis discrepâncias entre estes testes, devido às estatísticas R_2 e Fu's F_s usarem diferentes tipos de informação.

Foram Também calculadas as curvas de *Mismatch distributions* (Rogers 1995). O programa DNAsp (Rozas *et al.* 2003) foi utilizado para realização destas estimativas.

Na curva de *Mismatch distribution*, a frequência de pares de indivíduos de uma população, que diferem por um dado número de substituições nucleotídicas, são escolhidos randomicamente e as frequências esperadas sob um modelo de rápida expansão demográfica é então calculado. Estas frequências esperadas são sobrepostas às frequências observadas e a significância da diferença entre os valores observados e esperados é dada pela soma dos desvios dos quadrados (SSD). (P é a probabilidade de se obter valores de SSD simulados \geq SSD observados, baseado em 1.000 simulações de coalescência). Uma curva apresentando um padrão do tipo *Smooth Poisson mismatch* caracteriza rápida expansão demográfica e o índice *Raggedness* (R) (Harpending 1994) é usado para medir a suavidade (*smoothness*) da distribuição observada. Baixos índices são indicativos de rápida expansão demográfica. $P(R)$ é a probabilidade de se observar uma distribuição com os mais altos valores do índice *raggedness*, baseado em 1000 simulações de coalescência (probabilidade de se obter valores de R simulado $\geq R$ observado). Estas análises foram realizadas o uso do programa Arlequin 3.5.1.2. (Excoffier & Lischer 2010).

RESULTADOS

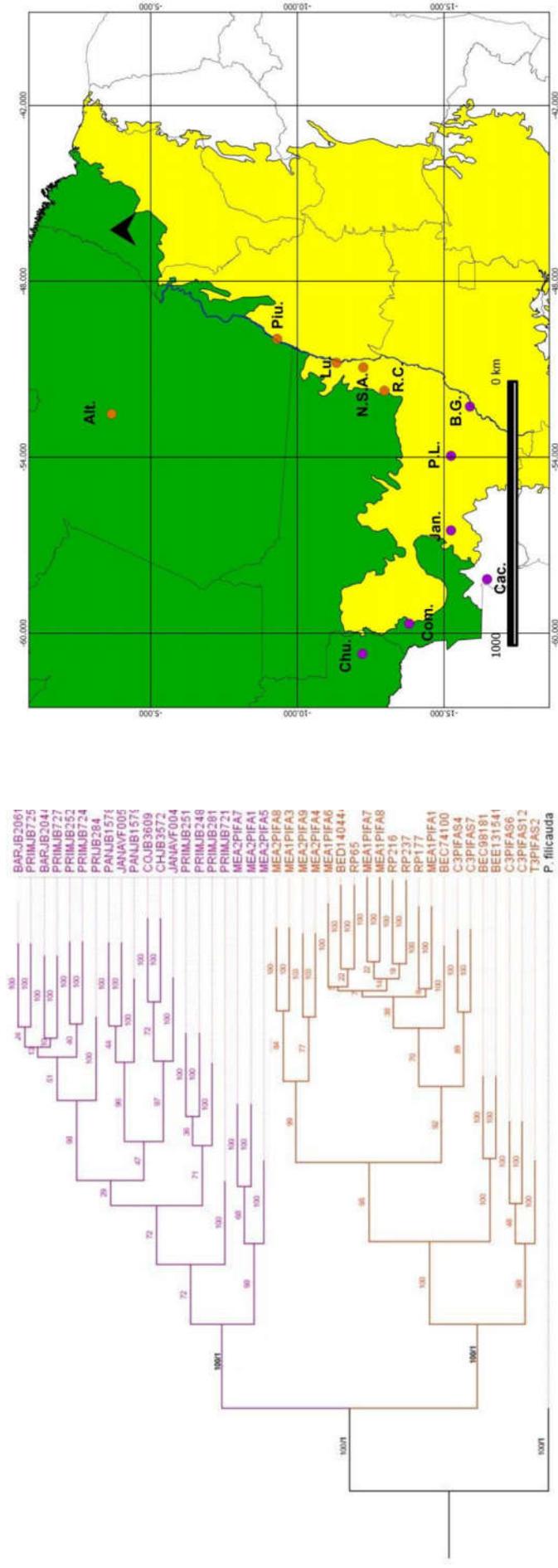
Um total de 1040pb foi sequenciado, dos quais 948pb sítios homólogos (informativos), sem nenhum *missing data*, compuseram a matriz de sequências alinhadas do gene ND2 foram sequenciados para

os indivíduos de *P. fasciicauda*. A composição de bases dos fragmentos das duas linhagens de *P. fasciicauda* apresentaram as seguintes frequências: S-O: A = 0.306; C = 0.303; G = 0.096; T = 0.292 e N-L: A = 0.304; C = 0.310; G = 0.101; T = 0.283.

As linhagens de Pipra fasciicauda

As relações filogenéticas dos indivíduos de *P. fasciicauda*, reconstruídas a partir de 41 sequências do gene ND2 (948pb), resultaram na divisão dos espécimes em duas linhagens notoriamente distintas. As árvores obtidas por meio dos métodos de máxima verossimilhança e de análise Bayesiana (Figura 2) indicaram a formação de dois clados reciprocamente monofiléticos com alto nível de suporte para ML e IB. Um clado é formado pelos indivíduos oriundos da floresta de transição oeste, Cerrado sul e Pantanal. O outro, pelos indivíduos provenientes da floresta de transição leste, Cerrado leste e região Norte. Uma área de contato entre estas duas linhagens foi detectada no Cerrado leste (município de Novo Santo Antônio – MT). Estas linhagens foram denominadas, respectivamente, de linhagem sul - oeste (S-O) e linhagem Norte - Leste (N-L). A distância genética média (K2P) obtida entre os indivíduos pertencentes às duas linhagens foi de 0,07.

O tempo de divergência entre as duas linhagens, até o ancestral comum mais recente, foi de 1.623 milhões de anos (1.291 – 1.965) (I.C. 95%) e de 0,811 milhões de anos (0,645 – 0,982) (I.C. 95%), empregando-se, respectivamente, as taxas de 2,1% e 4,0% de substituição nucleotídica por milhão de anos.



(a)

(b)

Figura 2: (a) Árvore filogenética de máxima verossimilhança reconstruída com base nas sequências do gene ND2, para as populações de duas linhagens de *P. fasciicauda*. Nos principais dados, acima dos nós, estão representados os valores de *bootstrap* (ML) e *probabilidade a posteriori* (IB). As siglas apresentadas na árvore filogenética referem-se ao código de identificação dos espécimes (Apêndice 1). (b) Locais de ocorrência das duas linhagens. No município de Novo Santo Antônio – MT (N.S.A.), as duas linhagens foram detectadas (indivíduos identificados com a sigla MEA2). Chu = Chupinguaiá; Com = Comodoro; Cac = Cáceres; Jan = Jangada; P.L.= Primavera do Leste; B.G. = Barra do Garças; R.C. = Ribeirão Cascalheira; N.S.A. = Novo Santo Antônio; Lu = Luciara; Pi = Pium; Alt = Altamira.

Estimativas de variabilidade e estrutura populacional

A análise dos índices de diversidade indicou que a S-O (n = 20) apresentou quase o dobro do número de haplótipos que a N-L (n = 21) tendo assim, uma diversidade haplotípica (Hd) superior ao da linhagem S-O (U = 1,00; p = 0,02). O mesmo não foi evidenciado para a diversidade nucleotídica, sendo esta, similar entre as duas linhagens, não apresentando, portanto, diferença significativa (U= 4,0; p = 0,12) (Tabela 1).

Tabela 1: Índices de diversidade das duas linhagens de *P. fasciicauda*, obtidos para 11 localidades. n = número de amostras; h = número de haplótipos; Hd = diversidade haplotípica; π = diversidade nucleotídica; S = número de sítios polimórficos.

Localidade	N	H	Hd \pm SD	$\pi \pm$ SD ($\times 10^{-3}$)	S
<i>P. fasciicauda</i> (S-O)	20	11	0,89 \pm 0,05	5,89 \pm 0,86	21
Região 1 - floresta de transição oeste					
Chupinguaia e Comodoro	2	2	1,00 \pm 0,50	1,05 \pm 0,53	1
Região 2 - cerrado sul e Pantanal					
Cáceres	2	1	-	-	-
Jangada	2	2	1,00 \pm 0,5	7,38 \pm 3,69	7
Primavera do Leste	9	4	0,75 \pm 0,11	2,23 \pm 0,38	5
Barra do Garças	2	1	-	-	-
Região 3 - floresta de transição e Cerrado leste					
Novo Santo Antônio	3	3	1,00 \pm 0,27	1,41 \pm 0,47	2
<i>P. fasciicauda</i> (N-L)	21	6	0,77 \pm 0,07	6,31 \pm 1,35	17
Região 3 - floresta de transição, Cerrado leste					
Ribeirão Cascalheira	5	2	0,60 \pm 0,17	9,49 \pm 2,77	15
Novo Santo Antônio	3	1	-	-	-
Luciara	5	2	0,4 \pm 0,23	1,69 \pm 1,0	4
Pium – TO	4	1	-	-	-
Região 4 – Floresta Amazônica					
Altamira – PA	4	3	0,88 \pm 0,22	6,15 \pm 1,80	9

A Tabela 2 apresenta os valores de F_{st} par-a-par entre os indivíduos da S-O oriundos de diferentes localidades dentro da sua área de abrangência e as distâncias geográficas que separam as subpopulações. Nota-se que a subpopulação situada em Novo Santo Antônio apresenta os maiores valores de F_{st} , se diferenciando das demais. O teste de Mantel indicou que a distância geográfica não exerceu influência significativa nos valores obtidos de F_{st} , pois explicou somente 50, 24% da variação genética encontrada.

