

Manuelita Maria Camila Sotelo Muñoz

Filogeografia multilocos de duas espécies da
Mata Atlântica do gênero *Pyriglena* (Aves:
Thamnophilide)

Multilocus phylogeography of two Atlantic
Forest species of *Pyriglena* (Aves:
Thamnophilidae)

São Paulo

2017

Resumo

Visando contribuir para a compreensão dos processos que originaram e mantiveram a biodiversidade na Mata Atlântica (MA), o presente estudo teve como objetivo inferir a história evolutiva - bem como os processos biogeográficos envolvidos - de duas espécies de aves da MA, *P. atra* (120 indivíduos) e *P. leucoptera* (434 indivíduos). Realizamos uma análise filogeográfica envolvendo marcadores com diferentes tipos de herança: materna (gene mitocondrial da subunidade II da NADH desidrogenase), biparental (três marcadores anônimos VIDY, GK439 e 55J7) e ligada ao cromossomo Z (íntron 18 da helicase comromo-domínio de ligação ao DNA, íntron 15 da helicase Brahma dependente de ATP e íntron 1 da fosfolipase A2). Duas questões principais foram abordadas: (i) Qual hipótese de diversificação é mais congruente com os resultados do presente estudo? (ii) Os resultados baseados em marcadores com diferentes tipos de herança são congruentes? Para responder a primeira questão, algumas das previsões de cada hipótese foram testadas. Foi encontrada evidência de que as mudanças climáticas no final do Pleistoceno parecem ter sido importantes na estrutura filogeográfica de *Pyriglena atra* e *Pyriglena leucoptera* na MA. Os resultados encontrados foram congruentes com a Hipótese dos Isolados de Montanha, mas aparentemente refutam outras hipóteses, tais como: a Hipótese dos Refúgios do Pleistoceno no contexto do modelo paleoclimático proposto por Carnaval & Moritz (2008), Hipótese de estruturas fisiográficas (rios ou montanhas) como barreiras, e a Hipótese de Gradientes Ecológicos. Além disso, os rios Doce e Contas parecem ser barreiras secundárias interrompendo parcialmente o gênico. Finalmente, os marcadores revelaram diferentes níveis de estrutura geográfica e sinais nem sempre totalmente congruentes. Assim, embora os marcadores mitocondriais sejam muito informativos em reconstruções filogeográficas, é importante usar vários tipos de marcadores para recuperar de forma mais completa a história dos processos evolutivos dos organismos e os possíveis fatores que geraram essa biodiversidade.

Abstract

To contribute to the understanding of the processes that originated and maintained biodiversity in the Atlantic Forest (AF), the present study aimed to infer the evolutionary history - as well as the biogeographic processes involved - of two AF bird species, *P. atra* (120 individuals) and *P. leucoptera* (434 individuals). We performed a phylogeographic analysis based on markers with different types of inheritance: maternal (mitochondrial gene of the NADH dehydrogenase subunit II), biparental (three anonymous markers: VIDY, GK439, 55J7) and Z-linked (intron 18 of the chromo-DNA-binding domain helicase, intron 15 of the ATP-dependent Brahma helicase and intron 1 of the Phospholipase A2). Two major questions were addressed: (i) Which diversification hypothesis best fits the results of the present study? (ii) Are the results based on markers with different types of inheritance congruent? In order to answer the first question, some of the predictions of each hypothesis were tested. We found evidence that climate changes in the late Pleistocene seem to have been important for shaping the phylogeographic structure of *Pyriglena atra* and *Pyriglena leucoptera* in the AF. The results are congruent with the Montane Isolation Hypothesis but apparently refute other hypotheses, such as: The Pleistocene Refuge Hypothesis in the context of the paleoclimatic model proposed by Carnaval & Moritz (2008), Hypothesis of physiographic structures (i.e. rivers or mountains) as barriers, and the Ecological Gradients Hypothesis. Additionally, the Doce and Contas rivers seem to act as secondary barriers partially disrupting gene flow. Finally, the markers revealed varying levels of geographical structure that were not totally congruent. Thus, although mitochondrial markers are very informative for phylogeographic reconstructions, it is important to use several types of markers in order to recover the history of the evolutionary processes of organisms and the possible factors that generate this biodiversity.

