



Universidade do Estado do Rio de Janeiro
Centro Biomédico
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes

Yair Guillermo Molina-Martínez

Revelando processos evolutivos do complexo *Mimus gilvus* (Vieillot, 1808) no Brasil: uma interação entre a adaptação morfológica, a diversidade genética e o canto

Rio de Janeiro

2015

Yair Guillermo Molina-Martínez

Revelando processos evolutivos do complexo *Mimus gilvus* (Vieillot, 1808) no Brasil: uma interação entre a adaptação morfológica, a diversidade genética e o canto

Tese apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Doutor, ao Programa de Pós-graduação em Ecologia e Evolução, do Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Ecologia.

Orientadora: Prof.^a Dra. Maria Alice dos Santos Alves

Rio de Janeiro

2015

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ / REDE SIRIUS / BIBLIOTECA CTC-A

M722	<p>Molina-Martínez, Yair Guillermo. Revelando processos evolutivos do complexo <i>Mimus gilvus</i> (Vieillot, 1808) no Brasil: uma interação entre a adaptação morfológica, a diversidade genética e o canto / Yair Guillermo Molina-Martínez. – 2015. 143f. : il.</p> <p>OrientadorA: Maria Alice dos Santo Alves. Coorientadora: Cristiane Yumi Miyaki Tese (Doutorado em Ecologia e Evolução) - Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Instituto de Biologia Roberto Alcantara Gomes.</p> <p>1. Ave - Brasil - Teses. 2. Ave - Distribuição geográfica - Teses. 3. Filogeografia - Teses I. Alves, Maria Alice dos Santo. II. Miyaki, Cristina Yumi. III. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Instituto de Biologia Roberto Alcantara Gomes. IV. Título.</p> <p>CDU 598.2(81)</p>
------	---

Autorizo para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta tese, desde que citada a fonte.


Assinatura

30 setembro 2016

Data

Yair Guillermo Molina-Martínez

Revelando processos evolutivos do complexo *Mimus gilvus* (Vieillot, 1808) no Brasil: uma interação entre a adaptação morfológica, a diversidade genética e o canto

Tese apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Doutor, ao Programa de Pós-graduação em Ecologia e Evolução, do Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Ecologia.

Aprovada em 30 de setembro de 2015.

Banca examinadora:

Profa. Dra. Maria Alice dos Santos Alves (Orientadora)
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes – UERJ

Profa. Dra. Gisele Lobo Hajdu
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes - UERJ

Profa. Dra. Denise Monnerat Nogueira
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

Prof. Dr. Luiz Antônio Pedreira Gonzaga
Universidade Federal do Rio de Janeiro

Rio de Janeiro
2015

DEDICATÓRIA

Aos meus filhos Nicolas e Matias. São todo o que eu tenho, minha inspiração e meu legado evolutivo.

AGRADECIMENTOS

À Profa. Dra. Maria Alice dos Santos Alves, por ter me aceitado como seu estudante de doutorado e orientar este trabalho. Por seus ensinamentos, sua gestão, confiança e compreensão em diferentes situações, também por prover o financiamento de toda a fase de campo. Igualmente agradeço à Profa. Dra. Cristina Yumi Miyaki que me aceitou em seu laboratório e supervisionou o primeiro capítulo desta tese, com sua ajuda constante para o desenvolvimento das análises genéticas, me brindando com seu conhecimento, interesse e paciência, além de facilitar acesso a todo o material e equipamento dessa parte do trabalho.

Ao programa de bolsas de estudos de Pós-graduação no Exterior no Nível de Doutorado intitulada “Francisco José de Caldas” de COLCIENCIAS – Governo da Colômbia concedida a Y.M.M.. Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Brasil (CNPq) pela bolsa de doutorado sanduiche no País.

Os trabalhos de campo foram financiados pelas bolsas de pesquisa Cientista do Nosso Estado da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do RJ (FAPERJ) (processo 308792/2009-2 e 26/102.837/2012 respectivamente) e de Produtividade em Pesquisa do CNPq (processo 308792/2009-2), concedidas à Profa. Maria Alice dos Santos Alves.

Aos colegas Flávia Guimarães Chaves, Fábio Patiu, Caio Missagia, Christiano da Silva, Gabriel Santos, Luiz Araújo, Heideger do Nascimento, Amanda Oliveira, Joana Gama, Ana Maciel, Ramiro e Edicarlos Silva, agradeço pela ajuda nos trabalhos de campo. Agradeço também pelo apoio dos Professores Caio Graco, Charles Duca, Denise Nogueira, Mauricio Vecchi. Russell A Charif (Cornell Lab of Ornithology) ajudou com o direcionamento das análises acústicas. A Aquasis e o NUPEM proveram alojamento no campo de Ceara e Macaé, respetivamente.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Evolução e seus funcionários Henrique Garcia, Sonia Pereira e Verusca Machado, sempre atenciosos e eficientes na hora de explicar e/ou resolver todos os procedimentos e questões administrativos da Pós-Graduação.

Aos membros da banca examinadora do exame de Qualificação: Gisele Lôbo Hadju e Rosana Mazzoni pelas sugestões no inicio deste trabalho. À pré-banca Vanderlaine Menezes, por aceitar amavelmente revisar a tese e as suas valiosas

sugestões para dar maior qualidade ao trabalho. Aos membros da banca examinadora Dra. Gisele Lobo Hajdu, Dra. Denise Monnerat Nogueira, Dr. Luiz Antônio Pedreira Gonzaga, Dra. Vanderlaine Amaral de Menezes e o Dr. Augusto João Piratelli pelas contribuições.

Agradeço a todos os professores da Pós por seu apoio e compreensão, pelos ensinamentos, compartilhar suas experiências investigativas e promover o pensamento crítico, fomentar as ideias evolutivas na minha cabeça. Muito obrigado Maria Alice dos Santos Alves, Gisele Lôbo Hadju, Vanderlaine Menezes, Bruno Rosado, Gisele Winck, Carlos Frederico Duarte da Rocha, Tim Moulton, Maja Kajin, Helena de Godoy Bergallo, Lena Geise, Valeria Gallo da Silva, Eugenia Zandonà, Elizeu Fagundes de Carvalho e Dayse A Silva.

Agradeço a todos os colegas de laboratório de Ecologia de Aves da UERJ, em especial a Flávia Guimarães Chaves, Christiano Pinheiro da Silva, Luciana Barçante Ferreira, Caio César Corrêa Missagia, Liliane de Souza Seixas, Rodrigo Hipólito Tardin Oliveira, Heideger Lima do Nascimento, Livia Dias Cavalcante de Souza, Tatiana Colombo Rubio, Cristiane Medeiros e Medeiros, Ana Olívia de Almeida Reis e Luciene Saar Gallindo pela convivência e amizade, assim outros que eventualmente possam ter colaborado e que tenham sido aqui omitidos. Igualmente a todos os colegas do PPGEE.

Tenho que agradecer especialmente aos colegas do laboratório de genética e evolução molecular LGEMA (USP) pela ajuda constante na resolução de todas minhas dúvidas nos procedimentos e análises genéticas: Ana Cristina Fazza, Denise M. Martins, Gregory Thom, Ana Beatriz Bueno, Rafaella Monteiro e Fernanda Midori Sato, especialmente à Denise e Gregory por me dar alojamento na sua casa.

À Flavinha e ao Thiago Laurindo por sua amizade ajuda em tudo, inclusive por me receberem quando cheguei pela primeira vez ao Rio até quando por ocasião da presente tese.

Finalmente sempre à minha mãe Ana Felisa Martínez por seu apoio incondicional, ao meu pai Guillermo Molina e à minha esposa Jenny por sua espera, amor, companhia, apoio e compreensão e a meus filhos Nicolas e Liam Matias por serem minha maior motivação nesta vida.

RESUMO

MOLINA-MARTÍNEZ, Yair Guillermo. Revelando processos evolutivos do complexo *Mimus gilvus* (Vieillot, 1808) no Brasil: uma interação entre a adaptação morfológica, a diversidade genética e o canto. 2015. 143f. : il. Tese (Doutorado em Ecologia e Evolução) – Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2015.

A variação de uma espécie por meio de um gradiente geográfico tem sido um dos enfoques de estudo dos biólogos evolutivos, interessados em revelar as causas desta variação. Diferentes processos como a deriva, o fluxo gênico, a seleção natural e sua interação com o ambiente podem influenciar a maneira com que uma espécie varia e se estrutura no espaço. *Mimus gilvus* apresenta uma ampla distribuição no Brasil, estendendo-se desde as latitudes 2° norte até os 23° sul, ocupando diferentes tipos de habitats com duas subespécies reconhecidas para o país (Cody 2005). No norte, em Roraima, o táxon *M. g. melanopterus* (Lawrence 1849) habita áreas abertas antropogênicas e a savana Amazônica, enquanto *M. g. antelius* (Oberholser 1919) é restrita ao litoral, desde o Pará até o Rio de Janeiro, ocupando áreas de vegetação natural aberta, particularmente de restinga (ecossistema associado à Mata Atlântica). Devido a estas condições, *Mimus gilvus* é um modelo interessante para revelar processos ecológicos e evolutivos, incluindo estudos de variação genética, morfológica e do canto num gradiente ambiental. A presente tese foi dividida em três capítulos com o objetivo de contribuir ao entendimento dos processos de divergência de *M. gilvus* no Brasil, a partir do estudo filogeográfico das populações de *Mimus gilvus antelius*, e a relação entre a divergência genética com a variação morfológica e geográfica do canto. No primeiro capítulo foi realizada uma análise filogeográfica e uma avaliação da diversidade genética do táxon *M. g. antelius* empregando cinco marcadores moleculares (ND2, COI, TGF, GAPDH e Fib-7). Os resultados indicaram que a subespécie apresentou baixa diversidade genética e uma moderada estruturação populacional. Os genes mitocondriais mostraram diferenciação dos indivíduos nas localidades do extremo norte (Salinas-PA e Icapuí-CE) em relação às demais, estabelecendo-se duas linhagens genéticas, provavelmente resultado dos ciclos glaciais. Uma análise bayesiana feita empregando como grupo externo o *M. g. melanopterus* de Roraima, mostrou três linhagens monofiléticas, uma população Norte e outra Sul do táxon *M. g. antelius* e um agrupamento de *M. g. melanopterus*. No segundo capítulo foram utilizados os resultados do capítulo 1, para comparar se variação morfológica foi consistente com a filogenética. Para isto foram obtidas medidas morfométricas de 114 indivíduos adultos em nove localidades, incluindo indivíduos dos dois táxons de *M. gilvus* distribuídos no Brasil. Os resultados mostraram uma forte concordância entre os dados morfométricos e genéticos, havendo separação em três linhagens. A interação entre a distância geográfica e o comportamento de sedentarismo podem ter gerado uma redução no fluxo gênico nas populações de *M. gilvus* no Brasil, direcionando os processos de divergência genética e fenotípica num padrão de isolamento por distância e não por adaptação. No terceiro capítulo foram obtidas medidas de características acústicas dos cantos de 81 machos das mesmas nove localidades. Os resultados destas medidas foram comparados entre localidades e entre linhagens encontrando uma concordância entre os dados

genéticos e acústicos, com um mesmo padrão de divergência de isolamento por distância. Foi encontrada uma marcada diferença nos cantos entre subespécies, sobretudo em caracteres altamente associados a processos adaptativos como a frequência, sugerindo possíveis diferenças no nível de espécie que precisam ser confirmadas por estudos futuros.

Palavras-chave: Oscine. Divergência genética. Variação geográfica. Subespécies. Estudo filogeográfico. Regra de Bergmann.

ABSTRACT

MOLINA-MARTÍNEZ, Yair Guillermo. *Revealing evolutionary process in tropical mockingbird complex (Vieillot, 1808) from Brazil: an interaction between morphological adaptation, genetic diversity and geographic song variation*. 2015. 143f. : il. Tese (Doutorado em Ecologia e Evolução) – Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2015.

The variation of a species through a geographic gradient has been a study of evolutionary biologists approaches interested in revealing the causes of this variation. Different processes such as drift, gene flow, natural selection and its interaction with the environment can influence the way in which a species varies and is structured in geographic space. The tropical mockingbird (*Mimus gilvus*) have a wide distribution in Brazil, extending from the 2 ° north latitude to 23 ° south, taking different kinds of habitats in two recognized subspecies (Cody 2005). To the north, in Roraima, the taxon *M. g. melanopterus* (Lawrence 1849) inhabits anthropogenic areas and the Amazon savannah, however this is apparently isolated by the Amazon River of *M. g. antelius* (Oberholser 1919) restricted to the coast from Pará to the Rio de Janeiro, occupying areas of natural open vegetation of Caatinga and Atlantic Forest. Because of these conditions, the tropical mockingbird is an ecological and evolutionary interesting model for the study of genetic variation, morphological and song in an environmental gradient. This thesis was developed in three chapters with the aim of contributing to the understanding of divergent processes in *M. gilvus* in Brazil, from phylogeographic study of populations of *M. g. antelius*, and the relationship between genetic divergence with the morphological and geographical variation. In the first chapter, I was made a phylogeographic analysis and an evaluation of the genetic diversity of the taxon *M. g. antelius* employing five molecular markers (ND2, CO1, TGF, GAPDH and Fib-7). The results indicated this subspecies had low genetic diversity and a moderate population structure. Mitochondrial genes showed differentiation between individuals from North (Salinas e Icapuí) and Sul (Praia do Forte ate Ilha Marambaia), establishing two genetic lineages probably result of glacial cycles. A Bayesian analysis done using as outgroup *M. g. melanopterus* from Roraima, showed three monophyletic lineages, one North and one South population from the taxon *M. g. Antelius* and a grouping from *M. g. melanopterus*. These results are used in the second chapter to compare the morphologic change was consistent with this phylogenetic. To this were measured 114 adult subjects in nine locations including individuals of both taxa *M. gilvus* distributed in Brazil. The results showed a strong correlation between morphometric and genetic data, having split into three lineages. It was established that the interaction between the geographical distance and sedentary behavior, may have led to a reduction in gene flow among populations of *M. gilvus* in Brazil, directed the genetic and phenotypic divergence processes in a pattern of isolation by distance, not by adaptation. In the third chapter were made measurements of acoustic characteristics of the songs from 81 males of the same nine locations. The results of these measurements were compared between sites and among lineages found a concordance between genetic and acoustic data in the same pattern of isolation by distance. A marked difference was found between subspecies in the songs, especially in highly associated character adaptive processes such as

frequency, suggesting possible differences in species level that need to be confirmed by future studies.

Keywords: Oscine. Genetic divergence. Geographical variation. Subspecies. Phylogeographic study. Bergmann's rule.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Localização de cada localidade onde foi maostrada <i>Mimus gilvus</i> no Brasil. Os quadros são fotografia de satélites obtidas da base de dados do Google Earth, as quais mostram a paisagem representativa em cada localidade.....	23
Figura 2 – Localização dos pontos de amostragem de <i>Mimus gilvus antelius</i> e sua distribuição no Brasil.....	32
Figura 3 – Gráficos de correlação entre latitude das localidades amostradas para <i>Mimus gilvus</i> e seus valores de diversidades nucleotídica Π (π) e de haplótipos (Hd) dos marcadores ND2+COI, ND2+COI com <i>gap</i> , TGF, GAPHD e Fib-7.....	41
Figura 4 – Redes de haplótipos por “ <i>median joining</i> ” baseadas em 1777 (sem <i>gap</i> , 73 indivíduos) e 1977 (com <i>gaps</i> , 93 indivíduos) caracteres mitocondriais.....	43
Figura 5 – Redes de haplótipos por “ <i>median joining</i> ” baseadas em 521(TGF), 285 (GAPHD) e 701 (FIB-7) caracteres nucleares.....	44
Figura 6 – Resultados do melhor K obtido para cada análise no STRUCTURE baseado em 521 (TGF), 359 (GAPHD) e 814 (FIB-7) caracteres de <i>Mimus gilvus antelius</i>	45
Figura 7 – Localização dos pontos de amostragem de <i>Mimus gilvus</i> no Brasil.....	67
Figura 8 – Algumas medições morfométricas medidas sobre o <i>Mimus gilvus</i> no Brasil.	68
Figura 9 – Fotografias de um filhote (abaixo) e um jovem (acima) de <i>Mimus gilvus</i> em Porto Seguro e Boa Vista, respectivamente, no Brasil.	70
Figura 10 – Escores dos dois primeiros eixos canônicos da análise discriminante canônica de <i>Mimus gilvus</i> utilizando todos os dados morfométricos e como variável de agrupamento as localidades.....	75
Figura 11 – Escores dos dois primeiros eixos canônicos da análise discriminante canônica de <i>Mimus gilvus</i> utilizando todos os dados morfométricos e como variável de agrupamento as linhagens genéticas.....	75
Figura 12 – Gráficos de correlação entre as variáveis morfométricas de <i>Mimus gilvus</i> e a latitude.....	77
Figura 13 – Gráfico resultante da análise de correspondência das variáveis climáticas de cada localidade obtida na base de dados do WorldClim	

(Hijmans et al., 2005).....	79
Figura 14 - Localização dos pontos de amostragem de <i>Mimus gilvus</i> no Brasil.....	109
Figura 15 - Sonograma representativo mostrando a nomenclatura e as medições do canto de <i>Mimus gilvus</i> , localidade de Jurubatiba, RJ.....	111
Figura 16 - Diagrama de caixa com a estimativa de fio de bigode para cada uma das medições dos cantos de <i>Mimus gilvus</i> em nove localidades do Brasil.....	115
Figura 17 - Diagrama de caixa com a estimativa de fio de bigode para cada uma das medições das notas dos cantos de <i>Mimus gilvus</i> em nove localidades do Brasil.....	118
Figura 18 - Escores dos dois primeiros eixos canônicos da análise discriminante canônica de todas as medições dos cantos de <i>Mimus gilvus</i> utilizando como variável de agrupamento as localidades.....	121
Figura 19 - Escores dos dois primeiros eixos canônicos da análise discriminante canônica de todas as medições dos cantos de <i>Mimus gilvus</i> utilizando como variável de agrupamento as linhagens genéticas.....	122
Figura 20 - Escores dos dois primeiros eixos canônicos da análise discriminante canônica de todas as medições das notas de <i>Mimus gilvus</i> , utilizando como variável de agrupamento as localidades.....	123
Figura 21 - Escores dos dois primeiros eixos canônicos da análise discriminante canônica de todas as medições das notas de <i>Mimus gilvus</i> , utilizando como variável de agrupamento linhagens genéticas.....	123
Figura 22 - Gráficos de regressões lineares com valores de correlação altos entre algumas medidas de canto e variáveis morfológicas e climáticas de <i>Mimus gilvus</i>	125

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Localidades amostradas de <i>Mimus gilvus antelius</i> no Brasil, incluindo coordenadas geográficas, estado, município, bioma e número de indivíduos amostrados.....	33
Tabela 2 –	<i>Primers</i> utilizados, suas referências bibliográficas, temperatura de hibridação em °C (T_A) e número de caracteres nas matrizes de sequências alinhadas (Tamanho).....	35
Tabela 3 –	Estatísticas descritivas e testes de neutralidade para cada marcador por localidade de amostragem de <i>Mimus gilvus</i>	39
Tabela 4 –	Localidades amostradas de <i>Mimus gilvus</i> no Brasil.....	69
Tabela 5 –	Médias das medidas morfométricas (mm) e peso (g) de indivíduos de sabiá-da-praia em diferentes localidades amostradas no Brasil.....	73
Tabela 6 –	Localidades amostradas de <i>Mimus gilvus</i> no Brasil	109
Tabela 7 –	Médias das medidas dos cantos (acima) e das notas (abaixo) de indivíduos de <i>Mimus gilvus</i> em diferentes localidades amostradas no Brasil.....	114

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO GERAL	17
1	ESTUDO FILOGEOGRÁFICO E AVALIAÇÃO DA DIVERSIDADE GENÉTICA DO SABIÁ-DA-PRAIA <i>Mimus gilvus antelius</i> (OBERHOLSER 1919) NO BRASIL	27
1.1	Introdução	28
1.2	Material e Métodos	31
1.3	Resultados	38
1.3.1	<u>Diversidade genética</u>	38
1.3.2	<u>Estrutura populacional</u>	43
1.4	Discussão	46
1.5	Considerações finais	51
1.6	REFERÊNCIAS	52
2	VARIAÇÃO MORFOLÓGICA DE <i>Mimus gilvus</i> NO BRASIL: CONCORDÂNCIA COM A VARIAÇÃO GENÉTICA E A REGRA DE BERGMANN	62
2.1	Introdução	63
2.2	Métodos	66
2.2.1	<u>Localidades de estudo</u>	66
2.2.2	<u>Métodos de campo e medições morfológicas</u>	66
2.2.3	<u>Dados genéticos</u>	70
2.2.4	<u>Análises estatísticas</u>	70
2.3	Resultados	72
2.4	Discussão	80
2.4.1	<u>Diferenças entre os táxons <i>Mimus gilvus melanopterus</i> e <i>Mimus gilvus antelius</i></u>	80
2.4.2	<u>Concordância entre a variação morfológica e genética</u>	82
2.4.3	<u>Padrão de isolamento por distância ou por adaptação?</u>	83
2.4.4	<u>Relação do tamanho corpóreo com a latitude e a temperatura</u>	85
2.5	Considerações finais	87
2.6	REFERÊNCIAS	89

3	VARIAÇÃO GEOGRÁFICA DO CANTO EM <i>Mimus gilvus</i> (SABIÁ-DA-PRAIA) NO BRASIL: RELAÇÃO ENTRE O ISOLAMENTO POR DISTÂNCIA, A DIVERGÊNCIA GENÉTICA E A ADAPTAÇÃO.....	105
3.1	Introdução.....	106
3.2	Área de Estudo e Métodos.....	108
3.2.1	<u>Localidades amostradas.....</u>	108
3.2.2	<u>Amostragem e análise bioacústica.....</u>	110
3.2.3	<u>Análises estatísticas.....</u>	112
3.3	Resultados.....	113
3.4	Discussão.....	127
3.4.1	<u>Varição geográfica do canto.....</u>	127
3.4.2	<u>Concordância entre a variação geográfica do canto com a variação morfológica e genética.....</u>	129
3.4.3	<u>Padrão de isolamento na variação geográfica do canto.....</u>	130
3.5	Considerações finais.....	128
	REFERÊNCIAS.....	129
	CONSIDERAÇÕES FINAIS GERAIS.....	134

INTRODUÇÃO GERAL

Charles Darwin foi o primeiro a notar variações morfológicas e de hábitat entre as espécies de aves da família Mimidae presentes nas ilhas Galápagos e no continente, observações que auxiliariam mais adiante a formular a teoria da seleção natural (Gould 1838, Darwin 1859). Desde então a família Mimidae tem sido apreciada como um modelo para o estudo dos processos de especiação (Arbogast et al. 2006, Parent et al. 2008). Adicionalmente, algumas particularidades deste grupo, tais como a capacidade de imitação, a diversidade vocal e a estrutura social, tem chamado a atenção para o desenvolvimento de estudos sobre os mecanismos da aprendizagem e da função do canto no contexto social (e.g. Curry 1988, 1989, Kroodsma et al. 1997, Botero et al. 2009).

Em geral, a filogenia desta família tem sido bem estudada e resolvida, a qual mostra dois clados geográficos: o primeiro, que inclui os táxons de Norte e América Central (gêneros: *Melanotis*, *Melanoptila*, *Dumetella*) e Antilhas (gêneros: *Ramphocinclus*, *Allenia*, *Margarops*, *Cinclocerthia*) e o segundo, que aglomera uma grande radiação que inclui o clado do gênero *Toxostoma*, junto com o monotípico *Oreoscoptes* e o fenotipicamente diverso e de ampla distribuição *Mimus*. Este último grupo, é biogeograficamente notável por incluir várias linhagens que têm colonizado e divergido em ilhas como o “*Socorro Mockingbird*” e os “*Galápagos Mockingbird*” (Lovette et al. 2012).

Estudos filogenéticos têm confirmado que o grupo das espécies do gênero *Mimus*, popularmente conhecidos como sabiás, teve uma relativa recente divergência que inclui um clado que reúne cerca de quinze espécies (Lovette et al. 2012), das quais onze são reconhecidas para a América do Sul e quatro para a América do Norte e Central (Clements et al. 2015). *Mimus gilvus*, espécie que apresenta a maior distribuição geográfica do gênero *Mimus* e, objeto de estudo da presente tese, encontra-se neste recente clado.

Mimus gilvus reúne dez subespécies reconhecidas (Hellmayr 1934, Cody 2005, Clements et al. 2012), distribuídas geograficamente desde Veracruz e Oxaca no México

até o Panamá, do norte e centro da Colômbia, atravessando a cordilheira central até o norte do Equador, país limite de sua distribuição sul oeste. No sentido leste, sua distribuição geográfica inicia-se nas Antilhas, atravessa a Venezuela até o norte do Brasil (Roraima), atravessa também os países do Suriname e Guiana Francesa. Da Guiana Francesa até o estado do Pará no Brasil, há uma lacuna na distribuição. A partir do Pará, se distribui por todo o litoral até o estado do Rio Janeiro, considerado o limite de sua distribuição sul leste (Cody 2005, Clements et al. 2015).

As relações filogenéticas e o *status* taxonômico de algumas subespécies ainda são incertos. Recentes estudos mostraram uma parafilia deste grupo com a espécie *Mimus polyglottos*, devido a uma hibridação destas espécies em Yucatan (México) (Lovette et al. 2012). Por outro lado, subespécies como *M. g. magnirostris* e *M. g. antelius*, têm sido consideradas no nível de espécie por vários autores (Hellmayr 1934, Meyer de Schauensee 1966, Salaman et al. 2009), sem haver até o momento um estudo específico validando essa informação. Estes problemas e a carência de informação em diferentes aspectos da biologia têm chamado atenção sobre a necessidade de novos estudos sobre esta espécie politípica (Lovette et al. 2012).

Mimus g. antelius, foi originalmente coletado no estado da Bahia e catalogado como *Turdus lividus* por Lichtenstein em 1823. Posteriormente, uma nova coleta ocorreu próximo ao Rio Joazeiro, Rio de Janeiro com o espécime sendo descrito como *Turdus orpheus* por Spix (1838). Oberholser (1919) propõe o nome de *Mimus antelius* invalidando *T. lividus*, nome usado previamente para outra espécie. O mesmo autor também invalida *T. orpheus* nome que previamente foi usado por Linnaeus em 1758 e que hoje é conhecido como *Mimus polyglottos orpheus* (Oberholser 1919). Finalmente, Hellmayr (1934) inclui *antelius* dentro do grupo *M. gilvus*. Desde Hellmayr ninguém tem avaliado realmente o *status* desta subespécie. Meyer de Schauensee (1966) simplesmente menciona que esta poderia ser catalogada no nível de espécie, mas não detalha nenhuma informação. A distribuição histórica descrita por Hellmayr (1934) engloba de Cajútuba (Pará) até Lagoa Feia e ilha de Marambaia, ambas no estado do Rio de Janeiro. Não obstante, na atualidade, existem muitas lacunas em sua distribuição, principalmente no estado de Rio de Janeiro onde se tem confirmado um decréscimo populacional com possíveis extinções locais (Zanon et al. 2015). Este fato fez com que a espécie conste como “Em Perigo” de extinção (Alves et al. 2000, Gonzaga et al. 2000,

Zanon 2015). No estado do Rio de Janeiro, a espécie particularmente se restringe ao hábitat de restinga (Zanon et al. 2015) especialmente aqueles presentes em grandes áreas protegidas (Alves et al. 2000, Gonzaga et al. 2000, Alves et al. 2004). As principais causas de ameaça à espécie são a perda do hábitat (em decorrência da especulação imobiliária) e a captura para comércio ilegal (Alves et al. 2009). Estudos de longa duração por mais de 10 anos na restinga de Jurubatiba (RJ) têm mostrado uma redução tanto populacional quanto na probabilidade da sobrevivência nos últimos anos (Alves & Molina-Martínez *in prep.*). Além disso, Zanon et al. (2015) encontrou uma distribuição descontínua e restrita a apenas quatro das 21 áreas de restinga amostradas no litoral do estado do Rio de Janeiro.

A ampla distribuição de *M. gilvus* e seus múltiplos variantes morfológicos fazem com que esta espécie politípica seja um modelo interessante para o estudo da evolução dos processos de divergência genética, morfológica e do canto aprendido. Na atualidade o uso de diferentes ferramentas e caracteres (moleculares, morfológicos e acústicos) permite o desenvolvimento de hipóteses que permitam o entendimento dos processos de divergência (Smith et al. 2005, Orsini et al. 2013, Bolus 2014, Spurgin et al. 2014), que no caso das aves com canto aprendido é complexo. Isso se deve à interação entre os processos adaptativos herdados geneticamente e aqueles herdados culturalmente por meio da aprendizagem do canto (Grant e Grant 1997, Podos e warren 2007, Price 2008). Portanto, o objetivo da presente tese é estabelecer uma filogeografia das populações de *Mimus gilvus antelius* no Brasil, relacionando a divergência genética com a variação morfológica e o canto. Esta tese foi desenvolvida em três capítulos com hipóteses e objetivos específicos.

Objetivos dos capítulos

Capítulo 1 - O táxon *M. g. antelius* no Rio de Janeiro e no Espírito Santo tem sido considerado como ameaçado de extinção e restrito ao ambiente de restinga. Em outros estados esse táxon aproveita outros tipos de hábitat, incluindo antrópicos. É importante investigar a estrutura e a diversidade genética de *M. g. antelius* em sua área de distribuição no Brasil, porque permitiria diagnosticar localidades com baixa diversidade genética, fornecendo diretrizes para planos de conservação futuros. Por outro lado,

analisar sua filogeografia permitiria revelar possíveis descontinuidades de distribuição de linhagens genéticas e as possíveis causas históricas que determinam sua distribuição geográfica em uma espécie não florestal. Portanto, o objetivo deste capítulo, intitulado “Estudo filogeográfico e avaliação da diversidade genética do sabiá-da-praia *Mimus gilvus antelius* (Oberholser 1919) no Brasil”, foi avaliar a diversidade genética e descrever a estrutura filogeográfica de *M. g. antelius* em algumas localidades da costa do Brasil. Em especial busca-se avaliar se as aves restritas à restinga apresentam alguma diferenciação genética em relação às que não são restritas a esse ambiente.

Capítulo 2 - Tradicionalmente os estudos de comparação morfológica entre diferentes populações de uma mesma espécie são utilizados para avaliar os processos de divergência fenotípica e adaptativa. Comparar seus resultados com análises de divergência genética se converte numa ferramenta interessante para revelar as interações entre os processos evolutivos adaptativos e não adaptativos. Portanto, o objetivo deste capítulo, intitulado “Variação morfológica de *Mimus gilvus* no Brasil: concordância com a variação genética e a regra de Bergmann”, é avaliar a variação morfométrica de *M. gilvus* no Brasil abordando as possíveis causas desta variação. Para este capítulo foram levantadas as seguintes perguntas: i) a variação morfométrica dos indivíduos de *M. gilvus* são concordantes com as linhagens encontradas nos estudos de filogeografia (capítulo 1)?; ii) a variação morfométrica é coincidente com um padrão de isolamento por distância ou por adaptação? e iii) a variação nas medidas do tamanho corpóreo (peso e comprimento total) estão relacionadas positivamente com o incremento na latitude e a temperatura média anual?

Capítulo 3 – Em aves vários estudos têm sugerido que o canto é um comportamento que pode influenciar ou direcionar os processos de divergência evolutiva entre diferentes populações. No presente capítulo, intitulado “Variação geográfica do canto de *M. gilvus* no Brasil: relação entre o isolamento por distância, a divergência genética e a adaptação”, o objetivo foi fazer uma comparação dos cantos de *M. gilvus* de diversas localidades do Brasil, para responder às seguintes perguntas: i) existe uma variação geográfica do canto?; ii) A variação geográfica do canto é concordante com a variação genética e morfológica? e,iii) A variação geográfica do canto é coincidente com um padrão de isolamento por distância, com isolamento por adaptação ou pelos dois?

Área de Estudo

Esta tese teve como modelo de estudo *Mimus gilvus*, de ampla distribuição no Brasil. Foram escolhidas nove diferentes localidades em seis estados, desde Boa Vista na região norte até Rio de Janeiro na região sudeste. Na Figura 1 se mostra a localização geográfica de cada localidade desde Boa Vista (Roraima) até Ilha de Marambaia (Rio de Janeiro) e a paisagem em cada caso.

Segue abaixo uma breve descrição de cada uma das localidades mostradas no presente estudo:

1 - Boa Vista (Roraima): nesta área o estudo foi desenvolvido especificamente na cidade de Boa Vista no bairro de Aparecida no quintal de Masayoshi Eda, o qual apresentava uma área aberta com pastagem, solo exposto, casas, e algumas árvores frutífera (mangueiras dispersas). As gravações dos cantos foram feitas nesta área e em na rua em bairros circundantes. Em geral, a cidade apresenta clima tropical chuvoso caracterizado por vegetação de savana, incluída dentro do bioma Amazônia (Barbosa 1997).

2 - Salinas (Pará): Esta localidade se encontra especificamente localizada na Praia Maçarico no município de Salinas, distante cerca de 220 km da capital do estado, Belém do Pará. Entre a vegetação de manguezal perto da borda da praia e a área residencial e hoteleira se localiza uma franja de restinga de cerca de três quilômetros de comprimento, onde foram conduzidas as capturas de indivíduos e gravações dos cantos. A área se encontra dentro do bioma Amazônia.

3 - Icapuí (Ceará): O estudo se localizou em uma área bastante degradada entre o trecho da planície costeira e as comunidades de Peroba e Picos, encontrando matas de Tabuleiro, vegetação pioneira psamófila e a vegetação herbácea-arbustiva típica das restingas, com coqueiral existente sobre os terraços. Os indivíduos foram encontrados em diversos habitats abertos, incluindo jardins de casas, quintais e árvores nas ruas. A área está inserida no bioma Caatinga.

4 - Praia do Forte (Bahia): O estudo foi feito especificamente numa área de mata de restinga com abundantes coqueiros para a praia. Alguns indivíduos foram capturados e gravados perto da zona hoteleira circundante, mas em geral foram pegos na área natural. A área pertence ao bioma de Mata Atlântica.

5 - Porto Seguro (Bahia): Especificamente o estudo foi feito na cidade de Porto Seguro, bordeando a praia seguindo a Avenida do Descobrimento, em áreas de vegetação halófila-psamófila, em pequenas manchas de uma vegetação arbustivo-arbórea, praças, em manchas de coqueiros ate nas ruas e prédios hoteleiros. A área pertence ao bioma de Mata Atlântica.

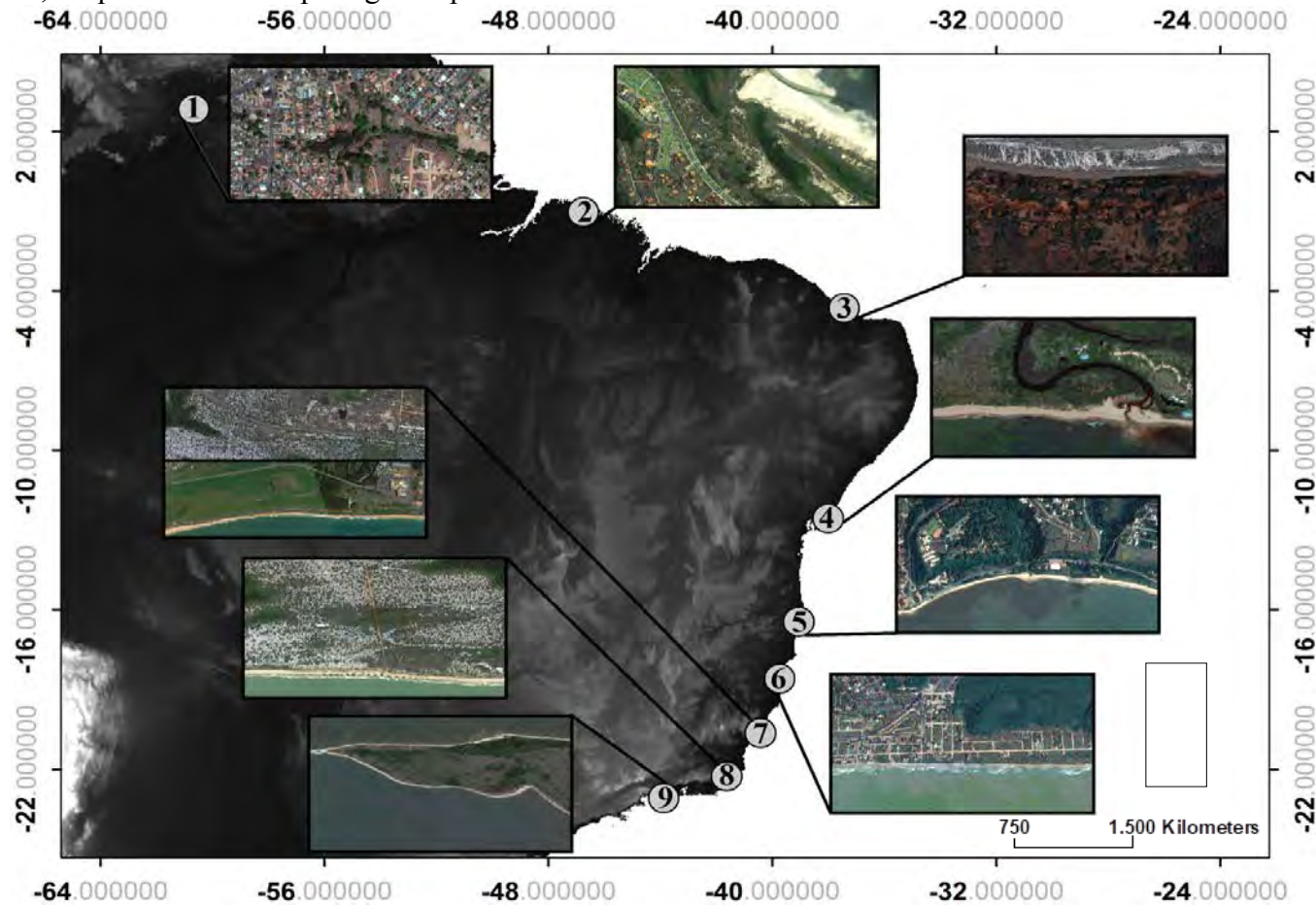
6 - Conceição da Barra (Espírito Santo): O local de estudo foi especificamente a cidade de Conceição da Barra, na praia de Guaxindiba. Localizado numa zona de casas hoteleiras com vários terrenos baldios com pastagem, arbustos e árvores dispersas. A espécie foi observada posada em fios e postes de eletricidade, nos telhados das casas, em arbustos e árvores. A área pertence ao bioma de Mata Atlântica.

7 - Setiba (Espírito Santo): A zona de amostragem principal se localizou próximo à praia, perto do morro da concha. Nesta área há um cordão de restinga degradado. Adicionalmente foram também amostrados vários indivíduos no Parque Estadual Paulo César Vinha, que apresenta áreas fragmentadas de restinga em boas condições. A área de estudo está inserida no bioma de Mata Atlântica.

8 - Restinga de Jurubatiba (Rio de Janeiro): A localidade se localiza especificamente no Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba, no município de Carapebus, conserva aproximadamente 25141 ha de remanescente de restinga, o maior do estado do Rio de Janeiro (Rocha et al. 2007). A área pertence ao bioma de Mata Atlântica.

9 – Ilha de Marambaia (Rio de Janeiro): Esta localidade se encontra especificamente na Restinga de Marambaia, que faz parte da APA de Mangaratiba. A transecção foi feita no local conhecido como Ponta da Pombeba, um esporão arenoso com um remanescente de restinga (Zanon 2010).

Figura 1 – Localização de cada localidade onde foi mostrada *Mimus gilvus* no Brasil. Os quadros são imagens de satélites obtidas da base de dados do Google Earth, as quais mostram a paisagem representativa em cada localidade.



Legenda: Localidades: 1 = Boa Vista (RO); 2 = Salinas (PA); 3 = Icapuí (CE); 4 = Porto Seguro (BA); 5 = Praia do Forte (BA); 6 = Conceição da Barra (ES); 7 = Setiba (ES); 8 = Jurubatiba (RJ); 9 = Marambaia (RJ).

REFERÊNCIAS

- Alves MAS, Pacheco JF, Gonzaga LAP, Cavalcanti RB, Raposo MA, Yamashita C, Maciel NC, Castanheira M. 2000. Aves. Em: Bergallo H., Rocha CFD, Alves MAS, Sluys MV, editores. A fauna ameaçada de extinção do estado do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, Brasil: Editora da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. p. 113-124.
- Alves MAS, Storni A, Almeida EM, Gomes VSM, Oliveira CHP, Marques RV, Vecchi MB. 2004. A comunidade de aves na restinga de Jurubatiba. Em: Rocha CFD, Esteves FA, Scarano FR, editores. Pesquisa de longa duração na restinga de Jurubatiba: Ecologia, história natural e conservação. São Carlos, Brasil: RiMa. p.199-207.
- Alves MAS, Vecchi MB, Cordeiro P, Jenkins CN, Raposo MA, Chaves FG, Almeida-Santos P. 2009. Aves nos remanescentes florestais de Mata Atlântica e ecossistemas associados no Estado do Rio de Janeiro. Em: Bergallo HG, Fidalgo ECC, Rocha CFD, Uzêda MC, Costa MB, Alves MAS, Sluys MV, Santos MA, Costa TCC, Cozzolino ACR, editores. Estratégias e Ações para a Conservação da biodiversidade da Mata Atlântica no estado do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro: Brasil: Instituto Biomas. p. 193-208.
- Arbogast BS, Drovetski SV, Curry RL, Boag PT, Seutin G, Grant PR., Grant BR., Anderson DJ. 2006. The origin and diversification of Galapagos mockingbirds. *Evolution*, 60: 370–382.
- Barbosa RI. 1997. Distribuição das chuvas em Roraima. Em: Barbosa RI, Ferreira EJJ, Castellón EG, editores. Homem, ambiente e ecologia no estado de Roraima. Manaus, Brasil: Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia. p. 325-335.
- Bolus RT. 2014. Geographic variation in songs of the Common Yellowthroat. *The Auk*, 131:175-185.
- Botero CA, Rossman RJ, Caro, LM Stenzler, LM., Lovette IJ., de Kort S.R., Vehrencamp, SL. 2009. Syllable type consistency is related to age, social status and reproductive success in the tropical mockingbird. *Animal Behaviour*, 77: 701– 594.
- Clements JF, Schulenberg TS, Iliff MJ, Roberson D, Fredericks TA, Sullivan B.L, Wood CL. 2015. [internet]. The eBird/Clements checklist of birds of the world: v2015. [acesso em 2 agosto de 2015]. Disponível em: <http://www.birds.cornell.edu/clementschecklist/download/>
- Cody M. 2005. Familia Mimidae. Em: Del Hoyo J, Elliott A, Christie DA, editors. Handbook of the birds of the world, Vol 10. Barcelona, España: Lynx Ediciones. p. 448-495.
- Curry RL. 1988. Group structure, within-group conflict and reproductive tactics in cooperatively breeding Galapagos mockingbirds, *Nesomimus parvulus*. *Animal Behaviour*, 36: 1708–1728.