Tabela 2: Índice de F_{st} par-a-par entre as subpopulações da linhagem S-O (diagonal abaixo) e distância geográfica em km (diagonal acima). A distância entre as áreas da região de transição oeste (Chupinguaia e Comodoro) e as demais localidades é a média das distâncias destas duas áreas. (* = $p < 0,05$).

Localidades	Chupinguaia e Comodoro	Cáceres	Jangada	Primavera do Leste	Barra do Garças	Novo Santo Antônio
Chupinguaia e Comodoro		438	473	718	912	1064
Cáceres	0,941*		221	467	631	911
Jangada	0,200	0,000		271	457	687
Primavera do Leste	0,768*	0,559*	0,416		193	466
Barra do Garças	0,947*	1,000*	0,461*	0,023		430
Novo Santo Antônio	0,907*	0,898*	0,673*	0,769*	0,909*	

A distância geográfica não apresentou influência significativa nas diferenças dos valores estimados de F_{st} par-a-par, encontrados para a linhagem N-L. Somente 7,84% da variação genética encontrada entre as subpopulações foram explicadas pela distância geográfica (Tabela 3).

Nota-se nos resultados apresentados na Tabela 3, que os maiores valores de F_{st} par-a-par foram estimados entre Novo Santo Antônio e as demais localidades. Observa-se também que entre Pium e Luciara, subpopulações que se localizam em margens opostas do rio Araguaia, o valor de F_{st} foi negativo (valores negativos obtidos nesta análise são considerados como zero), sendo o mais baixo valor de F_{st} verificado na linhagem N-L.

Tabela 3: Valores de F_{st} par-a-par entre as subpopulações da linhagem N-L (diagonal abaixo) e distância geográfica em km (diagonal acima). (* = $p < 0,05$).

Localidades	Ribeirão Cascalheira	Novo Santo Antônio	Luciara	Pium	Altamira
Ribeirão Cascalheira		131	214	450	1024
Novo Santo Antônio	0,348		102	335	966
Luciara	0,452*	0,680*		236	863
Pium	0,505*	1,000*	-0,053		686
Altamira	0,211	0,520*	0,284	0,385	

A Figura 3a mostra a localização das subpopulações de cada linhagem na área de estudo. Separando as duas linhagens existem 72 passos mutacionais. Na linhagem S-O (Figura 3b), os 11 haplótipos obtidos apresentam-se com uma estruturação mais definida do que a linhagem N-L. Dois haplótipos foram compartilhados entre áreas adjacentes, um deles entre Cáceres e Jangada, o outro entre Primavera do Leste e Barra do Garças. Mais distantes encontram-se os haplótipos oriundos

das subpopulações de Jangada, Comodoro e Chupinguaia e também haplótipos provenientes dos indivíduos procedentes de Novo Santo Antônio, na região leste da área de estudo, em contato com a linhagem N-L.

A rede formada com os seis haplótipos da linhagem N-L (Figura 3c) também apresentou dois haplótipos compartilhados, um deles entre as áreas adjacentes, Luciara e Novo Santo Antônio (102 km de distância). Entretanto, o outro é compartilhado entre três subpopulações, Luciara, Pium (separados por 236 km de distância) e Altamira. Esta última localidade, encontra-se a 686 km de Pium. O haplótipo mais diferenciado, separado dos demais por um maior número de passos mutacionais, encontra-se na subpopulação de Ribeirão Cascalheira, no ponto mais os sul da área de distribuição da linhagem N-L.

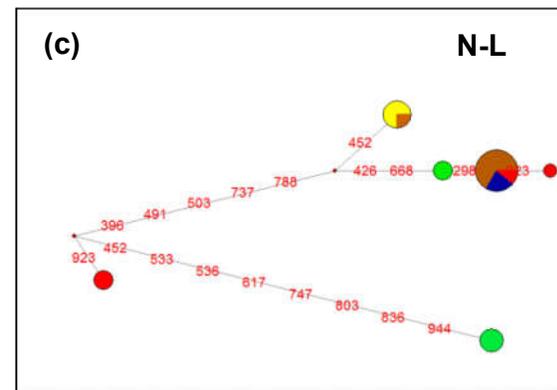
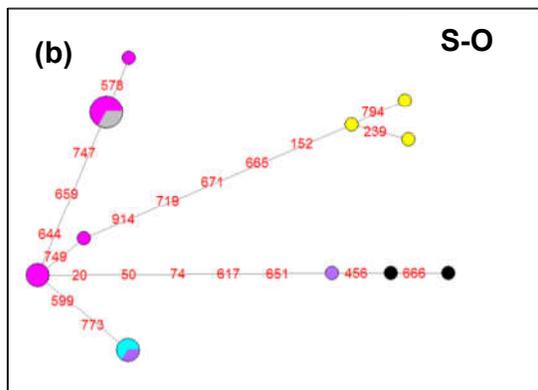
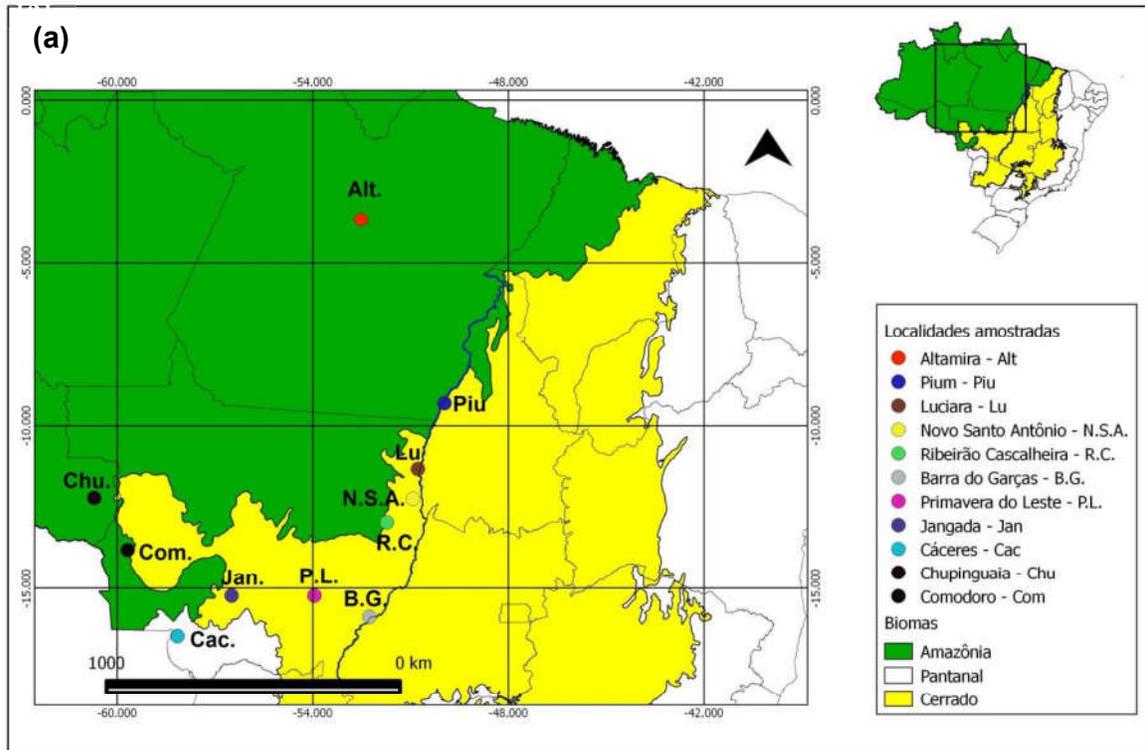


Figura 3: (a) Localidades de ocorrência dos haplótipos de *P. fasciicauda*. (b) Rede haplotípica dos indivíduos da linhagem S-O. (c) Rede haplotípica dos indivíduos da linhagem N-L. O tamanho do círculo é proporcional ao número de indivíduos com cada haplótipo e as cores correspondem à localidade de ocorrência apresentada na imagem. Os números em vermelho nas linhas representam os passos mutacionais. Em Novo Santo Antônio (NSA) as duas linhagens foram detectadas (haplótipo identificado pela cor amarela).

Estimativas de mudanças demográficas

As linhagens de *P. fasciicauda* apresentaram tendências de mudanças no tamanho populacional em direções opostas. Enquanto a linhagem S-O apresentou resultados que indicam a tendência de uma possível expansão populacional pretérita, os testes realizados para N-L apontam para uma estabilidade ou talvez para a possibilidade de uma redução populacional.