Introdução

A observação de fenômenos recorrentes na natureza pode levar ao reconhecimento de padrões que permitem o levantamento de hipóteses. Em biologia evolutiva entender os processos biológicos e históricos que originam e mantêm a biodiversidade é um dos principais objetivos e, para tal fim, a biogeografia, que estuda a distribuição das espécies e dos ecossistemas, tem sido uma ferramenta muito valiosa permitindo detectar alguns padrões e levantar algumas hipóteses sobre a diversificação da biota (Kattan *et al.* 2016). Especificamente, nas últimas décadas e com o grande avanço da biologia molecular, a filogeografia, um ramo da biogeografia que estuda a distribuição geográfica de linhagens no espaço e no tempo, tem permitido testar e até delinear algumas hipóteses (Avice 2009). A contribuição dos estudos filogeográficos em regiões megabiodiversas e vulneráveis como a Mata Atlântica é muito valiosa já que não só ajuda a compreender a história de unidades biogeográficas e o surgimento e manutenção da biodiversidade mas também contribui com os esforços de conservação.

I. Filogeografia

A filogeografia procura entender os processos biogeográficos e evolutivos que têm configurado a distribuição das linhagens genéticas no espaço e no tempo (Avice *et al.* 1987). Combina a genética de populações e a filogenética de modo a analisar fenômenos micro e macroevolutivos de populações geralmente da mesma espécie ou de espécies estreitamente relacionadas (Avice 2009) com base na estimativa sob a teoria coalescente de parâmetros estreitamente relacionados com a evolução das espécies (Hickerson *et al.* 2010). A análise filogeográfica revela a estrutura populacional das espécies (Beheregaray 2008) que pode ser resultado do efeito de barreiras fisográficas (Wallace 1852, Chapman 1910, Harvey & Brumfield 2015), ecológicas (Haffer 1969, Colvinaux 1998, Martins 2011) ou comportamentais (Avice 2009). Além disso, também permite estimar parâmetros populacionais e demográficos que descrevem a evolução do isolamento e que podem levar a inferências sobre mudanças temporais no ambiente físico e biótico das populações (Beheregaray 2008, Carstens *et al.* 2009) e a propor hipóteses de eventos históricos do planeta que possam ter influenciado processos evolutivos e a origem e manutenção da biodiversidade (Beheregaray 2008, Hickerson *et al.* 2010). Os estudos filogeográficos podem ser utilizados para inferir processos evolutivos e levantar hipóteses ou podem ser usados para testar hipóteses *a priori*. Segundo Carstens *et al.* (2009), o levantamento de hipóteses pode ser mais propenso a interpretações erradas do que o teste de hipóteses, pois no primeiro caso as inferências podem estar sujeitas a um viés de interpretação devido a idéias preconcebidas do autor. De qualquer forma, análises filogeográficas podem ser úteis em diversas áreas, como em estudos relacionados com especiação, zonas híbridas, conservação, biogeografia, modelagem de nicho, diversificação,

etc. (Hickerson *et al.* 2010) e ainda, podem aportar dados para apoiar outras áreas como a paleoclimatologia e a orogenia (Beheregaray 2008).

Marcadores moleculares em Filogeografia

Desde seu início e até alguns anos atrás a filogeografia de animais foi baseada quase exclusivamente na análise de DNA mitocondrial (mitDNA; Beheregaray 2008) devido a características que o tornam um excelente marcador para realizar reconstruções filogeográficas (Avice 2009). O mitDNA possui geralmente altas taxas de mutação e tamanho efetivo populacional (N_e) pequeno devido à sua natureza haplóide, características ideais para analisar se há estrutura populacional, um dos objetivos da filogeografia. Em contraposição, o DNA nuclear (nuDNA) apresenta geralmente taxas menores de mutação, recombinação (sendo necessário identificar segmentos não recombinantes), N_e maior do que o mitDNA e adicionalmente, como o nuDNA é diplóide, é necessário determinar a fase gamética (Hare 2001).