- Curry RL. 1989. Geographic variation in social organization of Galápagos mockingbirds: ecological correlates of group territoriality and cooperative breeding. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 25: 147–160.
- Gould J. 1838 Birds Part 3. Em: Darwin C Editor. The zoology of the voyage of H.M.S. Beagle. London, Uk: Smith Elder and Co. p. 1-334.
- Darwin C. 1859. On the origin of species by means of natural selection, or the preservation of favoured races in the struggle for life. London, UK: John Murray. 502 p.
- Gonzaga LP, Castiglioni GDA, Reis HBR. 2000. Avifauna das restingas do Sudeste: estado do conhecimento e potencial para futuros estudos. Em: Esteves FA, Lacerda LD, editores. *Ecologia de restingas e lagoas costeiras*. Macaé, Brasil: NUPEM/UFRJ. p. 151-163.
- Grant PR, Grant BR. 1997. Genetics and the origin of bird species. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*, 94: 7768-7775.
- Hellmayr CE. 1934. *Catalogue of the birds of the Americas V.13*. Chicago, USA: Field Museum of Natural History. 531 p.
- Kroodsma DE, Houlihan PW, Fallon PA, Wells JA. 1997. Song development by grey catbirds. *Animal Behaviour*, 54: 457-464.
- Linnæus C. 1758. *Systema naturæ per regna tria naturæ, secundum classes, ordines, genera, species, cum characteribus, differentiis, synonymis, locis*. Tomus I. Editio decima, reformata, Holmiae, Stockholm: Laurentii Salvii. 824 p.
- Lovette IJ, Arbogast BS, Curry RL, Zink RM, Botero CA, Sullivan, JP, Talaba AL, Harris RB, Rubenstein DR, Ricklefs RE, Bermingham E. 2012. Phylogenetic relationships of the mockingbirds and thrashers (Aves: Mimidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 63:219-229.
- Meyer de Schauensee R. 1966. The species of birds of South America and their distribution. Narberth – Pennsylvania: Livingston Publishing Co. p. 577.
- Oberholser HC. 1919. *Mutanda Ornithologica VII*. *Proceedings of the Biological Society of Washington*, 32: 127-128.
- Orsini L, Vanoverbeke J, Swillen I, Mergeay J, Meester L. 2013. Drivers of population genetic differentiation in the wild: isolation by dispersal limitation, isolation by adaptation and isolation by colonization. *Molecular ecology*, 22: 5983–5999.
- Parent CE, Caccone A, Petren K. 2008. Colonization and diversification of Galápagos terrestrial fauna: a phylogenetic and biogeographical synthesis. *Proceedings of the Royal Society B*, 363: 3347-3361.
- Podos J, Warren PS. 2007. The evolution of geographic variation in birdsong. *Advances in the Study of Behavior*, 37: 403–458.

- Price, T. D. 2008 Speciation in birds. Greenwood Village, USA: Roberts and Co. 484 p.
- Rocha CD. The remnants of restinga habitats in the Brazilian Atlantic Forest of Rio de Janeiro State, Brazil: habitat loss and risk of disappearance. *Brazilian Journal of Biology*, 67:263-273.
- Salaman P, Donegan T, Caro D. 2009. Listado de aves de Colombia. *Conservación Colombiana*, 8: 1-89.
- Smith TB, Calsbeek R, Wayne RK, Holder KH, 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.
- Spix JB. 1838. *Avium species novae quas in itinere annis MDCCXVII-MDCCCXX per Brasiliam. Tomus I. Monachii, Alemania: Impenis editoris.* 317 p.
- Spurgin LG, Illera JC, Jorgensen TH, Dawson DA, Richardson DS. 2014. Genetic and phenotypic divergence in an island bird: isolation by distance, by colonization or by adaptation? *Molecular Ecology*, 23: 1028–1039.
- Zanon MS. 2010. Distribuição, tamanho populacional e conservação de *Mimus gilvus* Aves: Mimidae no estado do Rio de Janeiro. Dissertação de Mestrado em Ecologia e Evolução. Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.
- Zanon MS, Vale MM, Alves MAS. 2015. Missing for the last twenty years: the case of the southernmost populations of the Tropical Mockingbird *Mimus gilvus* (Passeriformes: Mimidae). *ZOOLOGIA*, 32: 1–8.

1 ESTUDO FILOGEOGRÁFICO E AVALIAÇÃO DA DIVERSIDADE GENÉTICA DO SABIÁ-DA-PRAIA *Mimus gilvus antelius* (OBERHOLSER 1919) NO BRASIL.

Resumo

Eventos históricos na América do Sul têm sido relacionados com a diversificação e evolução de várias espécies de aves. Na Mata Atlântica, diversos estudos têm destacado principalmente a importância dos ciclos glaciais e dos rios nestes processos de diversificação e estruturação populacional, especialmente em aves de hábitos florestais. O sabiá-da-praia (*Mimus gilvus antelius*) é uma subespécie do grupo *M. gilvus*, cuja diferença quando comparado com outras variantes geográficas é sua restrição a habitats abertos no litoral do Brasil, desde o Pará até o sul do Rio de Janeiro. Na porção sul da área de distribuição, o táxon se encontra restrito ao habitat de restinga e é categorizada como ameaçada de extinção nos estados do Espírito Santo e Rio de Janeiro. Com o objetivo de estudar o padrão filogeográfico de *M. g. antelius* e comparar os níveis de diversidade genética em sua área de distribuição no Brasil, foram sequenciados dois genes mitocondriais (ND2 e COI) e três genes nucleares (TGF, GAPDH e Fib-7) de indivíduos amostrados em oito localidades do Brasil. Os resultados indicaram que a espécie apresentou baixa diversidade genética e uma moderada estruturação populacional. Os genes mitocondriais mostraram diferenciação nas localidades do extremo norte (Salinas-PA e Icapuí-CE) em relação às demais. Embora esta separação pareça ser congruente com uma quebra filogeográfica, previamente sugerida em estudos com aves de hábitos florestais, propõe-se que no caso de *M. g. antelius*, esta não seja resultado de um processo de isolamento em áreas de estabilidade por contração e retração da floresta úmida (refúgios) no Pleistoceno, o que talvez possa ser decorrente de o sabiá-da-praia ser uma ave de áreas abertas e restrita a ambientes costeiros no litoral. Como essa espécie está restrita a habitats abertos do litoral, possivelmente transgressões marinhas do Quaternário poderiam ter tido maior influência na sua estrutura populacional. Assim, foram encontrados sinais de expansão demográfica recente de norte a sul, que poderiam estar associados a mudanças de tamanho de áreas

litorâneas devido a mudanças do nível do mar durante os ciclos glaciais. Não foram encontradas diferenças significativas na diversidade genética dos indivíduos onde o táxon se restringe à Restinga (Setiba, Jurubatiba e Marambaia) com aqueles de outros tipos de habitats, embora a presença de vários haplótipos exclusivos, como na Praia do Forte e na restinga de Jurubatiba possam indicar que sua conservação nestas áreas possa ser importante, particularmente em Jurubatiba que se encontra no limite sul de distribuição desse táxon.

Palavras-chave: Sabiá-da-praia. Filogeografia. Análise molecular. Restinga.

1.1 Introdução

Diferentes fatores ecológicos, adaptativos e geográficos estão envolvidos nos processos de divergência genética entre populações e o seu acúmulo pode resultar em especiação (Grant e Grant 1997). Estas divergências genéticas podem ser o resultado de fatores históricos que modelaram a distribuição espacial das linhagens. Para populações delimitadas historicamente e que experimentam pouco ou nenhum fluxo gênico por longos períodos de tempo, a divergência genética pode ocorrer tanto em genes neutros como em genes sob seleção, provocando a separação de linhagens (Martins e Domingues 2011). A filogeografia tem por objetivo estudar estas divergências tendo como base análise de sequências de DNA de vários indivíduos de uma espécie ou de espécies próximas de modo a reconstruir as relações históricas de suas linhagens e interpretar sua distribuição geográfica (Avice 1998).

No início, os estudos de filogeografia empregavam principalmente sequências de DNA mitocondrial pelos seguintes motivos: a) sua taxa de mutação é em geral maior que a do DNA nuclear, b) possui herança maternal, c) é considerado neutro (Patwardhan et al. 2014). Assim, em casos de diferenciação, para chegar à monofilia levaria menos tempo do que o DNA nuclear (Hickerson et al. 2006). No entanto, usar exclusivamente este tipo de marcador para reconstruir relações históricas pode levar a alguns problemas metodológicos relacionados com o sorteamento de linhagens, pois as histórias genealógicas de loci de genes individuais podem parecer enganosas ou não informativas

com referência às relações entre espécies ou populações, o que ocorre por causa da retenção e triagem estocástica de polimorfismos ancestrais (Maddison e Knowles 2006).

Há diversas hipóteses que relacionam eventos históricos com processos de diversificação da diversidade biológica nos trópicos. Em geral, elas propõem a redução temporária do fluxo gênico entre populações, o que poderia promover divergência (*e.g.* Mayr 1977, Haffer 1969, Vanzolini e Williams 1970, Haffer 1997). Destaca-se a hipótese dos refúgios florestais a qual sugere que ciclos glaciais e interglaciais resultaram em ciclos de redução, fragmentação e expansão da floresta úmida no Pleistoceno - entre 2,5 milhões e 11,5 mil anos atrás (Haffer 1969; Vanzolini e Williams 1970; Brown e Ab'Saber 1979). Como predições desta hipótese, pode-se citar que locais com alta estabilidade, denominados refúgios florestais, deveriam abrigar alto endemismo de espécies e alta diversidade genética, enquanto que nas zonas fora desses refúgios, se esperaria encontrar baixa diversidade, pouco endemismo e evidência de expansão populacional recente (Carnaval e Moritz 2008; Dantas et al. 2015). Alguns estudos filogeográficos com aves não refutam essa hipótese para explicar seus dados (Cabanne et al. 2007; D'Horta et al. 2011; Maldonado-Coelho 2012; Amaral et al. 2013; Dantas et al. 2015).

Outra hipótese de diversificação propõe que rios podem atuar como barreiras ao fluxo gênico (Wallace, 1852). Atualmente, os rios poderiam explicar alguns eventos de diversificação, principalmente em aves da Amazônia (Lacerda et al. 2007; Ribas et al. 2012; Fernandes et al. 2012; Maldonado-Coelho et al. 2013).

Uma terceira hipótese é a do gradiente ecológico, que sugere que a especiação ecológica pode ocorrer como resultado da seleção natural divergente entre populações parapátricas em diferentes ambientes (Endler 1977; Smith et al. 1997, 2001). No caso da Mata Atlântica, ocorre uma transição gradual de floresta úmida até seu contato com áreas de vegetação aberta, onde numerosas espécies se associam a diferentes tipos de habitats. Um estudo com a ave *Dendrocolaptes platyrostris* abordou essa questão. *D. platyrostris* possui duas subespécies com diferenciação de plumagem: uma subespécie se distribui na Mata Atlântica, enquanto a outra em florestas de galeria e florestas secas dentro da diagonal de vegetação aberta. A variação de plumagem não acompanhou a divergência genética, mas foi congruente com o tipo de habitat (Cabanne et al. 2011). Assim, possivelmente ocorreu seleção durante a evolução da plumagem. Diversos estudos em outras regiões têm corroborado o efeito da seleção adaptativa em processos de divergência morfológica ao longo de gradientes ecológicos os quais contrastam com

a divergência genética. Por exemplo, Caro e colaboradores (2013) mostraram que o gradiente altitudinal de Sierra Nevada de Santa Marta (Colômbia) promoveu divergências genéticas, morfológicas e de canto entre duas populações de *Henicorhina leucophrys*. De forma similar Milá e colaboradores (2009) mostraram eventos de divergência morfológica e genética em um gradiente ecológico altitudinal em *Glyphorhynchus spirurus* nos Andes do Equador. Porlier e colaboradores (2012) encontraram que *Cyanistes caeruleus* na Europa, mostrou altos níveis de estruturação genética relacionada com diferentes tipos de habitats locais, que não foram explicados pela distância geográfica, nem por barreiras geográficas. Na África, Smith e colaboradores (2004), estudando *Andropadus virens* encontraram divergência com fluxo gênico entre populações da Guiné, com a divergência morfológica aparentemente mais influenciada pelas diferenças no habitat (ecótono savana – floresta e limites montanha-floresta) do que pelo isolamento geográfico, sugerindo que a seleção em parapatria pode ser mais importante que o isolamento nos processos de divergência. No caso da Mata Atlântica, os estudos de filogeografia em aves têm principalmente buscado testar possíveis efeitos da dinâmica histórica dos rios ou da última glaciação sobre a estruturação populacional ou eventos de diversificação. Na maioria dos casos, esses estudos são realizados com aves florestais. Um bom modelo de uma espécie com ampla distribuição e que ocorre em diversos ambientes, incluindo áreas abertas, como restinga, é o sabiá-da-praia, *Mimus gilvus*, objeto de estudo da presente tese.

Mimus gilvus agrupa 10 subespécies e no Brasil ocorrem *M. g. melanopterus* na região norte (Roraima) e *M. g. antelius* na costa leste (Cody 2005; ver Figura 2). Essas subespécies apresentam distribuição descontínua e aparentemente se encontram isoladas pelo Rio Amazonas (Hellmayr 1934, Cody 2005). Meyer de Schauensee (1966) sugeriu que as aves do estado do Rio de Janeiro (limite sul da distribuição de *M. gilvus*), pertencentes a *M. g. antelius* poderiam ser consideradas como uma espécie separada de *M. gilvus*, embora não indique quais dados apoiariam isso. Estudos recentes têm mostrado um declínio considerável desse táxon nos estados do Rio de Janeiro (Alves et al. 2000; Gonzaga et al. 2000; Alves et al. 2004; Zanon et al. 2015) e Espírito Santo (Simon et al. 2007), onde o táxon se encontra restrita à restinga (Morais Pessoa 2012; Zanon et al. 2015), especialmente em áreas protegidas (Alves et al. 2000; Gonzaga et al. 2000; Alves et al. 2004; Simon et al. 2007) e é considerada como ameaçada de extinção tanto no Rio de Janeiro (Alves et al. 2000) como no Espírito Santo (Simon et al. 2007). Em outros estados, como Bahia e Ceará, *M. g. antelius* ocorre em diversos tipos de

hábitat (áreas antropizadas), além da restinga, mostrando uma distribuição desde o bioma Mata Atlântica até a Amazônia ao longo da costa.

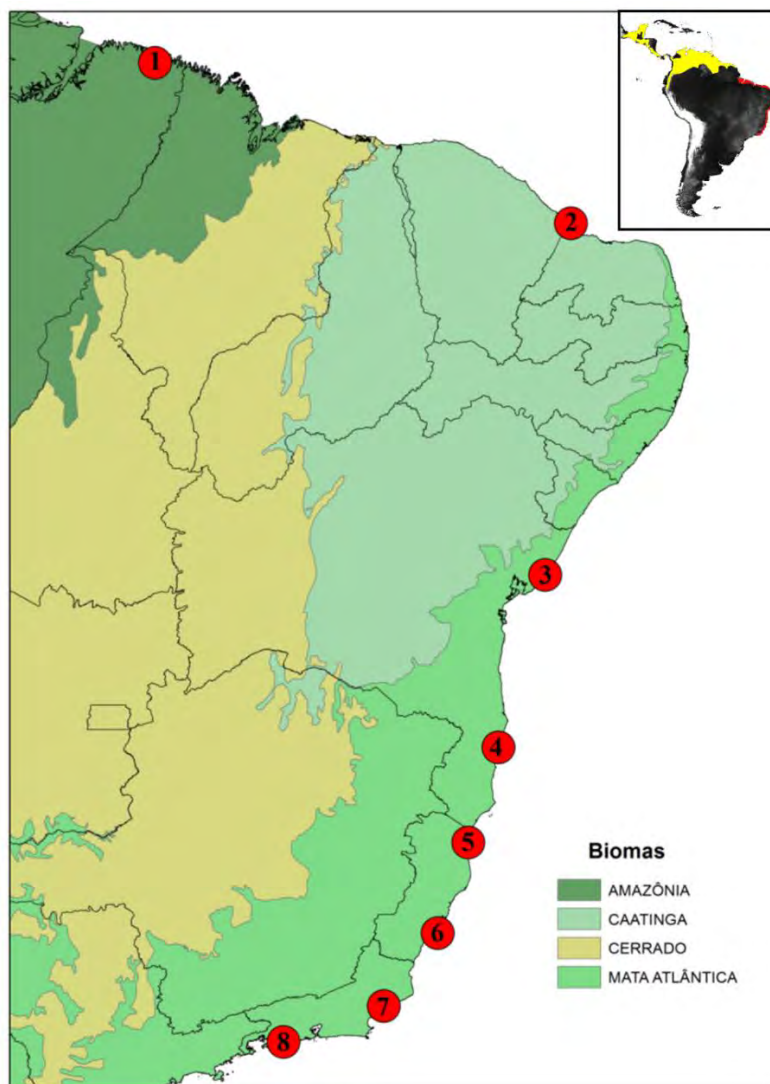
É importante investigar a estrutura e a diversidade genética de *M. g. antelius* em sua área de distribuição no Brasil, porque permitiria diagnosticar localidades com baixa diversidade genética, fornecendo diretrizes para planos de conservação futuros. Por outro lado, analisar sua filogeografia permitiria revelar possíveis discontinuidades de distribuição de linhagens genéticas e as possíveis causas históricas que podem ter determinado a distribuição geográfica de uma espécie não florestal. Portanto, o objetivo deste capítulo é avaliar a diversidade genética e descrever a estrutura filogeográfica de *M. g. antelius* em algumas localidades da costa do Brasil. Em especial, busca-se avaliar se as aves restritas à restinga que são consideradas ameaçadas, apresentam alguma diferenciação genética em relação às que não são restritas a esse ambiente.

Assim, tendo como base os objetivos, as hipóteses deste capítulo são: i) Indivíduos de *M. g. antelius* que ocorrem em diferentes tipos de Biomas (Mata Atlântica, Caatinga e Amazônia) no Brasil apresentam diferenciação genética entre si por pressões seletivas diferentes; ii) indivíduos de *M. g. antelius* restritos ao hábitat de restinga, os quais se encontram no limite da distribuição sul da espécie, apresentam níveis de diversidade genética menor do que aqueles de outras localidades e iii) como *M. g. antelius* é um táxon principalmente de áreas abertas e que potencialmente pode ter uma alta capacidade de dispersão (Lovette et al. 2012) não se espera encontrar estrutura populacional.

1.2 Material e Métodos

Para a obtenção de material para a extração de DNA foram capturados indivíduos de oito localidades da área de distribuição de *M. g. antelius* (ver Figura 2 e Tabela 1). As localidades foram selecionadas de forma a obter uma boa representatividade da área de distribuição de *M. g. antelius* no Brasil em diferentes biomas e tipos de habitats. Os indivíduos foram capturados com redes de neblina (malha 36 mm, 12x2,5 m) utilizando-se o método de *play back* (reprodução da vocalização da espécie).

Figura 2 – Localização dos pontos de amostragem de *Mimus gilvus antelius* (em vermelho) e sua distribuição no Brasil.



Legenda: os números correspondem aos indicados na Tabela 1. 1 = Salinas, 2 = Icapuí, 3 = Praia do Forte, 4 = Porto Seguro, 5 = Conceição da Barra, 6 = Setiba, 7 = Jurubatiba e 8 = Ilha de Marambaia. Diferentes biomas onde foi realizada amostragem estão representados no mapa.

Nota: no quadro menor, se apresenta em amarelo a distribuição de *M. gilvus* sem incluir o táxon *M. g. antelius* cuja distribuição é representada em vermelho (modificado de MMA/IBGE).

As aves foram colocadas em sacos de algodão limpos e marcadas individualmente com anilhas (licença de anilhamento CEMAVE/ICMBio número 1237; licença de captura SISBIO número 37070-7). De cada indivíduo foram coletados entre 50 e 150 µl de sangue da veia tibio-tarsal, com agulha descartável de 13x 0.45 mm (26G1/2) e microcapilares heparinizados. Posteriormente os indivíduos foram liberados. O sangue coletado foi imediatamente transferido para tubos plásticos de 1,5 ml com etanol absoluto e depositados em refrigerador no Laboratório de Ecologia de Aves da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (licença de captura/coleta/transporte de material biológico número 37070-7; licença para depósito das amostras biológicas 14042).

Tabela 1 – Localidades amostradas de *Mimus gilvus antelius* no Brasil, incluindo coordenadas geográficas, estado, município, bioma e número de indivíduos amostrados.

Id	Latitude (S)	Longitude (W)	Estado	Município	Local	Bioma	N
1	00° 36' 22.6"	47° 22' 22.3"	PA	Salinas	Salinas	Amazônia	6
2	04° 39' 46.5"	37° 26' 25.5"	CE	Icapuí	Icapuí	Caatinga	18
3	12° 35' 03.5"	38° 01' 01.1"	BA	Lauro de Freitas	Praia do Forte	Mata Atlântica	15
4	16° 26' 20"	39° 03' 59.6"	BA	Porto Seguro	Porto Seguro	Mata Atlântica	9
5	18° 34' 40.3"	39° 44' 08"	ES	Conceição da Barra	Conceição da Barra	Mata Atlântica	15
6	020° 34' 44.8"	40° 25' 23.9"	ES	Guarapari	Setiba	Mata Atlântica	11
7	022° 16' 41.6"	41° 39' 05.4"	RJ	Carapebus	Restinga de Jurubatiba	Mata Atlântica	20
8	023° 02' 17.5"	43° 53' 22.4"	RJ	Rio de Janeiro	Ilha de Marambaia	Mata Atlântica	8

Legenda: Id = número da localidade na Figura 1; N = número de indivíduos.

Alíquotas das 102 amostras (Tabela 1) foram usadas para a extração de DNA empregando o protocolo de extração com fenol clorofórmio descrito em detalhe por Bruford e colaboradores (1992). Todos os procedimentos moleculares foram feitos no Laboratório de Genética e Evolução Molecular de Aves (LGEMA) da Universidade de São Paulo sob supervisão da Profa. Cristina Yumi Miyaki.

Foram amplificados dois genes mitocondriais que codificam proteínas (ND2, COI) e três íntrons nucleares: íntron 7 do beta fibrinogênio (Fib-7), íntron 3 do

gliceraldeído fosfato desidrogenase (GAPDH) e íntron 2 do fator de crescimento transformador beta (TGF). Estes marcadores foram escolhidos principalmente, porque foram usados previamente por Lovette et al. (2012) em estudos de filogenia da família Mimidae incluindo o gênero *Mimus*.

A reação em cadeia da polimerase (PCR) foi realizada em 25 μ L, contendo 2,5 μ L de tampão 10X (Pharmacia), 1 μ L de mistura de dNTP (2 μ M cada), 0,2 U de *Taq* polimerase (Pharmacia), 1 μ L de cada *primer* (10 μ M, Tabela 2) e 25-50 ng de DNA. A PCR incluiu 2-5 min de pré-aquecimento a 94-95 °C seguido por 35-40 ciclos de 30 s de desnaturação a 94 °C, 45 s de hibridização ou *annealing* (temperaturas na Tabela 2) e 45 s de extensão a 72 °C.

Os produtos foram purificados utilizando EXO-SAP e sequenciados utilizando o kit de *Big Dye terminator 3.0 cycle* (Life Technologies), de acordo com o protocolo do fabricante. As sequências foram obtidas em sequenciador automático ABI PRISM 3100 (Life Technologies).

Os eletroferogramas foram editados e *contigs* foram montados usando o programa Codoncode Aligner 3.7.1 (Codoncode Inc.). Posteriormente as sequências foram alinhadas no mesmo programa empregando o método CLUSTAL W (Higgins et al. 1994). Todos os alinhamentos foram inspecionados e corrigidos visualmente. Os sítios heterozigotos dos genes nucleares foram codificados de acordo com o código IUPAC (*International Union of Pure and Applied Chemistry*). Não foram encontrados *indels* (inserção ou a deleção de bases no DNA).

Tabela 2 – *Primers* utilizados, suas referências bibliográficas, temperatura de hibridação em °C (T_A) e número de caracteres nas matrizes de sequências alinhadas (tamanho em pares de bases).

Marcador	Primer	Sequência 5' - 3'	Referência	T_A	Tamanho (pb)
mtDNA: Citocromo oxidase 1 (COI)	LTyr	TGTA AAAAGGWCTACAGCCTAACGC	Tavares e Baker 2008	58	843
	COI907	GTRGCNGAYGTRAARTATGCTCG			
mtDNA: Subunidade 2 da NADH desidrogenase (ND2)	L5216	GGCCCATACCCCGRAAATG	Sorenson et al. 1999	58	934
	H6313	ACTCTTRTTTAAGGCTTTGAAGGC			
Nuclear: Fator de crescimento transformador beta 2 (TGF)	TGF5	TGTA AAAACGACGGCCAGTGAAGCGTGCTCTAGATGCTG	Primmer et al. 2002	61	521
	TGF6	CAGGAAACAGCTATGACCAGGCAGCAATTATCCTGCAC			
Nuclear: Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (GAPDH)	GPdL890	ACCTTTAATGCGGGTGCTGGCATTGC	Friesen et al. 1997	61	285
	GAPdH950	CATCAAGTCCACAACACGGTTGCTGTA			
Nuclear: Beta fibrinogênio 7 (Fib-7)	FIB-BI7U	TGTA AAAACGACGGCCAGTGGAGAAAACAGGACAATGACAATTCAC	Prychitko e Moore 1997	60	701
	FIB-BI7L	CAGGAAACAGCTATGACCTCCCCAGTAGTATCTGCCATTAGGGTT			

A fase gamética dos indivíduos heterozigotos foi resolvida empregando o algoritmo PHASE (Stephens et al. 2001) com as configurações predefinidas no DNAsp 5.1 (Librado e Rozas 2009) e assumindo probabilidade mínima de 0,70 (Harrigan et al. 2008). Foi testado se havia sinal de recombinação nas sequências nucleares empregando o teste PHI no SPLITSTREE 4 (Bruen et al. 2006; Huson e Bryant 2006). O número mínimo de eventos de recombinação foi estimado (Hudson e Kaplan 1985) no DNAsp 5.1. Os maiores blocos sem sinal de recombinação foram identificados pelo *four-gamete test* (Hudson e Kaplan 1985) no DNAsp 5.1.

As sequências mitocondriais do ND2 e COI foram concatenadas em duas matrizes. Uma com *gaps* (lacunas) que correspondem a sequências que faltam de alguns indivíduos (ND2: 97 indivíduos e COI: 73 indivíduos, ver Tabela 3). A outra matriz contém 73 indivíduos cujos ambos os genes foram sequenciados. Esta discriminação foi feita para comparar se os resultados apresentariam diferenças por perda de haplótipos como consequência de um efeito amostral.

As matrizes das sequências concatenadas mitocondriais e aquelas de cada gene nuclear foram utilizadas separadamente na construção de redes de haplótipos por *median joining* no NETWORK versão 4.5.1. (www.fluxus-engineering.com). Diversos estimadores de diversidade genética foram calculados para cada localidade utilizando o DNAsp 5.1: diversidade de nucleotídeos Π (π), diversidade de haplótipos (Hd), número de haplótipos (h) e número de sítios segregantes (S) (Nei 1987). Foi testado se os valores desses estimadores das diferentes localidades eram significativamente diferentes usando o teste Mann–Whitney no Statistica 7.0 (StatSoft). A fim de identificar a suposta direção da expansão demográfica (norte a sul ou vice-versa) foi traçada a diversidade de nucleotídeos (π) por marcador de cada localidade contra a sua latitude em graus, sendo realizada uma regressão linear para cada marcador. Para testar se havia desvios significativos da hipótese nula de evolução neutra e de tamanho constante da população, foram realizados os testes D de Tajima (Tajima 1989) e F_s de Fu (Fu 1997).

A estrutura populacional foi avaliada com o programa STRUCTURE 2.3.4 (Pritchard et al. 2000) empregando unicamente os marcadores nucleares. Foram adotados os modelos de ancestralidade misturada e não misturada, usando o modelo de frequências independentes ou o modelo de frequências alélicas correlacionadas. Para cada caso foi aplicado alternativamente o modelo LOCPRIOR para detectar sutis subestruturas. Foram realizadas 20 corridas independentes para 15 valores de K, usando 50.000 gerações como *burn-in* de um total de 500.000 gerações. A escolha do melhor

valor de K foi realizada traçando a média da probabilidade L(K) ao longo de 20 corridas para K seguindo Evanno e colaboradores (2005). Com o objetivo de avaliar a concordância dos padrões gerais de variação nos marcadores mitocondriais obtidos mediante o programa NETWORK, a diferenciação populacional destes marcadores e os resultados encontrados da estruturação populacional com STRUCTURE, foi realizada uma análise de variância molecular - AMOVA (Excoffier et al. 1992), implementada no programa Arlequin 3.5.1.3. (Excoffier e Lischer 2010). Para esta análise foram assumidos os grupos encontrados nas redes de haplótipos como populações. A significância foi calculada baseada em 50.000 permutações. Esses grupos foram comparados em relação a sua variação genética populacional calculando o Nst (Lynch e Crease 1990) e seu fluxo gênico populacional com o Nm (Hudson et al. 1992) implementados no programa DNAsp 5.1. O estimador F_{ST} mede a diferenciação genética entre pares de populações seguindo a equação: $F_{ST} = 1/(1+2Nm)$, onde N é o número de indivíduos em cada subpopulação e m é a porção de migrantes em cada subpopulação em cada geração (Hudson et al. 1992). O Nm é calculado pela equação: $Nm = \frac{1}{2} H_w / H_b - H_w$, onde H_w é uma estimativa da média do tempo de divergência de pares de genes amostrados dentro de uma população e H_b é uma estimativa da média do tempo de divergência de genes amostrados de diferentes populações (Hudson et al. 1992). O estimador Nst é quase o mesmo que F_{ST} . A diferença é que Nst inclui a correção de Jukes e Cantor (1969).

Com o objetivo de estimar o tempo de divergência das linhagens encontradas, se empregou os dados de ND2 em uma análise Bayesiana no programa BEAST v1.8.2. (Drummond et al. 2012). O melhor modelo de substituição foi escolhido usando o programa Mega 6.06. (Tamura et al. 2013). Foi utilizado o modelo de *strict clock* com taxas de substituição com distribuição normal, assumindo 2.1% de divergência por milhão de anos (Weir e Schluter 2008). Foram analisadas 10.000.000 gerações, no BEAST com retenção de uma árvore a cada 1.000 gerações. O programa TreeAnnotator v 1.8.2 foi utilizado com um *burn-in* de 1.000 amostras e foi obtida uma árvore consenso. Esta árvore inclui como grupos externos uma sequência de *M. g. melanopterus* de Roraima (Brasil) que foi obtida seguindo os protocolos descritos anteriormente e uma sequência de *M. polyglotus* obtida do Genbank (acesso AF140897.1).

1.3 Resultados

1.3.1 Diversidade genética

Foram obtidas 423 sequências de cinco marcadores, sendo seis a 20 indivíduos por localidade (Tabela 3). Todos os marcadores nucleares tiveram a fase gamética resolvida. No entanto, no caso do marcador Fib-7 foram desconsideradas três sequências de Salinas com valores inferiores a 0,7 para que a fase gamética fosse resolvida. Não foi encontrado sinal de recombinação nos marcadores nucleares.

As estatísticas descritivas de diversidade (número de haplótipos e no número de sítios segregantes) indicaram que, em geral e como esperado, os marcadores mitocondriais mostraram maiores valores de variabilidade que os nucleares, (Tabela 3). Não foram encontradas diferenças significativas entre as localidades para nenhum estimador de diversidade genética (π : $F = 0,93$; $p = 0,494$; Hd: $F = 0,39$; $p = 0,898$) e nem entre localidades onde os indivíduos foram restritos à restinga e os que não foram restritos a esse ambiente (π : $F = 0,36$; $p = 0,55$; Hd: $F = 0,39$; $p = 0,536$).

Nenhum dos marcadores mostrou desvio significativo da hipótese nula de neutralidade e de tamanho populacional constante, de acordo com o teste D de Tajima e F de Fu (Tabela 3). Os marcadores mitocondriais e Fib-7 mostraram uma tendência de diminuição da diversidade com o aumento da latitude (Figura 3). Apenas o marcador GAPHD mostrou relação inversa, possivelmente devido à baixa variabilidade nas localidades do extremo norte (Salinas e Icapuí). Os marcadores mitocondriais e o Fib-7 mostraram uma forte relação negativa (ND2+COI π : $R^2 = 0,71$; $p = 0,009$; Fib-7, π : $R^2 = 0,68$; $p = 0,012$, Hd: $R^2 = 0,69$; $p = 0,01$), o que poderia sugerir uma expansão demográfica de norte para o sul.

Tabela 3 – Estatísticas descritivas e testes de neutralidade para cada marcador por localidade de amostragem de *Mimus gilvus*. (Continua).

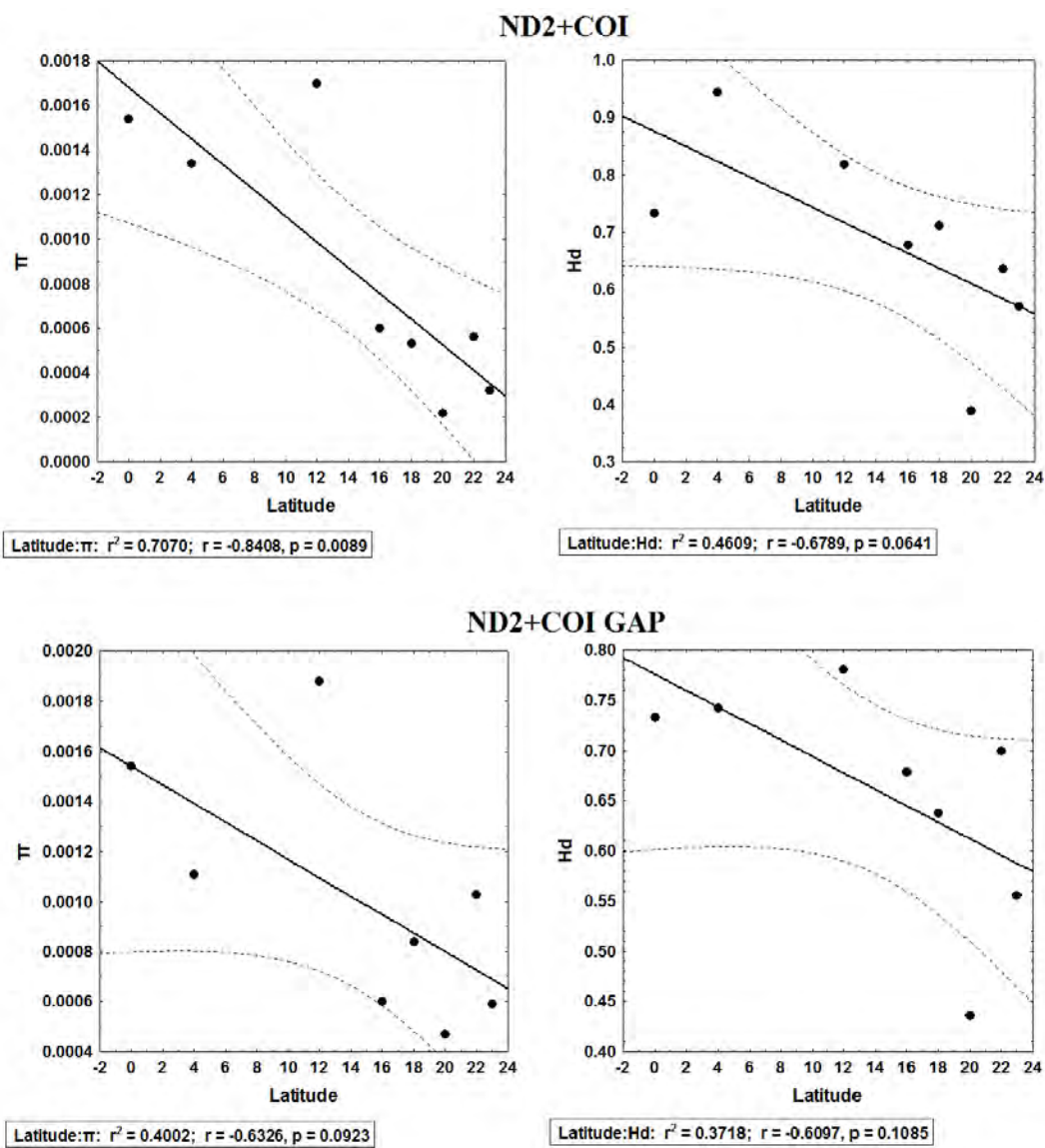
	<i>N</i>	Π	Hd	S	h	D de Tajima	Fs de Fu
ND2+COI							
SA	6	0,00154	0,73333	5	3	1,38922	1,624
ICA	9	0,00134	0,94444	7	7	-0,32331	-3,224
PF	11	0,00170	0,81818	12	7	-1,14347	-1,653
PS	8	0,00060	0,67857	3	3	-0,30441	0,33
CO	10	0,00053	0,71111	3	4	-0,4313	-1,02
SE	9	0,00022	0,38889	1	2	0,15647	0,477
JB	12	0,00056	0,63636	3	4	0,02173	-0,619
MB	8	0,00032	0,57143	1	2	1,44416	0,966
Geral		0,00171	0,795	26	21		
ND2+COI com gap							
SA	6	0,00154	0,73333	5	3	1,38922	1,624
ICA	12	0,00111	0,74200	4	5	-1,02271	-2,059
PF	15	0,00188	0,78100	7	7	-0,66984	-2,299
PS	9	0,0006	0,67900	3	5	-0,30441	0,33
CO	15	0,00084	0,63800	3	4	-0,45679	-0,877
SE	11	0,00047	0,43600	1	2	0,67135	0,779
JB	20	0,00103	0,70000	3	4	0,35466	-0,108
MB	9	0,00059	0,55600	1	2	1,40117	1,015
Geral	97	0,00179	0,87	26	27		
TGF							
SA	6	0,00102	0,53030	1	2	1,3811	1,152
ICA	9	0,00202	0,73856	2	4	1,976	-0,009
PF	12	0,00091	0,40942	2	3	-0,25021	-0,185
PS	7	0,00095	0,49451	1	2	1,21219	1,139
CO	12	0,00105	0,51812	2	3	0,04732	0,089
SE	10	0,00150	0,65263	2	3	0,89508	0,666
JB	17	0,00147	0,63993	2	3	1,11241	0,533
MB	9	0,00123	0,58170	2	3	0,24784	0,181
Geral		0,00157	0,647	3	5		
GAPHD							
SA	6	0,00000	0,00000	0	1	n,a	n,a
ICA	11	0,00000	0,00000	0	1	n,a	n,a
PF	12	0,00096	0,34420	1	2	0,48028	0,847
PS	9	0,00035	0,12500	1	2	-1,16221	-0,7
CO	12	0,00064	0,22826	1	2	-0,24844	0,23
SE	11	0,00087	0,31169	1	2	0,23682	0,648
JB	11	0,00151	0,49784	2	3	-0,03104	0,006
MB	9	0,00133	0,45098	2	3	-0,03104	-0,377
Geral	81	0,00081	0,281	2	3		

Tabela 3 – Estatísticas descritivas e testes de neutralidade para cada marcador por localidade de amostragem de *Mimus gilvus*. (Conclusão).

	<i>N</i>	π	Hd	S	h	D de Tajima	Fs de Fu
Fib-7							
SA	6	0,00118	0,75000	2	3	0,93151	0,139
ICA	9	0,00061	0,50000	1	2	1,30896	1,247
PF	15	0,00062	0,50246	1	2	1,53395	1,629
PS	8	0,00049	0,40000	1	2	0,64998	0,872
CO	15	0,00045	0,37011	1	2	0,72675	1,08
SE	11	0,00021	0,17316	1	2	-0,64112	-0,176
JB	18	0,00047	0,38571	1	2	0,88268	1,244
MB	9	0,00045	0,36601	1	2	0,48809	0,796
Geral	91	0,00057	0,447	2	3		

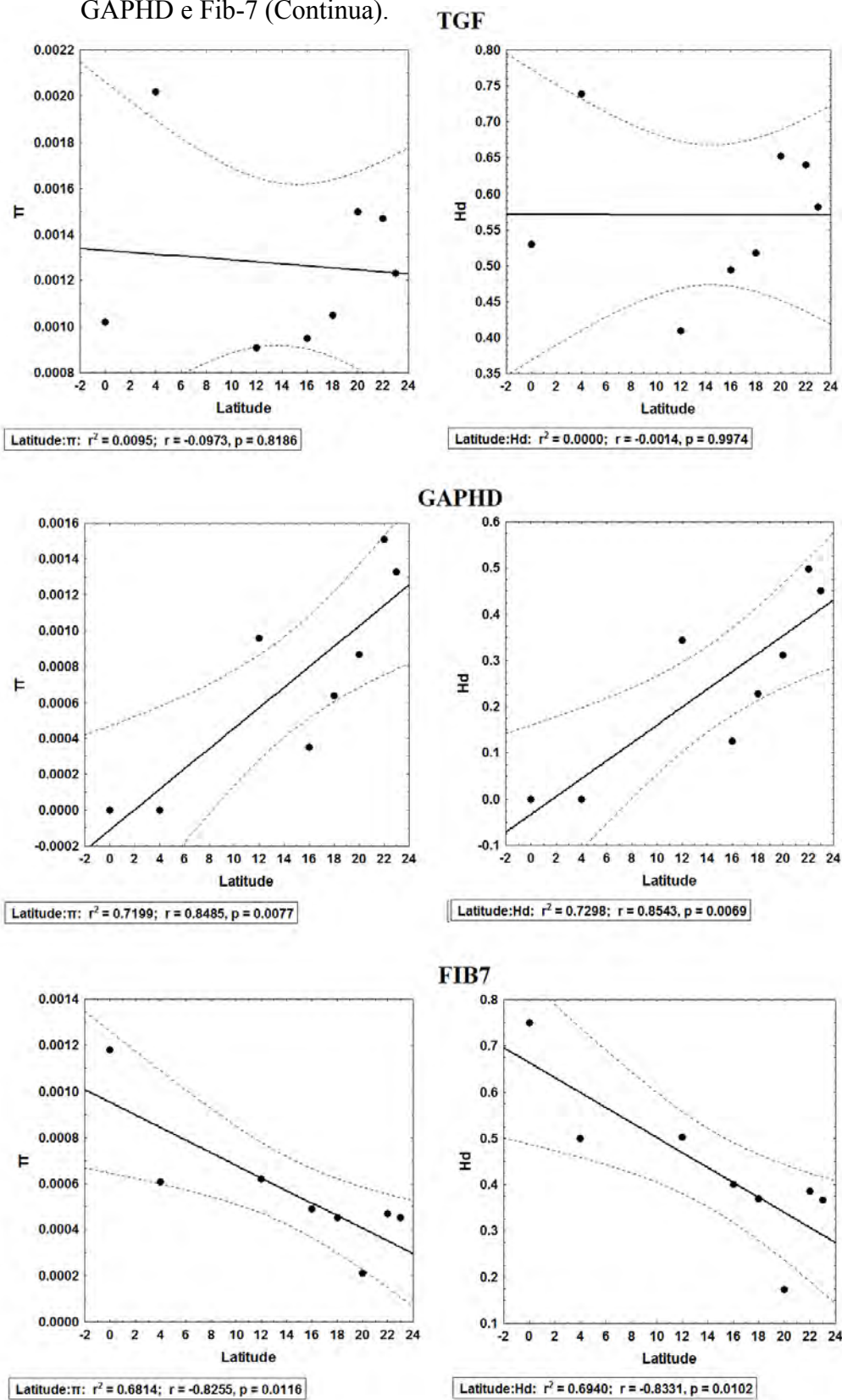
Legenda: *N* = número de indivíduos sequenciados; π = diversidade de nucleotídeos Pi; Hd = diversidade de haplótipos; S = número de sítios segregantes, h = número de haplótipos. ND2+COI com *gap* = matriz concatenada com lacunas. Localidades: SA = Salinas; ICA = Icapuí; PS = Porto Seguro; PF = Praia do Forte; CO = Conceição da Barra; SE = Setiba; JB = Jurubatiba; MB = Marambaia. n.a = não calculado.

Figura 3 – Gráficos de correlação entre latitude das localidades amostradas para *Mimus gilvus* e seus valores de diversidades nucleotídica π e de haplótipos (Hd) dos marcadores ND2+COI, ND2+COI com *gap*, TGF, GAPHD e Fib-7 (Continua).



Nota: Linhas contínuas representam o ajuste ao modelo e as linhas descontínuas representam o intervalo de 95% de confiança calculado por regressão linear.