Na linhagem S-O, o aspecto da curva de *mismatch distribution*, apresentou uma suave distribuição de Poisson (*smooth Poisson mismatch*), que não se diferenciou significativamente do esperado pelo modelo de expansão (SSD = 0,010; $p = 0,818$). Nota-se que há algumas oscilações na curva *mismatch distribution* desta linhagem (com frequências observadas variando cerca de 0,05 a 0,12), entretanto, estas não são tão severas, quanto as que ocorrem na linhagem N-L, em que as frequências observadas (de pares de haplótipos, que diferem por um dado número de substituições nucleotídicas) variam aproximadamente de zero a 0,25 (Figura 4).

Valores negativos nos testes D (Tajima 1989) e no teste Fu's F_s (Fu 1997) foram obtidos para a linhagem S-O, embora os mesmos não tenham sido significativos (Tabela 4). O valor do índice de *Raggedness* (R) da linhagem S-O é bem mais baixo do que o obtido para N-L e baixos valores deste índice, que mede a suavidade da curva de *mismatch distribution*, também sugere um processo de rápida expansão demográfica (Harpending 1994). Os resultados acima descritos são indicativos de um processo de expansão populacional.

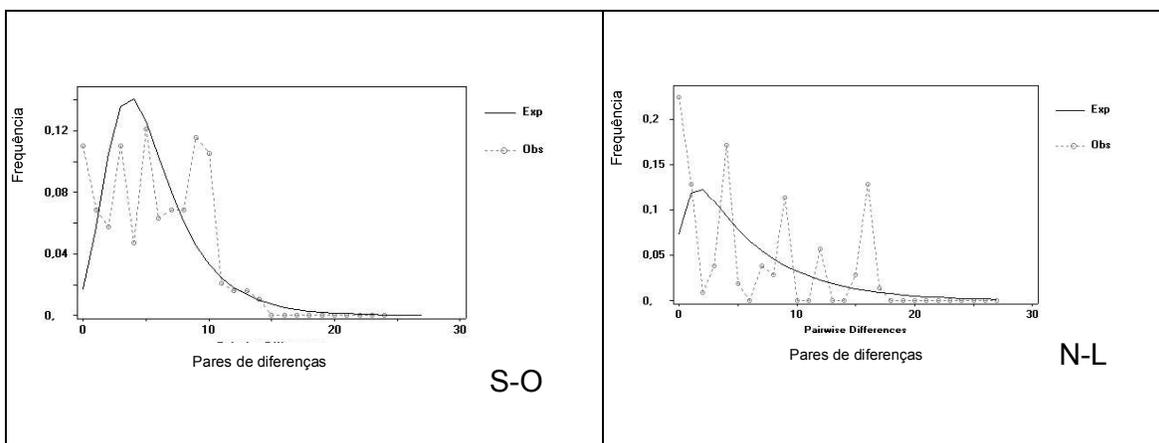


Figura 4: Curva *Mismatch distribution* para as duas linhagens de *P. fasciicauda* registradas em diferentes localidades na região de ecótono Cerrado-Amazônia, na Amazônia e no Cerrado.

Tabela 4: Análises demográficas históricas para as duas linhagens de *P. fasciicauda* (* = $p < 0,05$).

Linhagens	N	D	Fu e Li's D*	Fu e Li's F*	Fu's Fs	R	R ₂
S-O	20	-0,216	0,570	0,393	-1,316	0,027	0,125
N-L	21	0,983	1,551*	1,609*	3,667	0,118	0,176

O oposto foi observado para a linhagem N-L (Tabela 4). Os testes D e Fu's Fs resultaram em valores positivos, mas também não alcançaram o nível de significância. A curva *Mismatch distribution* da linhagem N-L apresentou um padrão multimodal e com um valor de *Raggedness* mais elevado, resultados que caracterizam populações estáveis. Entretanto, os resultados dos testes Fu e Li's D* e Fu e Li's F* foram positivos e significativos, apontando para a possibilidade da linhagem N-L ter sofrido um gargalo populacional.

DISCUSSÃO

As linhagens de Pipra fasciicauda

A composição de bases dos fragmentos do gene ND2, das duas linhagens de *P. fasciicauda* exibiram a tendência típica dos genes mitocondriais das aves (Joseph *et al.* 2002), apresentando um déficit de guaninas.

A reconstrução das relações evolutivas obtidas para os espécimes de *P. fasciicauda*, com base na análise dos fragmentos do gene ND2, demonstrou que a população encontrada em área de floresta, em região de transição Cerrado – Amazônia, localizada no oeste do estado de Mato Grosso, sudeste do estado de Rondônia e em área de cerrado no sul do estado de Mato grosso, é substancialmente distinta da população encontrada em área de floresta de transição Cerrado – Amazônia da região leste do estado de Mato Grosso e noroeste do estado de Tocantins, no vale do Rio Araguaia, alcançando também, a região central do Estado do Pará. A separação dos espécimes nestes dois grupos foi fortemente suportada pelos métodos de reconstrução filogenética, indicando se tratar de duas linhagens distintas. Estas linhagens provavelmente devem se tratar de *P. fasciicauda calamae* (linhagem S-O) e *P. fasciicauda scarlatina* (linhagem N-L), levando em consideração, a distribuição geográfica destas duas subespécies.

P. f. calamae tem ocorrência registrada para o extremo noroeste do Mato Grosso e *P. f. scarlatina* apresenta uma ampla distribuição que vai desde o Pará (sul de Belém), adentra o interior do Brasil, abrangendo o sul do Mato Grosso do Sul, sul de Goiás, oeste de Minas Gerais e noroeste de São Paulo e atingindo a região do extremo norte da Bolívia, sudeste do Paraguai e extremo nordeste da Argentina (Misiones) (Snow 2004). Essa subespécie foi também registrada na região do rio Peixoto de Azevedo no norte de Mato Grosso (Novaes & Lima 1991). Considerando a área de ocorrência destas duas subespécies, se a linhagem S-O, se tratar de *P. f. calamae*, essa subespécie teria ampliado sua distribuição em relação à área de ocorrência descrita por Snow (2004), abrangendo também a região sul e parte da região leste do estado de Mato Grosso (área de contato entre as duas linhagens no município de Novo Santo Antônio) e não somente o noroeste deste estado.

A distância genética entre as linhagens S-O e N-L, obtida pelo mtDNA ND2, foi de 0,07 (7%). Esta divergência pode ser considerada alta, levando-se em conta que nas espécies de aves, as médias das divergências entre sequências variam de 0,01 a 0,16. (376 espécies pertencentes a 88 gêneros, analisadas por Johns & Avise (1998)). Entretanto, estes valores de divergência foram obtidos por meio do gene Citocromo-*b* (Cyt-*b*). Este gene é menos variável do que o gene ND2, sugerindo uma taxa de evolução molecular mais rápida para este último (Dimcheff *et al.* 2002) e consequentemente, maior divergência média entre as sequências. A taxa de divergência intraespecífica do gene ND2 foi estimada entre 4,0% a 4,3% por milhão de anos (Arbogast *et al.* 2006), enquanto que para as aves, a taxa de divergência interespecífica padrão, amplamente empregada, é de 2,1% por milhão de anos (Weir & Schluter 2008).

Entre três espécies de aves Galliformes, do gênero *Tympanuchus*, Dimcheff *et al.* (2002) encontraram uma divergência entre sequências de apenas 0,51%, já para espécies do gênero *Tetrao* e *Lagopus* as distâncias foram de 4,3% e 4,1%, respectivamente (empregando-se os genes ND2 e 12S). Rêgo *et al.* (2007) verificaram que entre *P. fasciicauda* e *P. aureola* a distância genética, avaliada com o mtDNA 16S, foi de apenas 0,01. Já entre *P. fasciicauda* e *P. erythrocephala*, a distância genética foi estimada em 0,05. Utilizando o gene Cyt-*b*, as distâncias obtidas foram maiores. Entre *P. fasciicauda* e *P. aureola*, a distância genética foi de 0,02 e entre *P. fasciicauda* e *P. erythrocephala*, 0,13.

O uso da distância genética para identificação de espécies parte do princípio que uma quantidade suficiente de divergência genética gera incompatibilidade entre as presumidas espécies, conduzindo ao isolamento reprodutivo. Com isso, os baixos níveis de fluxo gênico lentamente acumulariam diferenças genéticas entre as linhagens, até que se possa inferir, por meio da distância genética, que estas se tratam de espécies distintas. Esta abordagem, segundo Ferguson (2002) é falha, sendo útil somente ao nível de análises populacionais e filogeográficas. Ainda, para este autor, os taxonomistas necessitam de ferramentas que são parcimoniosas, bem fundamentadas e que podem ser usadas, consistentemente, em uma ampla abrangência de táxons. Em termos de identificação de novas espécies, o uso da distância genética falha nestes três critérios.

Entretanto, com o advento das análises empregando-se o gene citocromo- c oxidase (COI), conhecido DNA *barcode*, o uso da divergência genética para identificação de espécies ganhou força. Por meio do uso do COI, as diferenças nas distâncias genéticas entre as espécies de aves foram, em média, 18 vezes maiores do que as diferenças obtidas dentro do nível de espécie. Esta descoberta veio confirmar a eficiência do uso do DNA *barcode* para a identificação de espécies de aves (Herbet *et al.* 2004), embora também seja uma ferramenta sujeita a críticas (*e.g.* Moritz & Cicero 2004; Meyer & Paulay 2005).