Contudo, à medida que a biologia molecular e a bioinformática foram avançando foi possível lidar com algumas das problemáticas de analisar o nuDNA e os estudos utilizando esses marcadores foram aumentando (Brito & Edwards 2008). Com isso, foram observadas discrepâncias entre reconstruções utilizando diferentes tipos de marcadores (i.e nucleares e mitocondriais) e se evidenciaram os problemas relacionados com o uso exclusivo de marcadores mitocondriais (Toewl & Brelsford 2012). Ou seja, relações estimadas usando um ou mais genes mitocondriais poderiam não representar a real história das populações (Garrick *et al.* 2015). E a estimativa de parâmetros populacionais, sobretudo demográficos (Brito & Edwards 2008, Hickerson *et al.* 2010), podem ser pouco precisas. Assim, começaram a se tornar populares os estudos multilocos que utilizam marcadores nucleares independentes em conjunto com marcadores mitocondriais (Beheregaray 2008).

Atualmente, devido aos avanços tecnológicos, que permitiram ter acesso a mais informação do genoma, e ao avanço de métodos analíticos coalescentes, que permitiram a integração de dados de vários locos nas análises, tornou-se possível analisar grandes conjuntos de dados -inclusive de marcadores com padrões de herança diferentes (i.e biparental, materno, ligados a cromossomos sexuais)-, obter maior resolução filogenética e melhores estimativas dos parâmetros populacionais. Com isso, foi possível realizar a reconstrução de histórias que incluem vários eventos, como a separação das linhagens, o crescimento ou declínio das populações e o fluxo gênico contínuo ou recorrente e assim, abordar questões e cenários mais complexos (Beheregaray 2008). E ainda, tem-se tornado possível distinguir a importância dos processos neutros versus os seletivos (Garrick *et al.* 2015). No entanto, os marcadores mitocondriais são ainda altamente valorizados, em especial porque permitem estimar tempos de divergência baseados em taxas de substituição que tem sido melhor estudadas e aceitas.

É importante ressaltar que reconstruções filogeográficas robustas devem incluir múltiplos marcadores e uma amostragem populacional representativa para poder caracterizar com precisão os níveis de diversidade, a estrutura genética, os parâmetros populacionais e a história demográfica das espécies (Garrick *et al.* 2015).

Marcadores com diferentes padrões de herança

Em relação à estrutura populacional, é esperado que marcadores mitocondriais apresentem maior estrutura quando comparados com os marcadores nucleares dado que o mitDNA tem um *N_e* menor do que o nuDNA. Com relação ao nuDNA, foi observado que em aves (que possuem machos homogaméticos- ZZ e fêmeas heterogaméticas -ZW), genes ligados ao cromossomo Z são menos suscetíveis à introgressão do que genes autossômicos, portanto, espera-se que esses últimos apresentem menos estrutura populacional e a maioria dos polimorfismos compartilhados (Borge *et al.* 2005). Devido às diferenças entre os marcadores com padrões de herança diferentes (mitocondrial, nuclear e ligado ao cromossomo Z) o análise em conjunto deles permite realizar uma abordagem mais abrangente sobre a ação dos fenômenos evolutivos atuando sobre os organismos (Zhang & Hewitt 2003).

Filogeografia na região neotropical

Apesar do número de estudos filogeográficos ter aumentado exponencialmente ao longo dos anos (Garrick *et al.* 2015), táxons de regiões com alta biodiversidade no hemisfério sul seguem pouco estudados (Beheregaray 2008). Especificamente, a Mata Atlântica, um dos domínios mais biodiversos e degradados do mundo, possui menos estudos filogeográficos do que outras regiões neotropicais. É importante ressaltar que em biomas vulneráveis estudos filogeográficos podem auxiliar na identificação e delimitação de áreas que deveriam ser prioritárias para a conservação biológica (Hickerson *et al.* 2010). Também, análises em regiões pouco estudadas podem revelar novos modelos históricos potencialmente difíceis de compreender comparados com outros mais estudados e melhor caracterizados (Beheregaray 2008) e originar novas hipóteses biológicas. Apesar disso, cabe ressaltar que em sistemas complexos (ex. muito heterogêneos ou cujos habitats modificam de forma imprevisível) e com poucos dados adicionais, como modelos de nicho paleoambiental, distribuição temporal de espécies ou registros fósseis, pode ser bastante difícil desenvolver novas hipóteses (Carstens *et al.* 2009).