Figura 3 – Gráficos de correlação entre latitude das localidades amostradas para *Mimus gilvus* e seus valores de diversidade nucleotídica π e de haplótipos (Hd) dos marcadores ND2+COI, ND2+COI com *gap*, TGF, GAPHD e Fib-7 (Continua).

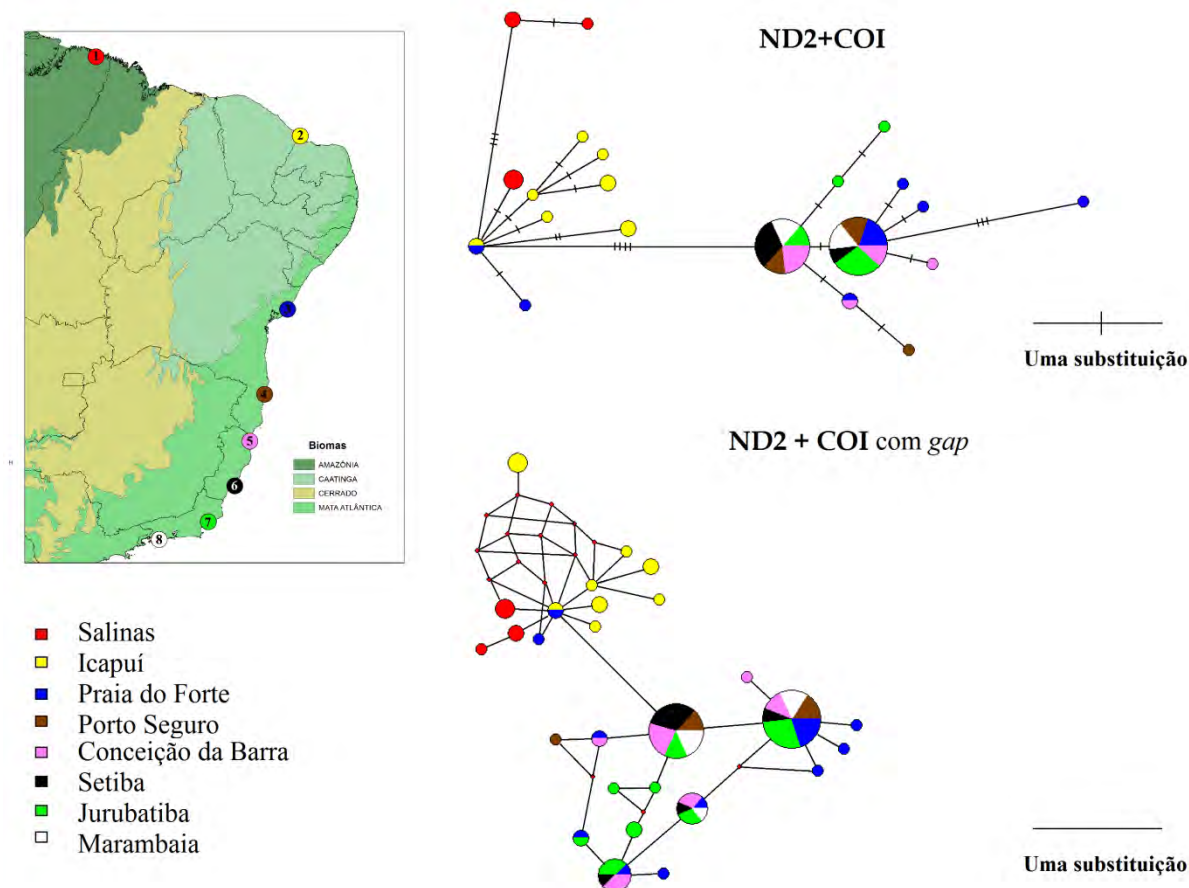


Nota: Linhas contínuas representam o ajuste ao modelo e as linhas descontínuas representam o intervalo de 95% de confiança calculado por regressão linear

1.3.2 Estrutura populacional

As redes de haplótipos dos marcadores mitocondriais sugerem uma estruturação geográfica com dois agrupamentos concordantes com as suas localizações geográficas (Figura 4). Um grupo ao norte com aves das localidades de Salinas e Icapuí e apenas um indivíduo de uma localidade geograficamente intermediária (Praia do Forte). E outro grupo ao sul com a maioria dos indivíduos da Praia do Forte e todas as demais localidades amostradas, as quais se distribuem no bioma Mata Atlântica. No grupo norte foram observados três haplótipos exclusivos de Salinas e seis ou sete (sem e com *gap* na matriz de dados, respectivamente) exclusivos de Icapuí. No grupo sul há dois haplótipos de alta frequência compartilhados por diversas localidades e sete ou nove (sem e com *gap* na matriz de dados, respectivamente) exclusivos (Figura 4).

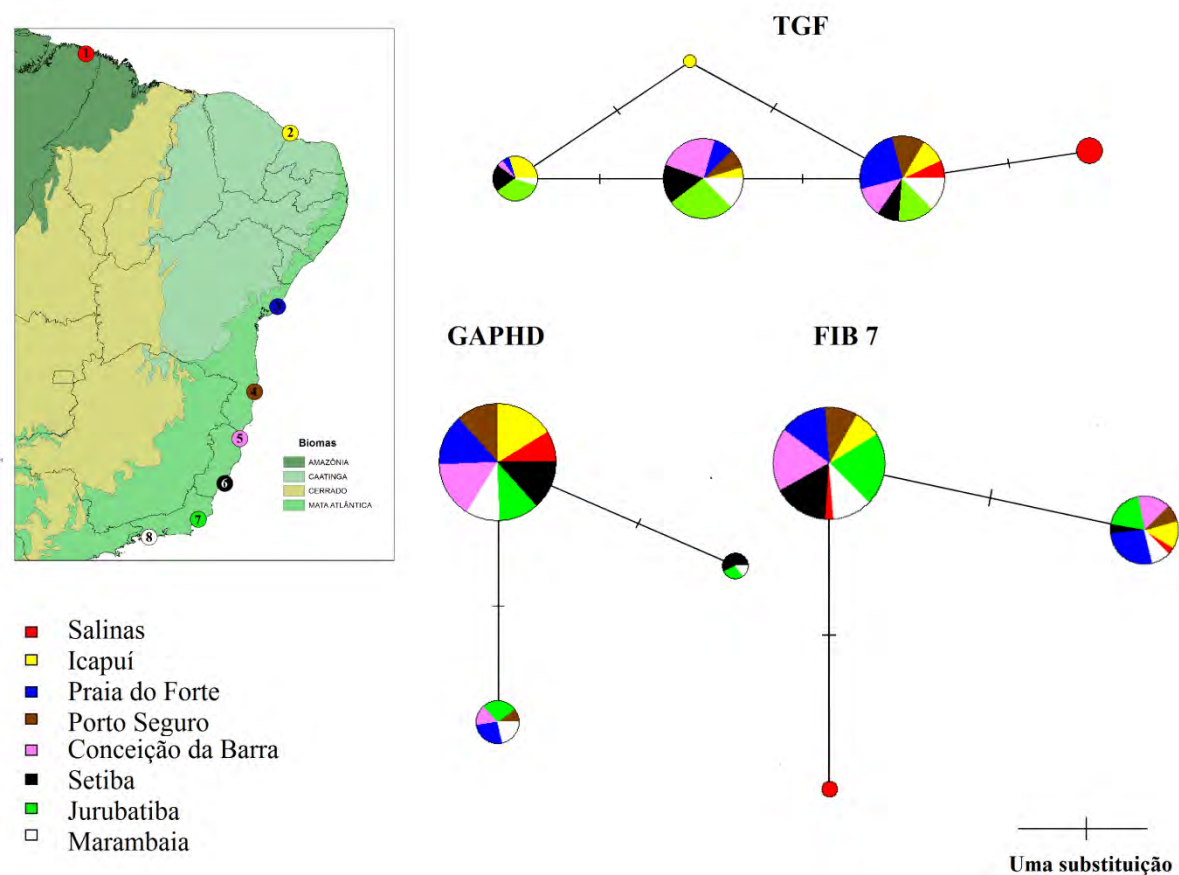
Figura 4 – Redes de haplótipos por “*median joining*” baseadas em 1777 (sem *gap*, 73 indivíduos) e 1977 (com *gaps*, 93 indivíduos) caracteres mitocondriais.



Nota: As cores nas redes correspondem às cores das localidades no mapa.

Com relação às redes de haplótipos baseadas nos dados nucleares, todas apresentaram ausência de estruturação geográfica (Figura 5). A rede baseada nos dados de TGF mostra três haplótipos compartilhados entre várias localidades, incluindo aquelas do extremo norte, porém há um haplótipo exclusivo de Salinas e outro de Icapuí. O marcador GAPHD exibiu três haplótipos, um presente em todas as localidades, e outros dois em localidades distribuídas no sul, destacando-se um haplótipo exclusivo de localidades com indivíduos restritos à restinga (Marambaia, Jurubatiba e Setiba, Figura 5). A rede de haplótipos baseado no Fib-7 mostra dois haplótipos encontrados em várias localidades, e um quinto exclusivo de Salinas (Figura 5).

Figura 5 – Redes de haplótipos por “*median joining*” baseadas em 521(TGF), 285 (GAPHD) e 701 (FIB-7) caracteres nucleares.

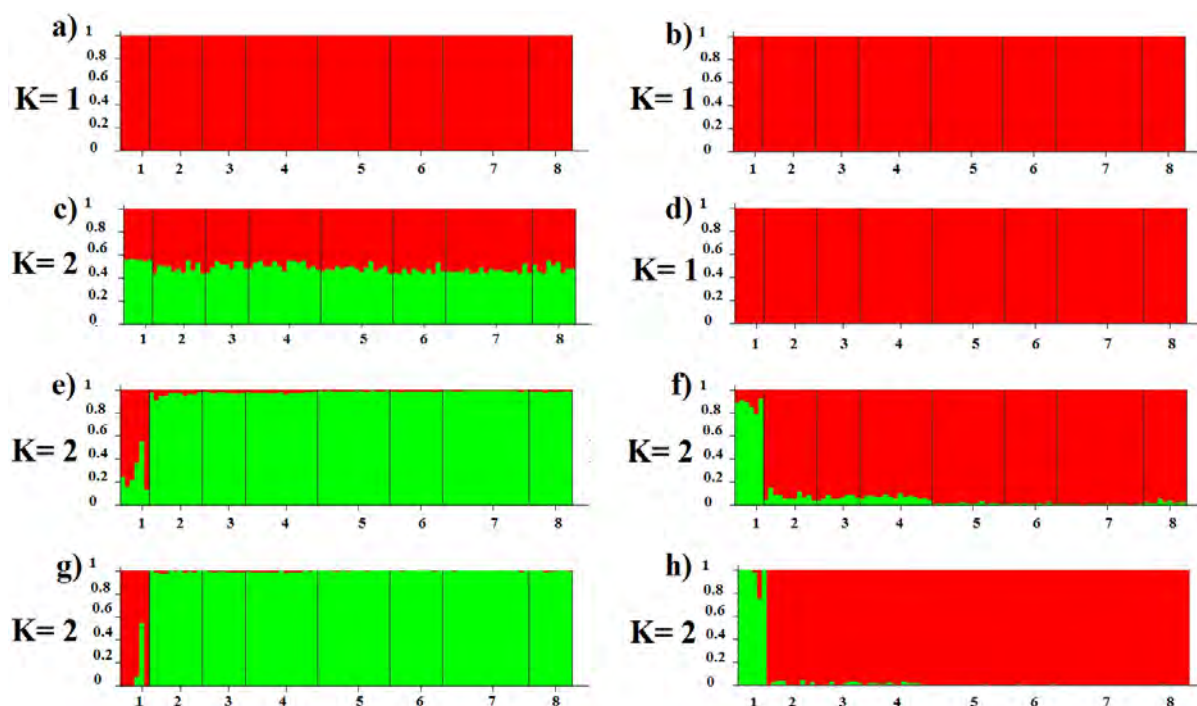


Nota: As cores nas redes correspondem às cores das localidades no mapa.

A análise dos dados nucleares no STRUCTURE não recuperou nenhum agrupamento congruente com a distribuição geográfica para nenhum modelo testado,

sendo o melhor K de um (Figura 6, Anexo 1). Quando foi aplicado o modelo LOCPRIOR junto com o modelo de ancestralidade misturado ou apenas no misturado foi detectada diferenciação entre Salinas e o restante das localidades, com melhor K de 2 em todos os casos (Anexo 1).

Figura 6 – Resultados do melhor K obtido para cada análise no STRUCTURE baseado em caracteres do TGF (521), GAPHD (359) e FIB-7 (814) de *Mimus gilvus antelius*.



Legenda: a) e b) – Assumindo modelo misturado usando o modelo independente e a frequência alélica correlacionada, respectivamente; c) e d) – Assumindo modelo não misturado usando o modelo independente e a frequência alélica correlacionada, respectivamente; e) e f) – Assumindo os mesmos modelos empregados em a) e b), mas usando conjuntamente o LOCPRIOR; g) e h) – Assumindo os mesmos modelos empregados em c) e d), mas usando conjuntamente o LOCPRIOR. Os números no eixo X correspondem às localidades da Tabela 1.

Para a análise AMOVA se assumiram como populações os agrupamentos descritos pela rede de haplótipos dos marcadores mitocondriais. A combinação do grupo norte (Salinas e Icapuí) e do grupo sul (de Praia do Forte até Marambaia) indicou que 72.33% da variação mitocondrial (ND2+COI) são explicadas por diferenças entre populações ($P < 0.01$). Usando a matriz ND2+COI com *gap* a variação entre o grupo sul e norte foi menor ($F_{ST} = 0.536$; $P < 0.01$). A estimativa N_{st} para estes grupos indicou uma moderada estruturação genética populacional ($N_{st}: 0,658$) e um baixo fluxo gênico entre elas ($N_m: 0,26$). Estas estimativas não puderam ser calculadas com a matriz

ND2+COI com *gap* porque não ocorreram sítios polimórficos entre os grupos Norte e Sul. A estimativa do tempo de divergência entre as linhagens de norte e sul foi datada no final do Pleistoceno (mediana = 0,195 milhões de anos; 95% de probabilidade posterior alta [HPD] = 0,729-1,742) (Anexo 2).

1.4 Discussão

Apesar de questionável, por envolver a comparação de dados baseados em diferentes marcadores e/ou por envolver táxons bastante distintos, os valores de diversidade genética observados em *Mimus gilvus antelius* (Tabela 3) de distintas localidades são baixos em relação àqueles observados em outras espécies de aves florestais da Mata Atlântica (*e.g.* Cabanne et al. 2011; d’Horta et al. 2011; Batalha-Filho et al. 2012; Amaral et al. 2013; Dantas et al. 2015). Por exemplo, duas espécies de *Myrmeciza* (família Thamnophilidae) mostraram valores de diversidade genética (π) mitocondrial (ND2) entre 0,00072 e 0,0032 (Amaral et al. 2013), contrastantes com os encontrados no presente estudo (0,00034 – 0,0017). Em outro caso D’Horta e colaboradores (2011) obtiveram valores entre 0.00116 e 0.00433 usando como marcador ND2 em *Sclerurus scansor* (família Furnariidae). Enquanto Dantas e colaboradores (2015) usando a região controladora mitocondrial encontraram valores entre 0,032 e 0,016 para *Conopophaga lineata* (família Conopophagidae). Um estudo filogeográfico, realizado na América do Norte, com *Toxostoma redivivum* (mesma família que a espécie do presente estudo), empregando diferentes e maior número de marcadores mitocondriais, mostrou maiores valores de diversidade (0.0005 – 0.004), em uma faixa latitudinal menor (8°) que a do presente estudo (22°) (Sgariglia e Burns 2003). Para outra espécie do mesmo gênero (*Toxostoma curvirostre*) também foram encontrados maiores valores de diversidade genética (0,0027 – 0,0064; Zink e Blackwell-Rago 2000) que os registrados para o presente estudo.

A análise estatística não mostrou diferenças significativas entre os valores de diversidade genética das diferentes localidades, nem entre as localidades restritas à restinga e aquelas distribuídas em outros biomas, indicando que as populações de restinga não evidenciam problemas em sua diversidade genética, apesar de seu declínio populacional nos últimos 20 anos. No entanto, foi encontrada variação nos valores de

diversidade genética entre marcadores mitocondriais e nucleares, situação que tem sido observada em outros estudos de aves de Mata Atlântica (e.g. Batalha-Filho 2012, Vilaça e Santos 2010). Em geral, as localidades distribuídas em áreas de restinga (extremo da distribuição sul) tiveram os maiores valores de diversidade nos marcadores nucleares, enquanto que os maiores valores nos marcadores mitocondriais foram nas localidades encontradas mais ao norte (Salinas, Icapuí e Praia do Forte). Estes resultados podem ser devido a um sorteamento incompleto das linhagens nucleares e/ou um processo de expansão recente de norte a sul.

Os valores negativos do teste de Tajima nos marcadores mitocondriais podem estar sugerindo processos de expansão populacional (Holsinger 2012) nas localidades de Icapuí, Praia do Forte, Porto Seguro e Conceição (Tabela 3). Os valores positivos encontrados nas localidades de Setiba, Jurubatiba e Marambaia podem estar indicando recentes gargalos populacionais (Holsinger 2012), que são coincidentes com a redução no tamanho populacional. No limite da distribuição sul da subespécie, estes valores positivos foram encontrados nas localidades de Setiba, Jurubatiba e Marambaia, que correspondem a indivíduos restritos ao hábitat de restinga. Estudos recentes com a espécie têm sugerido uma redução no tamanho populacional de mais de 60% nos últimos anos no estado do Rio de Janeiro (Zanon et al. 2015). No extremo da distribuição norte, o valor positivo na localidade de Salinas é coincidente com uma baixa densidade populacional observada durante a nossa amostragem em campo, especificamente na praia de Maçarico, onde foram encontrados apenas dois casais em uma transecção de 3 km aproximadamente (observação pessoal). Estes valores são baixos comparados com os encontrados por Zanon (2010) na restinga de Jurubatiba, onde em uma transecção de 2 km observaram-se 18 indivíduos.

As relações filogenéticas dentro do gênero *Mimus* (Lovette et al. 2012), sugerem uma expansão de *M. gilvus* desde a América Central até o norte da América do Sul. Portanto, uma expansão demográfica de *M. g. antelius* de norte para sul seria congruente, assumindo que a população original do táxon seria proveniente de uma expansão do norte da América do Sul.

As redes de haplótipos baseadas nos distintos marcadores nucleares indicaram ausência de estrutura populacional em *M. g. antelius*. Entretanto, os marcadores mitocondriais indicaram dois grupos geográficos. Um formado por indivíduos das localidades do extremo norte (Salinas e Icapuí) e um indivíduo de Porto Seguro que se encontram nos biomas Amazônia, Caatinga e Mata Atlântica. Nesse grupo há um

haplótipo compartilhado entre Icapuí e Porto Seguro que poderia representar a presença de algum fluxo gênico ou sorteamento incompleto de linhagens. Este resultado pode estar indicando um processo de divergência incompleto (Nosil et al. 2009). O segundo grupo é composto de indivíduos das demais localidades desde Porto Seguro até Marambaia, distribuídos no bioma Mata Atlântica.

Este padrão filogeográfico indicado pelas redes de haplótipos mitocondriais sugere uma estrutura genética entre as duas regiões (norte e sul), com um fluxo gênico ou um sorteamento incompleto de linhagens que não é suficiente para evitar a fixação de alelos e a divergência. Esta estruturação moderada é também indicada pela AMOVA e pelos valores de Nst e Nm obtidos. Embora a maioria das análises do STRUCTURE baseadas nos marcadores nucleares mostrem ausência de estrutura populacional, quando foi usado o LOCPRIOR foi detectada uma sutil subestrutura entre Salinas e o restante das localidades, o que coincide em parte com esta estruturação norte e sul.

Esta diferença entre os padrões filogeográficos encontrados tendo como base marcadores mitocondriais e nucleares poderia ser explicada por um processo de diversificação recente, porque o DNA nuclear evolui mais lentamente do que o mitocondrial (Funk e Omland 2003; McKay e Zink 2010), e o tempo desde a divergência não teria sido suficiente para permitir diferenciação no DNA nuclear. Ou seja, o sorteamento incompleto das linhagens nucleares poderia explicar os resultados incongruentes entre DNA mitocondrial e nuclear (Van Els et al. 2014), além de ter sido observado em outras análises filogeográficas de aves na Mata Atlântica (Cabane et al. 2008; d’Horta et al. 2011).

Vários estudos têm buscado descrever a estrutura geográfica e os processos de diversificação de organismos da Mata Atlântica. Alguns indicam descontinuidades geográficas (norte-sul) recorrentes, possivelmente causadas por eventos vicariantes associados a mudanças climáticas ou atividades geotectônicas no Quaternário (Cabanne et al. 2008; Carnaval et al. 2009; Dantas et al. 2011; Batalha-Filho et al. 2012). Em diversos grupos animais se tem descrito principalmente três quebras filogeográficas na Mata Atlântica (*e.g.* Mustrangi e Patton 1997; Cabanne et al. 2008; Carnaval et al. 2009; Cabanne et al. 2011; d’Horta et al. 2011; Amaro et al. 2012; Dantas et al. 2015) as quais são associadas a ciclos de expansões e contrações das florestas por mudanças climáticas, principalmente no Pleistoceno e Holoceno (Behling 2002; Carnaval e Moritz 2008; Carnaval et al. 2009). A diferenciação mitocondrial entre indivíduos de *M. g. antelius* de Salinas e Icapuí em relação às demais localidades é congruente com uma

descontinuidade encontrada em um estudo filogeográfico de *Xiphorhynchus fuscus* que mostrou diferenciação entre os indivíduos do norte (*X. f. atlanticus*, Pernambuco e Ceará) dos demais indivíduos das outras subespécies distribuídas mais ao sul (Cabanne et al. 2008). Igualmente, d’Horta e colaboradores (2011) estudando *Sclerurus scansor* conseguiram identificar três linhagens, dos quais um é representativo do norte (*S. s. cearensis*). No entanto, nesses dois casos as linhagens do norte correspondem a localidades (brejos de altitude na Caatinga) bastante diferentes das aqui analisadas.

Estes padrões geralmente são descritos para espécies associadas ou restritas a habitats de floresta, no entanto, *M. gilvus antelius*, como outras subespécies *M. gilvus*, pode apresentar alta capacidade de dispersão e estar associados a habitats abertos e não a floresta úmida (Cody 2005, Lovette et al. 2012). Em particular este táxon é associado a habitats abertos no litoral, portanto a contração da floresta em refúgios, como produto dos ciclos glaciais, não poderia ser utilizada como explicação para a diversificação entre os indivíduos do norte e sul.

Por outro lado, estes eventos de glaciação, junto com a atividade tectônica e a dinâmica costeira resultaram em diversas transgressões e regressões do mar no Quaternário (Suguio e Martin 1976; Suguio et al. 1985), modificando o litoral e provocando a formação de habitats abertos, como a restinga no Holoceno e Pleistoceno (Suguio e Tessler 1984). Por toda a costa, desde Angra dos Reis, que é perto de Marambaia, até o Rio Grande de Norte se tem registrado evidências da elevação do nível do mar de 4 – 5 m acima do nível atual (Suguio et al. 1985; Angulo et al. 2006). Mas, estudos no Ceará têm evidenciado que o nível do mar permaneceu estável nesta região no Holoceno (Morais et al. 2009; Irion et al. 2012). Durante este período de transgressão marinha e expansão da floresta, a área do Ceará poderia ter atuado como um refúgio ou uma área com habitat adequado para *M. g. antelius*, o que poderia ser uma explicação para uma maior estrutura populacional no norte em relação ao sul. Portanto se propõe que a quebra filogeográfica entre a população norte e Sul possivelmente ocorreu no Ceará, embora estudos mais detalhados contemplando outras áreas do nordeste sejam necessários para uma confirmação.

Oscilações no nível do mar têm acontecido ao longo entre o Rio Grande do Norte e Laguna no sul do país (Angulo et al. 2006), atingindo níveis máximos de até 5 m em locais como Salvador (Bahia), há 5.600 anos atrás (Martin 2003; Angulo et al. 2006). Nesta área também aconteceram transgressões mais antigas há cerca de 120.000 anos atrás, de cerca de 2 m acima do nível atual (Suguio et al. 1985). Diversas

transgressões foram registradas na Bahia (Salvador, Ilhéus, Caravelas– Suguio e Martin 1976; Bittencourt et al. 1979; Suguio et al. 1985). E a introgressão marinha pode reduzir a área de habitats costeiros abertos diminuindo o limite entre a floresta e a costa. Tais eventos podem ter atuado como barreiras do fluxo gênico para *M. g. antelius*. Os modelos da Mata Atlântica feitos por Carnaval e Moritz (2008) de 6.000 e 21.000 anos atrás, mostram a presença da floresta no Quaternário como uma área importante de refúgio na Bahia. A expansão da floresta e transgressão marinhas pós-glaciais-glaciais poderiam ter sido barreiras para a dispersão do táxon.

A relação negativa encontrada entre a diversidade genética dos marcadores mitocondriais e Fib-7 de *M. g. antelius* com a latitude (Figura 3) é congruente com os efeitos das mudanças climáticas sobre os processos de estruturação populacional. Vários autores têm observado um padrão de decréscimo na diversidade genética com a latitude, sugerindo que as perturbações históricas dos ciclos glaciais podem ter levado a uma redução da variação genética em direção aos polos (Lessa et al. 2003; Hewitt 2004; Mila et al. 2007; Pinho et al. 2007; Lessa et al. 2010; Adams e Hadly 2013; Sandoval – Castro et al. 2014). Nos períodos interglaciais, as áreas geográficas de habitats úmidos se expandiriam, promovendo a expansão de espécies a eles associados. Tal expansão após as perturbações pode deixar uma marca na diversidade genética de uma dada espécie, sendo possível que apenas um subconjunto de populações atuaria como fonte genética para novos habitats, em um processo conhecido como gargalo de colonização (Adams e Hadly 2013; Stone et al. 2012). Neste processo se espera que a diferenciação das populações diminua de baixas latitudes a altas (Miller et al. 2010). Em *M. g. antelius* a redução da diversidade genética com a latitude, a diferenciação populacional do norte em relação ao sul, o sinal de expansão dos indivíduos de Icapuí, Praia do Forte e Porto Seguro, assim como o sinal de gargalo populacional nas populações do extremo sul (teste de Tajima e Fu; Tabela3), seriam congruentes um possível efeito dos ciclos glaciais sobre a estruturação e diversificação do *M. g. antelius*. Assim, será importante realizar estudos de filogeografia e de demografia de outras espécies de áreas litorâneas abertas para avaliar se essa hipótese pode ser considerada válida.

1.5 Considerações finais

Não foi encontrada diferença estatística na diversidade genética dos indivíduos de *M. g. antelius* restritos à restinga (sul da distribuição) e aqueles de outros habitats. Aparentemente nas localidades com redução populacional (sul da distribuição), não foi encontrada perda considerável de diversidade genética que exija algum manejo genético, embora os valores do teste de Tajima sugiram gargalos populacionais nas localidades do extremo sul, das quais Marambaia apresenta os maiores valores. Das três áreas com restinga, os indivíduos de Jurubatiba exibem os maiores valores de diversidades mitocondrial e nuclear, além de apresentar dois haplótipos exclusivos. Por esta razão iniciativas de conservação nesta área são importantes para o táxon.

Os marcadores mitocondriais e Fib-7 mostraram uma relação negativa significativa entre a diversidade genética (π) com a latitude, sugerindo uma expansão populacional de norte a sul, apresentando os valores mais baixos nas localidades onde o táxon está restrito à restinga. De igual forma, o teste de Tajima e de Fu sugere processos de expansão nas localidades de Icapuí até Conceição da Barra.

A subespécie *M. g. antelius* apresenta uma moderada estruturação populacional entre os indivíduos do norte (Salinas e Icapuí) e do sul (Praia do Forte até Marambaia), sugerido principalmente pelos marcadores mitocondriais. No entanto, algumas análises baseadas nos marcadores nucleares indicaram uma sutil estruturação subpopulacional entre Salinas e as demais localidades. Esta estruturação, os sinais de expansão populacional e o sinal de gargalo populacional nos indivíduos do extremo sul, sugerem que possa haver um efeito dos ciclos glaciais sobre a estruturação e diversificação de *M. g. antelius*. Pelas características ecológicas da espécie de restringir-se a habitats abertos do litoral, a hipótese de refúgio não parece explicar os resultados encontrados. No entanto, transgressões marinhas no litoral Brasileiro no Quaternário poderiam ter limitado os habitats abertos disponíveis para o táxon, gerando barreiras geográficas em áreas onde o limite entre a floresta e a costa foi reduzido.

REFERÊNCIAS

- Adams RI, Hadly EA. 2013. Genetic diversity within vertebrate species is greater at lower latitudes. *Evolutionary Ecology*, 27: 133-143.
- Alves MAS, Pacheco JF, Gonzaga LAP, Cavalcanti RB, Raposo MA, Yamashita C, Maciel NC, Castanheira M. 2000. Aves. Em: Bergallo H., Rocha CFD, Alves MAS, Sluys MV, editores. *A Fauna Ameaçada de Extinção do Estado do Rio de Janeiro*. Rio de Janeiro, Brasil: Editora da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. p. 113-124.
- Alves, MAS, Storni A, Almeida EM, Gomes VSM, Oliveira CHP, Marques RV, Vecchi MB. 2004. A comunidade de aves na restinga de Jurubatiba. Em: Rocha CFD, Esteves FA, Scarano FR, editores. *Pesquisa de Longa Duração na Restinga de Jurubatiba: Ecologia, História Natural e Conservação*. São Carlos, Brasil: RiMa. p.199-207.
- Amaral FR, Albers PK, Edwards, SV, Miyaki CY. 2013. Multilocus tests of Pleistocene refugia and ancient divergence in a pair of Atlantic Forest antbirds *Myrmeciza*. *Molecular Ecology*, 22: 3996-4013.
- Amaro RC, Carnaval AC, Yonenaga-Yassuda Y, Rodrigues MT. 2012. Demographic processes in the montane Atlantic rainforest: molecular and cytogenetic evidence from the endemic frog *Proceratophrys boiei*. *Molecular Phylogenetic and Evolution*, 63: 880-888.
- Angulo RJ, Lessa GC, de Souza MC. 2006. A critical review of mid- to late-Holocene sea-level fluctuations on the eastern Brazilian coastline. *Quaternary Science Reviews*, 25: 486-506.
- Avice JC. 1998. The history and purview of phylogeography: a personal reflection. *Molecular Ecology*, 7: 371-379.
- Avice JC. 2004. *Molecular Markers, Natural History, and Evolution (Second Edition)*. Sunderland, USA: Sinauer Associates. 684 p.
- Ballard JW, Whitlock MC. 2004. The incomplete natural history of mitochondria. *Molecular Ecology*, 13: 729-744.
- Batalha-Filho H, Cabanne GS, Miyaki CY. 2012. Phylogeography of an Atlantic forest passerine reveals demographic stability through the last glacial maximum. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 65: 892-902.
- Behling H. 2002. South and southeast Brazilian grasslands during Late Quaternary times: a synthesis. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 177: 19-27.
- Bittencourt ACSP, Martin L, Vilas-Boas GS, Flexor JM. 1979. Quaternary marine formations of the coast of the state of Bahia Brazil. Em: Suguio K, Fairchild TR, Martin

- Le, Flexor JM, editors. Proceedings of the International Symposium on Coastal Evolution in the Quaternary. São Paulo, Brasil: Proceedings. p. 232-253.
- Brown KS, Ab'Saber AN. 1979. Ice-ages forest refuges and evolution in the Neotropics: correlation of paleoclimatological, geomorphological, and pedological data with modern biological endemism. *Paleoclimas*, 5: 1–30.
- Bruford MW, Hanotte O, Brookfield JFY, Burke T. 1992. Single-locus and multilocus DNA fingerprinting. Em: Hoelzel AR, editor. *Molecular Genetic Analysis of Populations: A Practical Approach*. New York, USA: Oxford University Press. p. 225-269.
- Bruen TC, Philippe H, Bryant D. 2006. A simple and robust statistical test for detecting the presence of recombination. *Genetics*, 172: 2665–2681.
- Cabanne GS, d'Horta FM, Meyer D, Silva JMC, Miyaki CY. 2011. Evolution of *Dendrocolaptes platyrostris* Aves: Furnariidae between the South American open vegetation corridor and the Atlantic forest. *Biological Journal of the Linnean Society*, 103: 801-820.
- Cabanne GS, d'Horta FM, Sari EHR, Santos FR, Miyaki CY. 2008. Nuclear and mitochondrial phylogeography of the Atlantic forest endemic *Xiphorhynchus fuscus* Aves: Dendrocolaptidae: biogeography and systematics implications. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 49: 760-773.
- Cabanne GS, Santos F, Miyaki CY. 2007. Phylogeography and demographic history of *Xiphorhynchus fuscus* Passeriformes: Dendrocolaptidae in the southern Atlantic forest of Brazil and Argentina. *Biological Journal of the Linnean Society*, 91: 73-84.
- Carnaval AC, Hickerson MJ, Haddad CFB, Rodrigues MT, Moritz C. 2009. Stability predicts genetic diversity in the Brazilian Atlantic forest hotspot. *Science*, 3235915:785-789.
- Carnaval AC, Moritz C. 2008. Historical climate modeling predicts patterns of current biodiversity in the Brazilian Atlantic forest. *Journal of Biogeography*, 35:1187-1201.
- Caro LM, Caycedo - Rosales PC, Bowie RCK, Slabbekoorn HE, Cadena CD. 2013. Ecological speciation along an elevational gradient in a tropical passerine bird? *Journal of Evolutionary Biology*, 26: 357-374.
- Cody M. 2005. Familia Mimidae. Em: Del Hoyo J, Elliott A, Christie DA, editors. *Handbook of the Birds of the World*, Vol 10. Barcelona, España: Lynx Ediciones. p. 448-495.
- Dantas GP, Cabanne GS, Santos RF. 2011. How past vicariant events can explain the Atlantic forest biodiversity? Em: Grillo O, Venora G, editors. *Ecosystems Biodiversity*. Rijeka, Croatia: Publisher Intech. p. 429-442.
- Dantas GP, Sari REH, Cabanne GS, Pessoa RO, Marini MA, Miyaki CY, Santos RF. 2015. Population genetic structure of the Atlantic Forest endemic *Conopophaga lineata*

Passeriformes: Conopophagidae reveals a contact zone in the Atlantic Forest. *Journal of Ornithology*, 156: 85-99.

D'Horta FM, Cabanne GS, Meyer DD, Miyaki CY. 2011. The genetic effects of Late Quaternary climatic changes over a tropical latitudinal gradient: diversification of an Atlantic Forest passerine. *Molecular Ecology*, 20: 1923-1935.

Drummond AJ, Suchard MA, Xie D, Rambaut A. 2012. Bayesian phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7. *Molecular Biology and Evolution*, 29: 1969-1973.

Endler, JA. 1977. Geographic variation, speciation, and clines. *Monographs in Population Biology*, 10: 1-246.

Evanno G, Regnaut S, Goudet J. 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology*, 14: 2611-2620.

Excoffier L, Lischer HEL. 2010. Arlequin suite ver 35: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, 10: 564-567.

Excoffier L, Smouse PE, Quattro JM. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, 131: 479-491.

Fernandes AM, Wink M, Aleixo A. 2012. Phylogeography of the chestnut-tailed antbird *Myrmeciza hemimelaena* clarifies the role of rivers in Amazonian biogeography. *Journal of Biogeography*, 39: 1524-1535.

Friesen VL, Congdon BC, Walsh HE, Birt TP. 1997. Intron variation in marbled murrelets detected using analyses of single-stranded conformational polymorphisms. *Molecular Ecology*, 6: 1047-1058.

Fu YX. 1997. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics*, 147: 915-925.

Funk DJ, Omland KE. 2003. Species-level paraphyly and polyphyly: frequency, causes, and consequences, with insights from animal mitochondrial DNA. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 34: 397-423.

Gonzaga LP, Castiglioni GDA, Reis HBR. 2000. Avifauna das restingas do Sudeste: estado do conhecimento e potencial para futuros estudos. Em: Esteves FA, Lacerda LD, editores. *Ecologia de Restingas e Lagoas Costeiras*. Macaé, Brasil: NUPEM/UFRJ. p. 151-163.

Grant PR, Grant BR. 1997. Genetics and the origin of bird species. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*, 94: 7768-7775.

Haffer J. 1969. Speciation in Amazonian forest birds. *Science*, 165: 131-137.

- Haffer J. 1977. Alternative models of vertebrate speciation in Amazonia: an overview. *Biodiversity and Conservation*, 6:451–476.
- Harrigan RJ, Mazza ME, Sorenson MD. 2008. Computation vs cloning: evaluation of two methods for haplotype determination. *Molecular Ecology Resources*, 8: 1239-1248.
- Hellmayr CE. 1934. *Catalogue of the Birds of the Americas V.13*. Chicago, USA: Field Museum of Natural History. 531 p.
- Hewitt G. 2004. Genetic consequences of climatic oscillations in the Quaternary. *Philosophical Transactions of the Royal Society*, 359: 183-195.
- Higgins D, Thompson J, Gibson T, Thompson JD, Higgins DG, Gibson TJ. 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.
- Hickerson MJ, Dolman G, Moritz C. 2006. Comparative phylogeographic summary statistics for testing simultaneous vicariance. *Molecular Ecology* 15: 209–223.
- Holsinger KE. 2012. *Lecture Notes in Population Genetics*. Storrs, USA: University of Connecticut. 325 p.
- Hudson RR, Slatkin M, Maddison WP. 1992. Estimation of levels of gene flow from DNA sequence data. *Genetics*, 132: 583 – 589.
- Hudson R, Kaplan N. 1985. Statistical properties of the number of recombination events in the history of a sample of DNA sequences. *Genetics*, 111: 147-164.
- Huson DH, Bryant D. 2006. Application of phylogenetic networks in evolutionary studies. *Molecular Biology and Evolution*, 23: 254-267.
- Irion G, de Morais JO, Bungenstock F. 2012. Holocene and Pleistocene sea-level indicators at the coast of Jericoacoara, Ceará, NE Brazil. *Quaternary Research*, 77: 251-257.
- Lacerda DR, Marini MA, Santos FR. 2007. Mitochondrial DNA corroborates the species distinctiveness of the Planalto *Thamnophilus pelzelni* Hellmayr, 1924, the Sooretama *T. ambiguus* Swainson, 1825 Slaty-antshrikes Passeriformes: Thamnophilidae. *Brazilian Journal of Biology*, 67: 873-882.
- Lessa EP, Cook JA, Patton JL. 2003. Genetic footprints of demographic expansion in North America, but not Amazonia, during the Late Quaternary. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100: 10331-10334.
- Lessa EP, D' Elia G, Pardiñas UFJ. 2010. Genetic footprints of late Quaternary climate change in the diversity of Patagonian-Fuegian rodents. *Molecular Ecology*, 19: 3031-3037.

- Martin L. 2003. Holocene Sea-Level History Along Eastern-Southeastern Brazil. *Anuário do Instituto de Geociências - UFRJ*, 26: 13 – 24.
- Librado P, Rozas J. 2009. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 25: 1451-1452.
- Lovette IJ, Arbogast BS, Curry RL, Zink RM, Botero CA, Sullivan JP, Talaba AL, Harris RB, Rubenstein DR, Ricklefs RE, Bermingham E. 2012. Phylogenetic relationships of the mockingbirds and thrashers Aves: Mimidae. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 63: 219-229.
- Lynch M, Crease TJ. 1990. The analysis of population survey data on DNA sequence variation. *Molecular Biology and Evolution*, 7: 377 – 394.
- Maldonado-Coelho M. 2012. Climatic oscillations shape the phylogeographical structure of Atlantic Forest fire-eye antbirds Aves: *Thamnophilidae*. *Biological Journal of the Linnean Society*, 105: 900-924.
- Maldonado-Coelho M, Blake JG, Silveira LF, Batalha-Filho H, Ricklefs RE. 2013. Rivers, refuges and population divergence of fire-eye antbirds *Pyriglena* in the Amazon Basin. *Journal of Evolutionary Biology*, 26: 1090-1107
- Martins FM, Domingues MV. 2011. Filogeografia. Em: Carvalho CJV, Almeida EAB, editores. *Biogeografia da América do Sul, Padrões e Processos*. São Paulo, Brasil: Editora Roca. p. 137-150.
- McKay BD, Zink RM. 2010. The causes of mitochondrial DNA gene tree paraphyly in birds. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 54: 647-650.
- Meyer de Schauensee R. 1966. *The Species of Birds of South America and Their Distribution*. Narberth, USA: Livingston Publishing Co. 577 p.
- Milá B, McCormack JE, Castañeda G, Wayne RK, Smith TB. 2007. Recent postglacial range expansion drives the rapid diversification of a songbird lineage in the genus *Junco*. *Proceedings of Royal Society B*, 274:, 2653-2660.
- Milá B, Wayne K, Fitze Pe, Smith TB. 2009. Divergence with gene flow and fine-scale phylogeographical structure in the wedge-billed woodcreeper, *Glyphorynchus spirurus*, a Neotropical rainforest bird. *Molecular Ecology*, 18: 2979-2995.
- Miller MJ, Bermingham E, Klicka J, Escalante P, Winker K. 2010. Neotropical birds show a humped distribution of within-population genetic diversity along a latitudinal transect. *Ecology Letters*, 13: 576-586.
- Morais JO, Irion GF, Pinheiro LS, Kasbohm J. 2009. Preliminary results on Holocene on Ceará coast / Brazil. *Journal of Coastal Research*, 56: 646 – 649.
- Morais Pessoa R. 2012. *Biologia e sucesso reprodutivo do Sabiá-da-praia *Mimus gilvus* Aves: Mimidae no sudeste Brasileiro*. Dissertação de Mestrado em Ecologia de ecossistemas. Universidade Vila Velha, Espírito Santo.

Mustrangi MA, Patton JL. 1997. Phylogeography and systematics of the slender mouse Opossum *Marmosops* Marsupialia: Didelphidae. University of California Publications in Zoology, Vol 130. Berkeley, USA: University of California Press. 96 p.

Nei M. 1987. Molecular Evolutionary Genetics. New York, USA: Columbia University Press. 512 p.

Nosil P, Harmon LJ, Seehausen O. 2009. Ecological explanations for (incomplete) speciation. Trends in Ecology and Evolution, 24: 145-156.

Patwardhan A, Ray S, Roy A. 2014. Molecular markers in phylogenetic studies-a review. Phylogenetics & Evolutionary Biology, 2: 131. doi:10.4172/23299002.1000131.

Pinho C, Harris DJ, Ferrand N. 2007. Contrasting patterns of population subdivision and historical demography in three western Mediterranean lizard species inferred from mitochondrial DNA variation. Molecular Ecology, 16: 1191-1205.

Porlier M, Garant D, Perret P, Charmantier A. 2012. Habitat-linked population genetic differentiation in the Blue Tit *Cyanistes caeruleus*. Journal of Heredity, 103: 781-791.

Primmer CR, Borge T, Lindell J, Saetre GP. 2002. Single-nucleotide polymorphism characterization in species with limited available sequence information: high nucleotide diversity revealed in the avian genome. Molecular Ecology, 11: 603-612.

Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. Genetics, 155: 945-959.

Ribas CC, Aleixo A, Nogueira ACR, Miyaki CY, Cracraft J. 2012. A palaeobiogeographic model for biotic diversification within Amazonia over the past three million years. Proceedings of the Royal Society B, 279: 681-689.

Sandoval-Castro E, Dodd RS, Riosmena-Rodríguez R, Enríquez-Paredes LM, Tovilla-Hernández C, López-Vivas JM, Aguilar-May B, Muñiz-Salazar, R. 2014. Post-glacial expansion and population genetic divergence of mangrove species *Avicennia germinans* (L.) Stearn and *Rhizophora mangle* L. along the exican coast. PLoS ONE, 94: e93358.

Sgariglia EA, Burns KJ. 2003. Phylogeography of the California Thrasher (*Toxostoma redivivum*) based on nested-clade analysis of mitochondrial DNA variation. The Auk, 120: 346-361.