Mesmo considerando elevada, a distância genética entre as linhagens S-O (*P. f. calamae*) e N-L (*P. f. scarlatina*) e que este resultado seja um indicativo de que uma destas linhagens possa até mesmo se tratar de uma espécie diferenciada, esta conclusão só poderá ser obtida com uma investigação mais detalhada, em que se utilizem outros marcadores moleculares, considerando também caracteres morfológicos, vocais e especialmente comportamentais, que representam um forte componente filogenético dentre os Pipridae (Prum 1994). Esta avaliação possibilitará compreender melhor, a relação filogenética desta linhagem com as demais espécies do grupo.

De qualquer modo, as linhagens de *P. fasciicauda* mostraram-se bem diferenciadas e, portanto, podem ser consideradas como unidades evolutivamente significantes (ESUs), isto é, populações parcialmente diferenciadas (geneticamente) que devem ser manejadas como unidades separadas (Ballou & Briscoe 2008).

Segundo (Zink 2004) subespécies não deveriam ser consideradas como unidades evolutivamente significantes, caso não fossem capazes de recuperar a história evolutiva das populações que representam. Entretanto, uma visão alternativa é que a subespécie possa estar

refletindo a variação adaptativa (importante para a persistência da espécie), independentemente do padrão de mtDNA de monofilia recíproca (Crandall *et al.* 2000). Muitas espécies que não possuem grupos reciprocamente monofiléticos podem exibir um padrão geográfico na morfologia (*eg.* Zink *et al.* 2000; Rêgo *et al.* 2010), o que seria reflexo das adaptações locais, importantes para a sua persistência. Como a seleção natural e sexual influenciam fortemente as características da plumagem, tais discordâncias entre caracteres genéticos e morfológicos deveriam ser esperados em muitos casos e já foram evidenciados para espécies de Pipridae (*e.g.* Brumfield & Braun 2001; Cheviron *et al.* 2005).

Assim, os esforços de conservação com base na variação adaptativa poderiam ser conflitantes com a abordagem histórica. No entanto, a variação fenotípica, seja adaptativa ou não, pode evoluir rapidamente, especialmente dentre as espécies de aves (Johns & Avise 1998). Em contrapartida, os grupos reciprocamente monofiléticos muitas vezes podem levar milhares de anos para evoluir. Deste modo, a conservação de grupos reciprocamente monofiléticos deverá preservar tanto a história independente dos grupos, como a variação fenotípica adaptativa presente nos mesmos (Crnokrak & Merilä 2002).

Conforme indicou a análise de coalescência, as duas linhagens de *P. fasciicauda* se separaram há cerca de 1,6 milhão de anos (taxa de evolução de 4,0% por milhão de anos) ou há cerca de 800 mil anos (taxa de evolução de 2,1% por milhão de anos). Esta datação recai sobre o Pleistoceno, período marcado por fortes oscilações climáticas (Berger 1984), que tiveram profundos efeitos na distribuição geográfica das espécies, tendo ocorrido entre dois milhões a 11.000 anos atrás (Webb & Bartlein 1992).

Com a contração da floresta durante os períodos glaciais, as populações que se apresentavam continuamente distribuídas tornaram-se subdivididas em múltiplos refúgios, o que ocasionaria uma divisão das linhagens e potencialmente, especiação. Subsequentemente, durante os períodos interglaciais mais quentes e úmidos, estas populações experimentaram uma expansão populacional. Haffer (1969) denominou de hipótese dos refúgios, o processo de especiação ocorrido na Amazônia, mediante o cenário exposto acima. Dentre as áreas de refúgio propostas por Haffer (1969), encontram-se o refúgio Madeira-Tapajós, no estado de Amazonas, e o refúgio Belém, no estado do Pará. A localização de cada um destes refúgios está compreendida, respectivamente, dentro da área de distribuição de *P. f. calamae* (refúgio Madeira-Tapajós) e *P. f. scarlatina* (refúgio

Belém). Se a subdivisão destas linhagens está ligada aos refúgios que existiram em suas áreas de distribuição, isso só poderá ser elucidado com uma investigação mais minuciosa, que possibilite estabelecer com maior precisão, os fatores relacionados com a origem destas subespécies.

Estimativas de variabilidade e estrutura populacional

Conforme verificado nas análises de variabilidade, a linhagem S-O apresentou maior diversidade haplotípica do que a linhagem N-L. O mesmo não ocorreu para os valores de diversidade nucleotídica, que foram similares entre as duas. Esta menor diversidade haplotípica da linhagem N-L pode estar associada a uma possível redução no seu tamanho populacional. A eliminação de haplótipos raros ocorre logo após o gargalo populacional, o que afeta fortemente a diversidade haplotípica, enquanto que a diversidade nucleotídica é afetada em menor proporção, refletindo a média das diferenças entre os haplótipos (Birky *et al.* 1983).

A rede haplotípica da linhagem S-O mostra o compartilhamento de haplótipos entre as subpopulações adjacentes de Primavera do Leste e Barra do Garças e entre Jangada e Cáceres, indicando devido a sua proximidade, um nível de fluxo gênico mais intenso entre estas subpopulações. Entretanto, entre Jangada e Primavera do Leste, que também se localizam em áreas adjacentes, nenhum haplótipo foi compartilhado. O resultado do teste de Mantel de isolamento pela distância corrobora o padrão observado na rede haplotípica desta linhagem, já que a distância geográfica explicou somente cerca de 50% da variação genética encontrada para as subpopulações.

Jangada possui um haplótipo que se distancia do haplótipo apresentado pela subpopulação situada em Chupinguaia, por apenas um passo mutacional e dois passos mutacionais da subpopulação situada em Comodoro. Provavelmente deve ter havido maior conexão entre as subpopulações de Jangada e as áreas da transição oeste (Comodo e Chupinguaia) e entre Jangada e Cáceres. O mesmo pode ser afirmado para as subpopulações de Primavera do Leste e Barra do Garças, ambas situadas em região de cerrado, a sudeste da área de abrangência da linhagem S-O. Deste modo, a linhagem S-O apresenta, em sua rede haplotípica, uma subdivisão inicial entre as subpopulações das regiões oeste e leste de sua área de abrangência.

Na linhagem N-L a distância geográfica apresentou pouca influência na diferenciação genética encontrada na população como um todo. Subpopulações localizadas em áreas próximas obtiveram valores de F_{st} maiores do que aquelas situadas em áreas muito mais distantes. É o caso,

por exemplo, de Luciara e Novo Santo, que distam apenas 102 km e apresentaram valor de $F_{st} = 0,68$. Já Altamira e Ribeirão Cascalheira estão separadas por 1024 km e entre suas subpopulações o valor do índice de fixação foi de apenas 0,211. As maiores diferenças se deram entre a subpopulação de Novo Santo Antônio e as demais subpopulações. Este resultado pode ser consequência da zona de contato das duas linhagens na localidade de Novo Santo Antônio.

Evidências obtidas pelas estimativas de F_{st} e pela rede haplotípica sugerem que o rio Araguaia não seja uma barreira efetiva para *P. fasciicauda*. Entre as subpopulações situadas em Luciara, estado de Mato Grosso, e Piim, estado de Tocantins (o rio Araguaia separa esses dois estados) foi obtido o menor valor de diferenciação genética entre as subpopulações da linhagem N-L ($F_{st} = -0,053$). Estas duas subpopulações compartilham um mesmo haplótipo, consequência provável, de um considerável intercâmbio gênico entre estas subpopulações e não de um possível polimorfismo ancestral, considerando que a formação da bacia dos rios Tocantins-Araguaia é muito antiga (era Mesozoica, entre 250 a 65 Ma). A bacia do Araguaia é localizada nas altas terras centrais do Brasil e sua geologia engloba rochas pré-cambrianas do escudo brasileiro, rochas paleozóicas e mesozóicas da bacia sedimentar do Paraná, sedimentos terciários e depósitos quaternários (Latrubesse & Stevaux 2002; Latrubesse & Stevaux 2006). Somente no final do Oligoceno e início do Mioceno (~23 Ma; era Cenozoica), com a aceleração do soerguimento dos Andes, a pendente regional da região amazônica foi invertida e a drenagem, que fluía em sentido ao oceano Pacífico, se inverteu dirigindo-se para o oceano Atlântico e ocasionando grandes mudanças na paisagem da região Amazônica. Este período coincide com a diversificação dos primeiros gêneros modernos de plantas e animais da biota Amazônica (Hoorn *et al.* 2010). Deste modo, a formação da bacia do Tocantins- Araguaia precede o período inicial de diversificação na Amazônia.

Contrariamente, ao que foi evidenciado em *P. fasciicauda*, Maldonado *et al.* (2013) não verificaram compartilhamento de haplótipos entre as populações de *Pyriglena leuconota*, entre margens opostas do rio Tocantins e este rio demonstrou ser uma efetiva barreira para esta espécie de *Thamnophilidae*. O oposto foi observado para o rio Araguaia, que não exerceu um papel de barreira capaz de limitar o fluxo gênico entre essas subpopulações, permitindo o compartilhamento de haplótipos entre margens opostas.