II. A Mata Atlântica

A Mata Atlântica (MA) é um dos domínios mais biodiversos e ameaçados do mundo, considerado como *hot spot* de biodiversidade (Myers *et al.* 2000). Cerca de 95% da MA se estende do Nordeste do Brasil ao longo do litoral até a fronteira com o Uruguai e uma pequena porcentagem cobre

parte da Argentina e do Paraguai (Silva *et al.* 2004). Ocupa atualmente cerca de 1.400.000 km² em gradientes relativamente amplos de altitude (0 - 1700 msnm) e latitude (29°), o que lhe outorga grande heterogeneidade (Ribeiro *et al.* 2009). A MA se encontra isolada de outros domínios de vegetação úmida da América do Sul (i.e. florestas Amazônica e dos Andes) por um cinturão de vegetação xeromórfica (Oliveira-Filho & Ratter 1995) formado pelas áreas abertas secas e semi-secas de Caatinga, Cerrado e Chaco (Ab'Saber 1977). Essa área mais aberta parece ter se formado no Eoceno médio (Roig-Juñent *et al.* 2006) e atua como barreira para o intercâmbio de organismos restritos às florestas úmidas (Costa 2003). A heterogeneidade e o isolamento podem ter influenciado no fato de a MA abrigar um grande número de espécies endêmicas (Myers *et al.* 2000, Silva *et al.* 2004), entre elas cerca de 200 espécies de aves (Goerck 1997). Entretanto, muitas espécies estão atualmente ameaçadas, pois apesar de ser fonte de biodiversidade e dos serviços ecossistêmicos que fornece, a área atual da MA é de apenas 12 - 16% do que já foi a segunda maior eco-região da América, uma vez que o desmatamento nos últimos 500 anos, principalmente para pecuária e agricultura, atingiu praticamente toda a floresta (Ribeiro *et al.* 2009). Assim, preservar o que resta da MA é altamente prioritário para organizações voltadas à conservação da biodiversidade (McNeely *et al.* 1990).

Relevo

Na MA há 4 cadeias montanhosas principais: A Serra do Espinhaço, a Serra da Mantiqueira, a Serra do Mar e a Serra dos Órgãos. A Serra do Espinhaço é a mais antiga e extensa, sua origem remonta do Pré-Cambriano como consequência do magnetismo no Proterozoico, há cerca de 1750 milhão de anos atrás (Myr) aproximadamente (Almeida-Abreu & Renger 2002). Ela ocorre do centro-sul de Minas Gerais em direção norte até o centro de Bahia, é a cadeia de montanhas da MA mais afastada do litoral e se situa entre a MA e o cerrado (Lara *et al.* 2005). A Serra do Espinhaço separa a bacia do rio São Francisco das bacias dos rios Paraguaçu, de Contas, Pardo, Jequitinhonha, Mucuri e Doce (Leite *et al.* 2008). A origem das Serras do Mar e da Mantiqueira remonta do Paleoceno como consequência de eventos tectônicos iniciados nesse período (de Almeida & Carneiro 1998). A Serra da Mantiqueira possui a maior elevação na MA, se estende em direção sudeste-nordeste definindo o caminho do rio Paraíba do Sul nos estados de São Paulo, Minas Gerais e Rio de Janeiro (Lara *et al.* 2005). A Serra do Mar se estende na direção norte-sul pelo litoral desde o Rio de Janeiro até o norte de Santa Catarina, possui composição orográfica complexa e muitas das suas montanhas drenam diretamente para o mar (de Almeida & Carneiro 1998). A Serra dos Órgãos está restrita ao estado de Rio de Janeiro e pode ser considerada como uma extensão da Serra do Mar. Por estarem localizadas paralelamente ao litoral, as Serras da Mantiqueira, do Mar e dos Órgãos são muito úmidas na face leste e abrigam floresta ombrófila, enquanto que na face oeste mais seca, possui floresta semidecidual (Lara *et al.* 2005).

Vegetação

Atualmente a MA é composta de diversos tipos de floresta: ombrófila, estacional semidecidual, estacional decidual, e ainda, vegetação agregada como campos sulinos e áreas de clímax edáfico como restingas e manguezais (Rizzini 1997). Sendo que a composição florística dessa vegetação depende da disponibilidade de água proveniente da precipitação e /ou da umidade do solo, dos gradientes de temperatura, da variação na fertilidade do solo e da frequência de fogo (Oliveira-Filho *et al.* 2006). Assim, parece que a variação temporal de fatores abióticos pode ter promovido mudanças na composição florística da MA. Segundo Ledru *et al.* (2009), a MA parece ter reagido notavelmente a dois fatores: a radiação solar e a umidade, fatores que podem ser controlados pelos ciclos de precessão do planeta (Cruz *et al.* 2005). O estudo paleopalinológico de Ledru *et al.* (2009) na região sul da MA correlaciona episódios de contração e expansão da floresta com períodos de baixa e alta radiação solar e umidade, respectivamente. Ele ainda indica que nos últimos 134 mil anos a MA passou por vários eventos de contração e de expansão de área e que sua composição florística mudou ao longo desse tempo em resposta às características climáticas específicas de certos períodos, mostrando uma relação positiva entre umidade e biodiversidade.