Simon JE, Antas PTZ, Pacheco JF, Efe MA, Ribon R, Raposo MA, Laps RR, Musso C, Passamani JÁ, Paccagnella SG. 2007. As aves ameaçadas de extinção no estado do Espírito Santo. Em: Passamani M, Mendes SL, editores. Espécies da Fauna Ameaçadas de Extinção no Estado do Espírito Santo. Vitória, Brasil: Instituto de Pesquisas da Mata Atlântica. p. 47-59.

Smith TB, Wayne RK, Girman DJ, Bruford MW. 1997. A role for ecotones in generating rainforest biodiversity. Science, 276: 1855-1857.

- Smith TB, Schneider CJ, Holder K. 2001. Refugial isolation versus ecological gradients. *Genetica*, 112: 383-398.
- Smith TB, Calsbeek R, Wayne RK, Holder KH, Pires D, Bardeleben C. 2004. Testing alternative mechanisms of evolutionary divergence in an African rain forest passerine bird. *Journal of Evolutionary Biology*, 18: 257-268.
- Sorenson MD, Ast JC, Dimcheff DE, Yuri T, Mindell DP. 1999. Primers for a PCR-based approach to mitochondrial genome sequencing in birds and other vertebrates. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 12: 105-114.
- Stephens M, Smith N, Donnelly P. 2001. A new statistical method for haplotype reconstruction from population data. *The American Journal of Human Genetics*, 68: 978-989.
- Stone JL, Crystal PA, Devlin EE, Downer RH, Cameron DS. 2012. Highest genetic diversity at the northern range limit of the rare orchid *Isotria medeoloides*. *Heredity*, 109: 215-221.
- Suguio K, Martin L. 1976. Brazilian coastline quaternary formations - the states of São Paulo and Bahia littoral zone evolutive schemes. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 48(suplemento): 325 – 334.
- Suguio K, Tessler MG. 1984. Planícies de cordões litorâneos quaternários do Brasil: origem e nomenclatura. Em: Lacerda LD, Araújo DSD, Cerqueira R, Turcq B, editores. *Restingas: Origem, Estrutura, Processos*. Rio de Janeiro, Brasil: UFF. p. 15-25.
- Suguio K, Martin L, Bittencourt A, Dominguez JML, Flexor J-M, De Azevedo AEG. 1985. Flutuações do nível relativo do mar durante o quaternário superior ao longo do litoral brasileiro e suas implicações na sedimentação costeira. *Revista Brasileira de Geociências*, 15: 273 – 286.
- Tajima F. 1989. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics*, 123: 585-595.
- Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipski A, Kumar S. 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, 30: 2725-2729.
- Tavares ES, Baker AJ. 2008. Single mitochondrial gene barcodes reliably identify sister-species in diverse clades of birds. *BMC Evolutionary Biology*, 8: 81.
- van Els P, Spellman GM, Smith BT, Klicka J. 2014. Extensive gene flow characterizes the phylogeography of a North American migrant bird: Black-headed Grosbeak *Pheucticus melanocephalus*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 78: 148-159.
- Vanzolini PE, Williams EE. 1970. South American anoles: the geographic differentiation and evolution of the *Anolis chrysolepis* species group Sauria: iguanidae. *Arquivos de Zoologia*, 19: 1-298.

Vilaça ST, Santos FR. 2010. Biogeographic history of the species complex *Basileuterus culicivorus* (Aves, Parulidae) in the Neotropics. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 57: 585–597.

Wallace AR. 1852. On the monkeys of the Amazon. *Proceedings of the Zoological Society of London*, 20: 107-110.

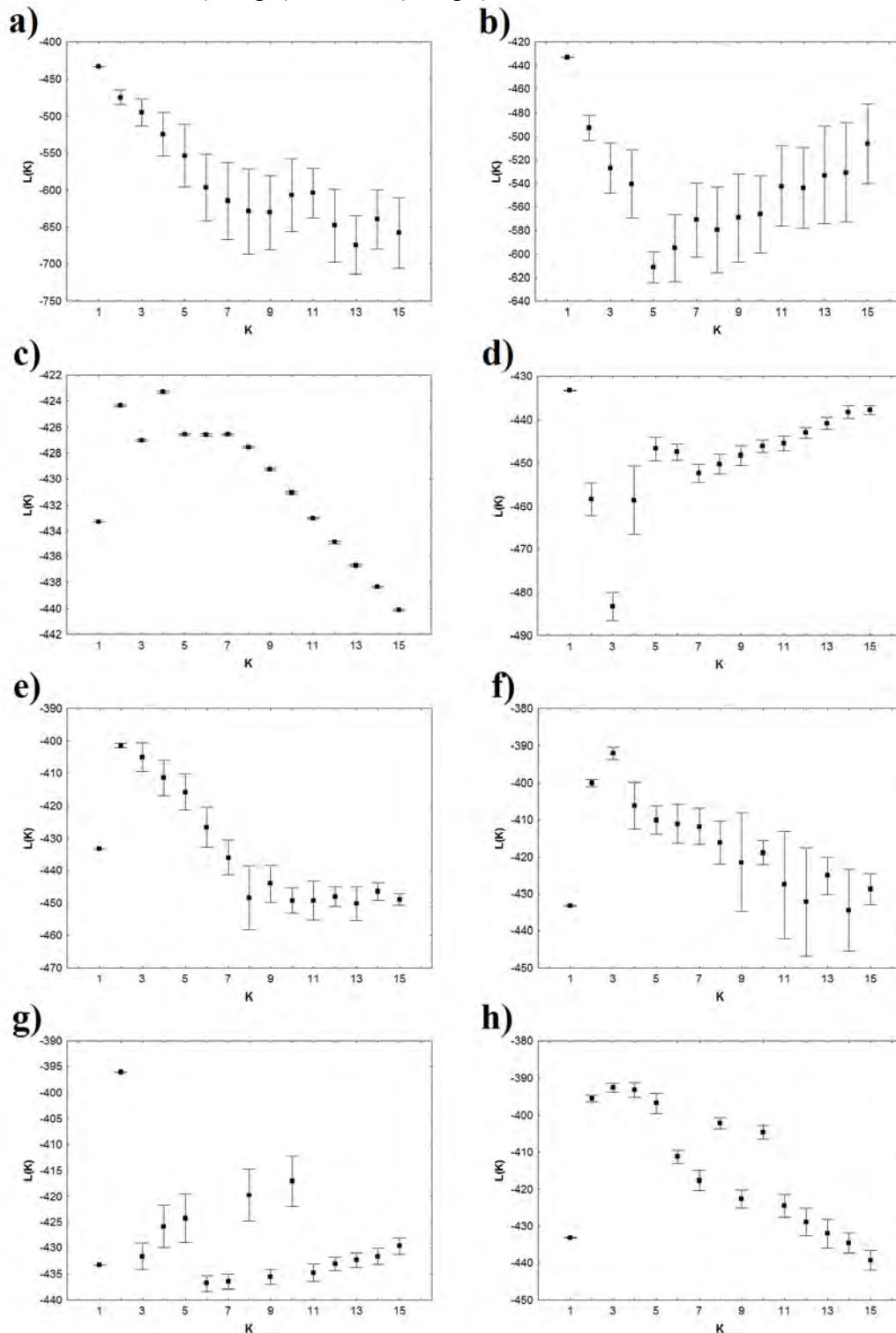
Weir JT, Schluter D. 2008. Calibrating the avian molecular clock. *Molecular Ecology*, 17: 2321-2328.

Zanon MS. 2010. Distribuição, tamanho populacional e conservação de *Mimus gilvus* Aves: Mimidae no estado do Rio de Janeiro. Dissertação de Mestrado em Ecologia e Evolução. Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

Zanon MS, Vale MM, Alves MAS. 2015. Missing for the last twenty years: the case of the southernmost populations of the Tropical Mockingbird *Mimus gilvus* (Passeriformes: Mimidae). *Zoologia*, 32: 1–8.

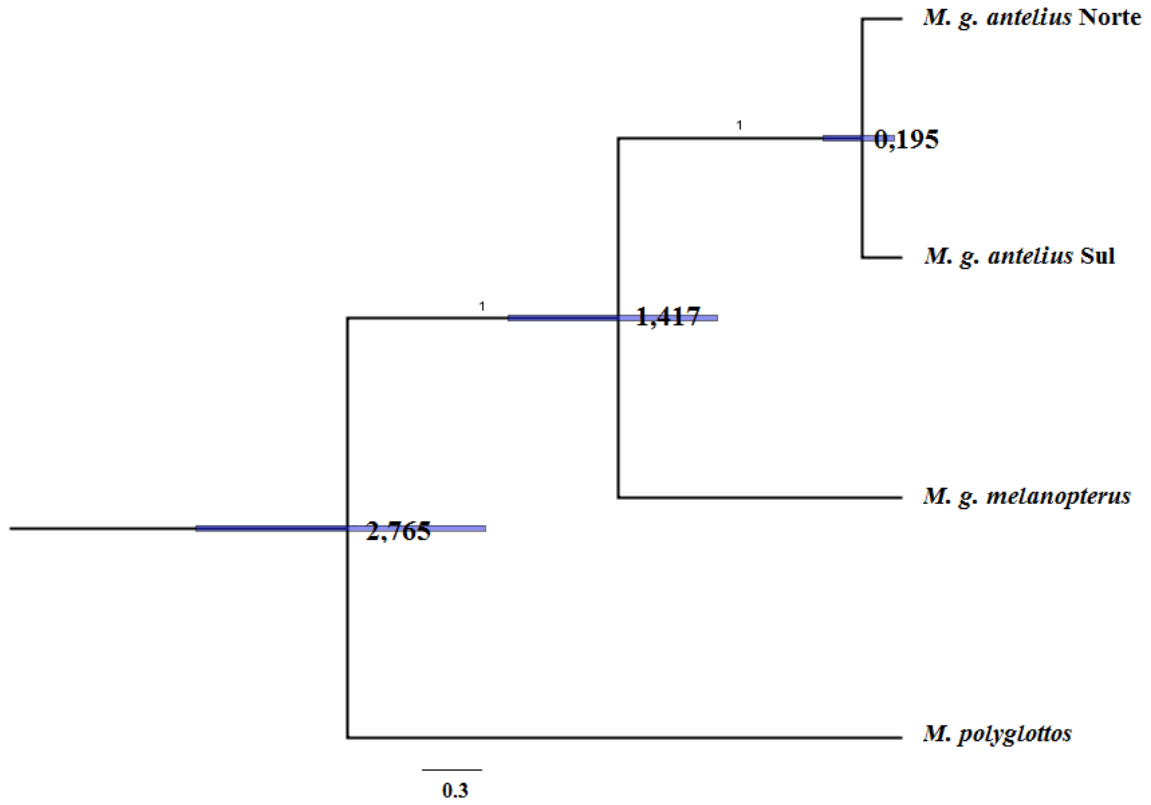
Zink RM, Blackwell-Rago RC. 2000. Species limits and recent population history in the curve-billed thrasher. *The Condor*, 102: 881–886.

Anexo 1 – Valores de probabilidade média de cada K [L(K)] obtida de 20 corridas no STRUCTURE para *Mimus gilvus* baseado em seqüências de TGF (521 pb), GAPHD (359 pb) e FIB-7 (814 pb).



Legenda: a) e b) Valores obtidos a partir do modelo de ancestralidade misturado usando o modelo de frequência alélica independente e a frequência alélica correlacionada, respectivamente; c) e d) Valores obtidos a partir do modelo de ancestralidade não misturado usando o modelo de frequência alélica independente e a frequência alélica correlacionada, respectivamente; e) e f) Valores obtidos a partir dos mesmos modelos empregados em a) e b), mas assumindo o LOCPRIOR; g) e h) Valores obtidos a partir dos mesmos modelos empregados em c) e d), mas assumindo o LOCPRIOR.

Anexo 2 – Inferência bayesiana de tempos de divergência das linhagens de *Mimus gilvus antelius* baseada em 934 pb do marcador mitocondrial ND2, incluindo outra subespécie de *Mimus gilvus* (*M. g. melanopterus*) e o táxon irmão *Mimus polyglottos* que foram usados como grupos externos.



Legenda: Barras azuis indicam intervalo de 95% de confiança do tempo em milhão de anos. Números sobre os ramos indicam os valores de probabilidade posterior.

2 VARIACÃO MORFOLÓGICA DE *Mimus gilvus* NO BRASIL: CONCORDÂNCIA COM A VARIACÃO GENÉTICA E A REGRA DE BERGMANN.

Resumo

A variação de uma espécie por meio de um gradiente geográfico tem sido um dos enfoques de estudo dos biólogos evolutivos, interessados em revelar as causas desta variação. Diferentes processos como a deriva, o fluxo gênico, a seleção natural e sua interação com o ambiente podem influenciar a maneira com que uma espécie varia e se estrutura no espaço. O sabiá-da-praia (*Mimus gilvus*) é uma espécie que apresenta ampla faixa latitudinal na sua distribuição no Brasil, sendo um modelo interessante para o estudo da variação morfológica, suas possíveis causas e relações com a variabilidade genética e algumas condições ambientais. A fim de abordar estas premissas, no presente trabalho foram formuladas as seguintes perguntas: i) há variação morfométrica entre os indivíduos de diferentes populações? ii) a variação morfométrica é concordante com a variação genética?, iii) a variação morfométrica foi causada por um isolamento por distância ou por isolamento por adaptação? e iv) a variação morfológica se ajusta à regra biogeográfica de Bergmann? Para isto, foram escolhidos nove pontos de amostragem abarcando a área de distribuição do *Mimus gilvus* no Brasil, desde Roraima até o extremo sul de sua distribuição na Ilha de Marambaia - Rio de Janeiro. Para cada indivíduo coletado nas diferentes localidades estudadas, foram realizadas medidas morfológicas padrão em aves (comprimento total, comprimento da asa, comprimento da cauda, comprimento do tarso, cúlmen exposto, narina-ponta, largura e altura da base do bico, largura e altura da narina e comprimento da cabeça à ponta do bico), incluindo o peso. Com os dados genéticos de estudos prévios (ver capítulo 1) foram obtidas distâncias genéticas e com os dados obtidos da base do WorldClim se obtiveram distâncias euclidianas ambientais. A variação morfométrica foi analisada por análises de variância, modelos mistos e análise da função discriminante. Os dados morfométricos, genéticos e climáticos foram relacionados a partir de testes multiplex de Mantel e por meio de análises de correlação e regressão linear, sendo comprovados o ajuste das medidas morfométricas à regra de Bergmann. Os resultados mostraram uma forte concordância entre os dados morfométricos e genéticos, havendo separação em três linhagens (Norte 1 - Boa Vista, Norte 2 - Icapuí e Salinas e Sul – localidades desde a Praia do Forte até Ilha de Marambaia). Se estabeleceu que a interação entre a distância geográfica e o comportamento de sedentarismo, pode ter gerado uma redução no fluxo gênico nas populações de *M. gilvus* no Brasil, direcionado aos processos de divergência genética e fenotípica num padrão de isolamento por distância e não por adaptação.

Finalmente, se mostrou uma forte relação negativa entre o tamanho corpóreo (peso, comprimento total e escores discriminantes) com a temperatura, sugerindo um processo de adaptação local, que reforça a divergência pela diminuição do fluxo gênico devido às distâncias geográficas entre as populações (isolamento por distância).

2.1 Introdução

Um dos tópicos importantes para a biologia evolutiva tem sido como os organismos variam geograficamente, devido às relações achadas entre a variação geográfica e os processos de especiação (Podós e Warren 2007). Os estudos da variação morfológica em gradientes geográficos entre populações da mesma espécie têm sido utilizados para evidenciar processos de especiação, delimitar os limites entre táxons, entender como os processos adaptativos geram diferenças entre as populações e revelar padrões ecogeográficos (e.g. Zink e Remsen 1986, Escalante-Pliego e Townsend 1992, Brumfield e Remsen 1996, Sattler e Braun 2000, Grant e Grant 2006, Marantz e Patten 2010, Hernández et al. 2011). O fato de que uma espécie se distribui por meio de um gradiente geográfico como a latitude, por exemplo, implica em mudança nas condições ambientais e em uma adaptação local dos indivíduos; as diferenças geográficas encontradas nestes indivíduos são o resultado de um acúmulo gradual de pequenas trocas genéticas os quais conferem adaptação a ambientes específicos (ver Zink e Remsen 1986). Nestes casos a seleção natural é o mecanismo principal da evolução adaptativa (Siepielski et al. 2009) e tem sido catalogada como a responsável pela elevada diversificação fenotípica observada na natureza (Rieseberg et al. 2002), sendo uma das forças principais na direção da divergência populacional e os processos de especiação (Futuyma 1997, Felsenstein 2005).

Usualmente as análises genéticas buscam determinar se as diferenças genéticas são produtos da adaptação considerando tipicamente suas consequências fenotípicas (Orr 1998). Na atualidade são numerosos os trabalhos que contrastam as variações fenotípicas geográficas (subespécies) de uma espécie, estabelecidas previamente por meio de caracteres morfológicos em conjunto com resultados das avaliações da estrutura genética e a divergência de linhagens (e.g. Milá et al. 2007, Cabanne et al.

2008, d'Horta et al. 2011, Lozano-Jaramillo et al. 2014, Rocha et al. 2015). Em casos onde os processos de divergência estão avançados, as linhagens genéticas mostram uma marcada correlação com as descrições morfológicas. Entretanto, quando a divergência é recente e ainda se apresenta ou não fluxo gênico, os resultados são contraditórios (Smith *et al.* 2004, Mila et al. 2009, Cabanne et al. 2011, Caro et al. 2013).

As relações entre a variação morfológica e genética ainda não são totalmente entendidas (e.g. Smith et al. 2004, Cabanne et al. 2011, Spurgin et al. 2014), porque existem outras variáveis que atuam nos processos de diferenciação tornando mais complexa o enquadramento das relações (Thomassen et al. 2009, Orsini et al. 2013a, 2013b, Egan et al. 2015). O fenótipo é resultante da interação entre o genótipo e o ambiente, e é este último quem envolve outra série de fatores como o clima, a altitude, a vegetação, a competência, entre outros que complicam tal entendimento. A divergência fenotípica e genética entre as populações podem ser o produto de eventos relacionados com a deriva genética, o fluxo gênico e a seleção em um contexto ambiental e espacial (Orsini et al. 2013a, Spurgin et al. 2014).

Orsini e colaboradores (2013a) descreveram três padrões principais pelos quais se pode produzir diferenciação genética entre populações: a) Padrão de isolamento por distância, que se fundamenta na concepção de que populações próximas tendem a ter maior quantidade de eventos de migração, ou seja, maior fluxo gênico. Por isso, a diferenciação genética entre populações associada com maiores distâncias geográficas é resultado de uma redução no fluxo gênico; b) Isolamento por adaptação, que ocorre devido à seleção em paisagens naturais dirige a adaptação local em populações naturais. Como resultado desta adaptação, o fluxo gênico entre habitats ecologicamente divergentes é reduzido, atuando como uma barreira para a migração; c) Isolamento por colonização, que se fundamenta na história da colonização (eventos fundador) e pode ser causado por processos ecológicos (efeitos prioritários) e evolutivos (adaptação) ou sua interação. Quando a adaptação reforça o efeito fundador, a adaptação se torna persistente na paisagem devido à redução do fluxo gênico entre todos os habitats, conduzindo a um típico cenário de monopolização. Estes padrões podem ser testados com dados morfológicos e gerar fortes concordâncias com dados genéticos (Spurgin et al. 2014).

Desde uma perspectiva ecológica, os estudos da variação morfológica têm descrito diferentes padrões dos quais se destaca a regra de Bergmann, que estabelece a relação inversa entre o tamanho do corpo com a temperatura ambiental, de modo que o tamanho do corpo aumenta com a latitude (Olson et al. 2009). Diversos estudos confirmam este padrão para diferentes grupos animais (Ashton et al., 2000, Ashton 2002b, Ashton e Feldman 2003, Meiri e Dayan 2003, Meiri et al. 2007), principalmente homeotermos, destacando-se as aves (e.g. Graves 1991, Salewski et al. 2010, Gutiérrez-Pinto et al. 2014), para as quais Ashton (2002a) e Olson e colaboradores (2009) em uma revisão global encontraram uma forte relação entre o tamanho do corpo e a temperatura. Bergmann argumentou que espécies que apresentam corpos maiores, aumentam assim a conservação do calor em climas mais frios (Olson et al. 2009, Stillwell 2010), embora Olson e colaboradores (2009) estabelecessem que este padrão no nível global está conduzido pelas interações entre as demandas fisiológicas, a disponibilidade de recursos, a riqueza de espécies e a rotatividade taxonômica entre linhagens.

O sabiá-da-praia (*Mimus gilvus*) apresenta uma ampla distribuição no Brasil, estendendo-se desde as latitudes 2° norte até os 23° sul, ocupando diferentes tipos de habitats em duas subespécies reconhecidas (Cody 2005). Para o Norte, em Roraima, o táxon *M. g. melanopterus* (Lawrence 1849) habita áreas abertas antropogênicas e a savana Amazônica, no entanto separados aparentemente pelo rio Amazonas, encontra-se *M. g. antelius* (Oberholser 1919) restrito ao litoral desde o Pará até o Rio de Janeiro, ocupando áreas de vegetação natural aberta de Caatinga e de Mata Atlântica. Devido a estas condições, o sabiá-da-praia é um modelo ecológico e evolutivo interessante para o estudo da variação morfológica num gradiente ambiental.

O objetivo deste capítulo é avaliar a variação morfométrica do sabiá-da-praia *M. gilvus* no Brasil abordando as possíveis causas desta variação. As hipóteses, portanto, deste capítulo são: i) A variação morfométrica dos indivíduos do sabiá-da-praia são concordantes com as linhagens encontradas nos estudos de filogeografia; ii) A variação morfométrica é coincidente com um padrão de isolamento por distância e não por adaptação e iii) espera-se que a variação nas medições do tamanho corpóreo (peso e comprimento total) estejam relacionadas positivamente com o incremento na latitude e negativamente com a temperatura média anual.

2.2 Métodos

2.2.1 Localidades de estudo

Foram amostradas nove localidades de ocorrência de *Mimus gilvus* nos seguintes estados do Brasil: Roraima, Pará, Ceará, Bahia, Espírito Santo e Rio de Janeiro (Figura 7). Na Tabela 4 são especificadas as coordenadas geográficas, as localidades e o bioma de amostragem. De Pará até o Rio de Janeiro a subespécie *M. g. antelius* se distribui no litoral, em diferentes tipos de vegetação, inclusive em áreas antrópicas. Particularmente, os indivíduos de Setiba, Jurubatiba e Marambaia se restringem ao hábitat de restinga. A subespécie *M. g. melanopterus* foi encontrada dentro da cidade de Boa Vista, em diversos hábitats abertos, incluindo áreas antropizadas.

2.2.2 Métodos de campo e medições morfológicas

Em cada localidade foram capturados tantos indivíduos até completar aproximadamente 36 horas de esforço amostral ou até se conseguir um mínimo de 15 indivíduos. Os indivíduos foram capturados utilizando-se redes de neblina junto com o método de *play back* (reprodução da vocalização da espécie) com indivíduos gravados na mesma localidade. Ao serem capturadas, as aves foram colocadas individualmente em sacos de algodão limpos e marcadas com anilhas metálicas fornecidas pelo CEMAVE (licença de anilhamento CEMAVE/ICMBio número 1237). Para cada ave foram tomadas as seguintes medidas morfométricas: comprimento total, comprimento da asa, comprimento da cauda, comprimento do tarso, cúlmen exposto, narina-ponta, largura e altura da base do bico, largura e altura da narina e comprimento da cabeça à ponta do bico (Sick 1997, Figura 8). Adicionalmente, o peso foi obtido. Os dados morfométricos foram sempre medidos pelo autor, usando sempre os mesmos tipos de instrumentos de medição (dinamômetro tipo Pesola® de 100 g; paquímetro Mitutoyo de

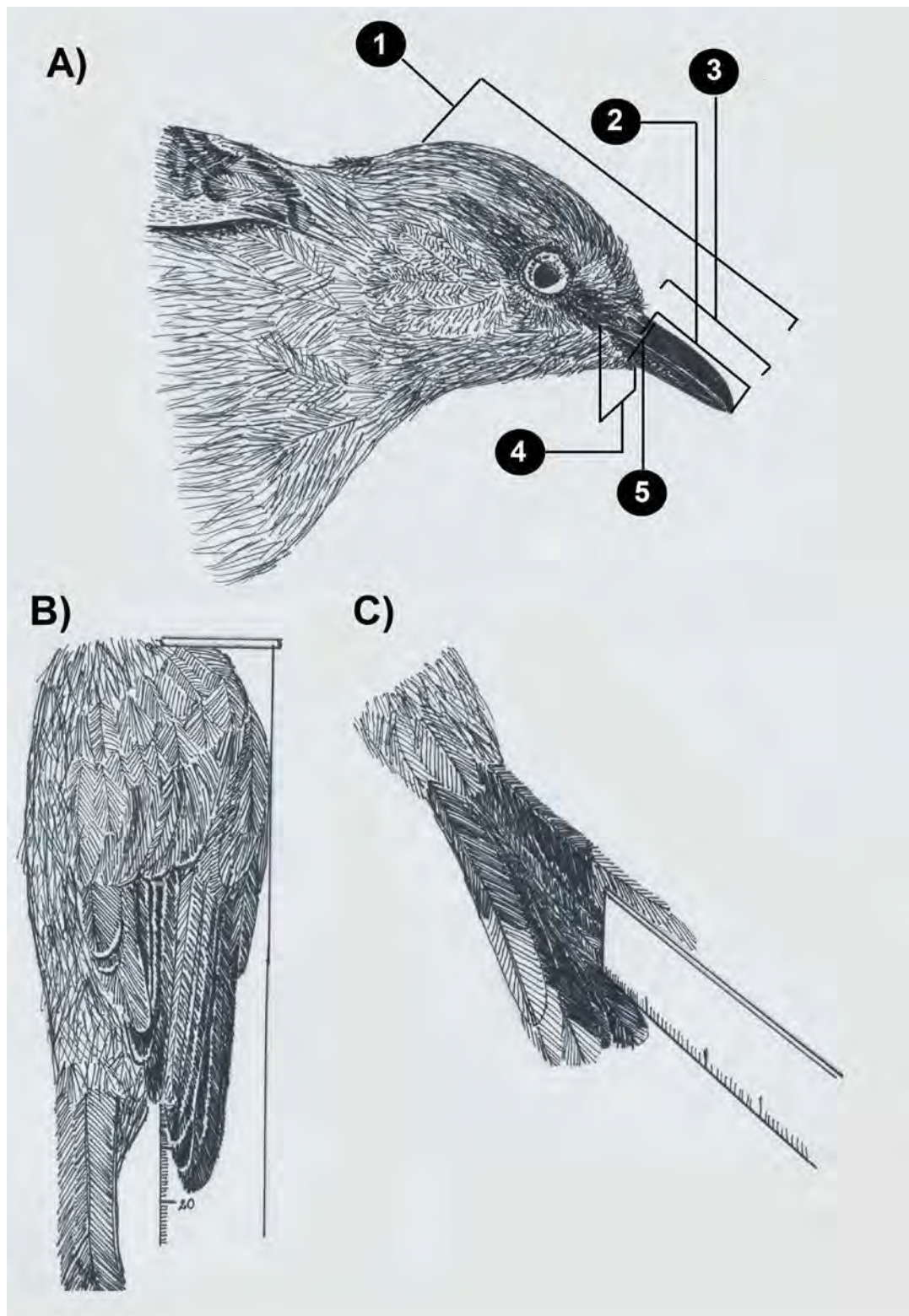
0.1 mm). As coletas foram feitas principalmente na época reprodutiva da ave entre outubro e dezembro de 2012 e 2013. A captura de indivíduos da espécie foi autorizada por SISBIO com o número 37070-7.

Figura 7 – Localização dos pontos de amostragem de *Mimus gilvus* no Brasil.



Legenda: os números correspondem aos indicados na Tabela 1.

Figura 8 – Algumas medidas morfométricas obtidas para *Mimus gilvus* no Brasil.



Legenda: A) Medições da cabeça e bico (1= comprimento da cabeça à ponta do bico, 2= narina-ponta, 3= cúlmen exposto, 4= largura da base do bico, altura da narina). B) comprimento da asa; C) comprimento da cauda.

Tabela 4 – Localidades amostradas de *Mimus gilvus* no Brasil.

No	Id	Latitude (N/S)	Longitude (W)	Estado	Município	Local	Bioma	N
1	BOA	02° 50' 35.9" N	60° 39' 58.0"	RO	Boa Vista	Cidade de Boa Vista, Prédio Masayoshi Eda	Amazônia	26
2	SA	00° 36' 22.6" S	47° 22' 22.3"	PA	Salinas	Praia Maçarico	Amazônia	6
3	ICA	04° 39' 46.5" S	37° 26' 25.5"	CE	Icapuí	Praia de Icapuí	Caatinga	18
4	PF	12° 35' 03.5" S	38° 01' 01.1"	BA	Lauro de Freitas	Praia do Forte	Mata Atlântica	15
5	PS	16° 26' 20.0" S	39° 03' 59.6"	BA	Porto Seguro	Porto Seguro	Mata Atlântica	8
6	CO	18° 34' 40.3" S	39° 44' 08.0"	ES	Conceição da Barra	Praia de Guaxindiba	Mata Atlântica	14
7	SE	020° 34' 44.8" S	40° 25' 23.9"	ES	Guarapari	Setiba	Mata Atlântica	11
8	JB	022° 16' 41.6" S	41° 39' 05.4"	RJ	Carapebus	Restinga de Jurubatiba	Mata Atlântica	10
9	MB	023° 02' 17.5" S	43° 53' 22.4"	RJ	Rio de Janeiro	Ilha de Marambaia	Mata Atlântica	6

Legenda: Id = número da localidade na Figura 1; N = número de indivíduos amostrados.

Foram utilizados apenas adultos para as análises morfométricas e as fêmeas grávidas foram excluídas das análises de comparação de peso. Para a identificação de ninhegos, jovens e adultos foram seguidos os padrões de identificação propostos em diversos manuais de monitoramento de aves terrestres (Ralph et al. 1993, Wunderle 1994, Ralph et al. 1996). Por exemplo, os jovens formam diferenciados por seus atributos na plumagem (pouco desgaste das penas, cor da plumagem e muda), por seu tamanho corpóreo geral menor em relação aos adultos, cor amarela intensa na comissura lateral do bico, a cor do interior do bico é mais pálida e a inspeção da ossificação craniana que para o caso dos jovens é incompleta. Os jovens não apresentam características de adultos como placa de incubação e protuberância cloacal. Sick (1997) descreve que para *M. gilvus* os juvenis apresentam estrias escuras nos flancos e cor de íris castanho-escuras, mais avermelhadas na medida em que aumenta a idade. Os jovens podem apresentar vários canhões de penas nascendo (evidência de ocorrência de muda na cauda) e também asas curtas e manchas no peito (Figura 9).

Figura 9 – Fotografias de um filhote (abaixo) e um jovem (acima) de *Mimus gilvus* em Porto Seguro e Boa Vista, respectivamente, no Brasil.



2.2.3 Dados genéticos

Foram empregadas as sequências mitocondriais concatenadas dos marcadores ND2 e COI utilizadas previamente nas análises filogeográficas do sabiá-da-praia *M. gilvus antelius* (ver capítulo 1). As sequências relativas a 11 indivíduos da localidade Boa Vista (Roraima) *M. gilvus melanopterus* foram obtidas seguindo o método descrito no capítulo 1. Para a construção da matriz de distâncias genéticas foi calculada a diferenciação genética entre pares ao nível populacional como o $F_{ST}/(1-F_{ST})$ (Slatkin 1995) em Arlequin 3.5 (Excoffier e Lischer 2010).

2.2.4 Análises estatísticas

A fim de se avaliar o cumprimento da regra de Bergmann foram feitas diversas regressões lineares entre distintas variáveis morfológicas relacionadas com o tamanho corpóreo, a latitude e a temperatura média anual, empregando o programa Statistica 7.0 (StatSoft). As coordenadas de cada ponto de amostragem foram empregadas para obter

os dados de temperatura, precipitação e demais variáveis climáticas na base de dados WorldClim (Hijmans et al., 2005).

Para revelar a existência de diferenças estatísticas nas medições dos indivíduos entre localidades, se utilizou o teste de análise de variância não paramétrico Kruskal-Wallis e seu teste de comparação multiplex par a par implementado no programa InfoStat (Di Rienzo et al. 2015). Adicionalmente neste mesmo programa, foram realizadas diferentes análises de modelos lineares mistos para cada variável dependente (medições) e seu teste post-hoc (Fisher), a fim de se estabelecer diferenças significativas entre as localidades, apoiando o teste de Kruskal-Wallis. Estas mesmas análises foram feitas para se averiguar a existência de diferenças estatísticas entre táxons (*M. g. melanopterus* x *M. g. antelius*) e entre linhagens genéticas (Norte 1 - Boa Vista; Norte 2 - Icapuí e Salinas e Sul - todas as demais localidades desde Praia do Forte até Ilha de Marambaia).

Com os dados morfométricos foram realizadas análises canônicas da função discriminante usando o programa Statistica 7.0 (StatSoft), de forma a investigar a existência de variação morfológica geográfica de acordo com as localidades ou com resultados filogeográficos estabelecidos previamente (ver capítulo 1). Para avaliar a concordância da variabilidade genética, a variação morfológica e as distâncias geográficas entre as localidades foram feitos vários testes de Mantel empregando InfoStat (Di Rienzo et al. 2015). As matrizes fenotípicas foram feitas calculando-se as distâncias euclidianas em Infostat (Di Rienzo et al. 2015), usando os dois primeiros eixos dos escores canônicos da representação espacial de todas as variáveis morfométricas obtidas na análise discriminante. A matriz de distâncias geográficas foi calculada empregando ArcMap 10.1(ESRI 2011). O programa MVSP 3.1 foi usado para a análise de correspondência com todas as variáveis climáticas, para posteriormente se obter os escores dos eixos e com estes calcular a matriz de distâncias euclidianas em Infostat (Di Rienzo et al. 2015).

2.3 Resultados

Foram capturados e medidos 114 adultos. O número de indivíduos capturados variou em cada localidade (ver Tabela 4), provavelmente influenciada pela densidade populacional e as características comportamentais próprias da espécie em cada ponto de amostragem. Por exemplo, os indivíduos da cidade de Porto Seguro tipicamente se empoleiraram na ponta dos postes da energia elétrica de 11 m de altura, enquanto que os indivíduos das restingas (Setiba, Jurubatiba e Marambaia) empoleiraram na ponta dos cactos ou galhos de árvores a uma altura entre dois e três metros. Uma maior altura do poleiro dificultou a captura dos indivíduos de Porto Seguro. Por outro lado, a baixa captura nas localidades de Salinas e Ilha Marambaia estiveram possivelmente relacionadas com uma baixa densidade populacional, como foi mostrado por Zanon (2010), por exemplo, na Ilha de Marambaia.

Os valores das médias morfométricas e peso foram, de forma geral, menores nas localidades do norte (Boa Vista, Salinas e Icapuí) (Tabela 5). Todas as medições que não incluíram medidas do bico tiveram os menores valores na localidade de Icapuí exceto a cauda, que foi menor em Salinas (Tabela 5). Houve diferenças significativas entre as localidades amostradas para todas as medições, e não foi encontrado nenhum padrão de agrupamento, conforme indicado pelos testes de Kruskal-Wallis e comparações multiplex (Anexo 1). Todas as medidas morfométricas e o peso foram afetadas significativamente pela variável localidade, conforme indicado pela análise de modelos lineares e mistos (Anexo 2), corroborando os resultados do teste não paramétrico de Kruskal-Wallis. Por meio do teste de Fisher, na variável peso, foram encontrados quatro agrupamentos de localidades com diferenças significativas entre eles, os quais são coincidentes com os grupos genéticos sugeridos no capítulo 1 (Anexo 2). Os grupos A e B correspondem ao grupo Sul (excluindo Salinas), C ao grupo Norte 1, e D ao grupo Norte 2. A variável peso, comprimento total e tarso, mostraram diferenças significativas da localidade Icapuí com as demais. As variáveis de peso, cúlmen e altura base mostraram diferenças significativas entre Boa Vista e as demais localidades (Anexo 2).

Tabela 5 – Médias das medidas morfométricas (mm) e peso (g) de indivíduos de *Mimus gilvus* em diferentes localidades amostradas no Brasil.

Localidade	W	CT	ASA	TAR	CAU	CUEX	HB	ALBA	LARB	NP	ALNA	LARN	n
1 Boa Vista	56,23	253,49	107,08	35,17	118,42	19,72	49,02	6,71	11,33	14,28	5,87	5,18	26
2 Salinas	61,33	252,00	107,83	35,22	117,00	20,42	49,63	6,98	11,55	14,38	5,90	5,05	6
3 Icapuí	52,11	239,50	105,00	33,12	117,84	20,33	49,16	6,81	11,49	15,07	5,91	5,09	18
4 Praia do Forte	61,87	251,47	110,40	35,00	123,60	21,43	50,64	7,25	11,57	15,77	6,23	5,69	15
5 Porto Seguro	61,88	268,38	108,75	34,34	124,88	21,16	50,00	7,66	11,33	14,38	5,96	5,69	8
6 Conceição da Barra	59,27	255,29	106,36	33,89	117,71	20,46	49,11	7,67	11,66	14,30	5,95	5,28	14
7 Setiba	63,27	267,27	109,18	34,29	124,27	20,85	49,85	7,23	12,12	14,77	5,81	5,43	11
8 Jurubatiba	61,78	259,10	106,80	33,77	119,00	21,74	49,64	7,12	12,02	14,65	5,65	5,16	10
9 Marambaia	62,08	261,83	108,17	34,17	123,33	20,84	48,92	6,98	12,35	14,78	5,70	5,15	6
MÉDIA	59,98	256,48	107,73	34,33	120,67	20,77	49,55	7,16	11,71	14,71	5,89	5,30	

Legenda: Abreviações das medidas: W = peso; CT = comprimento total; ASA = comprimento de asa; TAR = comprimento de tarso; CAU = comprimento da cauda; CUEX = comprimento de cúlmen exposto; HB = comprimento da cabeça a ponta do bico; ALBA = altura do bico na base; LARB = largura do bico na base; NP = comprimento desde a narina ate a ponta do bico; ALNA = altura da narina; LARN = largura da narina. As cores mostram os valores altos (cinza claro) e baixos (cinza escuro) para cada medida morfométrica e a peso.

Em geral, não houve diferença significativa para as variáveis amostradas das localidades do grupo Sul (Anexo 2).

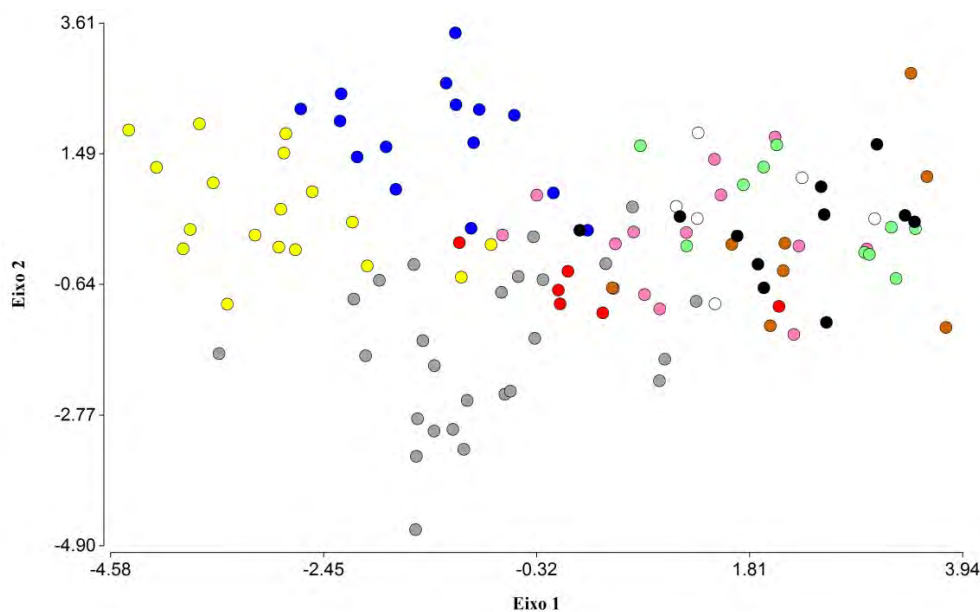
Na comparação entre subespécies, houve diferenças significativas para as variáveis peso, tarso, cúlmen exposto, altura e largura base e narina ponta utilizando Kruskal-Wallis, enquanto as diferenças foram significativas para todas as variáveis com o uso do teste de comparação múltipla (Anexo 3). As análises de modelos lineares mistos e o teste de Fisher mostraram que as mesmas variáveis encontradas no teste Kruskal-Wallis foram significativamente diferentes entre os táxons (Anexo 4).

Na comparação entre linhagens genéticas, houve diferenças significativas para todas as variáveis exceto altura narina, utilizando tanto a análise de Kruskal-Wallis como a de modelos mistos e lineares (Anexo 5 e 6). A linhagem Sul foi diferenciada, na maioria das vezes, de dois outros grupos (Norte 1 e Norte 2) por meio das comparações multiplex (Anexo 5 e 6).

A função discriminante classificou corretamente 76,3% dos casos (Wilk's lambda = 0,0194; $F(96,643) = 5,33$; $P < 0.001$), embora os indivíduos de Conceição da Barra e Setiba tenham sido classificados com uma baixa precisão (< 54%). Apenas os indivíduos de Salinas foram 100% identificados. As medidas morfométricas mostraram sobreposição na representação espacial (Figura 10), com o uso da análise discriminante, principalmente para os indivíduos de Porto Seguro até Ilha de Marambaia. As localidades de Icapuí, Praia do Forte e Boa Vista apresentaram uma diferenciação mais evidente.

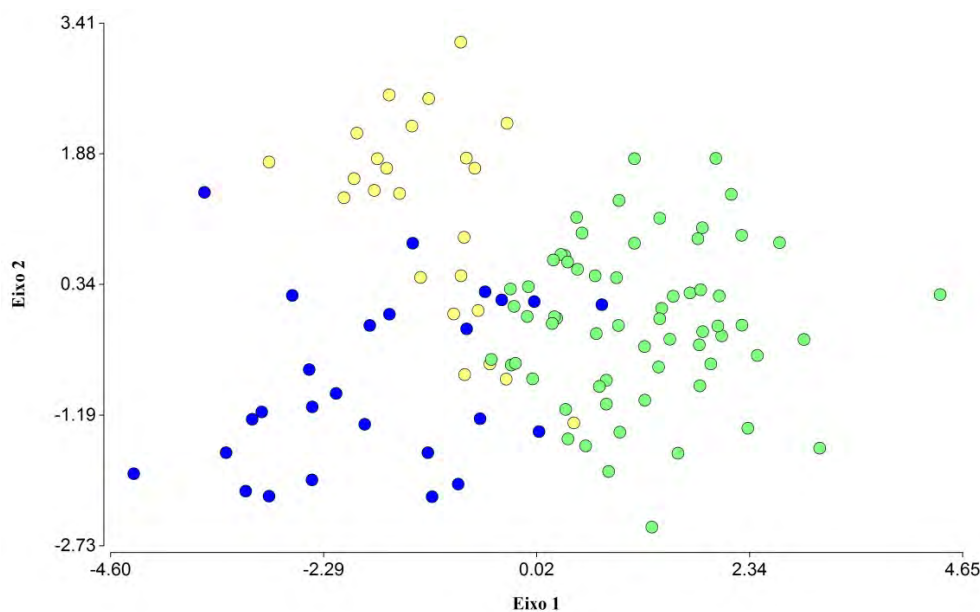
Quando à análise discriminante foi escolhida como variável de agrupamento as linhagens encontradas na filogeografia e na estimativa temporal (ver capítulo 1), a saber: Norte 1 para Boa Vista, Norte 2 agrupando Icapuí e Salinas e Sul agrupando todas as demais localidades desde Praia do Forte até Ilha da Marambaia, a função discriminante conseguiu classificar corretamente 88.6% dos casos (Wilk's lambda = 0,245; $F(24,200) = 8,497$; $p < 0.001$). Na figura 11 é mostrada a formação de três agrupamentos consistentes com as linhagens genéticas.