Em um estudo com pequenos mamíferos, Rocha *et al.* (2011) verificaram que o médio rio Araguaia separou claramente as duas espécies irmãs do roedor *Rhipidomys*, atuando como uma

importante barreira geográfica na estruturação de suas populações. Porém, o mesmo não foi constatado para outra espécie de roedor, que possivelmente utiliza as ilhas semipermanentes, presentes no leito do rio, como “*stepping stones*”. É provável que o mesmo ocorra para *P. fasciicauda*. Esta espécie de pequeno porte (supostamente com capacidade de voar grandes distâncias, mais limitada; Lees & Peres 2009; Yabe *et al.* 2010), deve utilizar as ilhas presentes no rio Araguaia em seus deslocamentos. Portanto, estas ilhas tornam o rio mais permeável à dispersão desta espécie, facilitando a homogeneização de suas subpopulações entre margens opostas. Comparativamente, se o médio rio Araguaia não foi uma barreira efetiva para uma espécie de roedor, é razoável supor que também não seria para uma espécie de ave, que apresenta vagilidade bem maior.

A importância das ilhas nos rios da Amazônia, em promover maior conectividade entre as áreas separadas por grandes rios já tem sido constatada em outros estudos. O uso de ilhas como “*stepping stones*”, por duas espécies de Dendrocolaptidae do gênero *Xyphorhynchus*, deve ter possibilitado o compartilhamento dos haplótipos entre as populações destas espécies de arapaçus, situadas em áreas separadas por diversos rios da bacia Amazônica, conforme verificado por Aleixo (2006).

É indubitável que amplas porções mais baixas de vários rios podem separar efetivamente populações de muitas aves florestais e outros animais que habitam as florestas não inundáveis, causando divergências genéticas nas populações (Haffer 1992). Entretanto, estas diferenças podem desaparecer em direção à região das cabeceiras dos respectivos rios, onde os mesmos não atuam como efetivas barreiras, havendo um razoável fluxo gênico conectando as populações (Haffer 1992; Gascon *et al.* 2000). Assim mesmo, para algumas espécies de aves como os *Thamnophilidae* *Hylophylax poecilinota* (Bates *et al.* 2004) e *Phlegopsis nigromaculata* (Haffer 1992), até rios estreitos podem ser efetivas barreiras que previnem o fluxo gênico. Entretanto, o mesmo não foi observado para *P. fasciicauda*, indicando que diferenças na história de vida e na ecologia das espécies podem levar a incongruências da estruturação populacional (Rocha 2011). Um padrão deveria ser congruente entre espécies com similares requerimentos ecológicos (Burney & Brumfield 2009) e capacidade de dispersão através dos rios (Moritz *et al.* 2000).

Estimativas de mudanças demográficas

Os resultados dos testes de neutralidade indicaram tendências opostas para as duas linhagens. A linhagem S-O pode ter apresentado uma expansão populacional pretérita (indicados pelos valores do teste D e Fu's Fs negativos, pelo aspecto da curva *mismatch distribution* e baixo valor de *raggedness*). Embora os testes de neutralidade não tenham alcançado valores significativos, um modelo de rápida expansão demográfica não pode ser rejeitado (baseando-se no padrão apresentado por sua curva *mismatch distribution*, claramente com uma distribuição do tipo *Smooth Poisson distribution*).

Conclusão similar foi obtida por Cheviron *et al.* (2005) para as populações do Pipridae *Lepidothrix coronata*, que possivelmente passaram um processo de rápida expansão demográfica em diferentes regiões da Amazônia. De acordo com estes autores, não se pode rejeitar o modelo de rápida expansão apresentada pelo padrão claramente unimodal ou do tipo *Smooth Poisson mismatch distribution* das curvas de *mismatch distribution*, sendo mais provável, a falta de poder estatístico dos testes de neutralidade em detectar a expansão. Também, verifica-se a expansão espacial da linhagem S-O, através da rede haplotípica, que mostra a presença de haplótipos desta linhagem na área de abrangência da linhagem N-L.

Já para a linhagem N-L, evidências da ocorrência de um provável gargalo populacional foram obtidas por meio dos valores positivos dos testes D e Fu's Fs e também dos testes Fu and Li's D* e Fu and Li's F*, estes dois últimos com resultados significativos. Entretanto a curva *mismatch distribution*, com padrão multimodal, indicou uma história demográfica mais estável. A menor quantidade de haplótipos da linhagem N-L, em relação à linhagem S-O, verificada pelo mais baixo índice de diversidade haplotípica (Hd), também corrobora a hipótese de gargalo populacional para esta linhagem.

Portanto, a S-O (*P. f. calamae*) tendo sofrido uma expansão demográfica, deve ter também expandido sua distribuição, encontrando-se com a linhagem N-L (*P. f. scarlatina*) na região do ecótono leste, sendo detectada no município de Novo Santo Antônio.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdon, M.M. & Silva, J.S.V. 2006. Fisionomias da vegetação nas sub-regiões do Pantanal Brasileiro. São José dos Campos: INPE; Campinas: Embrapa Informática Agropecuária. CD-Rom. ISBN: 85-17-00028-5, 85. Disponível em <http://www.dsr.inpe.br/publicações>.
- 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* 25: 1303-1317.
- Aleixo, A. 2006. Historical diversification of floodplain forest specialist species in the Amazon: a case study with two species of the avian genus *Xiphorhynchus* (Aves: Dendrocolaptidae). *Biological Journal of the Linnean Society* 89: 383-395.
- Amaral, D. L. & Fonzar, B. C. 1982. Vegetação. As regiões fitoecológicas, sua natureza e seus recursos econômicos. Folhas SC.21, v. 26. Projeto RADAMBRASIL. Rio de Janeiro. Ministério de Minas e Energia.
- Arbogast, B.S.; Drovetski, S.V.; Curry, R.L.; Boag, P.T.; Seutin, C.; Grant, P.R.; Grant B.R. & Anderson, D.J. 2006. The origin and diversification of Galapagos Mockingbirds. *Evolution* 60: 370–382.
- Avice, J.C., 2000. *Phylogeography: The History and Formation of Species*. Harvard University Press, Cambridge.
- Avice, J.C.; Arnold, J.; Ball, R.M.; Bermingham, E.; Lamb, T.; Neigel, J.E.; Reeb, C.A. & Saunders, N.C. 1987. Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics* 18: 489–522.
- Frankham, R.; Ballou, J.D. & Briscoe, D.A. 2008. *Fundamentos de genética da conservação*. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética.
- Bartimachi A.; Neves, J. & Pedroni, F. 2008. Predação pós-dispersão de sementes do angico *Anadenanthera falcata* (Benth.) Speg. (Leguminosae-Mimosoideae) em mata de galeria em Barra do Garças, MT. *Revista Brasileira de Botânica* 31: 215-225.
- Bates, J.M.; Haffer, J. & Grismer, E. 2004. Avian mitochondrial DNA sequence divergence across a headwater stream of the rio Tapajós, a major Amazonian river. *Journal of Ornithology* 145: 199–205.

- Berger, A. 1984. Accuracy and frequency stability of the Earth's orbital elements during the Quaternary. *In*: Berger, A.; Imbrie, J.; Hays, J.; Kukla, G. & Saltzman, B. (eds.). *Milankovitch and climate: understanding the response to astronomical forcing*, vol. 1. Reidel, Dordrecht. pp527-537.
- Birky, C.W. Jr.; Maruyama, T. & Fuerst, P. 1983. An approach to population and evolutionary genetic theory for genes in mitochondria and chloroplast and some results. *Genetics* 103: 513– 527.
- Burney, C.W. & Brumfield, R.T. 2009. Ecology predicts levels of genetic differentiation in Neotropical Birds. *American Naturalist* 174: 358-368.
- Brumfield, R.T. & Braun, M.J. 2001. Phylogenetic relationships in bearded manakins (Pipridae: *Manacus*) indicate that male plumage color is a misleading taxonomic marker. *Condor* 103: 248– 258.
- Cadavid-Garcia, E.A. 1984. O clima no Pantanal Mato-Grossense. Corumbá, EMBRAPA/UEPAE de Corumbá (Circular Técnica 14).
- Cheviron, Z.A.; Hackett, S.J. & Capparella, A.P. 2005. Complex evolutionary history of a Neotropical lowland forest bird (*Lepidothrix coronata*) and its implication for historical hypotheses of the origin of Neotropical avian diversity. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 36: 338–357.
- Crandall, K.; Bininda-Emonds, O.; Mace, G. & Wayne, R.K. 2000. Considering evolutionary processes in conservation biology. *Trends in Ecology and Evolution* 15: 290-295.
- Crnokrak, P. & Merila, J. 2002 Genetic population divergence: markers and traits. *Trends in Ecology and Evolution* 17: 501.
- Darriba, D.; Taboada, G.L.; Doallo, R. & Posada D. 2012. "jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing". *Nature Methods* 9: 772.
- Dimcheff, D.E.; Drovetski, S.V. & Mindel, D.P. 2002. Phylogeny of Tetraoninae and other galliform birds using mitochondrial 12S and ND2 genes. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 24: 203– 215.
- Drummond, A.J. & Rambaut, A. 2007. BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC Evolutionary Biology* 7: 214.
- Eiten, G. 1979. Formas fisionômicas do Cerrado. *Revista Brasileira de Botânica* 2: 139-148.