Clima

Os estudos palinológicos de Ledru *et al.* (1996, 2009) têm inferido condições climáticas na MA no passado baseados na variação da composição do pólen ao longo do tempo. Esses estudos sugerem que durante o último período glacial a temperatura se manteve baixa durante a maior parte do tempo até o início do Holoceno, com exceção de um curto período com temperaturas mais quentes ao redor de 58 mil anos atrás. Também indicam que no último máximo glacial a umidade variou possivelmente devido à variação da precipitação entre as estações do ano, com períodos com regimes de precipitação no inverno ou verão e inclusive períodos de chuva constante sem estação seca, mas também períodos muito secos, como há aproximadamente 20 mil anos (último máximo glacial). As condições climáticas inferidas para o último máximo glacial foram atribuídas a um forte sinal de precessão da Terra.

Atualmente na MA são reconhecidas duas principais estações climáticas anuais que são controladas pela posição da zona de convergência intertropical (ZCIT). Uma estação seca durante o inverno austral, onde a ZCIT está localizada ao norte do paralelo do Equador, e uma estação chuvosa durante o verão austral, onde a ZCIT está localizado ao sul do Equador (Cruz *et al.* 2005). Em latitudes maiores a umidade também é controlada pela posição da zona de convergência do Atlântico Sul (ZCAS). No verão austral, os ventos alísios carregados de umidade viajam desde o Atlântico equatorial à bacia amazônica (monção Sul-Americana de verão) de onde são direcionados para o sudeste dos Andes e canalizados para a ZCAS. No inverno, a ZCAS pode receber ventos polares que geram grandes precipitações mitigando a seca sazonal (Garreaud 2000).

Áreas de endemismo

As áreas de endemismo são regiões que se caracterizam por conter duas ou mais espécies com distribuição restrita a ela (Cracraft 1985). São úteis para testar hipóteses de parentesco entre unidades geográficas, bem como no estudo da evolução das biotas (Cracraft 1985, Cabanne *et al.* 2008). Devem ser consideradas focos de conservação, pois são áreas únicas onde espécies únicas se originaram e foram mantidas (Silva *et al.* 2004). Devido à sua história e às suas características particulares, essas áreas podem ter sido centros de diversificação de múltiplos táxons, inclusive não estreitamente relacionados (Cabanne *et al.* 2008).

Áreas de endemismo na MA têm sido identificadas ao longo dos anos por meio de diversas metodologias, mas não há consenso entre os autores. Alguns têm considerado a MA como uma única área de endemismo (Müller 1973, Haffer 1985). Outros estudos sobre a distribuição geográfica de aves endêmicas da MA (Cracraft 1985, Stattersfield *et al.* 1998, Silva *et al.* 2004) concordam que as regiões dos estados de Pernambuco e da Bahia e a Serra do Mar, devem ser três áreas de endemismo diferentes. Já Cracraft (1985) considera duas áreas de endemismo: o contínuo de litoral desde o Pernambuco até Santa Catarina (Serra do Mar de Cracraft [1985]) e o centro do Paraná. Já Silva *et al.* (2004) considera quatro áreas de endemismo: um contínuo desde o litoral do centro de Espírito Santo até Santa Catarina (Serra do Mar de Silva *et al.* [2004]), o litoral da Bahia (“Bahia litoral”), o interior da Bahia (“Bahia interior”) e o Pernambuco. Finalmente Stattersfield *et al.* (1998) consideram cinco áreas de endemismo: uma área denominada Floresta Atlântica de baixada (que inclui a Serra do Mar e a Bahia litoral de Silva *et al.* [2004]), Bahia interior (mas com área menor do que a Bahia interior de Silva *et al.* [2004]), Pernambuco, a floresta decídua de Minas Gerais-Goiás e as montanhas da Mata Atlântica no estado de Paraná.