Figura 10 – Escores dos dois primeiros eixos canônicos da análise discriminante canônica de *Mimus gilvus* utilizando todos os dados morfométricos e como variável de agrupamento as localidades.



Legenda: As cores representam cada uma das localidades amostradas: cinza = Boa Vista, vermelho = Salinas, amarelo = Icapuí, azul = Praia do Forte, castanho claro = Porto Seguro, rosa = Conceição da Barra, preto = Setiba, verde = Jurubatiba, branco = Ilha da Marambaia.

Figura 11 – Escores dos dois primeiros eixos canônicos da análise discriminante canônica de *Mimus gilvus* utilizando todos os dados morfométricos e como variável de agrupamento as linhagens genéticas.



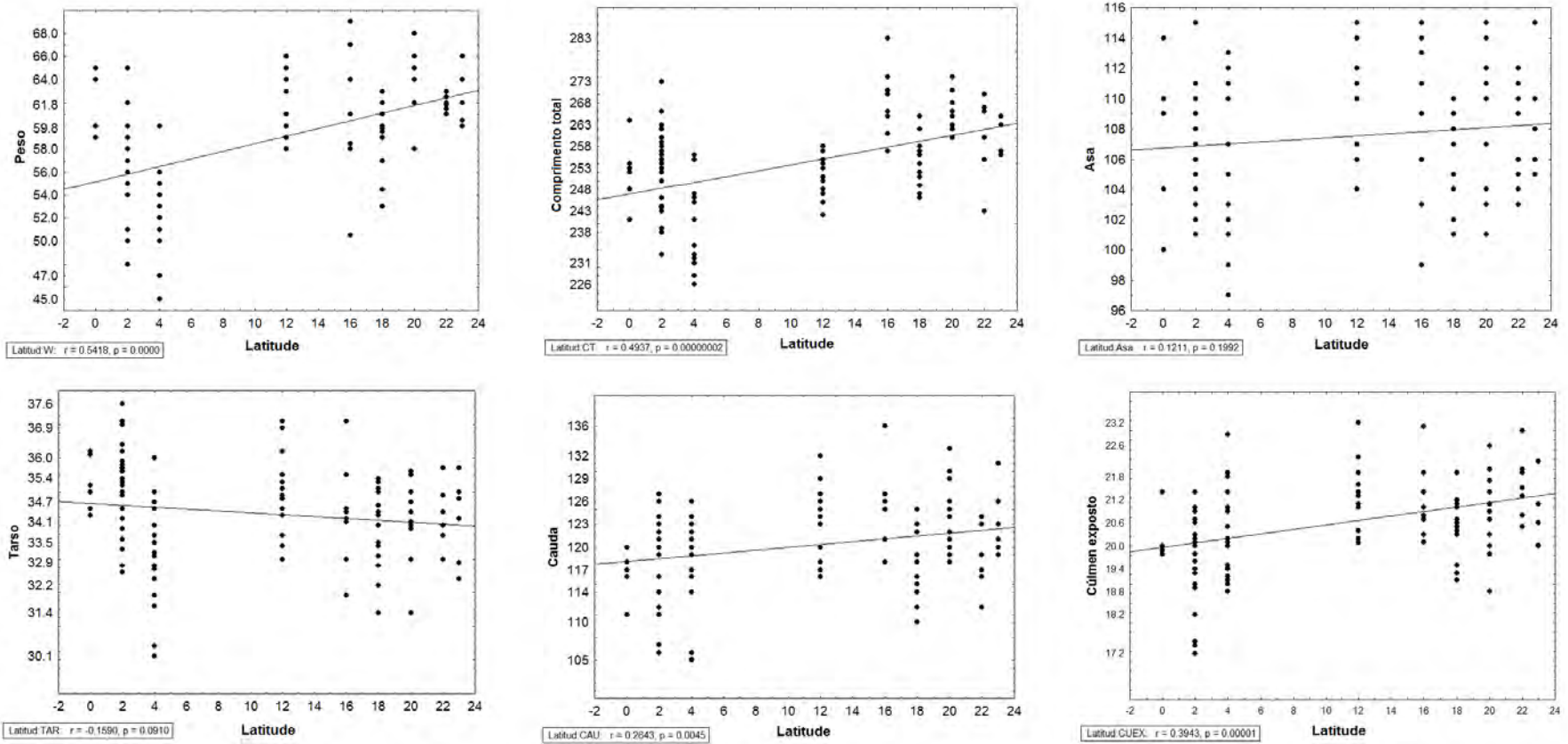
Legenda: As cores representam cada uma das linhagens: azul = Norte 1 (Boa Vista), amarelo = Norte 2 (Salinas, Icapuí), verde = Sul (Praia do Forte até Ilha da Marambaia).

Observou-se um aumento dos valores de algumas medidas morfométricas com a latitude, destacando-se o peso e o comprimento total com valores de correlação de 0.54 e 0.49, respectivamente (Figura 12). O comprimento total médio se relacionou positivamente com a latitude, embora o modelo só tenha explicado 46% da variabilidade dos dados ($R^2 = 0,46$; $F_{1,7} = 5,94$; $p < 0,05$).

A fim de se comprovar um maior grau de relação entre as medidas se tomou os escores dos dois primeiros eixos da função canônica de todas as variáveis morfométricas incluído o peso e analisou-se em conjunto com a variável latitude. Uma forte relação foi encontrada, onde o modelo explicou 82% da variabilidade dos dados ($R^2 = 0,817$; $F_{1,7} = 31,148$; $p < 0,05$). Uma relação linear negativa foi encontrada entre o comprimento total e a média da temperatura anual ($R^2 = 0,45$; $F_{1,7} = 5,757$; $p < 0,05$), embora a relação entre os escores da função canônica de todas as variáveis morfométricas com a temperatura ser mais alta com 90% da variabilidade dos dados explicadas ($R^2 = 0,902$; $F_{1,7} = 64,375$; $p < 0,05$).

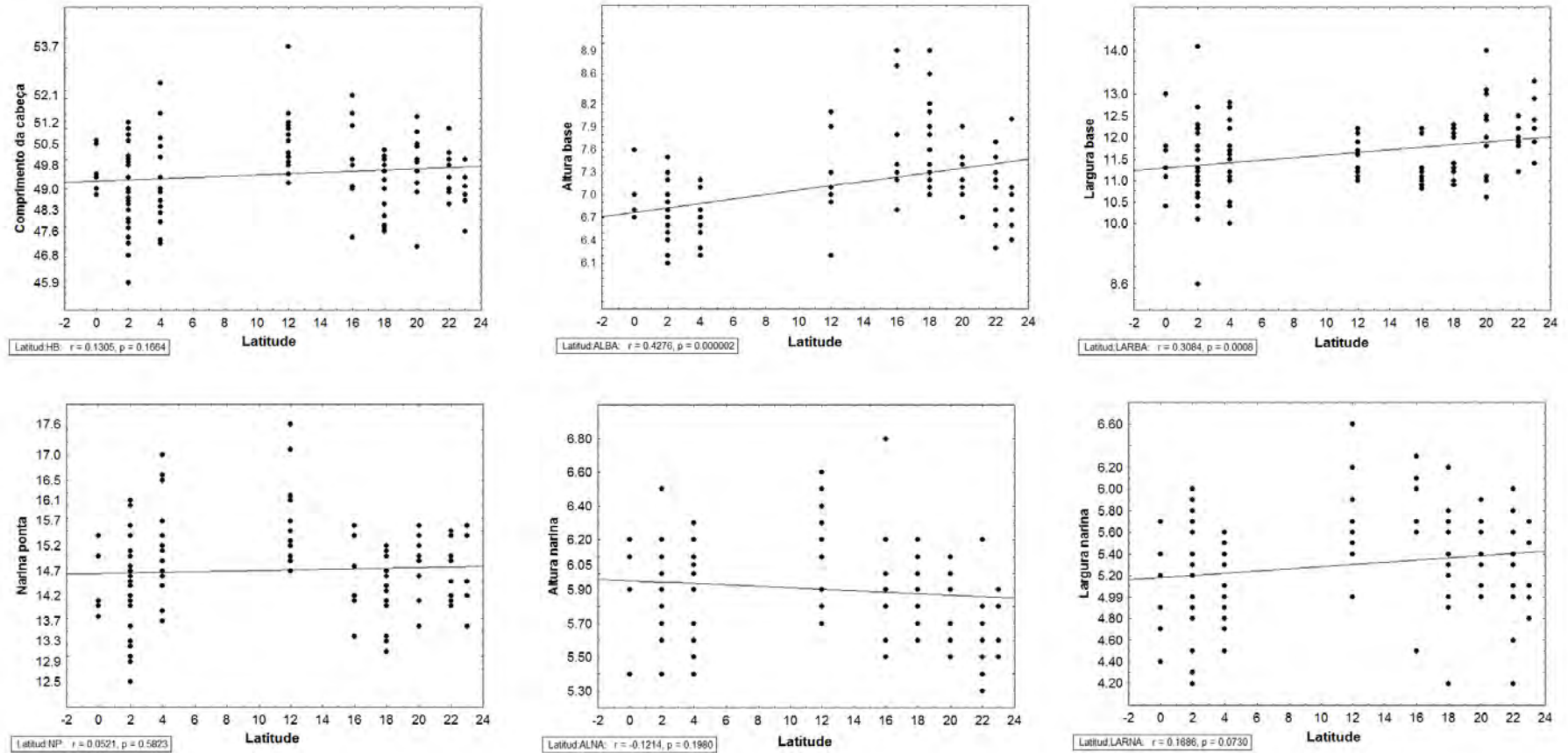
Foram feitos vários testes de Mantel de modo a corroborar relações entre distintas variáveis morfométricas de *Mimus gilvus*. As distâncias genéticas e euclidianas do peso não estiveram correlacionadas ($R = 0,27$; $p = 0,085$), embora a correlação tenha sido significativa quando foram comparadas as distâncias genéticas com as distâncias euclidianas dos escores dos dois primeiros eixos da função canônica de todas as variáveis morfométricas ($R = 0,45$; $p = 0,025$). De forma similar foram significativas as correlações entre as distâncias genéticas e as distâncias euclidianas dos escores morfométricos com as distâncias geográficas (genéticas X geográficas: $R = 0,79$; $p < 0,001$; morfométricas X geográficas: $R = 0,65$; $p = 0,015$). Houve correlação entre as distâncias geográficas e as distâncias euclidianas dos primeiros escores da análise de correspondência das variáveis climáticas ($R = 0,55$; $p = 0,031$). No entanto, a correlação entre as distâncias climáticas e morfométricas foi moderada ($R = 0,48$; $p = 0,039$) ou inexistente, quando foram usadas as distâncias genéticas ($R = 0,13$; $p = 0,22$).

Figura 12 – Gráficos de correlação entre as variáveis morfométricas de *Mimus gilvus* e a latitude. (Continua).



Nota: A caixa pequena abaixo mostra a correlação calculada entre as duas variáveis e seu valor de p.

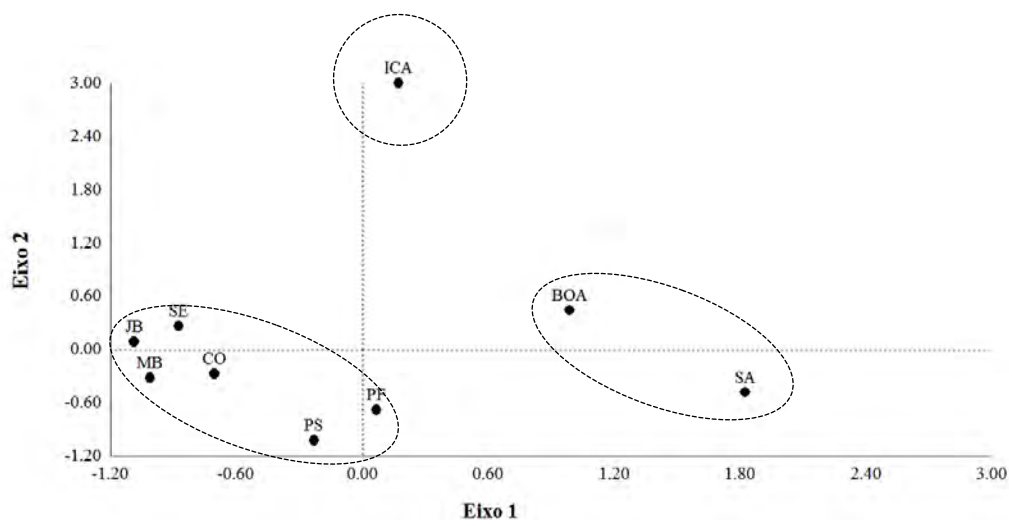
Figura 12 – Gráficos de correlação entre as variáveis morfométricas de *Mimus gilvus* e a latitude. (Conclusão).



Nota: A caixa pequena abaixo mostra a correlação calculada entre as duas variáveis e seu valor de p.

O gráfico da análise de correspondência das variáveis climáticas agrupou as localidades praticamente por tipo de bioma (Figura 13, Tabela 4). As localidades desde Praia do Forte até Marambaia conformam o grupo Mata Atlântica, Boa Vista e Salinas o grupo da Amazônia e Icapuí o grupo da Caatinga. O teste de mantel correlacionou significativamente os escores climáticos com os escores morfológicos, embora esta correlação tenha sido apenas de 48% ($R = 0,48$; $p = 0,039$). Por outro lado, os escores climáticos não foram correlacionados com as distâncias genéticas ($R = 0,13$; $p = 0,158$).

Figura 13 – Gráfico resultante da análise de correspondência das variáveis climáticas de cada localidade obtida na base de dados do WorldClim (Hijmans et al., 2005).



Nota: O valor próprio acumulado dos dois eixos representa 92.7% da variabilidade dos dados.

2.4 Discussão

2.4.1 Diferenças entre os táxons *Mimus gilvus melanopterus* e *Mimus gilvus antelius*.

A diferença nas medidas morfométricas e de peso entre as subespécies *Mimus gilvus melanopterus* e *M. g. antelius* era esperada. Hellmayr (1934) já havia notado variações morfométricas em alguns caracteres particulares entre as subespécies do grupo *Mimus gilvus*, embora a variação nos padrões de coloração da plumagem terem sido os caracteres mais importantes na determinação dos táxons. Era esperado que as variáveis comprimento total e cauda fossem diferentes entre os táxons, não entanto, estas não foram estatisticamente diferentes. Hellmayr (1934) descreveu *M.g. melanopterus* como de maior tamanho que *M. g. gilvus*, sendo este similar a *M. g. antelius*, que teria um maior comprimento de cauda. Realmente, as gamas de valores reportados por Hellmayr (1934) para a cauda em *M. g. antelius* (123-135 mm) nos valores extremos, são maiores que os encontrados em *M. g. melanopterus* (116-130 mm), os quais são contrastantes com os achados neste estudo (105-136 e 106-129, respetivamente). Os valores extremos mínimos da cauda são menores nos dois táxons estudados. Pode-se observar que os valores encontrados entre os dois táxons se sobrepõem bastante, o que indica que este caráter não é importante para a diferenciação dos táxons, embora Cody (2005) tenha mencionado o contrário. Isto mostra ser necessária uma reavaliação de caracteres taxonômicos morfológicos para *Mimus gilvus*.

Dentre as doze variáveis morfométricas obtidas no presente estudo, seis delas diferiram significativamente entre os dois táxons investigados: peso e tarso, assim como quatro variáveis de bico. A variação no peso entre diferentes espécies, subespécies ou variantes geográficas de aves tem sido descrita para vários casos com finalidades taxonômicas ou de identificação (e.g. Whitney e Alvarez 1998, Whitney et al. 2000, Summers et al. 2010, Gates et al. 2013). Cody (2005) reconheceu diferenças no peso entre alguns táxons de *M. gilvus*, por exemplo, reportando uma média do peso de 58,4g para *M. g. melanopterus*, enquanto que a média encontrada no presente estudo foi de

56,2 g. Este valor foi menor que a peso médio registrada no presente estudo para *M. g. antelius* (60,4 g).

Contudo a variação no peso também pode ser uma característica relacionada com a disponibilidade de alimento (Polo e Bautista 2010, Yom-tov et al. 2006), por interações com o predador (MacLeod et al. 2005), a idade e a época de reprodução (e.g. Takagi 2002, Gaston e Hipfner 2006, Quillfeldt et al. 2006). No presente estudo, a maioria das medidas morfométricas foram obtidas ao longo de um período de dois meses no mesmo ano para sete localidades, coincidindo com o período reprodutivo para os dois táxons, quando foram observados pares reprodutores com ninhada e filhotes fora do ninho, descartando uma influência marcada de sazonalidade para as medidas morfométricas, incluindo o peso.

A diferença no tamanho do tarso entre os táxons pode estar relacionada com adaptações de locomoção. Funcionalmente, tarsos longos são mecanicamente vantajosos para pássaros que usam poleiros firmes tais como galhos grossos ou no chão, durante a locomoção bípede (Grant 1966), o que seria o caso de *M. g. melanopterus* (média 35,2 mm \pm 1,27). *Mimus g. antelius* apresentou tarsos menores (média 34,2 mm \pm 0,67) o que implicaria em vantagem no uso de poleiros não rígidos (Grant 1966), o que poderia estar relacionado com os habitats típicos deste táxon no litoral, onde os fortes ventos predominantes podem gerar uma maior movimentação dos poleiros, que tipicamente são galhos de arbustos ou cactos, havendo aparentemente uma maior preferência de forrageamento nas partes superiores das plantas do que no chão (Gomes et al. 2008a).

As medidas morfométricas de bico foram as mais importantes na diferenciação entre os táxons, podendo estar associadas a processos adaptativos de forrageamento em diferentes habitats. O tamanho do bico, que é geralmente associado ao nicho trófico, quando mostra uma marcada diferença entre populações, pode indicar ou refletir processos de diferenciação genética (Grapputo et al. 1998). Como foi mencionado anteriormente, *M. g. melanopterus* se encontra associado a habitats abertos no interior do continente no bioma de savana amazônica, enquanto que *M. g. antelius* se associa à vegetação do litoral. Estudos na Venezuela com *Mimus g. melanopterus* mostram variações nas espécies de plantas consumidas (Poulin et al. 1994) por esse táxon em relação com ao reportado para a restinga de Jurubatiba por Gomes e colaboradores (2008a, 2008b). As possíveis diferenças na dieta entre táxons podem ter gerado

diferenças no tamanho dos bicos resultado de processos adaptativos a diferentes ambientes.

2.4.2 Concordância entre a variação morfológica e genética

Os resultados do presente estudo apoiam haver concordância entre a variação morfológica e genética. A análise discriminante mostrou uma elevada capacidade de classificação dos indivíduos dentro dos grupos sugeridos pelas análises genéticas. Estes grupos foram parcialmente apoiados pelas diferenças o peso entre as localidades, embora as análises de Kruskal-Wallis e de modelos mistos aplicados diretamente para estas linhagens suportarem fortes diferenças estatísticas em quase todas as medidas morfométricas, sobretudo entre táxons que entre localidades. A correlação encontrada entre as distâncias genéticas e as distâncias euclidianas dos escores morfométricos com o teste de Mantel corroboram estes resultados, contudo a baixa correlação sugere que outras variáveis podem estar influenciando a relação ou a taxa de evolução dos caracteres morfológicos.

A análise filogeográfica de *M. g. antelius* mostrou um estado de divergência incompleta, indicando haver duas populações com baixo fluxo gênico. Este estudo mostra que estes eventos vicariantes estão sendo acompanhados fenotipicamente, os quais poderiam estar associados a processos de seleção adaptativa e/ou isolamento por distância. Cabanne e colaboradores (2014) estudando *Xiphorhynchus fuscus* encontrou que a maioria das linhagens genéticas evoluíram pouco frente a diferentes níveis de isolamento diferenciando-se por plumagem ou por medidas de tamanho corporal, embora só a linhagem com maior divergência (*X. f. atlanticus*) esteve associada com um claro passo na transição dos caracteres fenotípicos. Este autor considerou que a divergência morfológica pode estar relacionada com diferenças nos habitats nos quais se distribui a espécie e não estritamente pelo isolamento (Cabanne et al. 2014). Vários estudos (inclusive realizados na Mata Atlântica) concordam em que a evolução do

fenótipo pode ser resultado da associação entre a seleção e o tipo de hábitat, podendo estar ou não associado a eventos de divergência genética, descritos com marcadores neutros (Smith et al. 2004, 2011; Milá et al. 2009, Cabanne et al. 2011, Porlier et al. 2012, Caro et al. 2013, Sulloway e Kleindorfer 2013, Cabanne et al. 2014). Aparentemente, a concordância entre a variação morfológica e genética pode não ser tão comum (Zink 2004). Diferentes fatores, tais como seleção, fluxo gênico, deriva genética, distâncias geográficas e ambiente, podem influenciar em diferentes níveis e produzir padrões de variação diferentes. Por exemplo, Cabanne e colaboradores (2011) estudando *Dendrocolaptes platyrostris* encontrou que a variação de plumagem não acompanhou a divergência genética, mas foi congruente com o tipo de hábitat. Spurgin e colaboradores (2014) analisando as populações de uma ave distribuída em várias ilhas (*Anthus berthelotii*) mostrou uma divergência morfológica substancial, o que foi fortemente concordante com os padrões de estrutura genética e história de gargalos genéticos, resultado de eventos como do fundador e não por diferenças ambientais ou distâncias geográficas.

2.4.3 Padrão de isolamento por distância ou por adaptação?

A alta correlação entre distâncias genéticas e geográficas encontrados no presente estudo sugere fortemente um padrão de isolamento por distância, padrão que também foi apoiado pela correlação entre as distâncias euclidianas dos escores morfológicos e as distâncias geográficas (Rousset 1997). O isolamento por adaptação foi descartado ao não se encontrar correlação entre as distâncias genéticas e as variáveis climáticas (Nosil et al. 2009). A correlação moderada entre as variáveis climáticas e as distâncias morfológicas apoiam a ideia que localmente esteja acontecendo também processos de seleção adaptativa. A carência de uma forte relação entre as distâncias das variáveis climáticas e as distâncias geográficas permitem inferir que existe um efeito do isolamento por distância e não por adaptação (Spurgin et al. 2014). O isolamento por

colonização também é descartado devido à relação encontrada entre as distâncias geográficas e genéticas (Orsini et al. 2013a).

O padrão de isolamento por distância tem sido descrito em outras espécies de aves neotropicais e de Mata Atlântica, principalmente as de hábitos florestais. Cabanne e colaboradores (2007) descrevendo a estrutura das populações de *X. fuscus* encontrou uma forte influência do isolamento por distância, associado a eventos vicariantes e expansões populacionais aparentemente relacionadas com as dinâmicas da floresta no Pleistoceno e Holoceno. Cheviron e colaboradores (2005) analisando a história evolutiva em *Lepidothrix coronata* sugeriu como causa da separação entre alguns clados, a restrição de fluxo gênico com isolamento por distância. Brawn e colaboradores (1996) comparando a variação genética e morfológica entre três espécies de aves de ampla distribuição com populações em ilhas e no continente, mostrou que a variação entre pares de ilhas esteve associada com a distância geográfica em duas das três espécies; além disso, concluiu que a variação interespecífica pelo efeito do isolamento esteve provavelmente relacionada com diferenças na capacidade de dispersão.

O isolamento por distância está relacionado com um incremento na diferenciação entre populações e com o incremento nas distâncias geográficas, como resultado da redução do fluxo gênico (Wright 1946). Portanto, este padrão pode ser revelado medindo o grau de relação entre as distâncias genéticas e as distâncias geográficas (Rousset 1997), embora esta correspondência entre o isolamento genético e geográfico seja amplamente dependente da capacidade de dispersão dos organismos (Burney & Brumfield 2009). Indivíduos de *M. gilvus*, podem apresentar uma elevada capacidade de movimentação e migração inclusive entre ilhas (Lovette et al. 2012), embora a espécie seja considerada sedentária (Cody 2005) podendo manter territórios durante o ano (Price e Yuan 2011). O estudo filogeográfico no *M. g. antelius* mostrou níveis reduzidos de fluxo gênico entre a população do norte e do sul (ver Capítulo 1) e provavelmente, o fluxo gênico seja reduzido entre *antelius* e *melanopterus* separados pela bacia amazônica. O comportamento de territorialidade ou outros que causam sedentarismo pode ter diminuído a habilidade para dispersar-se efetivamente entre populações, e com o tempo reduzir o fluxo gênico (Brawn et al. 1996, Brown et al. 2004). Esta redução no fluxo gênico pode provocar também a divergência nos caracteres morfológicos os quais são mais marcados entre as linhagens genéticas do que entre as localidades. A importância do fluxo gênico como um fator que retarde a

divergência fenotípica (Price 2008) pode ser apreciada nos indivíduos da população do sul, para a qual não foram observadas diferenças estatísticas significativas nas medidas morfométricas, apesar das distâncias geográficas entre algumas localidades dessa população, tais como Praia de Forte (BA) e Ilha de Marambaia (RJ) de mais de 1300 km.

A interação entre a distância geográfica e o comportamento de sedentarismo, podem ter gerado uma redução no fluxo gênico nas populações de *M. gilvus* no Brasil, direcionando os processos de divergência genética e fenotípica para um padrão de isolamento por distância. Não se pode descartar que estes processos puderam ser acompanhados por eventos de transgressões marinhas gerando barreiras geográficas para a dispersão (ver capítulo 1).

2.4.4 Relação do tamanho corpóreo com a latitude e a temperatura

Foram encontradas diversas relações entre o tamanho corpóreo (peso e comprimento total) com a temperatura e a latitude no presente estudo. Assumindo que o tamanho do corpo está relacionado com o tamanho de cada parte do corpo, a projeção de todas as medições corporais obtidas por meio da análise discriminante é um indicador congruente. De fato, o modelo linear empregando estes escores contra a latitude e a média da temperatura anual mostraram uma forte relação, ratificando o ajuste dos indivíduos de *M. gilvus* no Brasil à regra de Bergmann.

Em geral, segundo a regra de Bergmann existe uma tendência intraespecífica de apresentar tamanhos corpóreos maiores em áreas de clima frio para aves e mamíferos, fenômeno que tem servido amplamente como um exemplo proeminente de divergência adaptativa entre populações dentro de uma espécie (Ashton 2002a). Revisões de numerosos estudos no mundo todo têm apoiado este padrão para aves (Ashton 2002a, Olson et al. 2009), razão pela qual se esperava que no presente estudo se detectasse este mesmo padrão. Originalmente Bergmann atribuiu a variação do tamanho a uma

adaptação para a conservação de calor, sustentada no princípio de que um corpo de tamanho maior é selecionado em áreas frias porque sua área de superfície é menor, resultando em uma perda de calor relativamente baixa. Apesar que existem outras hipóteses que explicam o porquê dessa regra, na atualidade a explicação da conservação de calor é ainda válida (Olson et al. 2009). Numerosos estudos têm utilizado a latitude como um *proxy* da temperatura, empregando outras variáveis, ou a interação delas, tentando corroborar, explicar e associar o porquê deste padrão.

Graves (1991) avaliando várias populações de *Diglossa carbonaria* nos Andes mostrou uma correlação positiva do tamanho morfométrico com a latitude, embora o comprimento do bico modificado para a perfuração de flores foi uniforme entre populações sugerindo que o deslocamento de caracteres ou a competição interespecífica não é responsável por este padrão. Ashton (2002a), analisando 100 espécies de aves ao redor do mundo mostrou maiores valores de relação do tamanho do corpo com a temperatura do que com a latitude, de forma similar como foi evidenciado no presente estudo. Adicionalmente, mostrou que não há uma forte associação no ajuste da regra para espécies sedentárias comparadas com aquelas que são migratórias, para espécies dos trópicos comparadas com as temperadas, e de machos comparados com fêmeas, resultando em tendências contrárias ao sugerido por estudos prévios. Em outro trabalho mais recente, Olson e colaboradores (2009) usando um maior número de espécies (8270) encontrou uma forte correlação do tamanho do corpo com a temperatura, tendo correlação secundária com a disponibilidade de recursos e um forte padrão de decréscimo do tamanho corpóreo com a riqueza de espécies, concluindo que os padrões de tamanho corpóreo são causados por adaptação dentro das linhagens e por uma troca entre linhagens.

A variação no tamanho corpóreo com a temperatura de fato pode ser resultado de um processo adaptativo, embora diversas observações tenham mostrado que esta variação pode ser resultado da plasticidade fenotípica (Teplitsky et al. 2008) e outros fatores como a disponibilidade de recursos e a sazonalidade (Stilwell 2010). Dois exemplos em contextos diferentes têm demonstrado a importância da temperatura e como esta condição pode ser um forte fator de pressão de seleção. Grant e Grant (1995) conseguiram registrar a mortalidade por seleção de tamanho durante um período seco de longa duração em *Geospiza fortis*, onde os indivíduos maiores, com bicos longos, sobreviveram melhor que os indivíduos pequenos, sendo aparentemente as alterações na

disponibilidade de alimento a causa para a seleção do bico. Por outro lado, Brown e Bomberger (1998) reportaram dois períodos de frio extremos que ocasionaram eventos de mortalidade em indivíduos de *Petrochelidon pyrrhonota*, para os quais foi favorecido o maior tamanho corpóreo provavelmente pelas vantagens termais e a habilidade para armazenar mais gordura. Estas vantagens podem ser importantes para indivíduos de *M. gilvus* no extremo sul onde à noite as temperaturas podem decair. Por exemplo, a temperatura média da cidade do Rio de Janeiro é de 23,7 °C, máxima absoluta de 38,2 °C e mínima absoluta de 11,1 °C (Zamith e Scarano 2004). A temperatura pode ter sido uma variável limitante da distribuição, impedindo a expansão populacional mais para o sul onde as temperaturas podem ser bem baixas; no entanto esta afirmação tem que ser abordada em estudos posteriores.

A congruência entre os dados morfométricos e genéticos mostra que a variação no tamanho pode ser uma resposta adaptativa à temperatura e suas consequências sobre a vegetação, que seriam observadas em adaptações morfológicas relacionadas com a alimentação como a forma e comprimento do bico. A ampla distribuição do *M. gilvus* fez com que provavelmente este táxon fosse exposto a uma heterogeneidade nos fatores que influenciam o tamanho corpóreo exibindo clinas de tamanho como é observado para *M. g. antelius* (Meiri et al. 2007).

Considerações finais

A variação genética foi acompanhada pela variação fenotípica (medidas corporais) havendo separação em três linhagens (Norte 1 - Boa Vista, Norte 2 - Icapuí e Salinas e Sul – localidades desde a praia do Forte até a Ilha da Marambaia). A relação encontrada entre as variáveis morfométricas e as distâncias genéticas com as distâncias geográficas sugerem um padrão de divergência por distância. O fato de não encontrar relação entre as distâncias geográficas e as distâncias ambientais demonstra que a divergência das linhagens não foi por adaptação. No entanto, a relação negativa entre o tamanho corpóreo com a temperatura sugere que a divergência por distância tem sido

acompanhada por um processo de adaptação local. O comportamento sedentário da espécie e os eventos históricos como as transgressões marinhas podem ser os responsáveis pela divergência entre o grupo Norte e Sul da subespécie *M. g. antelius* e desta com *M. g. melanopterus*.

REFERÊNCIAS

- Ashton KG, Tracy MC, de Queiroz A. 2000. Is Bergmann's rule valid for mammals? *American Naturalist*, 156: 390–415.
- Ashton KG. 2002a. Patterns of within-species body size variation of birds: strong evidence for Bergmann's rule. *Global Ecology & Biogeography*, 11: 505-523.
- Ashton, K. G. 2002b. Do amphibians follow Bergmann's rule? *Canadian Journal of Zoology*, 80:708-716.
- Ashton KG, Feldman CR. 2003. Bergmann's rule in nonavian reptiles: Turtles follow it, lizards and snakes reverse it. *Evolution*, 57:1151-1163.
- Brawn JD, Collins T, Medina M, Bermingham E. 1996. Associations between physical isolation and geographical variation within three species of Neotropical birds. *Molecular Ecology*, 5: 33-46.
- Brown CR, Bomberger Brown M. 1998. Intense natural selection on body size and wing and tail asymmetry in Cliff swallows during severe weather. *Evolution*, 52: 1461-1475.
- Brown LM, Ramey II RR, Tamburini B, Gavin TA. 2004. Population structure and mitochondrial DNA variation in sedentary Neotropical birds isolated by forest fragmentation. *Conservation Genetics*, 5: 743-757.
- Brumfield RT, Remsen Jr JV. 1996. Geographic variation and species limits in *Cinnycerthia* wrens of the Andes. *Wilson Bulletin*, 108: 205-227.
- Burney CW, Brumfield RT. 2009 Ecology predicts levels of genetic differentiation in neotropical birds. *American Naturalist*, 174: 358-368.
- Cabanne GS, Santos F, Miyaki CY. 2007. Phylogeography and demographic history of *Xiphorhynchus fuscus* Passeriformes: Dendrocolaptidae in the southern Atlantic forest of Brazil and Argentina. *Biological Journal of the Linnean Society*, 91: 73-84.
- Cabanne GS, d'Horta FM, Sari EHR, Santos FR, Miyaki CY. 2008. Nuclear and mitochondrial phylogeography of the Atlantic forest endemic *Xiphorhynchus fuscus* Aves: Dendrocolaptidae: biogeography and systematics implications. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 49: 760-773.
- Cabanne GS, d'Horta FM, Meyer D, Silva JMC, Miyaki CY. 2011. Evolution of *Dendrocolaptes platyrostris* Aves: Furnariidae between the South American open vegetation corridor and the Atlantic forest. *Biological Journal of the Linnean Society*, 103: 801-820.

- Caro LM, Caycedo - Rosales PC, Bowie RCK, Slabbekoorn H, Cadena CD. 2013 Ecological speciation along an elevational gradient in a tropical passerine bird? *Journal of Evolutionary Biology*, 26: 357-374.
- Chevireon Z, Hackett SJ, Capparella AP. 2005. Complex evolutionary history of a Neotropical lowland forest bird (*Lepidothrix coronata*) and its implications for historical hypotheses of the origin of Neotropical avian diversity. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 36: 338-357.
- Cody M. 2005. Familia Mimidae. Em: Del Hoyo J, Elliott A, Christie DA, editors. *Handbook of the Birds of the World*, Vol 10. Barcelona, España: Lynx Ediciones. p. 448-495.
- Di Rienzo J.A., Casanoves F., Balzarini M.G., Gonzalez L., Tablada M., Robledo C.W. InfoStat versión 2015. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>
- D'Horta FM, Cabanne GS, Meyer DD, Miyaki CY. 2011 The genetic effects of Late Quaternary climatic changes over a tropical latitudinal gradient: diversification of an Atlantic Forest passerine. *Molecular Ecology*, 20: 1923-1935.
- Diamond, J. M., Gilpin, M. E. & Mayr, E. 1976 Species–distance relation for birds of the Solomon Archipelago, and the paradox of the great speciators. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 73: 2160-2164.
- Egan SP, Ragland GJ, Assour L, Powell THQ, Hood GR, Emrich S, Nosil P, Feder JL. 2015. Experimental evidence of genome-wide impact of ecological selection during early stages of speciation-with-gene-flow. *Ecology Letters*, 18: 817-825.
- Escalante-Pliego p, Townsend PA. 1992. Geographic variation and species limits in Middle American Woodnymphs (*Thalurania*). *Wilson Bulletin*, 104: 205 – 219.
- ESRI 2011. ArcGIS Desktop: Release 10.1. Environmental Systems Research Institute. Redlands, CA.
- Excoffier L, Lischer HE. 2010. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, 10: 564-567.
- Felsenstein J. 2005. *Theoretical Evolutionary Genetics*. Seattle, USA: University of Washington. 393 p.
- Futuyma DJ. 1997. *Evolutionary Biology*. The Third Edition. Massachusetts, USA: Sinauer Associates. 751 p.
- Gaston AJ, Hipfner M. 2006. Body mass changes in Brünnich's guillemots *Uria lomvia* with age and breeding stage. *Journal of Avian Biology*, 37: 101-109.
- Gates HR, Yezerinac S, Powell AN, Tomkovich PS, Valchuk OP, Lanctot RB. 2013. Differentiation of subspecies and sexes of Beringian Dunlins using morphometric measures. *Journal Field Ornithology*, 84: 389-402.

- Gomes VSM, Loiselle BA, Alves MAS. 2008a. Birds foraging for fruits and insects in shrubby restinga vegetation, southeastern Brazil. *Biota Neotropica*, 8: 21-31.
- Gomes VSM, Correia MCR, Lima HA, Alves MAS. 2008b. Potential role of frugivorous birds (Passeriformes) on seed dispersal of six plant species in a restinga habitat, southeastern Brazil. *Revista de Biología Tropical*, 56: 205-216.
- Gran PR. 1966. Further information on the relative length of the tarsus in land birds. *Postilla Yale Peabody Museum*, 98: 1-13.
- Grant PR, Grant BR. 1995. Predicting microevolutionary responses to directional selection on heritable variation. *Evolution*, 49: 241-251.
- Grant PR, Grant BR. 2006. Evolution of Character Displacement in Darwin's Finches. *Science*, 313: 224-226.
- Grapputo A, Pilastro A, Marin G. 1998. Genetic variation and bill size dimorphism in a passerine bird, the reed bunting *Emberiza schoeniclus*. *Molecular Ecology*, 7: 1173-1182.
- Graves GR. 1991. Bergmann's rule near the equator: Latitudinal dines in body size of an Andean passerine bird. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 88: 2322-2325.
- Gutiérrez-Pinto N, McCracken KG, Alza L, Tubaro P, Kopuchian C, Astie A, Cadena CD. 2014. The validity of ecogeographical rules is context-dependent: testing for Bergmann's and Allen's rules by latitude and elevation in a widespread Andean duck. *Biological Journal of the Linnean Society*, 111: 850-862.
- Hernández MA, Campos F, Martín R, Santamaría T. 2011. Usefulness of Biometrics to Analyse Some Ecological Features of Birds. Em: Albert M, Editor. *Biometrics - Unique and Diverse Applications in Nature, Science, and Technology*. Rijeka, Croatia: InTech. p. 1-23.
- Hijmans RJ, Cameron SE, Parra JL, Jones PG, Jarvis A. 2005. Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. *International Journal of Climatology* 25: 1965-1978.
- Lawrence GN. 1852. Description of *Mimus melanopterus*. *Annals of the Lyceum of Natural History of New-York*, 5: 35-36.
- Lozano-Jaramillo M, Rico-Guevara A, Cadena CD. 2014. Genetic differentiation, niche divergence, and the origin and maintenance of the disjunct distribution in the blossomcrown *Anthocephala floriceps* (Trochilidae). *Plos One*, 9: e108345.
- MacLeod R, Barnett P, Clark JA, Cresswell W. 2005. Blackwell Publishing, Ltd. Body mass change strategies in blackbirds *Turdus merula*: the starvation-predation risk trade-off. *Journal of Animal Ecology*, 74: 292-302.

- MacLeod R, Clark J, Cresswell W. 2008. The starvation-predation risk trade-off, body mass and population status in the Common Starling *Sturnus vulgaris*. *Ibis*, 150: 199-208.
- Marantz CA, Patten MA. 2010. Quantifying subspecies analysis: a case study of morphometric variation and subspecies in the Woodcreeper genus *Dendrocolaptes*. *Ornithological Monographs*, 2010: 123–140.
- Meiri S, Dayan T. 2003. On the validity of Bergmann's rule. *Journal of Biogeography*, 30:331-351.
- Meiri S, Yom-Tov Y, Geffen E. 2007. What determines conformity to Bergmann's rule? *Global Ecology and Biogeography*, 16: 788–794.
- Milá B, McCormack JE, Castañeda G, Wayne RK, Smith TB. 2007. Recent postglacial range expansion drives the rapid diversification of a songbird lineage in the genus *Junco*. *Proceedings of Royal Society B*, 274:, 2653-2660.
- Milá B, Wayne K, Fitze Pe, Smith TB. 2009. Divergence with gene flow and fine-scale phylogeographical structure in the wedge-billed woodcreeper, *Glyphorynchus spirurus*, a Neotropical rainforest bird. *Molecular Ecology*, 18: 2979-2995.
- Nosil P, Funk DJ, Ortiz-Barrientos D. 2009. Divergent selection and heterogeneous genomic divergence. *Molecular Ecology*, 18: 375-402.
- Oberholser HC. 1919. *Mutanda Ornithologica VII*. *Proceedings of the Biological Society of Washington*, 32: 127-128.
- Olson VA, Davies RG, Orme CDL, Thomas GH, Meiri S, Blackburn TM, Gaston KJ, Owens IPF, Bennett PM. 2009. Global biogeography and ecology of body size in birds. *Ecology Letters*, 12: 249–259.
- Orsini L, Vanoverbeke J, Swillen I, Mergeay J, Meester L. 2013a. Drivers of population genetic differentiation in the wild: isolation by dispersal limitation, isolation by adaptation and isolation by colonization. *Molecular ecology*, 22: 5983–5999.
- Orsini L, Mergeay J, Vanoverbeke J, De Meester L. 2013b. The role of selection in driving landscape genomic structure of the waterflea *Daphnia magna*. *Molecular Ecology*, 22: 583-601.
- Podos J, Warren P.S. 2007. The Evolution of Geographic Variation in Birdsong. *Advances in the Study of Behavior*, 37: 403–458.
- Porlier M, Garant D, Perret P, Charmantier A. 2012. Habitat-linked population genetic differentiation in the Blue Tit *Cyanistes caeruleus*. *Journal of Heredity*, doi:10.1093/jhered/ess064.
- Polo V, Bautista LM. 2006. Daily routines of body mass gain in birds: 2. An experiment with reduced food availability. *Animal Behaviour*, 72: 517-522.

- Price JJ, Yaun DH. 2011. Song-type sharing and matching in a bird with very large song repertoires, the tropical mockingbird. *Behaviour*, 148: 673-689.
- Price, T. D. 2008 *Speciation in birds*. Roberts and Co, Greenwood Village, USA. 484 p.
- Quillfeldt P, Masello JF, Lubjuhn T. 2006. Variation in the adult body mass of Wilson's storm petrels *Oceanites oceanicus* during breeding. *Polar Biology*, 29: 372-378.
- Ralph CJ, Geupel GR, Pyle P, Martin TE, DeSante DF. 1993. Handbook of field methods for monitoring landbirds. General Technical Report PSW-GTR-144-www. Albany, USA: Pacific Southwest Research Station, Forest Service, U.S. Department of Agriculture. 41 p.
- Ralph CJ, Geupel GR, Pyle P, Martin TE, DeSante DF, Milá B. 1996. Manual de métodos de campo para el monitoreo de aves terrestres. General Technical Report PSW-GTR-159. Albany, USA: Pacific Southwest Research Station, Forest Service, U.S. Department of Agriculture. 46 p.
- Rieseberg LH, Widmer A, Arntz MA, Burke JM. 2002. Directional selection is the primary cause of phenotypic diversification. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99: 12242-12245.
- Rocha TC, Sequeira F, Aleixo A, Rêgo PS, Sampaio I, Schneider H, Vallinoto M. Molecular phylogeny and diversification of a widespread Neotropical rainforest bird group: The Buff-throated Woodcreeper complex, *Xiphorhynchus guttatus/susurrans* (Aves: Dendrocolaptidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 85:131-140.
- Rousset F. 1997. Genetic differentiation and estimation of gene flow from F-statistics under isolation by distance. *Genetics*, 145: 1219-1228.
- Salewski V, Hochachka WM, Fiedler W. 2010. Global warming and Bergmann's rule: do central European passerines adjust their body size to rising temperatures? *Oecologia*, 162: 247-260.
- Sattler GD, Braun MJ. 2000. Morphometric variation as an indicator of genetic interactions between Black-capped and Carolina Chickadees at contact zone in the Appalachian mountains. *The Auk*, 117: 427-444.
- Sick H. 1997. *Ornitologia Brasileira*. Rio de Janeiro, Brasil: Nova Fronteira. 912 p.
- Siepielski, A.M., DiBattista, J.D. & Carlson, S.M. (2009). It's about time: the temporal dynamics of phenotypic selection in the wild. *Ecology Letters*. 12: 1261-1276.
- Slatkin M. 1995. A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. *Genetics*, 139: 457-462.