- Excoffier, L. & Lischer, H.E.L. 2010. Arlequin suite version 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources* 10: 564-567.
- Ferguson, J.W.H. 2002. On the use of genetic divergence for identifying species *Biological Journal of the Linnean Society* 75: 509–516.
- Fu, Y.-X. 1997. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics* 147: 915-925.
- Fu, Y.-X. & Li, W.-H. 1993. Statistical tests of neutrality of mutations. *Genetics* 133: 693-709.
- Gascon, C.; Malcolm, J.R.; Patton, J.L.; Silva, M.N.F.; Bogart, J.P.; Loughheed, S.C.; Peres, C.A.; Neckel, S. & Boag, P.T. 2000. Riverine barriers and the geographic distribution of Amazonian species. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 97: 13672-13677.
- González, C.; Ornelas, J.F. & Gutiérrez-Rodríguez, C. 2011. Selection and geographic isolation influence hummingbird speciation: genetic, acoustic and morphological divergence in the wedge-tailed sabrewing (*Campylopterus curvipennis*). *BMC Evolutionary Biology* 11:38.
- Goudet, J. 1995. FSTAT (version 1.2): a computer program to calculate F-statistics. *Journal of Heredity* 86: 458–486.
- Johnson, K.P. & Sorenson, M.D. 1998. Comparing molecular evolution in two mitochondrial protein coding genes (cytochrome-*b* and ND2) in the dabbling ducks (Tribe: Anatini). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 10: 82–94.
- Hackett, S.J. 1996. Molecular phylogenetics and biogeography of tanagers in the genus *Ramphocelus* (Aves). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 5: 368–382.
- Haig, S.M.; Bronaugh, W.M.; Crowhurst, R.S.; D'Elia, J.; Eagles-Smith, C.A.; Epps, C.W.; Knaus, B.; Miller, M.P.; Moses, M.L.; Oyeler-McCance, S.; Robinson, W.D. & Sidlauskas B. 2011. Genetic applications in avian conservation. *Auk* 128:205-229.
- Haffer, J. 1992. On the river effect in some forest birds of southern Amazonia. *Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi* 8: 217-245.
- Harpending, H. 1994. Signature of ancient population growth in a low resolution mitochondrial mismatch distribution. *Human Biology* 66: 131–137.

- Hebert, P.D.N.; Stoeckle M.Y., Zemplak, T.S. & Francis, C.M. 2004. Identification of birds through DNA barcodes. *PLoS Biology* 2: e312.
- Helm-Bychowski, K. & Cracraft, J. 1993. Recovering phylogenetic signal from DNA sequences: Relationships within the corvine assemblage (Class Aves) as inferred from complete sequences of the mitochondrial DNA cytochrome-b gene. *Molecular Biology and Evolution* 10: 1196–1214.
- Hickerson, M.J.; Carstens, B.C.; Cavender-Bares, J.; Crandall, K.A. ; Graham, C.H.; Johnson, J.B.; Rissler, L.; Victoriano, P.F. & Yoder, A.D. 2010. Phylogeography's past, present, and future: 10 years after *Avise*, 2000. *Molecular Phylogenetic and Evolution* 54: 291–301.
- Hoorn, C.; Wesselingh, F. P.; Ter Steege, H.; Bermudez, M. A.; Mora, A.; Sevink, J.; ... & Antonelli, A. 2010. Amazonia through time: Andean uplift, climate change, landscape evolution, and biodiversity. *Science* 330: 927–931.
- Hulsenbeck, J.P. & Ronquist, F. 2001. MRBAYES: Bayesian inference of phylogeny. *Bioinformatics* 17: 754–755.
- Ivanauskas, N.M., Monteiro, R. & Rodrigues, R. R. 2008. Classificação fitogeográfica das florestas do Alto rio Xingu. *Acta Amazônica* 38: 387 - 402.
- Johns, G.C. & Avise, J.C. 1998. A comparative summary of genetic distances in the vertebrates from the mitochondrial cytochrome- *b* gene. *Molecular Biology and Evolution* 15: 1481–1490.
- Johnson, K.P. & Sorenson, M.D. 1998. Comparing molecular evolution in two mitochondrial protein coding genes (cytochrome-*b* and ND2) in the dabbling ducks (Tribe: Anatini). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 10: 82–94.
- Kimura M (1980) A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution* 16: 111–120.
- Lacher, T.E. Jr. & Alho, C.J.R. 2001. Terrestrial small mammal richness and habitat associations in Amazon Forest–Cerrado Contact Zone. *Biotropica* 33: 171-181.
- Latrubesse, E.M.; Amsler, M.L.; Morais, R.P. & Aquino, S. 2009. The geomorphologic response of a large pristine alluvial river to tremendous deforestation in the South American tropics: the case of the Araguaia River. *Geomorphology* 113: 239–252.
- Latrubesse, E. & Stevaux, J.C. 2002. Geomorphology and environmental aspects of the Araguaia fluvial basin. *Zeitschrift fur Geomorphologie* 129 109–127.

- Latrubesse, E.M. & Stevaux, J.C. 2006. Características físico-bióticas e problemas ambientais associados à planície aluvial do rio Araguaia, Brasil Central. *Revista UnG - Geociências* 1: 65-73.
- Lees, A.C. & Peres, C.A. 2009. Gap-crossing movements predict species occupancy in Amazonian forest fragments. *Oikos* 118: 280–290.
- Maldonado-Coelho, M.; Blake, J.G.; Silveira, L.S.; Batalha-filho, H. & Ricklefs, R.E. 2013. Rivers, refuges and population divergence of fire-eye antbirds (*Pyriglena*) in the Amazon Basin. *Journal of Evolutionary Biology* 26: 1090–110.
- Marimon, B.S. & Lima, E.S. 2001. Caracterização fitofisionômica e levantamento florístico preliminar do rio das Mortes - Araguaia, Cocalinho, Mato Grosso, Brasil. *Acta Botânica Brasileira* 15: 213-229.
- Marimon Jr., B.H. & Haridasan, M. 2005. Comparação da vegetação arbórea e características edáficas de um cerradão e um cerrado *sensu stricto* em áreas adjacentes sobre solo distrófico no leste de Mato Grosso, Brasil. *Acta Botanica Brasílica* 19:913-926.
- Mayr, E. 1982. Of What Use Are Subspecies? *Auk* 99: 593-595.
- Meyer C.P. & Paulay, G. 2005. DNA barcoding: Error rates based on comprehensive sampling. *PLoS Biology* 3: e422.
- Milá, B.; Wayne, R.K., Fitze P, Smith, T.B. 2009. Divergence with gene flow and fine-scale phylogeographical structure in the wedge-billed woodcreeper, *Glyphorhynchus spirurus*, a Neotropical rainforest bird. *Molecular Ecology* 18: 2979–2995.
- Moraes, B.C. de; Costa, J.M.N. da; Costa, A.L. da; Costa, M.H. 2005. Spatial and temporal variation of precipitation in the State of Pará. *Acta Amazonica* 35: 207-214.
- Moritz, C. 1994. Applications of mitochondrial DNA analysis in conservation: a critical review. *Molecular Ecology* 3: 401-411.
- Moritz, C. & Cicero, C. 2004. DNA barcoding: Promise and pitfalls. *PLoS Biology* 2: e354.
- Moritz, C.; Patton, J.L.; Schneider, C.J. & Smith, T.B. 2000. Diversification of rainforest faunas: an integrated molecular approach. *Annual Review of Ecology and Systematics* 31: 533-563.
- Naka LN; Bechtoldt C.L., Herniques, L.M.P. & Brumfield, R.T. 2012. The role of physical barriers in the location of avian suture zones in the Guiana Shield, northern Amazonia. *The American Naturalist* 179: E115–E132.
- Nimer, E. 1977. Clima. In: IBGE. *Geografia do Brasil*. Vol. 4. IBGE, Rio de Janeiro. pp. 35-57.