Origem da biodiversidade na Mata Atlântica

Em geral, as hipóteses de diversificação na região tropical enfatizam o contexto geográfico e focam nos modelos alopátricos que sugerem que o isolamento geográfico evita ou minimiza a homogeneização, enquanto a seleção e a deriva genética podem resultar em divergência das populações; porém há hipóteses alternativas que não implicam em alopatria (Lara *et al.* 2005). Estudos filogeográficos, paleoclimáticos e paleogeográficos têm buscado inferir como também testar algumas hipóteses (descritas brevemente a seguir) de processos geográficos e biológicos que possam explicar a origem e manutenção da grande biodiversidade da MA. Contudo, a biodiversidade da MA parece estar envolta numa história complexa que não pode ser explicada por apenas uma hipótese de diversificação (e.g. Pellegrino *et al.* 2005, Cabanne *et al.* 2007, 2008, Carnaval *et al.* 2009 Thomé *et al.* 2010, D’Horta *et al.* 2011, Amaral *et al.* 2013) e por isso, é necessário ter análises robustas para testar as diferentes hipóteses e assim distinguir entre processos de especiação alternativos (Lara *et al.* 2005).

Barreiras Fisiográficas: rios e morfoestruturas

A distribuição de algumas espécies tem levado a sugerir que alguns rios (Wallace 1852; Cracraft & Pym 1988) e morfoestruturas (i.e. cadeias montanhosas; Chapman 1917, Kattan *et al.* 2016) podem ter atuado como barreiras geográficas primárias impedindo o fluxo gênico entre populações, permitindo sua diferenciação e eventualmente a diversificação dos táxons. No entanto, essas estruturas fisiográficas também podem atuar como barreiras geográficas secundárias que separam e impedem total ou parcialmente o fluxo gênico entre linhagens que divergiram por motivos alheios a elas, apenas sendo o ponto de encontro dessas linhagens (Patton *et al.* 1994, Cabanne *et al.* 2008).

A inferência das relações filogenéticas entre populações no contexto geográfico junto com a estimativa de parâmetros populacionais (como tempo de divergência) pode ajudar a inferir o cenário no qual os organismos evoluíram. Espera-se encontrar nos lados opostos de uma estrutura que atuou como uma barreira geográfica primária linhagens irmãs com tempo de divergência posterior, mas próximo da origem da estrutura. Por outro lado, uma estrutura pode ser reconhecida como barreira secundária se sua origem for mais antiga do que a data de divergência entre as linhagens, ainda mais se for inferido que a população ancestral ocorria na área onde a barreira se localiza.

Na região neotropical o rio Amazonas (Aleixo 2004, Hayes & Sewlal 2004, Fernandes *et al.* 2014) e as cadeias montanhosas do Andes (Cracraft 1985, Weir & Price 2011, Benham *et al.* 2015) foram apontados como possíveis barreiras primárias que promoveram especiação alopátrica. Já na MA a diversificação de alguns organismos já estudados não descarta os rios como possível barreira ao fluxo gênico. Por exemplo, há evidências que indicam os rios São Francisco (Silva & Straube 1996, Cabanne *et al.* 2008), Doce (Martins 2011) Jequitinhonha (Batalha-Filho 2012) e Paranapanema como barreiras importantes entre linhagens geneticamente diferenciadas (Pires *et al.* 2011). No entanto, esses rios não necessariamente atuaram como barreiras primárias, pois a origem deles (Ribeiro 2006) é em geral mais antiga do que as divergências encontradas. O rio Doce tem atraído grande atenção e é um marco bastante recorrente de quebra genética observada em diferentes tipos de organismos. Assim, a distribuição de alguns táxons irmãos diferenciados de anfíbios (Fouquet *et al.* 2012, Thomé *et al.* 2010), lagartos (Pellegrino *et al.* 2005) e mamíferos (Costa 2003) ocorrem ao norte e ao sul de suas margens. No entanto, para algumas aves o rio Doce parece ser uma barreira geográfica secundária que separa linhagens (Cabanne *et al.* 2008) e sublinhagens (D'Horta *et al.* 2011). Também as regiões ao norte e ao sul do rio Doce diferem drasticamente em sua composição florística com táxons de plantas restritos a cada uma delas (Oliveira-Filho & Fontes 2000, Carnaval *et al.* 2014, Zamborlini *et al.* 2016).