- Smith TB, Calsbeek R, Wayne RK, Holder KH, Pires D, Bardeleben C. 2004. Testing alternative mechanisms of evolutionary divergence in an African rain forest passerine bird. *Journal of Evolutionary Biology*, doi:101111/j1420-9101200400825x.
- Smith TB, Thomassen HA, Freedman AH, Sehgal RNM, Buermann W, Saatchi S, Pollinger J, Milá B, Pires D, Valkiūnas G, Wayne T. 2011. Patterns of divergence in the olive sunbird *Cyanomitra olivacea* (Aves: Nectariniidae) across the African rainforest-savanna ecotone. *Biological Journal of the Linnean Society* 103: 821–835.
- Spurgin LG, Illera JC, Jorgensen TH, Dawson DA, Richardson DS. 2014. Genetic and phenotypic divergence in an island bird: isolation by distance, by colonization or by adaptation? *Molecular Ecology*, 23: 1028–1039.
- Stillwell RC. 2010. Are latitudinal clines in body size adaptive? *Oikos*, 119: 1387-1390.
- Sulloway FJ, Kleindorfer S. 2013. Adaptive divergence in Darwin's small ground finch (*Geospiza fuliginosa*): divergent selection along a cline. *Biological Journal of the Linnean Society* 110: 45–59.
- Summers RW, Underhill LG, Waltner M, Swann RL. 2010. Differences in biometrics and moult of non-breeding Red Knots *Calidris canutus* in southern Africa and Scotland reflect contrasting climatic conditions. *Ibis*, 152: 127-135.
- Takagi M. 2002. Change in body mass in relation to breeding phase in bull-headed shrikes. *Ecological Research*, 17: 411-414.
- Teplitsky C, Mill JA, Alho JS, Yarrall JW, Merila JA. 2008. Bergmann's rule and climate change revisited: Disentangling environmental and genetic responses in a wild bird population. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105: 13492-13496.
- Thomassen HA, Buermann W, Milá B, Graham CH, Cameron SE, Schneider CJ, Pollinger JP, Saatchi S, Wayne RK, Smith TB. 2009. Modeling environmentally associated morphological and genetic variation in a rainforest bird, and its application to conservation prioritization. *Evolutionary Applications*, 3: 1-16.
- Whitney B, Alvarez Alonso J. 1998. A new *Herpsilochmus* antwren (aves: Thamnophilidae) from northern amazonian Peru and adjacent Ecuador: the role of edaphic heterogeneity of terra firme forest. *The Auk*, 115: 559 – 576.
- Whitney BM, Fernando Pacheco J, Buzzetti DRC, Parrini R. 2000. Systematic revision and biogeography of the *Herpsilochmus pileatus* complex, with description of a new species from northeastern Brazil. *The Auk*, 117:869-891.
- Wright S. 1946. Isolation by distance under diverse systems of mating. *Genetics*, 3: 39-59.
- Wunderle JM. 1994. Census methods for caribbean land birds. General Technical Report SO-98. New Orleans, USA: Department of Agriculture, Forest Service, Southern Forest Experiment Station. 26 p.

Zamith LR, Scarano FR. 2004. Produção de mudas de espécies das Restingas do município do Rio de Janeiro, RJ. *Brasil Acta Botanica Brasilica*, 18: 161-176.

Zanon MS. 2010. Distribuição, tamanho populacional e conservação de *Mimus gilvus* Aves: Mimidae no estado do Rio de Janeiro. Dissertação de Mestrado em Ecologia e Evolução. Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

Zink RM, Remsen JV. 1986. Evolutionary processes and patterns of geographic variation in birds. *Current Ornithology*, 4: 1-69.

Zink RM. 2004. The role of subspecies in obscuring avian biological diversity and misleading conservation policy. *Proceedings of the Royal Society of London B* (2004) 271, 561–564

Anexo1 – Tabelas de valores de significância das análises de Kruskal-Wallis de cada uma das medições, junto com a análise de comparações multiplex por cada localidade. Tamanho amostral = 114 (conclusão).

	ALNA			LARN		
K-W	gl=8;H=26,99;p***			gl=8;H=24,90;p*		
Local	Ranks	Grupos		Local	Ranks	Grupos
JB	28,5	A		SA	41,17	A
MB	33,08	A	B	ICA	41,28	A
SE	46,59	A	B C	MB	45,08	A
BOA	53,13	A	B C	BOA	50,04	A
PS	59,31	A	B C	JB	50,25	A
SA	60,67	A	B C D	CO	58,29	A B
ICA	60,92	B C D		SE	65,77	A B
CO	65,18	C D		PF	84,4	B
PF	88,67	D		PS	85,69	B

Legenda: Abreviações das medidas morfométricas: W= peso; CT= comprimento total; ASA= comprimento de asa; TAR= comprimento de tarso; CAU= comprimento da cauda; CUEX= comprimento de cúlmen exposto; HB= comprimento da cabeça; ALBA= altura base; LARB= largura base; NP= comprimento desde a narina ate a ponta do bico; ALNA= altura narina; LARN= largura narina. Abreviações dos outros encabeçados: K-W = teste Kruskal-Wallis; gl = graus de liberdade; p*** = p<0,0001; p** = p<0,001; p* = p<0,05; Local = localidade. Abreviações das localidades: BOA = Boa Vista, SA = Salinas, ICA = Icapuí, PF = Praia do Forte, PS = Porto Seguro, CON = Conceção da Barra, SE = Setiba, JB = Jurubatiba e MB = Ilha de Marambaia.

Nota: Na parte de grupos, as médias com uma letra em comum não são significativamente diferentes (p > 0,05).

Anexo 2 – Tabelas de resultados dos modelos lineares e mistos de cada variável dependente (medidas), tendo como variável de efeitos fixos a localidade e como variável de efeitos aleatórios o sexo. Tamanho amostral = 114 (continua).

W				CT				ASA				TAR				CAU			
ANV	DF=8; F-value=19,92; p***			Local	DF=8; F-value=19,93; p***			Local	DF=8; F-value=2,23; p*			Local	DF=8; F-value=5,86; p***			Local	DF=8; F-value=4,74; p***		
Local	Médias	E,P,,	Grupos	Local	Médias	E,P,,	Grupos	Local	Médias	E,P,,	Grupos	Local	Médias	E,P,,	Grupos	Local	Médias	E,P,,	Grupos
MB	63,04	1,56	A	PS	267,47	3,56	A	PF	110,27	1,8	A	BOA	34,89	0,55	A	MB	125,29	2,46	A
SE	62,63	1,28	A	SE	266,07	3,22	A B	MB	110,23	2,2	A B	SA	34,7	0,7	A B	PS	124,17	2,29	A
JB	61,61	1,35	A	MB	265,17	3,78	A B	SE	108,48	1,9	A B	PF	34,48	0,59	A B	SE	123,47	2,05	A B
PF	61,29	1,23	A	JB	259,95	3,37	B C	PS	108,27	2,1	A B C	MB	34,25	0,7	A B C	PF	123,25	1,98	A B
PS	61,09	1,45	A B	CO	255,63	3,16	C D	SA	107,71	2,2	A B C	SE	33,95	0,61	B C	JB	119,36	2,15	B C
SA	60,75	1,58	A B	BOA	253,91	2,81	D	JB	107,38	2	A B C	PS	33,76	0,66	B C	BOA	118,58	1,75	C
CO	58,93	1,24	B	SA	251,68	3,82	D	BOA	107,38	1,7	B C	CO	33,44	0,6	C D	ICA	117,97	1,91	C
BOA	56,07	1,07	C	PF	251,15	3,13	D	CO	106,64	1,9	B C	JB	33,36	0,63	C D	CO	117,77	2	C
ICA	51,81	1,18	D	ICA	239,96	3,03	E	ICA	105,35	1,8	C	ICA	32,67	0,58	D	SA	116,65	2,48	C

Anexo 2 – Tabelas de resultados dos modelos lineares e mistos de cada variável dependente (medidas morfométricas), tendo como variável de efeitos fixos a localidade e como variável de efeitos aleatórios o sexo. Tamanho amostral = 114 (continua).

CUEX				HB				ALBA				LARB				NP			
ANV	DF=8; F-value=5,78; p***			DF=8; F-value=2,76; p*			DF=8; F-value=7,70; p***			DF=8; F-value=2,39; p*			DF=8; F-value=5,70; p***						
Local	Médias	E,P	Grupos	Local	Médias	E,P,	Grupos	Local	Médias	EP	Grupos	Local	Médias	E,P,	Grupos	Local	Médias	E,P,	Grupos
JB	21,69	0,4	A	PF	50,26	0,5	A	CO	7,67	0,1	A	MB	12,36	0,31	A	PF	15,62	0,28	A
PF	21,27	0,36	A B	PS	49,53	0,56	A B	PS	7,66	0,2	A	SE	12,11	0,23	A	ICA	14,97	0,26	A B
MB	21,07	0,47	A B C	SE	49,53	0,51	A B	PF	7,25	0,1	B	JB	12,01	0,24	A B	MB	14,93	0,36	A B C
PS	20,96	0,43	A B C	JB	49,42	0,54	A B	SE	7,23	0,1	B	CO	11,65	0,21	A B	SE	14,64	0,29	B C
SE	20,68	0,38	B C	SA	49,25	0,6	A B	JB	7,12	0,2	B C	PF	11,56	0,2	A B	JB	14,58	0,31	B C
CO	20,36	0,36	C	MB	49,22	0,6	A B	MB	6,98	0,2	B C D	SA	11,54	0,31	A B	SA	14,24	0,37	C
SA	20,26	0,48	C D	ICA	48,88	0,49	B	SA	6,98	0,2	B C D	ICA	11,48	0,18	B	BOA	14,22	0,23	C
ICA	20,24	0,34	C D	BOA	48,86	0,45	B	ICA	6,81	0,1	C D	BOA	11,32	0,15	B	CO	14,19	0,28	C
BOA	19,67	0,3	D	CO	48,82	0,5	B	BOA	6,71	0,1	D	PS	11,31	0,27	B	PS	14,19	0,33	C

Anexo2 – Tabelas de resultados dos modelos lineares e mistos de cada variável dependente (medidas), tendo como variável de efeitos fixos a localidade e como variável de efeitos aleatórios o sexo. Debaixo de destes valores se mostra os resultados dos testes de comparações multiplex de Fisher. Tamanho amostral =114 (conclusão).

ALNA				LARN			
ANV	DF= 8; F-value= 4,50; p***			DF= 8; F-value= 3,38;p**			
Local	Médias	E,P,,	Grupos	Local	Médias	E,P,,	Grupos
PF	6,18	0,09	A	PF	5,69	0,12	A
CO	5,92	0,09	B	OS	5,69	0,16	A
PS	5,90	0,11	B	SE	5,43	0,14	A B
ICA	5,89	0,09	B	CO	5,28	0,12	B
SA	5,85	0,12	B C	BOA	5,18	0,09	B
BOA	5,85	0,08	B C	JB	5,16	0,14	B
SE	5,76	0,10	B C	MB	5,15	0,19	B
MB	5,76	0,12	B C	ICA	5,09	0,11	B
JB	5,63	0,10	C	AS	5,05	0,19	B

Legenda: Abreviações das medidas morfométricas: W= peso; CT= comprimento total; ASA= comprimento de asa; TAR= comprimento de tarso; CAU= comprimento da cauda; CUEX= comprimento de cúlmen exposto; HB= comprimento da cabeça; ALBA= altura base; LARB= largura base; NP= comprimento desde a narina ate aponta do bico; ALNA= altura narina; LARN= largura narina. Outras abreviações: ANV= ANOVA; DF= graus de liberdade; p*** = p<0,0001; p** = p<0,001; p* = p<0,05; Local = localidade; E.P = erro padrão. Abreviações das localidades: BOA = Boa Vista, SA = Salinas, ICA = Icapuí, PF = Praia do Forte, PS = Porto Seguro, CON = Conceção da Barra, SE = Setiba, JB = Jurubatiba e MB = Ilha de Marambaia.

Nota: Na parte de grupos, as médias com uma letra em comum não são significativamente diferentes (p > 0,05).

Anexo 3 – Tabelas de valores de significância das análises de Kruskal-Wallis e testes de comparações multiplex para cada uma das medidas morfométricas para os táxons *M. gilvus melanopterus* vs *M. g. antelius*. Tamanho amostral = 114.

	W		CT		ASA		TAR		CAU	
K-W	gl = 1; H = 13,75; p**		gl = 1; H = 0,38; p = NS		gl = 1; H = 0,52; p = NS		gl = 1; H = 10,95; p **		gl = 1; H = 2,56; p = NS	
Táxon	Ranks	Grupos	Ranks	Grupos	Ranks	Grupos	Ranks	Grupos	Ranks	Grupos
<i>melanopterus</i>	36,4	A					51,93	A		
<i>antelius</i>	63,7	B					76,35	B		

	CUEX		HB		ALBA		LARBA		NP	
K-W	gl = 1; H = 14,15; p**		gl = 1; H = 3,42; p = NS		gl = 1; H = 17,93; p ***		gl = 1; H = 5,12; p *		gl = 1; H = 6,80; p *	
Táxon	Ranks	Grupos	Ranks	Grupos	Ranks	Grupos	Ranks	Grupos	Ranks	Grupos
<i>melanopterus</i>	36,1	A			33,38	A	44,62	A	42,65	A
<i>antelius</i>	63,8	B			64,63	B	61,31	B	61,89	B

	ALNA		LARN	
K-W	gl = 1; H = 0,59; p = NS		gl = 1; H = 1,72; p = NS	
Táxon	Ranks	Grupos	Ranks	Grupos

Legenda: Abreviações das medidas morfométricas: W= peso; CT= comprimen tototal; ASA= comprimento de asa; TAR= comprimento de tarso; CAU= comprimento da cauda; CUEX= comprimento de cúlmen exposto; HB= comprimento da cabeça; ALBA= altura base; LARB= largura base; NP= comprimento desde a narina ate aponta do bico; ALNA= altura narina; LARN= largura narina. Abreviações dos outros encabeçados: K-W= Kruskal-Wallis; gl= graus de liberdade; p*** = p<0,0001; p** = p<0,001; p* = p<0,05; p = NS = valor não significante.

Nota: Na parte de grupos, os táxons com uma letra em comum não são significativamente diferentes (p > 0,05).

Anexo 4 – Tabelas de resultados dos modelos lineares e mistos de cada variável dependente (medidas morfométricas), tendo como variável de efeitos fixos o táxon (*Mimus gilvus melanopterus* vs *M. g. antelius*) e como variável de efeitos aleatórios o sexo. Abaixo destes valores encontram-se os resultados dos testes de comparações multiplex de Fisher. Tamanho amostral =114.

	W			CT			ASA			TAR			CAU		
ANV	DF=1; F-value=9,80; p*			DF=1; F-value=0,30; p = NS			DF=1; F-value=0,24; p = NS			DF=1; F-value=16,35; p***			DF=1 F-value=3,36; p =NS		
Táxon	Médias	E,E,	Grupos	Médias	E,E,	Grupos	Médias	E,E,	Grupos	Médias	E,E,	Grupos	Médias	E,E,	Grupos
<i>Melanopterus</i>	59,56	1,56	A	256,1	3,64	A	107,94	1,7	A	34,95	0,5	A	118,86	1,97	A
<i>Antelius</i>	56,3	1,28	B	254,77	3,97	A	107,5	1,8	A	33,76	0,46	B	121,05	1,81	A

	CUEX			HB			ALBA			LARB			NP		
ANV	DF=1; F-value=21,55; p***			DF=1; F-value=3,83; p = NS			DF=1; F-value=18,13; p***			DF=1; F-value=15,01; p*			DF=1 F-value=7,47; p *		
Táxon	Médias	E,E,	Grupos	Médias	E,E,	Grupos	Médias	E,E,	Grupos	Médias	E,E,	Grupos	Médias	E,E,	Grupos
<i>melanopterus</i>	19,68	0,3	A	48,86	0,47	A	6,71	0,1	A	11,72	0,08	A	14,76	0,2	A
<i>antelius</i>	20,79	0,26	B	48,86	0,47	A B	7,21	0,1	B	11,33	0,15	B	5,87	0,08	B

	ALNA			LARN		
ANV	DF=1; F-value= 1,75; p =NS			DF=1; F-value= 1,75; p = NS		
Táxon	Médias	E,E,	Grupos	Médias	E,E,	Grupos
<i>melanopterus</i>	5,84	0,09	A	5,18	0,1	A
<i>antelius</i>	5,87	0,08	A	5,32	0,06	A

Legenda: Abreviações das medidas morfométricas: W= peso; CT= comprimento total; ASA= comprimento de asa; TAR= comprimento de tarso; CAU= comprimento da cauda; CUEX= comprimento de cúlmen exposto; HB= comprimento da cabeça; ALBA= altura base; LARB= largura base; NP= comprimento desde a narina ate aponta do bico; ALNA= altura narina; LARN= largura narina. Outras abreviações: ANV= ANOVA; DF = graus de liberdade; p*** = p<0,0001; p** = p<0,001; p* = p<0,05; p = NS = valor não significante.

Nota: Na parte de grupos, os táxons com uma letra em comum não são significativamente diferentes (p > 0,05).

Anexo 5 – Tabelas de valores de significância das análises de Kruskal-Wallis o teste de comparações multiplex para cada uma das medidas morfométricas das linhagens genéticas (Norte 1, Norte 2 e Sul). Tamanho amostral = 114.

	W		CT		ASA		TAR		CAU	
K-W	gl = 2; H = 45,42; p***		gl = 2; H = 34,11; p***		gl = 2; H = 6,02; p*		gl = 2; H = 13,07; p**		gl = 2; H = 9,36; p*	
Linhagem	Ranks	Grupos	Ranks	Grupos	Ranks	Grupos	Ranks	Grupos	Ranks	Grupos
Norte 1	36,4	A	53,98	A	53,4	A	76,35	B	48,38	A
Norte 2	31,4	A	25,13	B	45,21	A B	43,56	A	45,19	A
Sul	63,7	B	71,07	C	63,77	B	55,07	A	65,82	B

	CUEX		HB		ALBA		LARBA		NP	
K-W	gl = 2; H = 23,11; p***		gl = 2; H = 7,20; p*		gl = 2; H = 33,16; p***		gl = 2; H = 7,29 ; p*		gl = 2; H = 6,80 ; p*	
Linhagem	Ranks	Grupos	Ranks	Grupos	Ranks	Grupos	Ranks	Grupos	Ranks	Grupos
Norte 1	36,1	A	46,96	A	33,38	A	44,62	A	42,65	A
Norte 2	46,6	A	49,44	A B	42,17	A	52,83	A B	61,4	B
Sul	70,3	B	64,8	B	73,05	B	64,48	B	62,07	B

	ALNA		LARN	
K-W	gl = 2; H = 0,72; p= NS		gl = 2; H = 12,0; p*	
Linhagem	Ranks	Grupos	Ranks	Grupos
Norte 1			50,04	A
Norte 2			41,25	A
Sul			66,63	B

Legenda: Abreviações das medidas morfométricas: W= peso; CT= comprimento total; ASA= comprimento de asa; TAR= comprimento de tarso; CAU= comprimento da cauda; CUEX= comprimento de cúlmen exposto; HB= comprimento da cabeça; ALBA= altura base; LARB= largura base; NP= comprimento desde a narina ate aponta do bico; ALNA= altura narina; LARN= largura narina. Abreviações dos outros encabeçados: K-W= Kruskal-Wallis; gl= graus de liberdade; p*** = p<0,0001; p** = p<0,001; p* = p<0,05; p = NS = valor não significante.

Nota: Na parte de grupos, os táxons com uma letra em comum não são significativamente diferentes (p > 0,05). Linhagem: Norte 1= Boa Vista; Norte 2= Salinas e Icapuí; Sul= Praia do Forte até Ilha de Marambaia.

Anexo 6 – Tabelas de resultados dos modelos lineares e mistos de cada variável dependente (medidas morfométricas), tendo como variável de efeitos fixos as linhagens genéticas (Norte 1, Norte 2 e Sul) e como variável de efeitos aleatórios o sexo. Debaixo destes valores se encontram os resultados dos testes de comparações multiplex de Fisher. Tamanho amostral =114.

	W			CT			ASA			TAR			CAU		
ANV	DF=2; F-value=40,09; p***			DF=2; F-value=32,35; p***			DF=2; F-value=3,69; p*			DF=2; F-value=11,11; p***			DF=1 F-value=7,57; p**		
Linhagem	Médias	E,E,	Grupos	Médias	E,E,	Grupos	Médias	E,E,	Grupos	Médias	E,E,	Grupos	Médias	E,E,	Grupos
Norte 1	56,19	1,13	B	254,46	3,39	A	107,43	1,6	A	34,92	0,52	A	118,77	1,87	A
Norte 2	54,23	1,19	B	243,73	3,52	B	106,02	1,7	A B	33,23	0,49	B	117,93	1,95	A
Sul	61,35	1,01	A	260,14	3,19	C	108,54	1,8	B	33,91	0,54	C	122,04	1,74	B

	CUEX			HB			ALBA			LARB			NP		
ANV	DF=2; F-value=15,89; p***			DF=2; F-value=3,89; p*			DF=2; F-value=19,34; p***			DF=2; F-value=3,78; p*			DF=2; F-value=3,74; p *		
Linhagem	Médias	E,E,	Grupos	Médias	E,E,	Grupos	Médias	E,E,	Grupos	Médias	E,E,	Grupos	Médias	E,E,	Grupos
Norte 1	19,66	0,27	A	48,85	0,45	A	6,71	0,1	A	11,33	0,15	A	14,23	0,24	A
Norte 2	20,24	0,32	A	48,96	0,49	A B	6,85	0,1	A	11,5	0,16	A B	14,8	0,2	B
Sul	20,97	0,3	B	49,48	0,48	B	7,34	0,1	B	11,8	0,1	B	14,75	0,25	B

	ALNA			LARN		
ANV	DF=2; F-value= 0,13; p = NS			DF=2; F-value= 5,56; p*		
Linhagem	Médias	E,E,	Grupos	Médias	E,E,	Grupos
Norte 1	5,84	0,09	A	5,18	0,1	A
Norte 2	5,86	0,1	A	5,07	0,1	A
Sul	5,88	0,09	A	5,41	0,07	B

Legenda: Abreviações das medida morfométricass: W= peso; CT= comprimento total; ASA= comprimento de asa; TAR= comprimento de tarso; CAU= comprimento da cauda; CUEX= comprimento de cúlmen exposto; HB= comprimento da cabeça; ALBA= altura base; LARB= largura base; NP= comprimento desde a narina ate aponta do bico; ALNA= altura narina; LARN= largura narina. Abreviações dos outros encabeçados: ANV= ANOVA; DF = graus de liberdade; p*** = p<0,0001; p** = p<0,001; p* = p<0,05; p = NS = valor não significante.

Nota: Na parte de grupos, os táxons com uma letra em comum não são significativamente diferentes ($p > 0,05$). Linhagem: Norte 1= Boa Vista; Norte 2= Salinas e Icapuí; Sul= Praia do Forte até Ilha de Marambaia.

3 VARIAÇÃO GEOGRÁFICA DO CANTO EM *Mimus gilvus* (SABIÁ-DA-PRAIA) NO BRASIL: RELAÇÃO ENTRE O ISOLAMENTO POR DISTÂNCIA, A DIVERGÊNCIA GENÉTICA E A ADAPTAÇÃO.

Resumo

O canto é um elemento constante na vida das aves Passeriformes, fazendo parte de uma grande variedade de *displays* comportamentais, cumprindo diversas funções importantes para a eficácia biológica, sobrevivência e constante evolução destas. A variação geográfica do canto pode ter efeitos profundos nos padrões de dispersão (por exemplo, entre a taxa de dispersão de machos e fêmeas), na escolha de parceiros e no fluxo gênico, podendo ser um elemento chave nos processos de divergência. A fim de avaliar a variação geográfica do canto em *Mimus gilvus* e estabelecer se esta variação é concordante com a variação genética e morfológica, além de investigar a existência de algum padrão de divergência, foram analisados 900 cantos de 81 machos gravados em nove localidades distribuídas no Brasil, que inclui duas subespécies deste táxon (*M. g. melanopterus* e *M. g. antelius*). Foram obtidas diversas medidas dos cantos e as notas que compõem cada canto dos indivíduos amostrados em cada localidade. Para comprovar a variação no canto foram empregados testes de Kruskal-Wallis e análises da função discriminante. Os resultados indicam que *M. gilvus* apresenta uma variação geográfica no canto, possivelmente um produto de um padrão de divergência de isolamento por distância, acompanhado por processo de adaptação local, principalmente nas notas. A variação no canto foi maior entre as linhagens genéticas descritas em análises prévias (capítulo 1 da presente tese) do que entre localidades. Além disso a variação genética acompanhou a variação fenotípica (cantos e notas). Foi encontrada uma marcada diferença nos cantos entre subespécies, sobretudo em caracteres altamente associados a processos adaptativos como as medidas de frequência, sugerindo possíveis diferenças no nível de espécie que precisam ser confirmadas por estudos futuros.

3.1 Introdução

A região neotropical abriga uma das mais elevadas diversidades de espécies de aves do mundo (Haffer 1990), representadas amplamente pela ordem Passeriformes (Clements et al. 2015), as quais possuem amplo repertório vocal. Uma das características mais importantes deste grupo é a presença da siringe, órgão especializado na produção de sons, tipicamente envolvidos na comunicação acústica destas espécies, que tradicionalmente se conhece como cantos (Catchpole e Slater 2008). O canto é definido como sinais acústicos complexos específicos de uma espécie emitidos principalmente em um contexto intrasexual e de acasalamento, comumente usado pelos machos para atrair as fêmeas e para deslocar machos rivais (Searcy e Andersson 1986). O canto é um comportamento que pode ser inato ou aprendido, que também pode cumprir diversas funções que estão diretamente relacionadas com o valor adaptativo do indivíduo (Catchpole e Slater 2008), sujeito a processos de seleção natural e sexual, herdado genética e culturalmente, com padrões evolutivos complexos que têm produzido uma elevada diversidade de aves (Grant e Grant, 1997).

Tradicionalmente a ordem Passeriformes se divide em duas grandes subordens, os Tyranni, comumente referido às aves Suboscines, e os Passeri, referido geralmente às aves canoras Oscines (Baker et al. 2002). Atualmente, de forma generalizada, se assume que todos os membros dos Suboscines têm canto inato, ou seja, as vocalizações são principalmente ou inteiramente herdadas (Kroodsma 1984, 1989; Kroodsma e Konishi 1991) enquanto que no grupo Oscines os sinais vocais são aprendidos e transmitidos culturalmente em diferentes sistemas de aprendizagem (Beecher e Brenowitz 2005). O erro neste processo de aprendizagem provavelmente tem produzido a ampla diversidade nos padrões de variação geográfica observados na natureza (Podos e Warren 2007). A evolução destas variações no tempo pode influenciar os padrões de dispersão, diminuir o fluxo gênico entre populações e estar relacionada a processos de seleção sexual, que sob certos cenários, podem produzir eventos de especiação por isolamento reprodutivo (Grant e Grant 1997, Balakrishnan e Sorenson 2006, Podos e Warren 2007, Colbeck et al. 2010, Danner et al. 2011). Devido à associação do canto com os processos evolutivos, tem sido reconhecido o seu uso na taxonomia, em especial na delimitação de

espécies (e.g. Krabbe e Schulenberg 1997, Isler et al. 1997, 1998, 2001, Alström e Raft 2003, Isler et al. 2011).

Atualmente, os caracteres vocais são quase que obrigatórios nos estudos de sistemática, junto com caracteres moleculares e morfológicos, sendo muito valorizados porque usualmente as variações vocais são coincidentes com as filogenéticas, sobretudo em casos em que a morfometria revela uma baixa variação (e.g. Nyári 2007, O'Neill et al. 2011, Carneiro et al. 2012). Recentes estudos têm levado em consideração que a divergência genética e fenotípica entre as populações podem ser produto da limitada dispersão e deriva genética gradual entre populações (isolamento por distância), da história da colonização e do efeito fundador (isolamento por colonização) ou por adaptação a diferentes ambientes prevenindo a migração entre populações (isolamento por adaptação) (Spurgin et al. 2014). Estes estudos podem contribuir para o entendimento do papel do canto aprendido nos processos de evolução das aves do grupo Oscines.

Dentro deste grupo Oscines se destaca a família Mimidae, devido ao fato de que seus membros, em geral, possuem cantos melodiosos, com grandes tamanhos de repertórios, como, por exemplo, os observados para a espécie *Toxostoma rufum* que podem chegar a cerca de 2000 tipos diferentes (Cody 2005). Nesta família a maior parte das espécies possui ampla distribuição geográfica. Dentro deste contexto, destaca-se a espécie *Mimus gilvus*, o qual apresenta o maior número de variações geográficas (ver Cody 2005) e provavelmente o maior número de variações geográficas no canto, principalmente nos padrões de repetição de notas como já foi encontrado por e.g. Botero e Vehrencamp (2007) na localidade de Bonaire, Botero e colaboradores (2007), (2009) na Colômbia e Price e Yuan (2011) em Belize.

Mimus gilvus agrupa 10 subespécies reconhecidas, as quais se distribuem de Veracruz e Oxaca (México) até o Panamá; do norte e centro da Colômbia, atravessando a Venezuela até o norte do Brasil (Roraima), Suriname e Guiana Francesa. Na costa leste do Brasil, ocorre do estado do Pará até o Rio de Janeiro. Neste país são reconhecidas duas subespécies: *M. g. melanopterus* para a região norte (Roraima), e *M. g. antelius* para a costa leste (Cody 2005).

Entre estas subespécies existem algumas diferenças ecológicas, por exemplo, *M. g. antelius* permanece restrita à vegetação costeira enquanto que *M. g. melanopterus* é

preferencialmente encontrada em savanas no interior do continente; adicionalmente, parecem apresentar diferenças morfológicas, na coloração das plumagens e no peso (Cody 2005, ver capítulo 1 e 2). Particularmente, *M. g. antelius* apresenta duas principais variações adaptativas ao ambiente: as populações isoladas, principalmente no limite de sua distribuição sul, permanecem restritas às áreas com vegetação de restinga e têm sido categorizadas como “Em Perigo” de extinção nos estados do Rio de Janeiro (Alves et al. 2000) e do Espírito Santo (Simon et al. 2007) enquanto que nas outras localidades de distribuição, como Bahia e Ceará, a espécie é facilmente observada e não é comum na formação vegetal de restinga de moita, embora ocorra com frequência em outras fitofisionomias de Zona úmida, Mata, Caatinga e áreas antropizadas (Lino et al. 2011, obs. pess.). As características da história de vida do *M. gilvus* no Brasil, tais como canto aprendido, ampla distribuição, especificidade e/ou uso de diferentes tipos de hábitat, variação geográfica morfológica (duas subespécies), fazem com que esta ave seja um modelo interessante para o estudo da evolução do canto e suas inter-relações entre a variação genética e morfológica.

O objetivo do presente capítulo é fazer uma comparação dos cantos de *M. gilvus* de diversas localidades do Brasil, para responder as seguintes perguntas: 1) existe uma variação geográfica do canto?; 2) a variação geográfica do canto é concordante com a variação genética e morfológica? e, 3) a variação geográfica do canto é coincidente com um padrão de isolamento por distância, com isolamento por adaptação ou pelos dois?

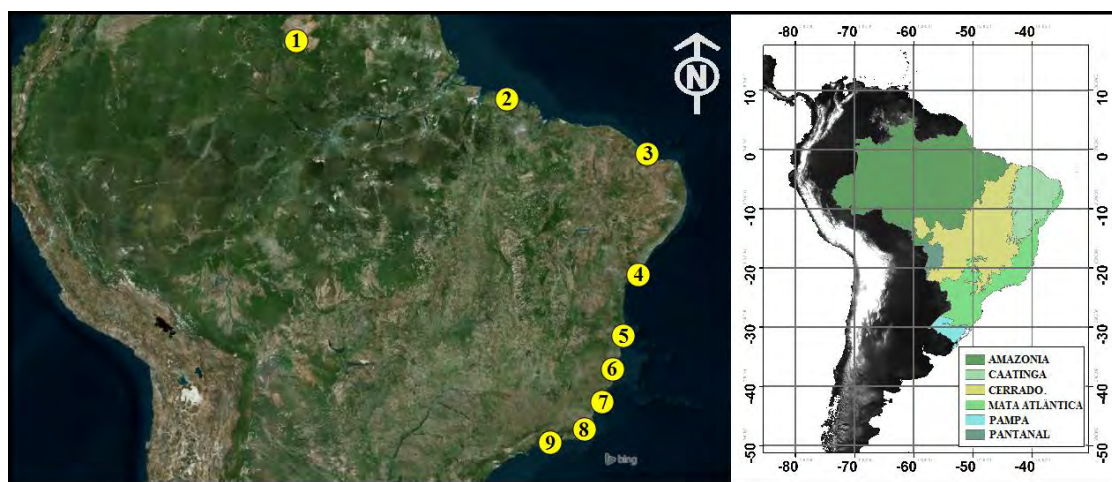
3.2 Área de Estudo e Métodos

3.2.1 Localidades amostradas

Foram amostrados indivíduos de nove localidades geográficas nos seguintes estados do Brasil: Roraima, Pará, Ceará, Bahia, Espírito Santo e Rio de Janeiro (Figura 14), os quais foram aqui tratados como nove populações geográficas. Na Tabela 6 são especificadas as coordenadas geográficas, as localidades e o bioma de amostragem. Do

Pará até o Rio de Janeiro a subespécie *M. g. antelius* se distribui no litoral, em diferentes tipos de vegetação, inclusive em áreas antrópicas. Particularmente, os indivíduos de Setiba (ES), Jurubatiba (RJ) e Marambaia (RJ) se restringem ao hábitat de restinga. A subespécie *M. g. melanopterus* foi encontrada na cidade de Boa Vista, em diversos habitats abertos, incluindo jardins, vivendas e ruas.

Figura 14 – Localização dos pontos de amostragem de *Mimus gilvus* no Brasil.



Legenda: Os números correspondem aos indicados na Tabela 1. À direita se mostra o mapa da América do Sul com os biomas presentes no Brasil.

Tabela 6 – Localidades amostradas de *Mimus gilvus* no Brasil.

No	Id	Latitude (N/S)	Longitude (W)	Estado	Município	Local	Bioma	N
1	BOA	02° 50' 35.9" N	60° 39' 58.0"	RO	Boa Vista	Cidade de Boa Vista, Prédio Masayoshi Eda	Amazônia	10
2	AS	00° 36' 22.6" S	47° 22' 22.3"	PA	Salinas	Praia Maçarico	Amazônia	5
3	ICA	04° 39' 46.5" S	37° 26' 25.5"	CE	Icapuí	Praia de Icapuí	Caatinga	10
4	PF	12° 35' 03.5" S	38° 01' 01.1"	BA	Lauro de Freitas	Praia do Forte	Mata Atlântica	10
5	OS	16° 26' 20.0" S	39° 03' 59.6"	BA	Porto Seguro	Porto Seguro	Mata Atlântica	10
6	CO	18° 34' 40.3" S	39° 44' 08.0"	ES	Conceição da Barra	Praia de Guaxindiba	Mata Atlântica	10
7	SE	20° 34' 44.8" S	40° 25' 23.9"	ES	Guarapari	Setiba	Mata Atlântica	10
8	JB	22° 16' 41.6" S	41° 39' 05.4"	RJ	Carapebus	Restinga de Jurubatiba	Mata Atlântica	10
9	MB	23° 02' 17.5" S	43° 53' 22.4"	RJ	Rio de Janeiro	Ilha de Marambaia	Mata Atlântica	6

Legenda: Id = número da localidade na Figura 1; N = número de indivíduos amostrados.

3.2.2 Amostragem e análise bioacústica

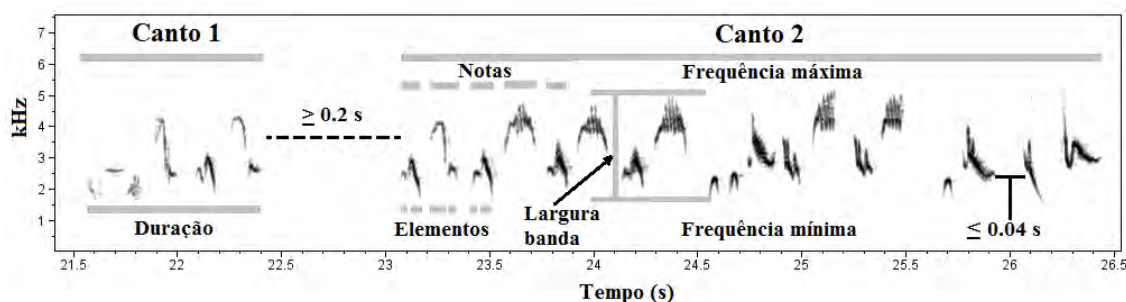
Em cada ponto de amostragem foram gravados os cantos de ao menos 10 indivíduos assumidos como machos durante 20 minutos na estação reprodutiva (aparentemente só os machos cantam em *M. gilvus* seguindo Botero et al. 2007, 2009). A amostragem foi realizada entre final de agosto e início de dezembro, tempo estimado em que acontecem os períodos de aquisição de parceiras reprodutivas por parte dos machos, onde os territórios são mantidos e defendidos por meio do canto e período em que constam informações de encontro de ninhos (início de novembro 2012 – Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba/RJ e início de dezembro 2012 - Praia do Forte/BA), além de registros na literatura da estação reprodutiva na Venezuela da subespécie *M. g. melanopterus* (Cody 2005) e do período reprodutivo reportado por Pessoa (2012) julho a fevereiro na localidade de Setiba (ES) de *M. g. antelius*.

As gravações digitais do canto foram feitas com uma taxa de 48 kHz e 16 bits por amostra, empregando um gravador Marantz PMD660 e um microfone unidirecional Sennheiser ME67 em um sistema de suspensão de microfone para vento (*Rode Blimp Microphone Windshield Suspension System*). Para o procedimento de gravação foi feita uma transecção linear ao longo da costa. Os cantos foram gravados uma única vez para cada indivíduo localizado ao longo da transecção, observando com binóculos que não correspondessem a indivíduos anteriores, ressaltando que os indivíduos geralmente cantam no topo de arbustos ou poleiros com distâncias que parecem regulares entre eles (Alves comum. pessoal) .

Os espectros de cantos de cada indivíduo foram visualizados e medidos em sua estrutura usando o programa Raven 1.4. (Bioacoustics Research Program, Cornell Lab of Ornithology; *window type*: Hamming, *size*: 21.3 ms, *filter bandwidth*: 61 hz; *overlap*: 80%; *DFT size*: 1024 samples). As características medidas de cada canto foram: frequência máxima, frequência mínima, largura de banda, duração para cada canto, o 1st Quartil de frequência, o 3rd Quartil de frequência e a medição IQR de largura de banda e frequência dominante (Charif et al. 2010, Figura 15). Estas mesmas medidas foram aplicadas para cada nota. Adicionalmente, para o canto também se estabeleceu o número de notas de cada canto, tipo de notas (número de notas diferentes quanto a sua estrutura em um mesmo canto) o número de notas exclusivas (notas únicas que se

apresentam uma só vez em um mesmo canto), o número de notas repetidas (número de notas que se apresentam várias vezes em um mesmo canto) e a velocidade de canto (*pace* - número de notas do canto por segundo, contando pares de elementos curtos e longos como uma nota). Também foram estabelecidos o número de elementos de cada nota. Uma nota (sílabas) foi definida como um som ou grupos de sons, que foram separados de outros sons por mais de 0,04 segundos de silêncio (Botero et al. 2009); da mesma maneira que um canto foi definido como uma nota ou um grupo de notas separadas de outros cantos por uma distância mínima de 0,2 s (Figura 15). Para fazer estas medições foi escolhido um total de 10 cantos por macho, de cada um dos 10 machos gravados por localidade, selecionando os primeiros 10 cantos na ordem em que foram gravados (subamostra). Nos casos onde não foi possível gravar 10 machos (ver Tabela 6), o número total de cantos medidos para a localidade foi igualado com a adição de mais cantos dos machos (por exemplo, no caso de Salinas, onde foram amostrados cinco indivíduos, foram utilizados 20 cantos por indivíduo). Isto foi feito para igualar o número de amostras por localidade, uma vez que o interesse não foi o de avaliar a variação individual, mas se há padrão de variação entre localidades. As medições feitas dos cantos e das notas dos cantos foram comparadas estatisticamente de maneira independente, por que as medições das notas permitem caracterizar tipos de nota por localidade, situação que não seria possível só com medições do canto, embora os cantos podem ser diferentes nos números de notas e os tipos das notas que os compõem.

Figura 15 – Sonograma representativo mostrando a nomenclatura e as medições do canto de *Mimus gilvus*, localidade de Jurubatiba, RJ.



3.2.3 Análises estatísticas

Para avaliar a existência de diferenças estatísticas nas medições dos cantos e notas entre localidades, se utilizou o teste de análise de variância não paramétrico Kruskal-Wallis implementado no programa InfoStat (Di Rienzo et al. 2015). Com os dados das medições dos cantos e das notas foram feitas análises canônicas da função discriminante usando o programa Statistica 7.0 (StatSoft), de forma a investigar a existência de variação geográfica de acordo com as localidades ou entre linhagens genéticas (Norte 1 - Boa Vista; Norte 2 - Icapuí e Salinas e Sul - todas as demais localidades desde Praia do Forte até Ilha de Marambaia), as quais foram estabelecidos previamente em análises filogeográficas (ver capítulo 1). Para avaliar a concordância da variabilidade genética, da variação morfométrica, da variação do canto e das distâncias geográficas entre as localidades foram feitos testes de Mantel empregando InfoStat (Di Rienzo et al. 2015). As matrizes das medições do canto e das notas foram feitas calculando-se as distâncias euclidianas em Infostat (Di Rienzo et al. 2015), usando os dois primeiros eixos dos escores canônicos da representação espacial de todas as variáveis medidas nos cantos e nas notas obtidas na análise discriminante. A matriz de distâncias geográficas foi calculada empregando ArcMap 10.1(ESRI 2011). As matrizes de distâncias morfológicas, genéticas e climáticas foram obtidas dos resultados do capítulo 2 da presente tese.

A fim de se avaliar a relação entre a variação das medições do canto com a variação de algumas medições morfométricas (peso e cúlmen exposto) associadas com a variação dos sons em aves passeriformes (Podos 2001, Podos e Nowicki 2004, Podos 2010, Derryberry et al. 2012), foram feitas regressões lineares empregando o programa Statistica 7.0 (StatSoft). Os dados do peso e cúlmen exposto foram obtidos das médias das medidas obtidas de indivíduos capturados nas mesmas localidades (ver Capítulo 2).

3.3 Resultados

Foram analisados 81 machos, medidos 900 cantos e 3980 notas. O número de machos gravados variou em algumas localidades (ver Tabela 6), provavelmente influenciada pela densidade populacional, como no caso de Salinas (onde só foram encontrados cinco machos) e da Ilha de Marambaia (apenas seis machos foram detectados). Esta baixa densidade na Ilha Marambaia foi reportada previamente por Zanon (2010).

Os valores das médias das medições dos cantos e das notas, na maioria dos casos, apresentou os menores valores na localidade de Boa Vista com exceção das variáveis descritivas do número de notas, a duração e o número de elementos de nota (Tabela 7, Figura 16 e 17). Da mesma maneira os valores mais altos encontrados foram para as localidades do extremo sul (Jurubatiba e Setiba) (Tabela 7, Figura 16 e 17).