- Nei, M. 1987. *Molecular evolutionary genetics*. Columbia University Press, New York.
- Nosil, P. 2008. Speciation with gene flow could be common. *Molecular Ecology* 17: 2103–2106.
- Ogden, R. & Thorpe, R.S. 2002. Molecular evidence for ecological speciation in tropical habitats. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 99: 13612–13615.
- Ohlson, J.I.; Fjeldså, J. & Ericson, P.G.P. 2013. Molecular phylogeny of the manakins (Aves: Passeriformes: Pipridae), with a new classification and the description of a new genus. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 69: 796–80.
- Orr, M.R. & Smith, T.B. 1998. Ecology and speciation. *Trends in Ecology and Evolution* 13: 502–506.
- Patel, S.; Weckstein, J.D.; Patane, J.S.L.; Bates, J.M. & Aleixo, A. 2011. Temporal and spatial diversification of *Pteroglossus araçaris* (AVES: Ramphastidae) in the neotropics: constant rate of diversification does not support an increase in radiation during the Pleistocene. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 58: 105–115.
- Petren, K; Grant, P.R.; Grant, B.R. & Keller, L.F. 2005. Comparative landscape genetics and the adaptive radiation of Darwin's finches: the role of peripheral isolation. *Molecular Ecology* 14: 2943–2957.
- Polzin, T. & Daneschmand, S.V. 2003. On Steiner trees and minimum spanning trees in hypergraphs. *Operations Research Letters* 31: 12-20.
- Polzin, T. & Daneschmand, S.V. 2003. On Steiner trees and minimum spanning trees in hypergraphs. *Operations Research Letters* 31: 12-20.
- Prum, R.O. 1994. Phylogenetic analysis of the evolution of alternative social behavior in the manakins (Aves: Pipridae). *Evolution* 48: 1657–1675.
- RADAMBRASIL. 1982. Levantamento de Recursos Naturais. Folha SD 21, Cuiabá. v.26. Brasília, MME/SG.
- Ramos-Onsins, S. & Rozas, J. 2002. Statistical properties of new neutrality tests against population growth. *Molecular Biology and Evolution* 19: 2092–2100.
- Ribeiro, J.F. & Walter, B.M.T. 2008. Fitofisionomias do bioma Cerrado. In: Sano, S.M.; Almeida, S.P. & Ribeiro, J.F.(eds.). *Cerrado: ecologia e flora*. EMBRAPA-CPAC, Planaltina. pp.151-212.

- Rêgo, P.S.; Araripe, J.; Marceliano, M.L.V.; Sampaio, I. & Schneider, H. 2007. Phylogenetic analyses of the genera *Pipra*, *Lepidothrix* and *Dixiphia* (Pipridae, Passeriformes) using partial cytochrome-*b* and 16S mtDNA genes. *Zoologica Scripta* 36: 565–575.
- Rêgo, P.S.; Araripe, J.; Silva, W.A.G.; Albano, C.; Pinto, T.; Campos, A.; Vallinoto, M.; Sampaio, I. & Schneider, H. 2010. Population genetic studies of mitochondrial pseudo-control region in the endangered Araripe Manakin (*Antilophia bokermanni*). *Auk* 127: 335–342.
- Remsen Jr., J.V. 2010. Subspecies as a meaningful rank in avian classification. In: Winker, K. & Haig, S.M. (eds.). *Avian Subspecies. Ornithological Monographs* 67: 62-78.
- Rice, R.R. & Hostert, E.E. 1993. Laboratory experiments on speciation: what have we learned in 40 years? *Evolution* 47: 1637–1653.
- Ryder, O.A. 1986. Species conservation and the dilemma of the subspecies. *Trends in Ecology and Evolution* 1: 9-10.
- Rocha, R.G. 2011. *Evolutionary Diversification in Central Brazil: where the Amazonia and Cerrado meet*. Tese de Doutorado. Universidade de Aveiro, Aveiro, 163p.
- Rocha, R.G., Ferreira, E., Oliveira, B.M.A., Martins, I.C.M, Leite, Y.L.R., Costa, L.P. & Fonseca, C. 2011. Small mammals of the mid-Araguaia river in Central Brazil, with the description of a new species of climbing rat. *Zootaxa* 2789: 1–34.
- Rogers, A.R. 1995. Genetic evidence for a Pleistocene population explosion. *Evolution* 4: 608–615.
- Rozas, J.; Sánchez-Del Barrio, J.C.; Messeguer, X. & Rozas, R. 2003. DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods. *Bioinformatics* 19: 2496-2497.
- Salomão, R.P.; Vieira, I.C.G.; Suemitsu, C.; Rosa, N. A; Almeida, S.S. de; Amaral, D.D. do & Menezes, M.P.M. 2007. As florestas de Belo Monte na grande curva do rio Xingu, Amazônia Oriental. *Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi. Ciências Naturais* 2: 57–153.
- Sambrook, J; Fritschi, E.F. & Maniatis, T. 1989. *Molecular cloning: a laboratory manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.
- Santana, M.T.A.; Siqueira, H.H.; Lacerda Jr., R. & Lima, L.C.O. 2008. Caracterização físico-química e enzimática de uva “Patrícia” cultivada na região de Primavera do Leste. *Ciência e Agrotecnologia* 32: 186-190.

- Sick, H. 1967. Rios e enchentes na Amazônia como obstáculo para a avifauna. *In: Atas do simpósio sobre a biota Amazônica*, vol. 5 (Zoologia). Conselho de Pesquisas do Rio de Janeiro, pp. 495-520.
- Silva, J.S.V. & Abdon, M.M. 1998. Delimitação do Pantanal Brasileiro e suas sub-regiões. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 33: 1703-1711.
- Smith, T.B.; Schneider, C.J. & Holder, K. 2001. Refugial isolation versus ecological gradients. Testing alternative mechanisms of evolutionary divergence in four rainforest vertebrates. *Genetica* 112–113: 383–398.
- Smith, T.B., Wayne, R.K.; Girman, D.J. & Bruford, M.W. 1997. A role for ecotones in generating rainforest biodiversity. *Science* 276: 1855-1857.
- Smith, T.B., Calsbeek, R.; Wayne, R.K.; Holder, K.H.; Pires, D. & Bardeleben, C. 2005. Testing alternative mechanisms of evolutionary divergence in an African rain forest passerine bird. *Journal of Evolutionary Biology* 18: 257–268.
- Snow, D. 2004. Family Pipridae (Manakins). *In: del Hoyo, J.; Elliot, A. & Christie, D. (eds.). Handbook of Birds of the World*, vol. 9. Lynx Edicions, Barcelona. pp. 110–169.
- Soares, L.C. 1953. Limites meridionais e orientais da área de ocorrência da Floresta Amazônica em Território Brasileiro. *Revista Brasileira de Geografia* 1: 3-122.
- Stamatakis, A. 2006. RAxML-VI-HPC: maximum likelihood-based phylogenetic analyses with thousands of taxa and mixed models. *Bioinformatics* 22: 2688-2690.
- Tajima, F. 1989. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics* 123: 585-595.
- Tocantins. 2004. Avaliação Ecológica Rápida do Parque Estadual do Cantão. Secretaria do Planejamento e Meio Ambiente do Estado do Tocantins, Palmas.
- Thompson, J.D.; Higgins, D.G. & Gibson, T.J. 1994. Clustal-W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research* 22: 4673–4680.
- Webb, T. III & Bartlein, P.J. 1992. Global changes during the last 3 million years: climatic control and biotic responses. *Annual Review of Ecology and Systematics* 23: 141-173.
- Weir, J.T. & Schluter, D. 2008. Calibrating the avian molecular clock. *Molecular Ecology* 17: 2321–2328.

- Winker, K. & Haig, S.M. 2010. Avian Subspecies. *Ornithological Monographs* 67.
- Winker, K. 2010. Is it a species? *Ibis* 152: 679-682.
- Xia, X. 2013. DAMBE5: A comprehensive software package for data analysis in molecular biology and evolution. *Molecular Biology and Evolution* 30: 1720-1728.
- Yabe, R.S.; Marques, E.J. & Marini, M.Â. 2010. Movements of birds among natural vegetation patches in the Pantanal, Brazil. *Bird Conservation International* 20:400–409.
- Zink, R.M. 2004. The role of subspecies in obscuring avian biological diversity and misleading conservation policy. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 271: 561–564.
- Zink, R.M. & Blackwell-Rago, R.C. 2000. Species limits and recent population history in the curve-billed thrasher. *Condor* 102, 881–886.
- Zink, R.M. & Barrowclough, G.F. 2008. Mitochondrial DNA under siege in avian phylogeography. *Molecular Ecology* 17: 2101–2121.
- Zink, R.M., Jones, A.W.; Farquhar, C.C.; Westberg, M.C. & Gonzalez Rojas, J.I. 2010. Comparison of molecular markers in the endangered Black-capped Vireo (*Vireo atricapilla*) and their interpretation in conservation. *Auk* 127: 797-808.