Por outro lado, algumas morfoestruturas geológicas como a descontinuidade estrutural (*dykes*) entre a parte superior do rio São Francisco e o rio Grande da bacia do Paraíba (para peixes, Ribeiro 2006) e o lineamento de Guapiara (para anfíbios, Amaro *et al.* 2012; planárias, Alvarez-Presas *et al.* 2014) também foram identificadas como sendo barreiras geográficas importantes entre

populações. O vale do rio Paraíba do Sul (VRPS) tem atraído grande atenção, dado que muitas quebras genéticas em aves parecem estar associadas com essa morfoestrutura. O trabalho de Silva & Straube (1996), baseado na análise de caracteres morfológicos, propõe o VRPS como uma barreira geográfica primária que conduziu à diversificação de duas espécies do gênero de ave *Lepidocolaptes* bem diferenciadas fenotipicamente. Segundo a proposta a formação do vale pelo levantamento das serras da Mantiqueira e do Mar no Plio-Pleistoceno mudou a composição florística na depressão, sendo a floresta substituída por vegetação aberta. A mudança na paisagem teria evitado o fluxo gênico entre as populações ao sul e norte do VRPS e promovido a diferenciação. Como Silva & Straube (1996) não puderam estimar o tempo de divergência entre as espécies, suas conclusões devem ser consideradas com cuidado. Além disso, a análise filogeográfica de D'Horta *et al.* (2011) descarta o VRPS como barreira primária na diferenciação das linhagens de *Sclerurus scansor* e sugere que seja um local de contato secundário, já que a formação do VRPS teria ocorrido há muito mais tempo do que a divergência das linhagens. Assim, ao contrário de outras morfoestruturas, parece que o VRPS pode não ter sido *per se* uma barreira geográfica, mas um local onde se estabeleceu uma barreira ecológica.

Muitas vezes não é possível distinguir claramente potenciais barreiras primárias de um evento vicariante. Por exemplo, o rio São Francisco poderia ser responsável pela diferenciação das linhagens que ocorrem na região norte e central da MA, porém, como esse rio corre majoritariamente através de Caatinga não é possível distinguir claramente se o rio ou a Caatinga influenciaram a diferenciação das linhagens que são separadas por eles (Cabanne *et al.* 2008).

Hipótese dos refúgios

A hipótese de refúgios (RH, Haffer 1969, Vanzolini e Williams 1970) propõe que durante os períodos glaciais e interglaciais a floresta Amazônica úmida teria contraído e expandido, respectivamente. Em essência, segundo a RH, a floresta se contraiu em resposta à mudança climática no período glacial ficando reduzida a fragmentos isolados (refúgios) ocasionando a redução e fragmentação da distribuição de espécies associadas à essa vegetação. Como consequência do isolamento dessas populações devido à presença de áreas abertas que limitaram ou impediram o fluxo gênico entre elas, pode ter ocorrido diferenciação dessas populações. Também, segundo a RH, durante o período interglacial a floresta úmida se expandiu e com isso ocorreu o contato secundário de populações. Se esses grupos se diferenciaram suficientemente mesmo entrando em contato, elas podem ter atingido algum nível de isolamento reprodutivo e não haveria fluxo gênico, ou seja, poderiam constituir espécies diferentes.

Na MA também foi proposta a existência de refúgios florestais durante o último período glacial no Pleistoceno. O modelo de Carnaval e Moritz (MCM, 2008) reconhece três regiões na Mata Atlântica: a região Norte (NMA) ao norte do Rio São Francisco, a região Central entre os rios São Francisco e Doce (CMA) e a região Sul (SMA) ao sul do rio Doce. Segundo esse modelo, as

regiões norte e centro mantiveram a floresta úmida estável ao longo dos últimos 21.000 anos e constituíram refúgios florestais durante o último máximo glacial (LMG), enquanto na região sul a floresta foi substituída por vegetação mais seca. O refúgio na CFA no atual estado da Bahia, também identificado como refúgio florestal pelo estudo paleopalinológico de Ledru *et al.* (1996), teria sido mais estável do que o refúgio na NMA no atual estado de Pernambuco devido a condições abióticas locais que permitiram que a floresta permanecesse com maior área. Adicionalmente, a mudança climática teria permitido a expansão e contração assíncrona dos fragmentos florestais levando ao isolamento ou contato entre as suas populações em momentos distintos (Cabanne *et al.* 2008, d'Horta *et al.* 2011,).