Tabelas 7 – Médias das medidas dos cantos (acima) e das notas (abaixo) de indivíduos de *Mimus gilvus* em diferentes localidades amostradas no Brasil.

	Localidade	Fmáx	Fmin	Lar banda	Duração	Fd	Q1	Q3	IQR	N notas	N únicas	N repetidas	Tipo Nota	Pace
CANTOS	BOA	2894,1	1634,8	1594,7	1,12	2177,9	1962,7	2340,5	377,8	3,8	2,1	1,7	2,76	3,68
	SA	4028,5	1881,3	2147,2	0,87	2762,4	2535,9	2944,2	408,3	3,5	1,8	1,7	2,52	4,07
	ICA	4146,1	1674,9	2471,2	0,96	2849,1	2502,7	2787,7	576,6	3,8	2,2	1,5	2,88	4,12
	PF	4427,9	1759,8	2668,1	0,95	2899,7	2425,3	3047,3	622,0	3,8	2,8	1,0	3,17	4,08
	PS	4645,6	1813,6	2832,0	1,18	2927,1	2476,8	3205,0	728,2	5,0	2,3	2,7	3,41	4,44
	CO	4708,4	1787,9	2920,5	1,26	2925,5	2412,2	3174,8	762,7	5,5	2,3	3,3	3,62	4,83
	SE	4528,7	1792,7	2736,0	1,13	2897,8	2507,8	3136,4	628,6	4,8	3,1	1,8	3,91	4,33
	JB	4710,6	1499,0	3211,5	1,29	2920,3	2454,8	3219,8	765,0	5,7	2,8	2,9	3,93	4,51
	MB	3974,6	1664,4	2310,1	0,93	2601,1	2333,4	2832,7	499,2	3,9	2,1	1,8	2,77	4,63
	Localidade	Fmáx	Fmin	Lar banda	Duração	Fd	Q1	Q3	IQR	N elem,				
NOTAS	BOA	2639,8	1747,9	1213,6	0,221	2067,4	1951,7	2202,8	251,1	2,6				
	SA	3434,3	2114,4	1319,9	0,183	2632,6	2499,2	2766,4	267,2	2,4				
	ICA	3577,8	2024,5	1553,4	0,1884	2782,0	2590,0	2631,2	341,3	1,9				
	PF	3680,7	2122,7	1558,0	0,1876	2788,3	2596,9	2954,5	357,6	2,4				
	PS	3847,6	2166,5	1681,1	0,170	2857,2	2655,6	3049,8	394,2	2,9				
	CO	3843,1	2113,0	1730,2	0,174	2823,8	2616,0	3009,2	393,2	2,5				
	SE	3679,1	2222,3	1456,8	0,162	2866,9	2680,5	3025,8	345,4	2,5				
	JB	3909,7	1979,9	1929,9	0,173	2854,0	2616,2	3025,6	409,3	2,7				
	MB	3525,5	2012,1	1513,5	0,177	2745,2	2530,8	2903,3	372,6	2,4				

Legenda: Abreviações das medidas: Fmáx = frequência máxima; Fmin = frequência mínima; Lar banda = Largura banda; Fd. = frequência dominante; Q1 = 1st Quartil de frequência; Q3 = 3rd Quartil de frequência; IQR = IQR de largura de banda; N notas = número de notas; N únicas = número de notas únicas; N repetidas = número de notas repetidas; N elem = número de elementos de nota. Abreviações das áreas amostradas: BOA = Boa Vista, SA = Salinas, ICA = Icapuí, PF = Praia do Forte, PS = Porto Seguro, CON = Conceição da Barra, SE = Setiba, JB = Jurubatiba e MB = Marambaia. As cores mostram os valores altos (cinza escuro) e baixos (cinza claro) para cada medida dos cantos e das notas.

Figura 16 - Diagrama de caixa com a estimativa de *Wisker* para cada uma das medidas dos cantos de *Mimus gilvus* em nove localidades do Brasil. (Continua).

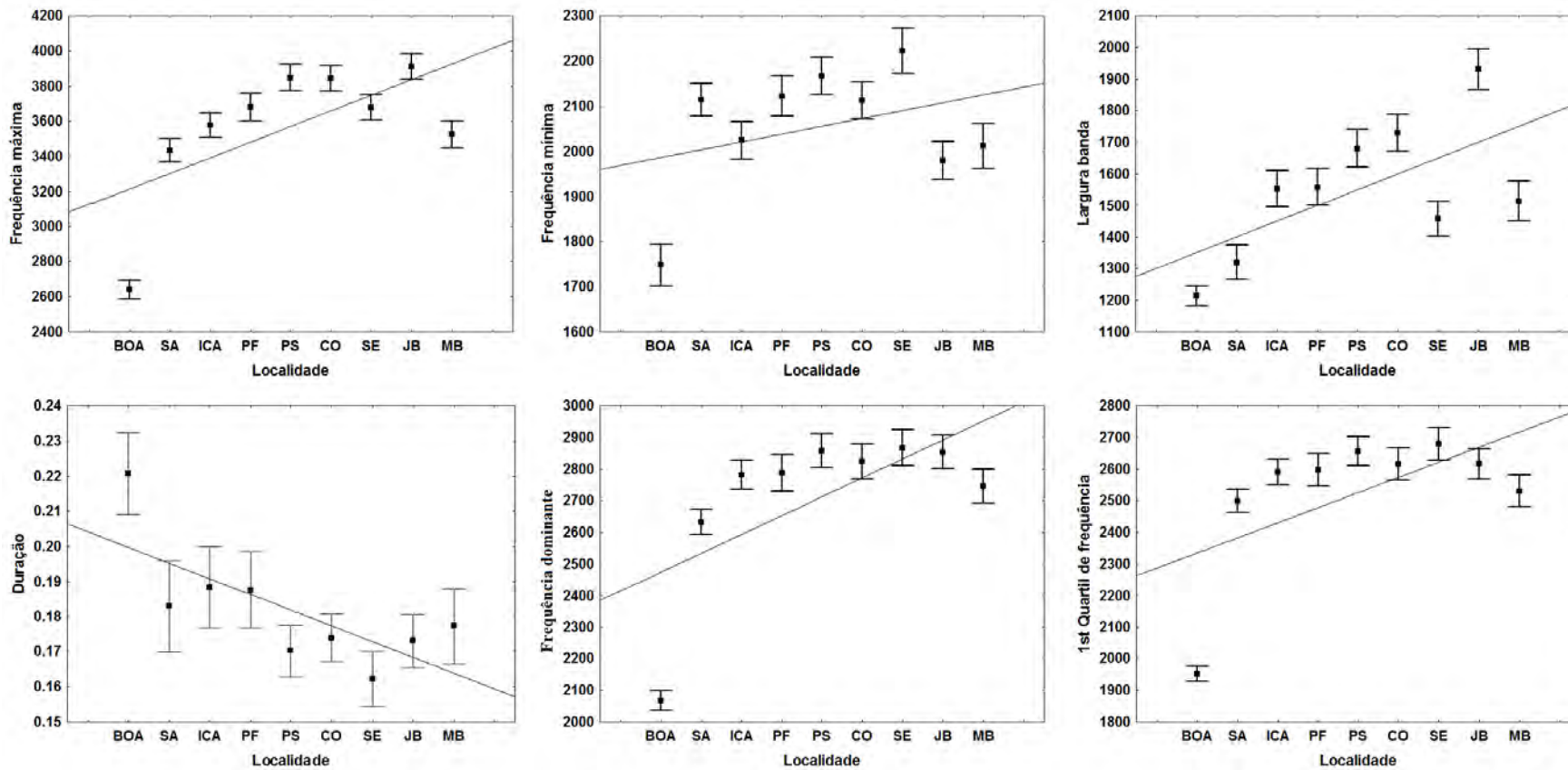


Figura 16 - Diagrama de caixa com a estimativa de *Wisker* para cada uma das medidas dos cantos de *Mimus gilvus* em nove localidades do Brasil. (Continua).

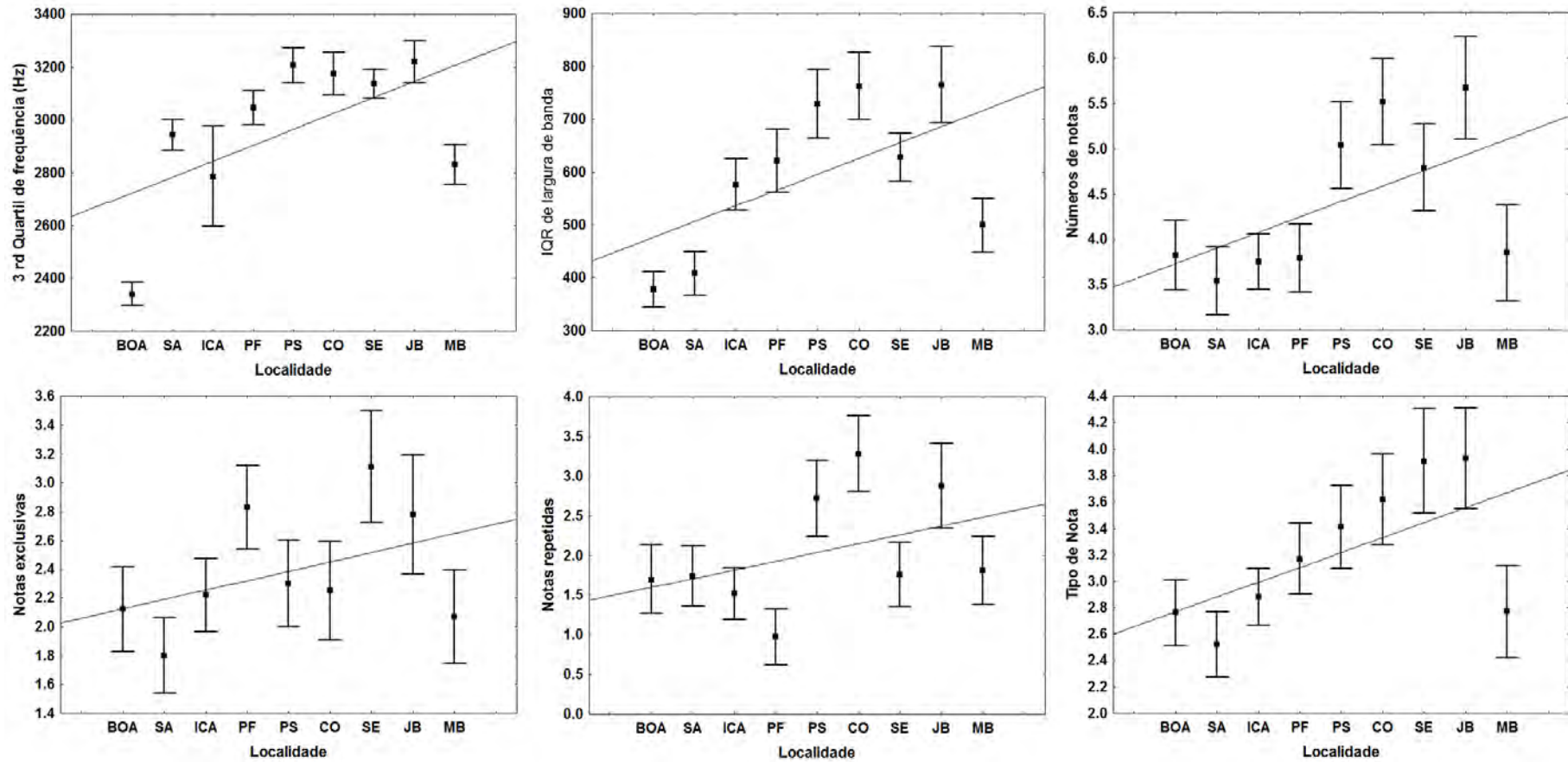
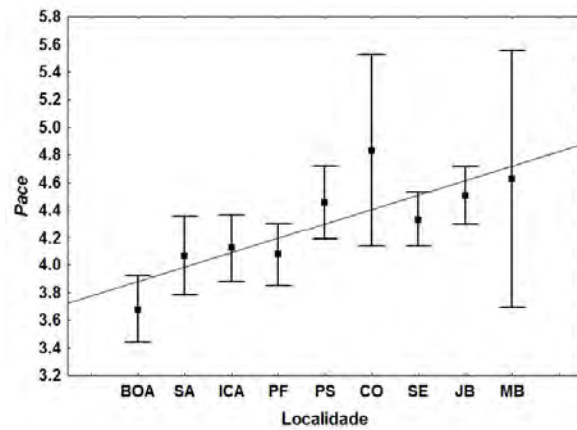


Figura 16 - Diagrama de caixa com a estimativa de *Wisker* para cada uma das medições dos cantos de *Mimus gilvus* em nove localidades do Brasil. (Conclusão).



Legenda: Abreviações das áreas amostradas: BOA = Boa Vista, SA = Salinas, ICA = Icapuí, PF = Praia do Forte, PS = Porto Seguro, CON = Conceição da Barra, SE = Setiba, JB = Jurubatiba e MB = Marambaia. Os pontos negros representam as médias e as linhas verticais os intervalos dos valores para cada medida

Nota: As localidades estão ordenadas de acordo com o gradiente latitudinal.

Figura 17 - Diagrama de caixa com a estimativa de *Wisker* para cada uma das medições das notas dos cantos de *Mimus gilvus* em nove localidades do Brasil. (Continua).

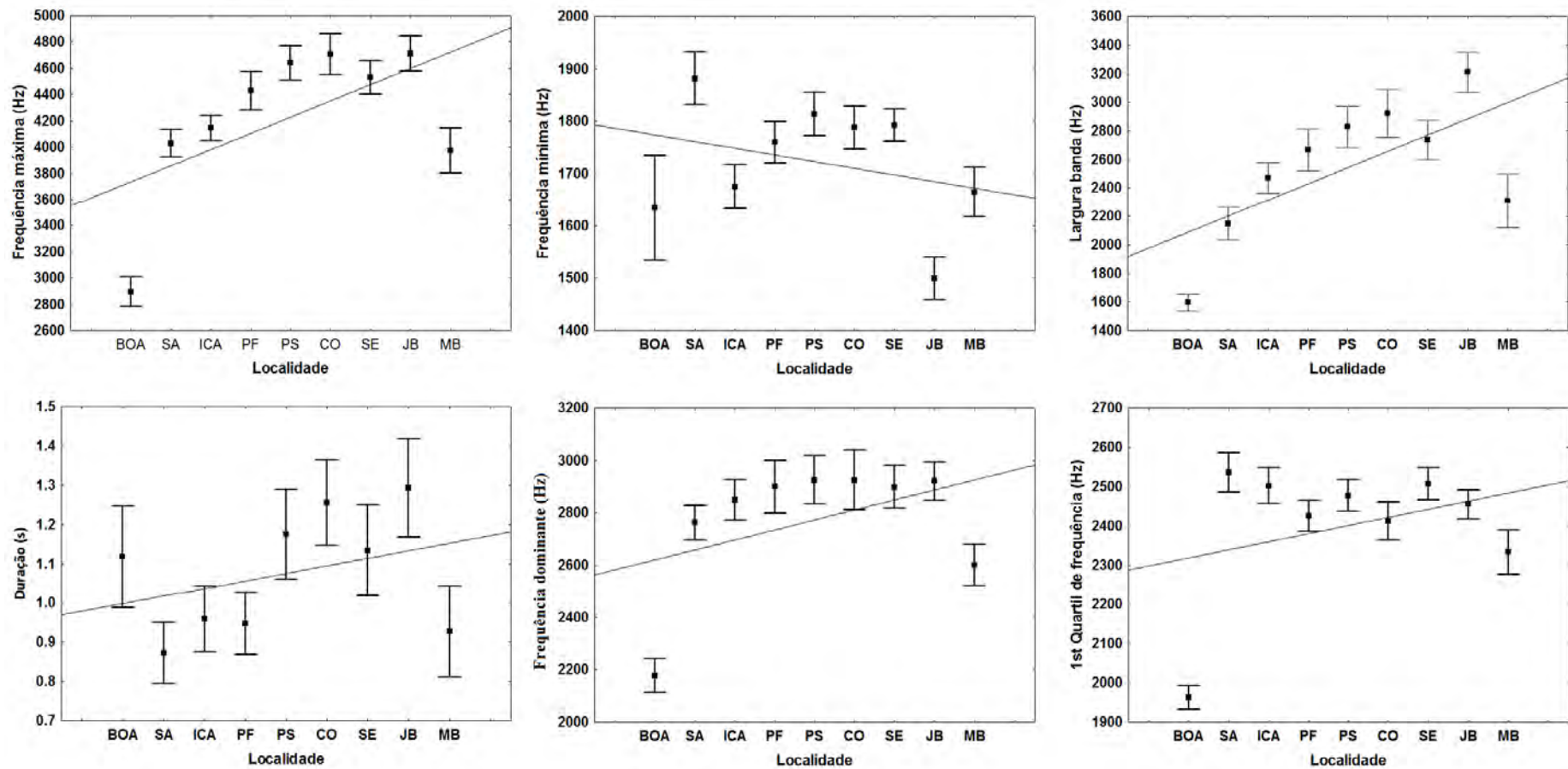
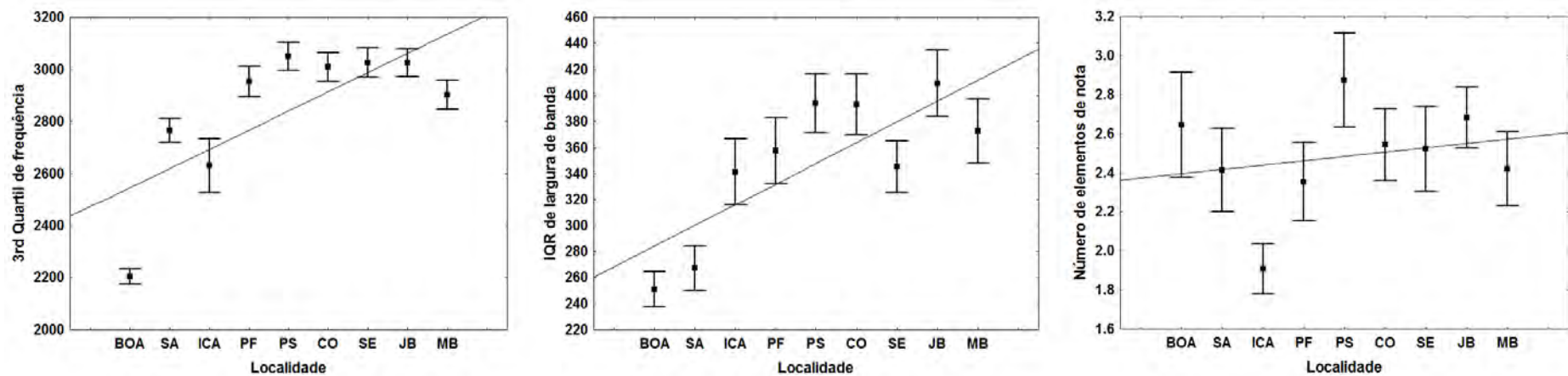


Figura 17 - Diagrama de caixa com a estimativa de *Wisker* para cada uma das medições das notas dos cantos de *Mimus gilvus* em nove localidades do Brasil. (Conclusão)



Legenda: Abreviações das áreas amostradas: BOA = Boa Vista, SA = Salinas, ICA = Icapuí, PF = Praia do Forte, PS = Porto Seguro, CON = Conceição da Barra, SE = Setiba, JB = Jurubatiba e MB = Marambaia.

Nota: As localidades estão ordenadas de acordo com o gradiente latitudinal. Os pontos negros representam as médias e as linhas verticais os intervalos dos valores para cada medida.

Nas Figuras 16 e 17 pode se apreciar que as medições da localidade de Boa Vista associadas à frequência dos cantos e as notas (frequência máxima, largura de banda, frequência dominante, 1st e 3rd quartil de frequência) não mostraram sobreposição nas faixas das médias com outras localidades. Em geral os resultados indicaram uma tendência das medidas aumentarem de acordo com a latitude tendo uma queda na localidade da Ilha Marambaia.

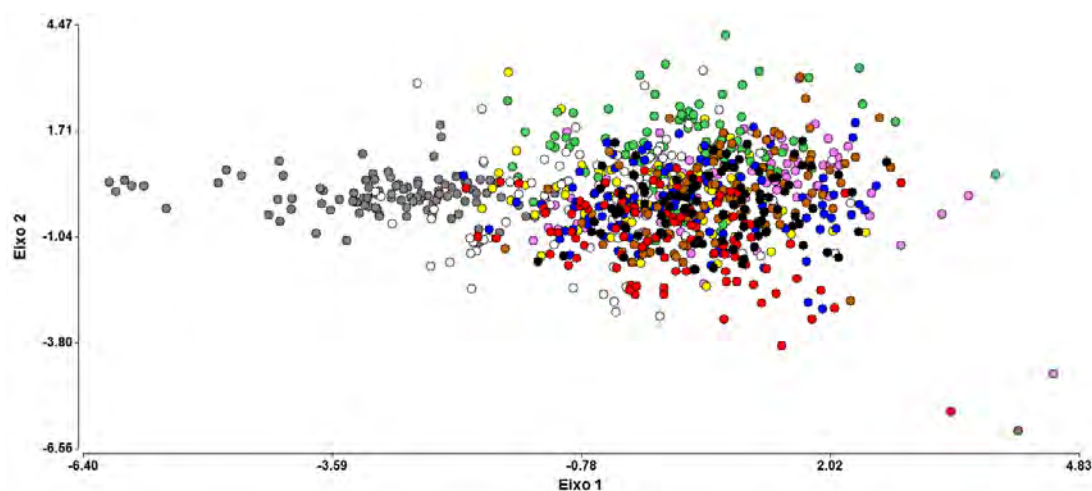
Houve diferenças significativas entre as localidades amostradas para todas as medições dos cantos, conforme indicado pelos testes de Kruskal-Wallis (Anexo 1). O teste de comparações multiplex (Anexo 1), mostrou diferenças significativas entre Boa Vista e as demais localidades para as variáveis frequência máxima, largura de banda, frequência dominante, 1st e 3rd quartil de frequência, notas repetidas e *pace*. O teste de Kruskal-Wallis para as medições das notas indicou que houve diferença significativa entre as localidades exceto a variável número de elementos de nota (Anexo 2). Nas comparações multiplex as notas da localidade Boa Vista foram significativamente diferentes daquelas das outras localidades, exceto na variável IQR da largura de banda para a qual os dados de Boa Vista e Salinas não foram estatisticamente diferentes (Anexo 2).

Na comparação entre linhagens genéticas (capítulo 1) para os cantos, houve diferença significativa para todas as variáveis utilizando Kruskal-Wallis, enquanto que com o uso do teste de comparação múltipla as diferenças foram significativas apenas entre pares de linhagens para as variáveis frequências máxima e mínima, largura de banda, 1st e 3rd quartil de frequência, IQR de largura de banda e número de notas (Anexo 3). Para as variáveis número de notas, notas exclusivas, notas repetidas e tipo de notas, as diferenças estiveram entre as linhagens do norte (Norte 1 e Norte 2) e do Sul. Os testes de Kruskal-Wallis para as medições das notas mostraram diferenças significativas entre as linhagens para todas as variáveis, exceto para o número de elementos de nota (Anexo 4). O teste de comparações multiplex encontrou diferenças significativas entre todos os pares de linhagens para a frequência máxima, largura de banda, frequência dominante, 3rd quartil de frequência e IQR de largura de banda. A variável frequência mínima, duração e 1st quartil de frequência tiveram diferenças significativas entre as linhagens Norte 1 (*M. g. melanopterus*) e Norte 2 – Sul (*M. g. antelius*) (Anexo 4).

A função discriminante usando as medições dos cantos classificou corretamente apenas 40.8% dos casos (Wilk's lambda = 0,222 F (104,6057) = 14,2127; P < 0,001),

embora apenas os indivíduos de Boa Vista tenham sido classificados com alta precisão (91%). As projeções das medidas dos cantos mostraram uma forte sobreposição na representação espacial, sendo apenas possível diferenciar os indivíduos de Boa Vista das outras localidades (Figura 18).

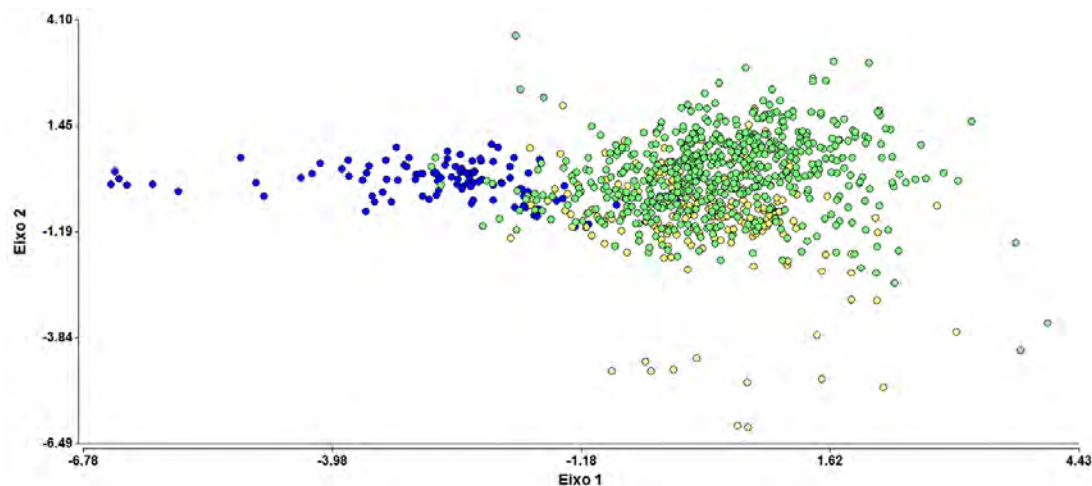
Figura 18 – Escores dos dois primeiros eixos canônicos da análise discriminante canônica de todas as medições dos cantos de *Mimus gilvus* utilizando como variável de agrupamento as localidades.



Legenda: As cores representam cada uma das localidades amostradas: cinza = Boa Vista, vermelho = Salinas, amarelo = Icapuí, Azul = Praia do Forte, castanho claro = Porto Seguro, rosa = Conceição da Barra, preto = Setiba, verde = Jurubatiba, branco = Ilha da Marambaia.

Quando usamos as linhagens genéticas (ver capítulo 1) como variável de agrupamento para a realização da análise discriminante das medições dos cantos, 71.1 % dos casos foram classificados corretamente (Wilk's lambda = 0.417, $F(18,2) = 54.18$, $p < 0,0000$). Na figura 19 é mostrada a formação de três agrupamentos consistentes com as linhagens genéticas, não obstante se apresenta uma zona central onde existe uma sobreposição dos dados entre as linhagens Norte 2 e Sul, pertencentes à subespécie *M. g. antelius*. No mesmo gráfico pode-se notar que há pontos não sobrepostos destas linhagens.

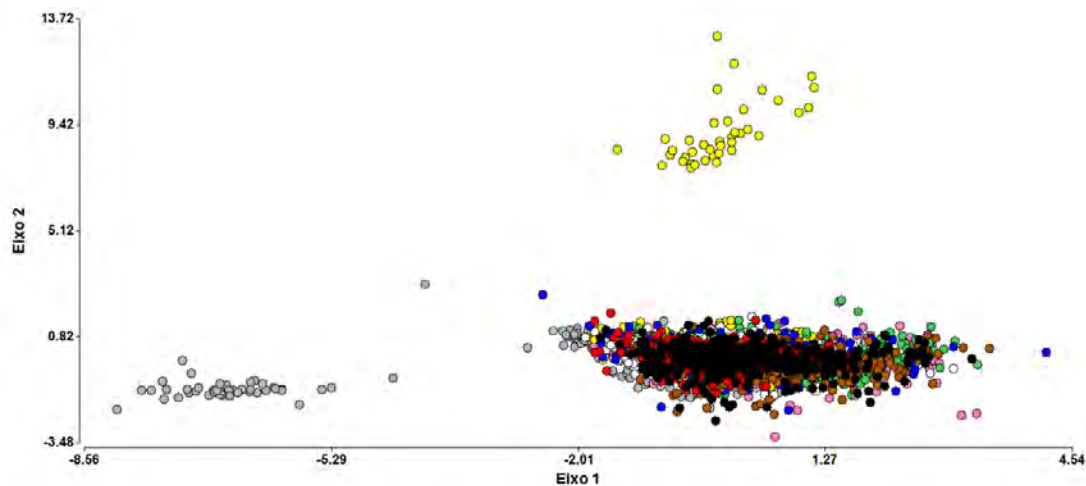
Figura 19 – Escores dos dois primeiros eixos canônicos da análise discriminante canônica de todas as medições dos cantos de *Mimus gilvus* utilizando como variável de agrupamento as linhagens genéticas.



Legenda: As cores representam cada uma das linhagens: azul = Norte 1 (Boa Vista), amarelo = Norte 2 (Salinas, Icapuí), verde = Sul (Praia do Forte até Ilha da Marambaia).

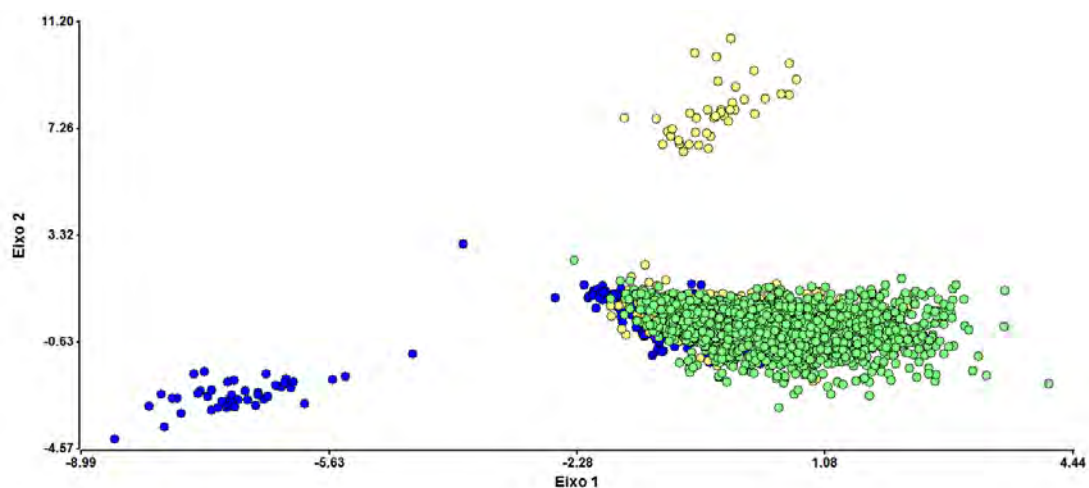
A análise discriminante para as medições das notas usando como variável a localidade conseguiu classificar corretamente apenas 26,2 % dos casos (Wilk's lambda = 0,58; $F(72,2) = 31,5$; $p < 0,001$), com a porcentagem de discriminação mais alta para a localidade Boa Vista (53,6 %), embora a projeção gráfica tenha mostrado a formação de três agrupamentos (Figura 20). Um agrupamento central com todas as localidades sobrepostas, um agrupamento acima pertencente à localidade de Icapuí e outro grupo inferior relativo à localidade Boa Vista. Quando as linhagens genéticas foram escolhidas como variável de agrupamento, a função discriminante classificou corretamente 64% dos casos (Wilk's lambda = 0,70; $F(18,8) = 85,45$; $p < 0,001$) (Figura 21).

Figura 20 – Escores dos dois primeiros eixos canônicos da análise discriminante canônica de todas as medições das notas de *Mimus gilvus*, utilizando como variável de agrupamento as localidades.



Legenda: As cores representam cada uma das localidades amostradas: cinza = Boa Vista, vermelho = Salinas, amarelo = Icapuí, Azul = Praia do Forte, castanho claro = Porto Seguro, rosa = Conceição da Barra, preto = Setiba, verde = Jurubatiba, branco = Ilha da Marambaia.

Figura 21 – Escores dos dois primeiros eixos canônicos da análise discriminante canônica de todas as medições das notas de *Mimus gilvus*, utilizando como variável de agrupamento as linhagens genéticas.



Legenda: As cores representam cada uma das linhagens: azul = Norte 1 (Boa Vista), amarelo = Norte 2 (Salinas, Icapuí), verde = Sul (Praia do Forte até Ilha da Marambaia).

Da mesma maneira que na análise anterior, se formaram três grupos de associação com um grupo central de sobreposição dominado pela linhagem Sul e dois grupos, um abaixo com a linhagem Norte 1 e outro acima com a linhagem Norte 2.

Foram feitos vários testes de Mantel de modo a corroborar relações entre distintas variáveis do canto e das notas de *Mimus gilvus*. As distâncias genéticas e euclidianas dos escores dos dois primeiros eixos da função canônica de todas as variáveis do canto estiveram correlacionadas ($R = 0,63$; $p = 0,05$). Resultados similares foram encontrados na correlação entre as distâncias genéticas e as euclidianas dos escores canônicos de todas as notas ($R = 0,63$; $p = 0,03$). Não houve correlação entre as distâncias euclidianas dos escores dos cantos e as distâncias euclidianas dos escores de todas as variáveis morfométricas ($R = 0,16$; $p = 0,29$), embora quando foram usadas as distâncias euclidianas dos escores das notas foi encontrada relação com as distâncias morfométricas ($R = 0,65$; $p = 0,013$). Da mesma maneira não houve correlação entre as distâncias dos escores dos cantos com as distâncias dos escores das variáveis ambientais ($R = 0,06$; $p = 0,38$), embora a correlação tenha sido significativa quando foram comparadas com as distâncias das variáveis ambientais com as distâncias dos escores das notas ($R = 0,60$; $p = 0,009$). Finalmente as distâncias geográficas estiveram correlacionadas com as distâncias dos escores dos cantos ($R = 0,60$; $p = 0,035$) e com os escores das notas ($R = 0,65$; $p = 0,023$).

Foram encontradas várias associações em várias das medidas dos cantos (frequência máxima, largura de banda, frequência dominante e *pace*) quando foram relacionadas com variáveis que podem influenciar o canto, como o peso e o comprimento do cúlmen exposto e com a variável climática temperatura média anual (Figura 22). Empregando todas as variáveis com valores de correlação (r) acima de 0,5 com valores de regressão linear alto como, por exemplo, os encontrados entre o *pace* e a temperatura ($r^2 = 0,68$), a largura banda e o cúlmen ($r^2 = 0,51$) e a largura banda e a temperatura ($r^2 = 0,67$), foram calculados diferentes modelos de relação múltipla, encontrando que o melhor modelo significativo foi aquele entre a frequência máxima, o peso e a temperatura média anual. O modelo explicou 78% da variabilidade dos dados ($gl = 8$; $R^2 = 0,78$; $F = 10,43$; $p = 0,01$).

Figura 22 – Gráficos de regressões lineares com valores de correlação altos entre algumas medidas de canto e variáveis morfológicas e climáticas de *Mimus gilvus*. (Continua).

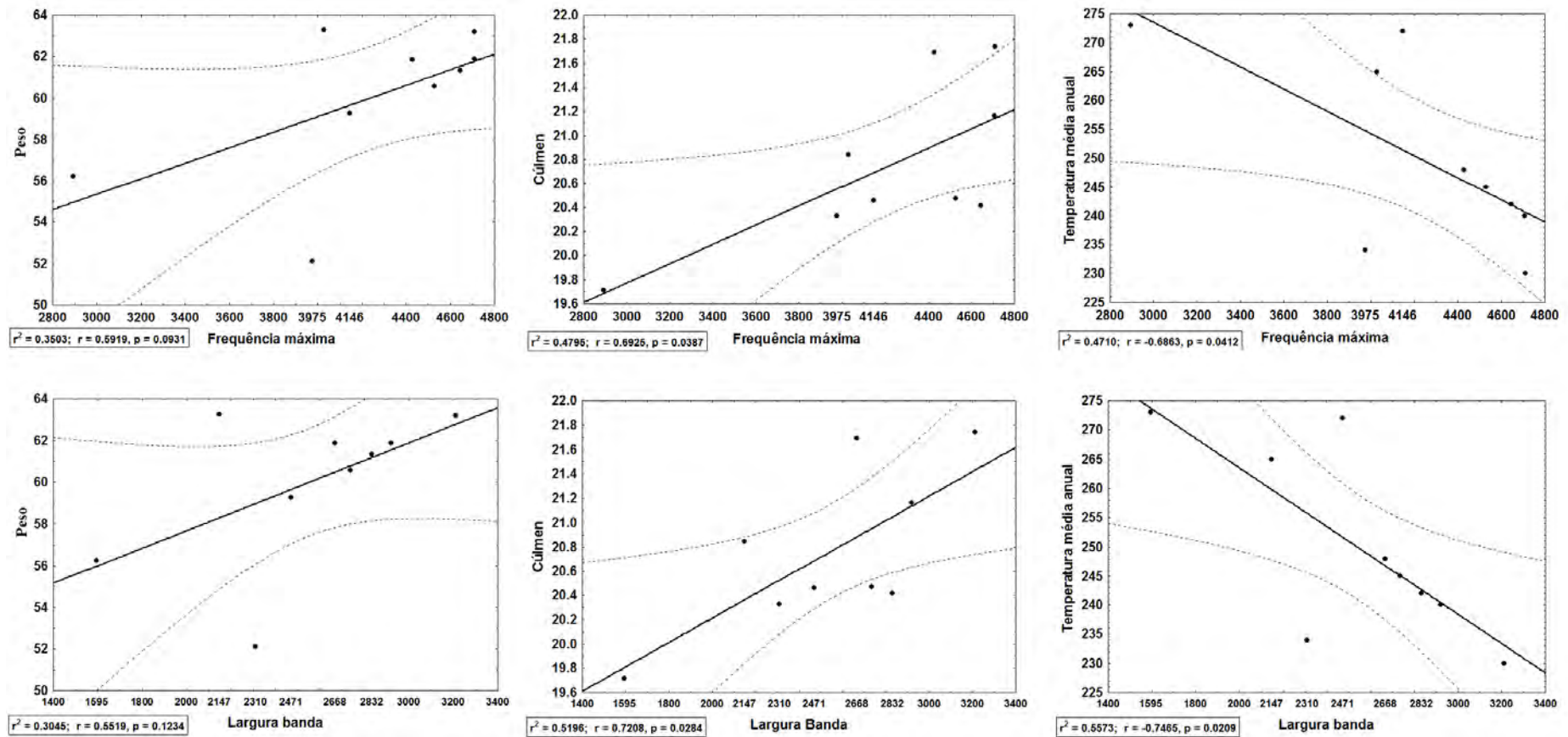
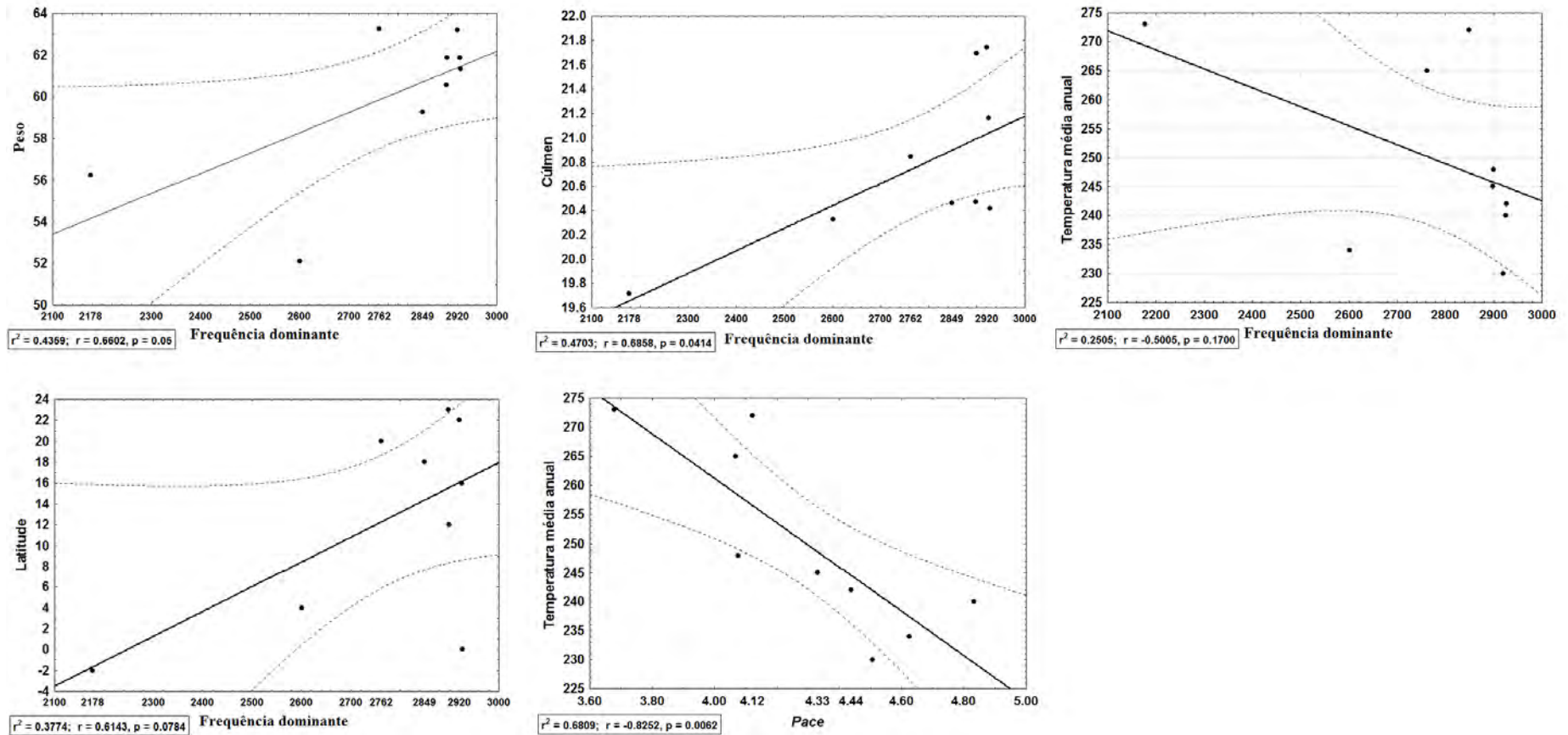


Figura 22 – Gráficos de regressões lineares com valores de correlação altos entre algumas medidas de canto e variáveis morfológicas e climáticas de *Mimus gilvus*. (Conclusão).



Nota: A caixa pequena abaixo de cada gráfico mostra o r^2 da regressão linear, o valor de correlação calculada (r) entre as duas variáveis e seu valor de p .

3.4 Discussão

3.4.1 Variação geográfica do canto

Os testes de Kruskal-Wallis suportam uma variação geográfica nas medidas do canto e das notas, o que era esperado, uma vez que *M. gilvus* é uma espécie pertencente à ordem Passeriformes e ao grupo Osines, para o qual particularmente o canto é uma característica aprendida (Lanyon 1969, Raposo and Höfling 2003).

O canto aprendido se herda culturalmente, havendo uma elevada taxa de mutação no processo de imitação, o que ocasiona altas taxas de variabilidade geográfica ao ponto que uma espécie poder ter diversos tipos de dialetos, que poderiam ser considerados cantos diferentes em toda sua área de distribuição (Podós e Warren 2007), como foi mostrado com os resultados do presente estudo para *Mimus gilvus* pelo menos em sua área de distribuição no Brasil. Os resultados dos testes de comparação múltipla mostram que das 13 medidas do canto, sete tiveram diferenças significativas entre os cantos da localidade de Boa Vista com os demais cantos das outras localidades. Resultados similares foram encontrados nas medições das notas, onde dentre nove medidas, seis mostraram diferenças estatísticas entre Boa Vista e as demais localidades. Isto sugere uma marcada diferenciação entre os indivíduos do táxon *M. g. melanopterus* e *M. g. antelius*. Esta afirmação é apoiada com as análises discriminantes realizadas, para as quais em todos os casos a função discriminante consegue classificar corretamente a maioria dos indivíduos de Boa Vista.