APÊNDICE 1: Código de identificação e localização das amostras de *P. fasciicauda*. UFMT = coleção ornitológica da Universidade Federal de Mato Grosso; UFMG = banco de tecidos do laboratório de Malária da Universidade Federal de Minas Gerais; UFScar = Laboratório de Biodiversidade Molecular e Conservação da Universidade Federal de São Carlos (amostras coletadas no presente estudo).

n.	Código da amostra	Localização	Procedência	Coordenadas geográficas
1	JB248	Primavera do Leste	UFMT	15°14'14.31" S 53°57'14.57" W
2	JB251	Primavera do Leste	UFMT	15°14'14.31" S 53°57'14.57" W
3	JB252	Primavera do Leste	UFMT	15°14'14.31" S 53°57'14.57" W
4	JB281	Primavera do Leste	UFMT	15°14'14.31" S 53°57'14.57" W
5	JB284	Primavera do Leste	UFMT	15°14'14.31" S 53°57'14.57" W
6	JB1578	Cáceres	UFMT	16°27'59" S 58°09'09" W
7	JB1579	Cáceres	UFMT	16°27'59" S 58°09'09" W
8	AVF – 004	Jangada	UFMT	15°14'7.73"S 56°29'31.91"W
9	AVF – 005	Jangada	UFMT	15°14'7.73"S 56°29'31.91"W
10	JB721	Primavera do Leste	UFMT	15°14'14.31" S 53°57'14.57" W
11	JB725	Primavera do Leste	UFMT	15°14'14.31" S 53°57'14.57" W
12	JB727	Primavera do Leste	UFMT	15°14'14.31" S 53°57'14.57" W
13	JB724	Primavera do Leste	UFMT	15°14'14.31" S 53°57'14.57" W
14	JB3572	Chupinguaia	UFMT	12°13'7.14"S 60°42'12.63"W
15	JB3647	Comodoro	UFMT	13°48'40.67"S 59°40'41.04"W
16	JB2044	Barra do Garças	UFMT	15°52'50.88"S 52°15'52.53"W
17	JB2061	Barra do Garças	UFMT	15°52'50.88"S 52°15'52.53"W
18	BED140444	Altamira	UFMT	3°50'37.35"S 52°28'51.05"W
19	BEC74100	Altamira	UFMT	3°50'37.35"S 52°28'51.05"W
20	BEC98181	Altamira	UFMT	3°50'37.35"S 52°28'51.05"W
21	BEE131541	Altamira	UFMT	3°50'37.35"S 52°28'51.05"W
22	RP65	Pium	UFMG	9°18'31.64"S 49°57'36.36"W
23	RP216	Pium	UFMG	9°18'31.64"S 49°57'36.36"W
24	RP177	Pium	UFMG	9°18'31.64"S 49°57'36.36"W
25	RP237	Pium	UFMG	9°18'31.64"S 49°57'36.36"W
26	C3PIFAS4	Ribeirão Cascalheira	UFSCar	12°51'8.81"S 52° 5'10.37"W
27	C3PIFAS6	Ribeirão Cascalheira	UFSCar	12°51'8.81"S 52° 5'10.37"W
28	C3PIFAS7	Ribeirão Cascalheira	UFSCar	12°51'8.81"S 52° 5'10.37"W
29	C3PIFAS12	Ribeirão Cascalheira	UFSCar	12°51'8.81"S 52° 5'10.37"W
30	T3PIFAS2	Ribeirão Cascalheira	UFSCar	12°51'8.81"S 52° 5'10.37"W
31	MEA1PIFA1	Luciara	UFSCar	11°20'6.74"S 50°46'32.47"W
32	MEA1PIFA3	Luciara	UFSCar	11°20'6.74"S 50°46'32.47"W
33	MEA1PIFA6	Luciara	UFSCar	11°20'6.74"S 50°46'32.47"W
34	MEA1PIFA7	Luciara	UFSCar	11°20'6.74"S 50°46'32.47"W
35	MEA1PIFA8	Luciara	UFSCar	11°20'6.74"S 50°46'32.47"W
36	MEA2PIFA1	Novo Santo Antônio	UFSCar	12°14'46.51"S 50°55'55.72"W
37	MEA2PIFA7	Novo Santo Antônio	UFSCar	12°14'46.51"S 50°55'55.72"W
38	MEA2PIFA5	Novo Santo Antônio	UFSCar	12°14'46.51"S 50°55'55.72"W
39	MEA2PIFA4	Novo Santo Antônio	UFSCar	12°14'46.51"S 50°55'55.72"W
40	MEA2PIFA8	Novo Santo Antônio	UFSCar	12°14'46.51"S 50°55'55.72"W
41	MEA2PIFA9	Novo Santo Antônio	UFSCar	12°14'46.51"S 50°55'55.72"W

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste estudo, a estrutura populacional de quatro espécies de Pipridae na região de contato do bioma Amazônico com o bioma Cerrado, foi avaliada por meio da análise de fragmentos do gene mitocondrial ND2 (subunidade 2 da NADH desidrogenase).

As informações aqui obtidas contribuem para o conhecimento da estrutura populacional e história demográfica destas espécies de Pipridae, investigadas em uma região de grande importância para a diversidade biológica e genética deste grupo, porém fortemente ameaçada, devido principalmente ao desmatamento e degradação de seus recursos hídricos, consequências da expansão da fronteira agrícola.

M. pyrocephalus e *L. nattereri* apresentaram uma subdivisão de suas populações entre a região de transição leste (alto rio Xingu) e oeste (sub-bacia do rio Guaporé e Juruena) e exibiram uma estrutura populacional em conformidade com o modelo de metapopulações, com taxas de migração mais baixas e isolamento pela distância. Considerando que a região de ecótono Amazônia-Cerrado vem sendo cada vez mais fragmentada, é provável que estas populações se encontrem numa situação de isolamento mais acentuada. Levando em conta que as características ecológicas destas espécies associam-se a uma menor vagilidade, a distância de dispersão das mesmas pode ser reduzida e suas populações poderão se tornar mais estruturadas geneticamente. Dependendo da fragmentação do habitat, a estrutura populacional destas duas espécies poderá apresentar-se em conformidade com o modelo de populações isoladas e segundo este modelo, populações isoladas podem ser extintas, porém não mais recolonizadas.

Em *M. pyrocephalus*, foi possível verificar a contribuição das populações da região da borda sul da Amazônia para as populações de Cerrado, com relação à variabilidade genética (diversidade haplotípica). A migração da região amazônica em direção às áreas de Cerrado foi mais acentuada do que no sentido oposto. Em região de Cerrado, não foram detectados haplótipos exclusivos, somente aqueles compartilhados com as áreas de transição dos extremos leste e oeste do estado de Mato Grosso e Rondônia. Este intercâmbio gênico deve estar sendo cada vez mais prejudicado com o desmatamento e degradação das matas de galeria, consequência das atividades agrícola e pecuária (pisoteio da vegetação de sub-bosque pelo gado).

Em *C. rubrocapilla* não houve subdivisão entre as regiões de transição leste e oeste. A organização espacial desta espécie, na região de transição, apresentou-se em conformidade com o modelo de populações em manchas, com taxas mais elevadas de migração entre as subpopulações, formando um único agrupamento genético. Esta espécie apresenta maior versatilidade quanto ao uso do habitat, frequentando áreas de floresta e de vegetação secundária, além de apresentar maior massa corporal, dentre as três espécies consideradas neste estudo. Estes fatores relacionam-se à maior vagilidade e conseqüentemente, à distância de dispersão alcançada pela espécie. Considerando estes aspectos, *C. rubrocapilla* estaria menos vulnerável ao isolamento dos fragmentos florestais, que tem se tornado mais pronunciado nesta região, com as atividades antrópicas.

Em *Pipra fasciicauda*, verificou-se a existência de duas linhagens notoriamente distintas, uma encontrada na região de ecótono no oeste do estado de Mato Grosso e sudeste do estado de Rondônia, no cerrado ao sul do estado de Mato Grosso e no Pantanal, no sudoeste do estado de Mato Grosso (linhagem Sul-Oeste). A outra, detectada na região de ecótono no nordeste do estado de Mato Grosso, cerrado no noroeste do Estado de Tocantins e na região Amazônica e no estado do Pará (linhagem Norte-Leste). Estas linhagens devem corresponder às subespécies *P. f. calamae* (linhagem Sul-Oeste) e *P. f. scarlatina* (linhagem Norte-Leste) e possivelmente, se separaram durante o período do Pleistoceno. Deste modo, as linhagens (subespécies) de *P. fasciicauda* mostraram-se bem diferenciadas e capazes de recuperar a história evolutiva das populações que representam. Diante destas evidências, estas linhagens podem ser consideradas como unidades evolutivamente significantes (ESUs), isto é, populações parcialmente diferenciadas (geneticamente) que devem ser manejadas como unidades separadas.

A ausência de estruturação genética e o compartilhamento de haplótipo entre as subpopulações de *P. fasciicauda* da linhagem Norte-leste, oriundas de margens opostas do médio rio Araguaia, sugeriram um baixo potencial deste rio em promover divergência populacional desta espécie. A presença de ilhas ao longo do rio deve aumentar sua permeabilidade para os indivíduos de *P. fasciicauda*, que podem estar utilizando-as como *stepping stones* para se deslocar de uma margem a outra. A partir deste resultado, pode-se inferir que a manutenção da conectividade do

habitat, por meio de elementos que atuem como *stepping stones*, é capaz de reduzir ou mesmo impedir o isolamento das populações desta espécie.

Conforme mencionado no segundo capítulo, a região de transição Amazônia- Cerrado é altamente sensível às mudanças climáticas (Mayle *et al.* 2000). Atualmente, com as acentuadas transformações que vem ocorrendo no clima do planeta, espera-se que esta região possa sofrer fortes alterações em sua vegetação e conseqüentemente, as populações de aves e outras espécies animais também deverão ser afetadas.

As condutas relacionadas à conservação destas espécies de Pipridae, na região da borda sul da Amazônia, deverão levar em consideração o tipo de estrutura populacional que estas espécies apresentam. Estudos de genética de populações e de filogeografia (realizados com aves e outros grupos animais) deverão ser conduzidos, abrangendo mais localidades ao longo do ecótono, bem como nas áreas periféricas, tanto em ambiente de floresta Amazônica como de Cerrado. Somente com a integração de diversos estudos será possível obter melhor compreensão da importância da região do ecótono na variação genética das espécies.