Tipicamente o canto tem sido usado como um caráter taxonômico importante no grupo Subosine, onde o canto é inato. Entretanto, seu uso nos Oscines é subestimado, basicamente porque nestes o canto é aprendido (Lanyon 1969; Raposo e Höfling 2003). Alguns autores sugerem que a variação na frequência de canto poderia ser utilizada com um caráter taxonômico importante (Lei et al. 2005, Valderrama et al. 2007, Tobias et al. 2010). Tendo isto em conta, as diferenças estatísticas encontradas nas medidas grossas (canto) e finas (notas) dos táxons de *M. gilvus* no Brasil podem estar sugerindo diferenças taxonômicas ao

nível de espécie, embora sejam necessários estudos mais detalhados, abordando amostras acústicas da toda a área de distribuição de *M. g. melanopterus*, o qual se distribui até Norte de Colômbia e quase toda a Venezuela, para uma confirmação. O possível tratamento destes táxons como duas espécies diferentes é apoiado pelo estudo genético (capítulo 1) e pela variação morfométrica (capítulo 2), embora sejam necessários, em ambos os casos, estudos adicionais para corroborar o nível taxonômico.

As relações encontradas entre as médias da frequência máxima, a largura de banda, a frequência dominante e o *pace* com a temperatura média anual, sugerem uma variação acústica geográfica associada a um processo adaptativo, produto do gradiente latitudinal. A correlação encontrada entre estas variáveis de frequência e o peso suporta a ideia de adaptação à temperatura. A variação do tamanho corpóreo com o gradiente latitudinal (regra de Bergmann) está associada a uma adaptação para a conservação de calor, sustentada no princípio de que um corpo de tamanho maior é selecionado em áreas frias porque sua área de superfície é menor, resultando em uma perda de calor relativamente baixa (Olson et al. 2009). Para *Mimus gilvus*, um maior tamanho implica em uma maior capacidade de emitir cantos com frequências maiores em ambientes com menores temperaturas. A adaptação à temperatura pode estar associada com a atenuação dos sons: para um canto com uma frequência de 4 kHz existe uma alta atenuação quando a umidade é baixa e a temperatura é alta (Catchpole e Slater 2008). Uma grande quantidade de variáveis (e.g. vento, estrutura do hábitat, altura da emissão dos sons, entre outros) podem influenciar na transmissão do canto, fazendo com que o entendimento destas interações seja complexo (Catchpole e Slater 2008). Alguns autores encontraram que pequenas espécies usam frequências mais altas que espécies de maior tamanho (Wallschläger 1980, Bayaev e Leaf 1997, Liu et al. 2017), embora no presente estudo indivíduos de *M. gilvus* maiores tivessem maiores frequências, maiores larguras de banda e maiores frequência dominantes em seus cantos.

As correlações de algumas medidas de frequência com o comprimento do cúlmen exposto, podem estar associadas com outro tipo de adaptação, relacionada indiretamente com a seleção de caracteres morfológicos associados ao tamanho do bico devido a condições ecológicas particulares (e.g nichos de forrageamento), que podem modificar as características do canto influenciando positivamente nos processos de divergência. Este fato tem sido observado nas espécies de tentilhões de Darwin e arapaçus, cujas características do bico estão relacionadas com diferenças no canto entre espécies e populações (Podos 2001, Podos e Nowicki 2004, Podos 2010, Derryberry et al. 2012). Bolus (2014) encontrou em uma ave do

grupo Oscines (*Geothlypis trichas*) que as subespécies com bicos maiores emitiam cantos com frequências mais baixas, contrário ao reportado no presente estudo onde a subespécie com bicos mais longos (*M. g. antelius*) apresentaram cantos com frequências mais altas. Isto mostra que a variação geográfica do canto é resultado da interação de múltiplos processos evolutivos que interatuam de maneiras distintas entre populações e entre espécies.

3.4.2 Concordância entre a variação geográfica do canto com a variação morfológica e genética

Os estudos de filogeografia e a árvore filogenética de *M. gilvus* no Brasil (Capítulo 1) mostraram a existência de três linhagens genéticas. Estas linhagens foram comparadas estatisticamente com medidas morfométricas, sendo encontradas diferenças significativas entre elas (Capítulo 2). Os resultados dos testes de Kruskal-Wallis dos cantos e das notas comparando as medidas entre linhagens mostra uma alta concordância para tal separação. Os resultados das comparações multiplex mostraram maior suporte estatístico para diferenciar as linhagens, havendo maiores diferenças estatísticas entre linhagens do que entre localidades. Isto apoia a ideia de que o processo de divergência genética tem sido acompanhado por um processo de divergência morfológica e do canto.

A baixa porcentagem da função discriminante para classificar corretamente as linhagens, por meio das medidas do canto e das notas, com relação às porcentagens obtidas para as análises morfométricas, mostraram maior separação entre linhagens. Isto poderia levar à interpretação de que no caso de *M. gilvus*, que os caracteres morfológicos poderiam ter evoluído mais rapidamente do que os acústicos. No entanto, as distâncias genéticas estiveram mais relacionadas com as distâncias do canto do que com as morfométricas, o que mostra que esta interação pode ser complexa e necessita ser melhor avaliada. Vários estudos que tem usado os caracteres moleculares, morfológicos e de canto, têm mostrado diferentes níveis de concordância na divergência. Por exemplo, Bolus (2014) encontrou uma concordância entre os dados genéticos, morfológicos e acústicos em diferentes populações e subespécies de

Geothlypis trichas. Carneiro e colaboradores (2012) fazendo uma revisão sistemática no complexo *Hylopezus macularius* mostrou linhagens onde os dados filogenéticos eram congruentes com os morfológicos e acústicos, embora tenha encontrado uma linhagem que morfológicamente é similar a outras, mas com distinções vocais e genéticas. Alstrom e colaboradores (2007) estudando a divergência no complexo *Cettia acanthizoides*, encontrou que o grau de diferenciação genética, vocal e morfológica foi congruentemente variável entre três táxons reconhecidos. Os táxons que tiveram uma divergência recente diferem ligeiramente na plumagem, mas são indistinguíveis na vocalização, enquanto que os táxons que divergiram primeiro apresentam ligeiras diferenças morfológicas, mas com maior grau de divergência vocal. No caso de *M. gilvus*, os resultados do presente estudo mostram haver maior grau de diferenciação entre os táxons *M. g. melanopterus* e *M. g. antelius* do que a divergência entre as linhagens Norte 2 e Sul, descritos para *M. g. antelius*. O grau de diferenciação é menor entre estas linhagens usando os dados vocais.

Nos gráficos da análise discriminante para as medidas das notas se pode notar uma alta proporção de sobreposição de notas no grupo central, o que significa que as notas são similares entre as três linhagens. Da mesma maneira se observa um grupo de notas exclusivas da Linhagem Norte 2 (exclusivamente da localidade Icapuí) e um grupo de notas únicas da linhagem Norte 1 (Boa Vista). São estas notas exclusivas das linhagens do norte que fazem com que os testes de variância sejam significativos entre linhagens, embora a sobreposição entre notas das três linhagens do grupo central faz com que a acurácia na classificação da função discriminante seja menor entre linhagens.

3.4.3 Padrão de isolamento na variação geográfica do canto

Tipicamente os padrões de divergência são estudados empregando dados genéticos de marcadores neutros, embora os padrões de divergência fenotípica também possam ser estudados da mesma maneira que os dados genéticos (Spurgin et al. 2014). No presente estudo, a relação entre distâncias geográficas e distâncias euclidianas das medidas dos cantos

e das notas encontrada, por meio do teste de Mantel, revela que a divergência vocal está relacionada com um padrão de isolamento por distância. A correlação encontrada entre as distâncias euclidianas das notas e as distâncias euclidianas climáticas, sugerem que o isolamento por distância está sendo apoiado por um processo de adaptação local do canto, o que pode ser apoiado indiretamente pelas análises discriminantes onde se mostram notas exclusivas para Boa Vista (Norte 1) e Icapuí (Norte 2). O fato de não haver uma forte correlação entre as distâncias climáticas e geográficas ($R = 0,55$; $p = 0,031$), permite diferenciar que o padrão de divergência foi por isolamento por distância e não por adaptação (Spurgin et al. 2014).

A forte correlação entre as distâncias genéticas e as distâncias acústicas (cantos e notas) revela que os processos de divergência genética estão sendo acompanhados por processos de diferenciação acústica. Assim, é factível que os processos que produzem os baixos níveis de fluxo gênico entre as linhagens sejam os responsáveis pela diferenciação vocal. As características comportamentais de sedentarismo acompanhado do comportamento territorial (Cody 2005), onde os territórios são mantidos por cantos pelos machos, podem ser em parte responsáveis por este baixo fluxo gênico e possivelmente cultural. As variações geográficas no canto podem produzir ou reforçar processos de divergência genética. Por exemplo, vários estudos têm mostrado que as fêmeas de algumas espécies apresentam preferências particulares por cantos ou por dialetos locais (Baker 1982, 1983; Lampe e Baker 1994; O’Loghlen e Beecher 1997), ou no caso dos machos, estes podem ter respostas agonistas maiores quando submetidos a cantos de machos locais que a cantos de machos estrangeiros (Balakrishnan e Sorenson 2006; Seddon e Tobias 2007; Colbeck et al. 2010; Dingle et al. 2010). Estes mecanismos podem ter efeitos profundos nos padrões de dispersão, na própria escolha de parceiros, e no fluxo gênico (Balakrishnan e Sorenson 2006; Seddon e Tobias 2007; Colbeck et al. 2010, Dingle et al. 2010; Seddon e Tobias 2010; Danner et al. 2011).

Marcadas diferenças nos cantos entre subespécies, sobretudo em caracteres altamente associados a processos adaptativos, como é a frequência, sugerem diferenças ao nível de espécie, as quais precisam de mais estudos de comparação vocal que incluam amostras em toda a área de distribuição do táxon *M. g. melanopterus*, incluindo as demais subespécies de *M. gilvus*.

3.5 Considerações finais

Os resultados das análises do presente estudo mostram que *Mimus gilvus* apresenta uma variação geográfica no canto (medições grossas) e nas notas (medições finas), produto de um padrão de divergência de isolamento por distância, acompanhado por um processo de adaptação local, principalmente nas notas. Essa afirmação que foi apoiada pelas relações lineares encontradas entre a frequência, a temperatura média anual e o peso. A variação no canto foi maior entre as linhagens genéticas descritas no capítulo 1 do que entre localidades. Além disso, a variação genética foi acompanhada por uma variação fenotípica (cantos e notas). A correlação entre distâncias genéticas e do canto sugere que os processos que são responsáveis pela divergência genética e pelo baixo fluxo gênico podem ser os responsáveis pela divergência no canto. Assim, existe outra possibilidade na qual o canto possa ter contribuído a reforçar estes processos de diferenciação genética por respostas assimétricas agonistas por parte dos machos frente a cantos de indivíduos estrangeiros ou por preferências das fêmeas por cantos locais.

REFERÊNCIAS

- Alström P, Raft R. 2003. The use of sounds in avian systematics and the importance of bird sound archives. *Bulletin B.O.C.*, 123A: 114– 135.
- Alström P, Olsson U, Rasmussen PC, Yao C, Ericson PGP, Sundberg P. 2007. Morphological, vocal and genetic divergence in the *Cettia acanthizoides* complex (Aves: Cettiidae). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 149: 437-452.
- Alves MAS, Pacheco JF, Gonzaga LAP, Cavalcanti RB, Raposo MA, Yamashita C, Maciel NC, Castanheira M. 2000. Aves. Em: Bergallo H., Rocha CFD, Alves MAS, Sluys MV, editores. *A Fauna Ameaçada de Extinção do Estado do Rio de Janeiro*. Rio de Janeiro, Brasil: Editora da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. p. 113-124.
- Badyaev Av, Leaf E. 1997. Habitat associations of song characteristics in *Phylloscopus* and *Hippolais* warblers. *The Auk* 114:40-46.
- Baker Mc. 1982. Vocal dialect recognition and population genetic consequences. *American Zoologist*, 22: 561-569.
- Baker Mc. 1983 The behavioural responses of female Nuttall's white-crowned sparrows to male song of natal and alien dialects. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 12:309-315.
- Barker FK, Barrowclough GF, Groth JG. 2002. A phylogenetic hypothesis for passerine birds: taxonomic and biogeographic implications of an analysis of nuclear DNA sequence data. *Proceedings of the Royal Society of London Series B*, 269: 295-308.
- Balakrishnan CN, Sorenson MD. 2006. Song discrimination suggests premating isolation among sympatric indigobird species and host races. *Behavioral Ecology*, 17: 473-478.
- Beecher MD, Brenowitz EA. 2005. Functional aspects of song learning in songbirds. *Trends in Ecology & Evolution*, 20: 143-149.
- Bolus RT. 2014. Geographic variation in songs of the Common Yellowthroat. *The Auk*, 131:175-185.
- Botero CA, Riveros JM, Vehrencamp SL. 2007. Relative threat and recognition ability in the responses of tropical mockingbirds to song playback. *Animal Behaviour*, 73: 661-669.
- Botero CA, Rossman RJ, Caro LM, Stenzler LM, Lovette IJ, De Kort SR, Vehrencamp SL. 2009. Syllable type consistency is related to age, social status and reproductive success in the tropical mockingbird. *Animal Behaviour*, 77: 701-706.
- Botero C, Vehrencamp SL. 2007. Responses of tropical mockingbirds to variation in within-song and between-song versatility. *The Auk*, 124: 185-196.

- Carneiro LS, Gonzaga LP, Rêgo PS, Sampaio I, Schneider H, Aleixo A. 2012. Systematic revision of the Spotted Antpitta (Grallariidae: *Hylopezus macularius*), with description of a cryptic new species from Brazilian Amazonia. *The Auk* 129: 338-351.
- Catchpole CK, Slater PJB. 2008. *Bird Song: Biological Themes and Variations*. Cambridge University Press, New York, NY. 335pp.
- Charif RA, Waack AM, Strickman LM. 2010. *Raven Pro 1.4 User's Manual*. Ithaca, USA: Cornell Lab of Ornithology. 367 p.
- Clements JF, Schulenberg TS, Iliff MJ, Roberson D, Fredericks TA, Sullivan B.L, Wood CL. 2015. [internet]. The eBird/Clements checklist of birds of the world: v2015. [acesso em 2 agosto de 2015]. Disponível em: <http://www.birds.cornell.edu/clementschecklist/download/>
- Cody M. 2005. Familia Mimidae. Em: Del Hoyo J, Elliott A, Christie DA, editors. *Handbook of the Birds of the World, Vol 10*. Barcelona, España: Lynx Ediciones. p. 448-495.
- Colbeck GJ, Sillett TS, Webster M. 2010. Asymmetric discrimination of geographical variation in song in a migratory passerine. *Animal Behaviour*, 80: 311-318.
- Derryberry EP, Seddon N, Claramunt S, Tobias JA, Baker A, Aleixo A, Brumfield RB. 2012. Correlated evolution of beak Morphology and song in the Neotropical woodcreeper radiation. *Evolution*, 66: 2784–2797.
- Dingle C, Poelstra JW, Halfwerk W, Brinkhuizen DM, Slabbekoorn H. 2010. Asymmetric response patterns to subspecies-specific song differences in allopatry and parapatry in the Gray-breasted wood-wren. *Evolution*, 64: 3537-3548.
- Di Rienzo J.A., Casanoves F., Balzarini M.G., Gonzalez L., Tablada M., Robledo C.W. InfoStat versión 2015. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>
- ESRI 2011. *ArcGIS Desktop: Release 10.1*. Environmental Systems Research Institute. Redlands, CA.
- Grant, PR, Grant BR. 1997. Genetics and the origin of bird species. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*, 94: 7768-7775.
- Haffer J. 1990 Avian species richness in tropical South America. *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, 25:157–183.
- Isler ML, Isler PR, Whitney BM. 1997. Biogeography and systematics of the *Thamnophilus punctatus* (Thamnophilidae) complex. *Ornithological Monographs*, 48: 355-381.
- Isler ML, Isler PR, Whitney BM. 1998. Use of vocalizations to establish species limits in Antbirds (Passeriformes: Thamnophilidae). *The Auk*, 115: 577-590.
- Isler ML, Isler PR, Whitney BM. 2011. Species limits in antbirds (Thamnophilidae): the scaled backed antbird (*Willisornis poecilinotus*) complex. *The Wilson Journal of Ornithology*, 123: 1-14.

- Isler ML, Isler PR, Whitney BM, Walker B. 2001. Species limits in antbirds: The *Thamnophilus punctatus* complex continued. *The Condor*, 103: 278-286.
- Krabbe N, Schulenberg TS. 1997. Species limits and natural history of *Scytalopus tapaculos* (Rhinocryptidae), with descriptions of the ecuadorian taxa, including three new species. *Ornithological Monographs*, 48: 47- 88.
- Kroodsma DE. 1984. Songs of the Alder Flycatcher (*Empidonax alnorum*) and Willow Flycatcher (*Empidonax traillii*) are innate. *Auk*, 101: 13-24.
- Kroodsma DE. 1989. Male Eastern Phoebes (*Sayornis phoebe*; Tyrannidae, Passeriformes) Fail to Imitate Songs. *Journal of Comparative Psychology*, 103: 27-232.
- Kroodsma DE, Konishi M. 1991. A suboscine bird (Eastern Phoebe, *Sayornis phoebe*) develops normal song without auditory feedback. *Animal Behaviour*, 42: 477-488.
- Lampe Hm, Baker Mc. 1994. Behavioural response to song playback by male and female white-crowned sparrows of two subspecies. *Bioacoustics*, 5: 171-185.
- Lanyon WE. 1969. Vocal characters and avian systematics. *In*: Hinde, R.A. (Ed.), *Bird Vocalizations*. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 291–310.
- Lei F-M, Wang A-Z, Wang G, Yin Z-H. 2005. Vocalizations of red-necked snow finch, *Pyrgilauda ruficollis* on the Tibetan Plateau, China – a syllable taxonomic signal? *Folia Zoologica*, 54(1–2): 135–146.
- Lino Mota JV, Freire de Carvalho AA, Santos Tinoco M. 2011. Distribuição e uso de hábitat da avifauna na restinga da Reserva Imbassaí, Litoral Norte da Bahia. *Revista Brasileira de Ornitologia*, 19: 364-375.
- Liu JP, MA LK, Zhang ZQ, Gu DH, Wang JJ, Li JJ, Gao LJ, Hou JH. 2017. The European *Zoological Journal*, 84(1): 186–192.
- Nyári AS. 2007. Phylogeographic patterns, molecular and vocal differentiation, and species limits in *Schiffornis turdina* (Aves). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 44: 154-164.
- O’loghlen Al, Beecher Md. 1997. Sexual preferences for mate song types in female song sparrows. *Animal Behaviour*, 53: 835-841.
- Olson VA, Davies RG, Orme CDL, Thomas GH, Meiri S, Blackburn TM, Gaston KJ, Owens IPF, Bennett PM. 2009. Global biogeography and ecology of body size in birds. *Ecology Letters*, 12: 249–259.
- O’neill JP, Lane DF, Naka LN. 2011. A Cryptic New Species of Thrush (Turdidae: *Turdus*) from Western Amazonía. *The Condor*, 113: 869-880.

Pessoa RM. 2012. Biologia e Sucesso Reprodutivo do Sabiá-da-Praia, *Mimus gilvus* (AVES: Mimidae) no Sudeste Brasileiro. Dissertação de Mestrado em Ecologia de ecossistemas e Evolução. Universidade Vila Velha, Vila Velha

Podos J. 2001. Correlated evolution of morphology and vocal signal structure in Darwin's Finches. *Nature*, 409: 185–188.

Podos J. 2010. Acoustic discrimination of sympatric morphs in Darwin's finches: a behavioural mechanism for assortative mating? *Philosophical Transactions of the Royal Society Biological Sciences*, 365: 1031-1039.

Podos J, Nowicki S. 2004. Beaks, adaptation, and vocal evolution in Darwin's finches. *Bioscience*, 54: 501–510.

Podos J, Warren PS. 2007. The Evolution of Geographic Variation in Birdsong. *Advances in the Study of Behavior*, 37, 403–458.

Price JJ, Yuan DH. 2011. Song-type sharing and matching in a bird with very large song repertoires, the tropical mockingbird. *Behaviour*, 148: 673-689.

Searcy WA, Andersson M. 1986. Sexual selection and the evolution of song. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 17: 507-533.

Seddon N, Tobias JA. 2007. Song divergence at the edge of Amazonia: an empirical test of the peripatric speciation model. *Biological Journal of the Linnean Society*, 90: 173-188.

Raposo MA, Höfling E. 2003. Overestimation of vocal characters in suboscine taxonomy (Aves: Passeriformes: Tyranni): Causes and implications. *Lundiana*, 4: 35-42.

Seddon N, Tobias JA. 2010. Character displacement from the receiver's perspective: species and mate recognition despite convergent signals in suboscine birds. *Proceedings of the Royal Society B*, 277: 2475-2483.

Simon JE, Antas PTZ, Pacheco JF, Efe MA, Ribon R, Raposo MA, Laps RR, Musso C, Passamani JÁ, Paccagnella SG. 2007. As aves ameaçadas de extinção no estado do Espírito Santo. Em: Passamani M, Mendes SL, editores. *Espécies da Fauna Ameaçadas de Extinção no Estado do Espírito Santo*. Vitória, Brasil: Instituto de Pesquisas da Mata Atlântica. p. 47-59.

Spurgin LG, Illera JC, Jorgensen TH, Dawson DA, Richardson DS. 2014. Genetic and phenotypic divergence in an island bird: isolation by distance, by colonization or by adaptation? *Molecular Ecology*, 23: 1028–1039

Tobias JÁ, Sedon N, Spottiswoode CN, Pilgrim JD, Fishpool LDC, Collar NJ. 2010. Quantitative criteria for species delimitation. *Ibis*, 152: 724-746.

Valderrama SV, Parra JE, Mennill DJ. 2007. Species differences in the songs of the critically endangered Niceforo's wren and the related rufous-and-white wren. *The Condor*, 109:870–877.

Wallschläger D. 1980. Correlation of song frequency and body weight in passerine birds. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 36(4): 412–412.

Zanon MS. 2010. Distribuição, tamanho populacional e conservação de *Mimus gilvus* Aves: Mimidae no estado do Rio de Janeiro. Dissertação de Mestrado em Ecologia e Evolução. Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

CONSIDERAÇÕES GERAIS

Mimus gilvus é um modelo interessante para o entendimento dos processos complexos de evolução em aves. Algumas de suas características ecológicas como a preferência específica a hábitat de restinga nos indivíduos de extremo sul é contrastante com os outros que conseguem sobreviver em ambientes amplamente degradados. Um dos objetivos deste trabalho foi precisamente avaliar o estado da diversidade genética nestes indivíduos restritos à restinga, os quais têm sido categorizados em perigo de extinção nos estados de Rio de Janeiro e Espírito Santo. No primeiro capítulo não foi encontrada diferença estatística na diversidade genética dos indivíduos de *M. g. antelius* restritos à restinga (sul da distribuição) e aqueles de outros hábitats. Aparentemente nas localidades com redução populacional (sul da distribuição), não foi encontrada perda considerável de diversidade genética que exija algum manejo genético, embora algumas análises genéticas sugiram gargalos populacionais nas localidades do extremo sul, das quais Marambaia apresenta os maiores valores. Das três áreas com restinga, os indivíduos de Jurubatiba exibem os maiores valores de diversidades mitocondrial e nuclear, além de apresentar dois haplótipos exclusivos. Por esta razão iniciativas de conservação nesta área são importantes para a espécie.

Inicialmente esta preferência por hábitats de restinga dos indivíduos do extremo sul, fazia pensar que as análises filogeográficas, estes indivíduos formassem uma linhagem diferente aqueles mais adaptados a ambientes antropogênicos, como acontece marcadamente nos indivíduos desde a Bahia até Salinas. Os resultados mostraram que esta apreciação é falsa, a subespécie *M. g. antelius* restrita ao litoral apresenta uma moderada estruturação populacional entre os indivíduos do Norte (Salinas e Icapuí) e do sul (Praia do Forte até Marambaia), sugerido principalmente pelos marcadores mitocondriais. Esta estruturação, os sinais de expansão populacional e o sinal de gargalo populacional nos indivíduos do extremo sul, sugerem que possa haver um efeito dos ciclos glaciais sobre a estruturação e diversificação de *M. g. antelius* e não uma estruturação produto da adaptação a diferentes hábitats.

Por outra parte, a análise de inferência bayesiana de tempos de divergência para *M. g. antelius* inseriu como grupo externo indivíduos da subespécie *M. g. melanotus*, indivíduos que não tinham sido considerados nas análises filogeográficas por implicações metodológicas. Os resultados desta análise bayesiana mostraram três linhagens monofiléticas, a população Norte e Sul do táxon *M. g. antelius* e uma agrupação do *M. g. melanotus*.

No segundo capítulo foi constatado que a variação genética foi acompanhada pela variação fenotípica (medidas corporais), havendo separação em três linhagens previamente descritas. A relação encontrada entre as variáveis morfométricas e as distâncias genéticas com as distâncias geográficas sugerem um padrão de divergência de isolamento por distância. O fato de não encontrar relação entre as distâncias geográficas e as distâncias ambientais demonstra que a divergência das linhagens não foi por adaptação.

Neste mesmo capítulo foi encontrada uma relação negativa entre o tamanho corpóreo com a temperatura sugerindo, que o isolamento por distância tem sido acompanhado por um processo de adaptação local.

No terceiro capítulo, onde se utilizou caracteres acústicos vocais de *M. gilvus*, foi constatado também que a divergência genética foi acompanhada por a variação geográfica no canto, produto de um padrão de divergência de isolamento por distância, acompanhado por um processo de adaptação local, principalmente nas notas.

Levando em conta os resultados do presente estudo, é possível afirmar que estão acontecendo processos de divergência genética no táxon *M. g. antelius* acompanhados no nível fenotípico (morfológica e acusticamente). Igualmente esta divergência é produto do isolamento ocasionado por distâncias entre as populações, por eventos históricos (como as transgressões marinhas), o comportamento sedentário da espécie e, possivelmente, por variações culturais do canto.

Nos três capítulos empregando três diferentes caracteres (molecular, morfológico e acústico) foram encontradas maiores diferenças entre os táxons *M. g. antelius* e *M. g. melanopterus*. Isto sugere que estes táxons possam ser duas espécies diferentes, embora isto deve ser constatado com estudos que insiram amostras de toda a área de *M. gilvus*. O presente estudo veio a contribuir muito ao que pouco se conhecia em termos das subespécies de *Mimus* no Brasil, particularmente quanto à integração dos dados genéticos, morfométricos e acústicos. Os resultados obtidos poderão contribuir para o entendimento dos processos evolutivos em aves com cantos aprendidos e sua relação com a divergência genética e a variação morfométrica, além de poderem indicar locais em que sejam necessárias ações para a conservação de populações de *M. gilvus antelius*.

Anexo 1 – Tabelas de valores de significância das análises de Kruskal-Wallis de cada uma das medidas feitas para os cantos de *Mimus gilvus* no Brasil, junto com as análises de comparações multiplex por localidade. Tamanho amostral = 900 (continua).

Frequência máxima			Frequência mínima			Largura Banda			Duração			Frequência dominante		
K-W	gl = 8; H = 327,61; p***		gl = 8; H = 244,42; p***		gl = 8; H = 282,80; p***		gl = 8; H = 60,51; p***		gl = 8; H = 198,34; p***					
Local	Ranks	Grupos	Local	Ranks	Grupos	Local	Ranks	Grupos	Local	Ranks	Grupos	Local	Ranks	Grupos
BOA	78,64	A	JB	221,7	A	BOA	133	A	SA	359	A	BOA	137	A
SA	372,06	B	BOA	238,6	A	SA	322,8	B	MB	369,6	A	MB	361,2	B
MB	374,41	B	MB	397,6	B	MB	391	B C	PF	403,2	A B	SA	455,1	C
ICA	415,74	B	ICA	411	B	ICA	435,1	C D	ICA	404	A B	CO	500,6	C D
PF	497,36	C	PF	505	C	PF	486,7	D E	BOA	452,6	B C	ICA	501,7	C D
SE	546,21	C D	CO	536,7	C	SE	521	E F	SE	474,6	B C	PF	507,4	C D
PS	580,14	D	SE	558,8	C D	PS	545,2	E F	PS	496	C D	SE	522,2	C D
CO	590,65	D	PS	569,5	C D	CO	564,2	F	CO	547,4	D	PS	527,5	D
JB	599,31	D	SA	615,6	D	JB	655,5	G	JB	548,2	D	JB	541,8	D

1st Quartil de frequência			3rd Quartil de frequência			IQR de largura de banda			Número de notas			Notas exclusivas		
K-W	gl = 8; H = 275,56; p***		gl = 8; H = 284,50; p***		gl = 8; H = 194,56; p***		gl = 8; H = 99,74; p***		gl = 8; H = 48,76; p***					
Local	Ranks	Grupos	Local	Ranks	Grupos	Local	Ranks	Grupos	Local	Ranks	Grupos	Local	Ranks	Grupos
BOA	81,12	A	BOA	92,81	A	BOA	247,2	A	SA	363	A	SA	359,1	A
MB	383,36	B	MB	358,5	B	SA	276,1	A	MB	369,9	A	MB	391,7	A B
CO	426,51	B C	SA	400,5	B C	MB	366,7	B	PF	380,5	A	BOA	414,5	A B
PF	457,13	C D	ICA	469,9	C D	ICA	449,6	C	BOA	380,8	A	CO	431,2	A B C
JB	507,19	D E	PF	482,5	D E	PF	479,3	C	ICA	389,9	A	ICA	437,6	B C
PS	519,5	D E F	SE	543,2	E F	SE	501,6	C D	SE	492,7	B	PS	439,7	B C
ICA	546,01	E F	CO	544,6	E F	PS	561,7	D E	PS	518	B C	JB	494,5	C D
SE	551,47	E F	JB	569,6	F	JB	581,9	E	JB	577,2	C	PF	536,6	D
SA	582,23	F	PS	593	F	CO	590,7	E	CO	582,5	C	SE	549,7	D

Anexo1 – Tabelas de valores de significância das análises de Kruskal-Wallis de cada uma das medidas feita para os cantos de *Mimus gilvus*, junto com as análises de comparações multiplex por localidade, Tamanho amostral = 900, (conclusão),

Notas repetidas			Tipo de nota			Pace		
K-W	gl = 8; H =83,0; p***		gl = 8; H =75,18; p***			gl = 8; H =59,09; p***		
Local	Ranks	Grupos	Local	Ranks	Grupos	Local	Ranks	Grupos
PF	319,36	A	SA	342,7	A	BOA	310,7	A
ICA	405,17	B	MB	362,1	A	SA	411,8	B
BOA	408,89	B	BOA	379,4	A	PF	414,4	B C
SE	420,31	B	ICA	409,7	A B	MB	426,8	B C
SA	423,82	B	PF	460,8	B C	ICA	441	B C D
MB	424,42	B	PS	485,2	C D	SE	486,2	C D E
PS	528,11	C	CO	513,8	C D	PS	500,8	D E
JB	532,12	C	SE	542,6	D	JB	529,1	E
CO	592,33	C	JB	554,2	D	CO	533,8	E

Legenda: Abreviações dos outros encabeçados: K-W = teste Kruskal-Wallis; gl = graus de liberdade; p*** = $p < 0,0001$; p** = $p < 0,001$; p* = $p < 0,05$; Local = localidade, Abreviações das localidades: BOA = Boa Vista, SA = Salinas, ICA = Icapuí, PF = Praia do Forte, PS = Porto Seguro, CON = Conceição da Barra, SE = Setiba, JB = Jurubatiba e MB = Ilha de Marambaia.

Nota: Na parte de grupos, as médias com uma letra em comum não são significativamente diferentes ($p > 0,05$),

Anexo 2 – Tabelas de valores de significância das análises de Kruskal-Wallis de cada uma das medidas feita para as notas de *Mimus gilvus* no Brasil, junto com as análises de comparações multiplex por localidade, Tamanho amostral = 3981.

Frequência máxima			Frequência mínima			Largura Banda			Duração			Frequência dominante		
K-W	gl = 8; H = 669,26; p***		gl = 8; H = 430,69; p***		gl = 8; H = 351,89; p***		gl = 8; H = 78,93; p***		gl = 8; H = 660,23; p***					
Local	Ranks	Grupos	Local	Ranks	Grupos	Local	Ranks	Grupos	Local	Ranks	Grupos	Local	Ranks	Grupos
BOA	662,45	A	BOA	1009	A	BOA	1332,8	A	SE	1794,6	A	BOA	584,25	A
SA	1779,31	B	JB	1756	B	SA	1564,9	B	SA	1878,6	A B	SA	1908,1	B
MB	1874,55	B C	MB	1838	B C	SE	1767,3	C	MB	1910,4	A B C	MB	2069,5	B C
ICA	2008,58	C D	ICA	1974	C D	MB	1895,5	C D	PS	1928,2	A B C	CO	2079,8	C
SE	2073,18	D	CO	2112	D E	PF	2010,7	D	JB	1943,7	B C	PF	2112,6	C D
PF	2107,72	D	PF	2210	E F	ICA	2015,8	D	CO	2009	B C	ICA	2197,7	C D
CO	2285,31	E	PS	2277	F	PS	2186,6	E	ICA	2044,2	B C	PS	2213,9	C D
PS	2299,43	E	SA	2287	F	CO	2237,9	E	PF	2058,7	C	JB	2215,1	C D
JB	2376,57	E	SE	2348	F	JB	2512,2	F	BOA	2426,4	D	SE	2247,3	D

1st Quartil de frequência			3rd Quartil de frequência			IQR de largura de banda			Número de elementos de nota			
K-W	gl = 8; H = 714,85; p***		gl = 8; H = 671,43; p***		gl = 8; H = 147,86; p***		gl = 8; H = 76,63; p = NS					
Local	Ranks	Grupos	Local	Ranks	Grupos	Local	Ranks	Grupos	Local	Ranks	Grupos	
BOA	525,45	A	BOA	597	A	BOA	1523,2	A				
MB	2000,69	B	SA	1837	B	SA	1596,4	A				
SA	2036,42	B	ICA	1972	B C	ICA	1919	B				
CO	2076,03	B	MB	2065	C D	SE	2002	B C				
JB	2110,76	B C	PF	2146	D E	PF	2039,3	B C D				
PF	2119,78	B C D	CO	2180	D E	MB	2096,3	C D				
ICA	2227,18	C D E	JB	2227	E	CO	2148,3	D				
PS	2264,78	D E	SE	2239	E	JB	2161,2	D				
SE	2298,88	E	PS	2287	E	PS	2184,7	D				

Legenda: Abreviações dos outros encabeçados: K-W = teste Kruskal-Wallis; gl = graus de liberdade; p*** = p<0,0001; p** = p<0,001; p* = p<0,05; Local = localidade, Abreviações das localidades: BOA = Boa Vista, SA = Salinas, ICA = Icapuí, PF = Praia do Forte, PS = Porto Seguro, CON = Conceição da Barra, SE = Setiba, JB = Jurubatiba e MB = Ilha de Marambaia.

Nota: Na parte de grupos, as médias com uma letra em comum não são significativamente diferentes (p > 0,05).

Anexo 3 – Tabelas de valores de significância das análises de Kruskal-Wallis de cada uma das medidas feita para os cantos de *Mimus gilvus* no Brasil, junto com as análises de comparações multiplex para cada linhagem genética (Norte 1, Norte 2 e Sul), Tamanho amostral = 900,

Frequência máxima			Frequência mínima		Largura Banda		Duração		Frequência dominante	
K-W	gl = 2; H = 272,15; p***		gl = 2; H = 79,941; p***		gl = 2; H = 216,66; p***		gl = 2; H = 18,65; p***		gl = 2; H = 164,09; p***	
Linhagem	Ranks	Grupos	Ranks	Grupos	Ranks	Grupos	Ranks	Grupos	Ranks	Grupos
Norte 1	78,64	A	238,6	A	133	A	452,59	B	137,04	A
Norte 2	393,9	B	513,3	B	378,95	B	381,52	A	478,39	B
Sul	531,4	C	464,9	C	527,27	C	473,15	B	493,45	B

1st Quartil de frequência			3rd Quartil de frequência		IQR de largura de banda		Número de notas		Notas exclusivas	
K-W	gl = 2; H = 245,10; p***		gl = 2; H = 227,23; p***		gl = 2; H = 119,29; p***		gl = 2; H = 35,11 ; p***		gl = 2; H = 14,83 ; p**	
Linhagem	Ranks	Grupos	Ranks	Grupos	Ranks	Grupos	Ranks	Grupos	Ranks	Grupos
Norte 1	81,12	A	92,81	A	247,19	A	380,84	A	414,48	A
Norte 2	564,1	B	435,2	B	362,82	B	376,44	A	398,35	A
Sul	474,2	C	515,2	C	513,61	C	486,8	B	473,89	B

Notas repetidas			Tipo de nota		Número de notas	
K-W	gl = 2; H = 9,58; p**		gl = 2; H = 35,35; p***		gl = 2; H = 39,39; p***	
Linhagem	Ranks	Grupos	Ranks	Grupos	Ranks	Grupos
Norte 1	408,9	A	379,4	A	310,65	A
Norte 2	414,5	A	376,2	A	426,38	B
Sul	62,07	B	486,4	B	481,85	C

Legenda: Abreviações dos outros encabeçados: K-W = teste Kruskal-Wallis; gl = graus de liberdade; p*** = p<0,0001; p** = p<0,001; p* = p<0,05,

Nota: Na parte de grupos, as médias com uma letra em comum não são significativamente diferentes (p > 0,05),

Anexo 4 – Tabelas de valores de significância das análises de Kruskal-Wallis de cada uma das medidas feitas para as notas de cantos, juntamente com as análises de comparações multiplex para cada linhagem genética de *Mimus gilvus* no Brasil (Norte 1, Norte 2 e Sul), Tamanho amostral = 3981,

Frequência máxima			Frequência mínima		Largura Banda		Duração		Frequência dominante	
K-W	gl = 2; H = 602,79; p***		gl = 2; H = 309,24; p***		gl = 2; H = 187,12; p***		gl = 2; H = 61,07; p***		gl = 2; H = 637,70; p***	
Linhagem	Ranks	Grupos	Ranks	Grupos	Ranks	Grupos	Ranks	Grupos	Ranks	Grupos
Norte 1	662,5	A	1009	A	1332,78	A	2426,42	A	584,25	A
Norte 2	1897	B	2127	B	1795,88	B	1963,44	B	2056,46	B
Sul	2191	C	2087	B	2127,87	C	2426,42	B	2161,09	C

1st Quartil de frequência			3rd Quartil de frequência		IQR de largura de banda		Número de elementos de nota	
K-W	gl = 2; H = 687,00; p***		gl = 2; H = 658,89; p***		gl = 2; H = 123,84; p***		gl = 2; H = 27,65 ; p = NS	
Linhagem	Ranks	Grupos	Ranks	Grupos	Ranks	Grupos	Ranks	Grupos
Norte 1	525,5	A	597,1	A	1523,17	A		
Norte 2	2134	B	1906	B	1761,7	B		
Sul	2149	B	2198	C	2111,23	C		

Legenda: Abreviações dos outros encabeçados: K-W = teste Kruskal-Wallis; gl = graus de liberdade; p*** = p<0,0001; p** = p<0,001; p* = p<0,05,

Nota: Na parte de grupos, as médias com uma letra em comum não são significativamente diferentes (p > 0,05).

CONSIDERAÇÕES GERAIS

Mimus gilvus é um modelo interessante para o entendimento dos processos complexos de evolução em aves. Algumas de suas características ecológicas como a preferência específica a hábitat de restinga nos indivíduos de extremo sul é contrastante com os outros que conseguem sobreviver em ambientes amplamente degradados. Um dos objetivos deste trabalho foi precisamente avaliar o estado da diversidade genética nestes indivíduos restritos à restinga, os quais têm sido categorizados em perigo de extinção nos estados de Rio de Janeiro e Espírito Santo. No primeiro capítulo não foi encontrada diferença estatística na diversidade genética dos indivíduos de *M. g. antelius* restritos à restinga (sul da distribuição) e aqueles de outros hábitats. Aparentemente nas localidades com redução populacional (sul da distribuição), não foi encontrada perda considerável de diversidade genética que exija algum manejo genético, embora algumas análises genéticas sugiram gargalos populacionais nas localidades do extremo sul, das quais Marambaia apresenta os maiores valores. Das três áreas com restinga, os indivíduos de Jurubatiba exibem os maiores valores de diversidades mitocondrial e nuclear, além de apresentar dois haplótipos exclusivos. Por esta razão iniciativas de conservação nesta área são importantes para a espécie.

Inicialmente esta preferência por hábitats de restinga dos indivíduos do extremo sul, fazia pensar que as análises filogeográficas, estes indivíduos formassem uma linhagem diferente aqueles mais adaptados a ambientes antropogênicos, como acontece marcadamente nos indivíduos desde a Bahia até Salinas. Os resultados mostraram que esta apreciação é falsa, a subespécie *M. g. antelius* restrita ao litoral apresenta uma moderada estruturação populacional entre os indivíduos do Norte (Salinas e Icapuí) e do sul (Praia do Forte até Marambaia), sugerido principalmente pelos marcadores mitocondriais. Esta estruturação, os sinais de expansão populacional e o sinal de gargalo populacional nos indivíduos do extremo sul, sugerem que possa haver um efeito dos ciclos glaciais sobre a estruturação e diversificação de *M. g. antelius* e não uma estruturação produto da adaptação a diferentes hábitats.

Por outra parte, a análise de inferência bayesiana de tempos de divergência para *M. g. antelius* inseriu como grupo externo indivíduos da subespécie *M. g. melanotus*, indivíduos que não tinham sido considerados nas análises filogeográficas por

implicações metodológicas. Os resultados desta análise bayesiana mostraram três linhagens monofiléticas, a população Norte e Sul do táxon *M. g. antelius* e uma agrupação do *M. g. melanopterus*.

No segundo capítulo foi constatado que a variação genética foi acompanhada pela variação fenotípica (medidas corporais), havendo separação em três linhagens previamente descritas. A relação encontrada entre as variáveis morfométricas e as distâncias genéticas com as distâncias geográficas sugerem um padrão de divergência de isolamento por distância. O fato de não encontrar relação entre as distâncias geográficas e as distâncias ambientais demonstra que a divergência das linhagens não foi por adaptação.

Neste mesmo capítulo foi encontrada uma relação negativa entre o tamanho corpóreo com a temperatura sugerindo, que o isolamento por distância tem sido acompanhado por um processo de adaptação local.

No terceiro capítulo, onde se utilizou caracteres acústicos vocais de *M. gilvus*, foi constatado também que a divergência genética foi acompanhada por a variação geográfica no canto, produto de um padrão de divergência de isolamento por distância, acompanhado por um processo de adaptação local, principalmente nas notas.

Levando em conta os resultados do presente estudo, é possível afirmar que estão acontecendo processos de divergência genética no táxon *M. g. antelius* acompanhados no nível fenotípico (morfológica e acusticamente). Igualmente esta divergência é produto do isolamento ocasionado por distâncias entre as populações, por eventos históricos (como as transgressões marinhas), o comportamento sedentário da espécie e, possivelmente, por variações culturais do canto.

Nos três capítulos empregando três diferentes caracteres (molecular, morfológico e acústico) foram encontradas maiores diferenças entre os táxons *M. g. antelius* e *M. g. melanopterus*. Isto sugere que estes táxons possam ser duas espécies diferentes, embora isto deve ser constatado com estudos que insiram amostras de toda a área de *M. gilvus*. O presente estudo veio a contribuir muito ao que pouco se conhecia em termos das subespécies de *Mimus* no Brasil, particularmente quanto à integração dos dados

genéticos, morfométricos e acústicos. Os resultados obtidos poderão contribuir para o entendimento dos processos evolutivos em aves com cantos aprendidos e sua relação com a divergência genética e a variação morfométrica, além de poderem indicar locais em que sejam necessárias ações para a conservação de populações de *M. gilvus antelius*.