Ainda, a HR prediz que deve haver maior diversidade nas populações localizadas nas áreas que teriam sido refúgios em relação às populações que ocorrem nas áreas externas, pois o tamanho efetivo (N_e) seria maior nas regiões mais estáveis e/ou as regiões menos estáveis poderiam mostrar perda de diversidade devido ao efeito de gargalo populacional (Templeton 2006) ou devido ao processo de expansão populacional (Ibrahim *et al.* 1996). Assim, no contexto do MCM espera-se maior diversidade nas regiões NMA e CMA do que na SMA. Ainda, é esperado encontrar maior biodiversidade na região CMA por ter sido mais estável já que alguns estudos filogeográficos sugerem a contração de populações de aves na NMA durante o Holoceno, possivelmente relacionada a uma contração florestal (Cabanne *et al.* 2008, d'Horta *et al.* 2011) devido a um regime pluviométrico particular nessa região (Wang *et al.* 2004). Também, é esperado que as populações que ocorrem fora das áreas de refúgio apresentem sinal de expansão populacional recente como consequência da expansão da floresta e a colonização de novas áreas no período interglacial (Hewitt 1996). Assim, na MA se espera encontrar sinal de expansão nas populações no SFA.

Estudos filogeográficos de algumas espécies da MA parecem estar em conformidade com os padrões esperados pela HR e o MCM. As linhagens dessas espécies mostram uma forte congruência com as regiões geográficas (NFA, CFA, SFA), apresentam características genéticas e demográficas esperadas conforme a região de ocorrência e indicam que as divergências das linhagens ocorreram no Pleistoceno Médio e Tardio (Cabanne *et al.* 2008, d'Horta *et al.* 2011, Amaral *et al.* 2011). No entanto, tem sido questionado se os ciclos climáticos do passado fragmentaram a floresta de modo significativo (Colinvaux *et al.* 2000) como predito pelo MCM. Nesse sentido, alguns estudos identificaram grupos (Maldonado-Coelho 2012), linhagens (Cabanne *et al.* 2008, Amaral *et al.* 2013) e táxons endêmicos restritos à região sul (Silva *et al.* 2004) que não seriam congruentes com a ausência de uma floresta estável no tempo no SFA. Ainda, há algumas espécies distribuídas ao longo ou em grande parte da MA que não apresentam estruturação populacional nem estão em conformidade com as previsões do MCM (Batalha-Filho *et al.* 2012, Cabanne *et al.* 2016,).

Cabe mencionar que atualmente a NMA está reduzida a pequenos fragmentos (brejos de altitude) que atuam como refúgios contemporâneos e abrigam linhagens geneticamente bem diferenciadas (Cabanne *et al.* 2008, d'Horta *et al.* 2011). Por outro lado, atualmente a região SMA é a que abriga a maior área de floresta, sendo menos fragmentada e mais preservada do que a floresta na região central.

Hipóteses dos isolados de montanha

A hipótese dos isolados de montanha (HIM, Moreau 1966) foi inicialmente proposta para explicar a distribuição de alguns táxons irmãos de aves na África. Assim como a HR propõe que a diversificação foi promovida pelo isolamento dos indivíduos em diferentes remanescentes florestais devido à contração da floresta durante os períodos secos do período glacial no Pleistoceno, mas a HIM sugere que populações teriam ficado isoladas nas áreas montanhosas onde florestas úmidas teriam permanecido mesmo durante o período glacial devido ao nível pluviométrico ser maior graças à precipitação orográfica. Em seguida, essas populações isoladas poderiam ter expandido a sua distribuição a altitudes menores com a expansão da floresta durante o período interglacial. A HIM prediz que grupos irmãos devem ocupar áreas adjacentes. Na MA a HIM tem sido examinada com menos frequência do que outras hipóteses, apesar de a topografia montanhosa da MA poder ser congruente com esse cenário de diversificação (Geise *et al.* 2004, Lara *et al.* 2005). Porém alguns estudos de organismos da MA não descartam essa hipótese (mamífero, Lara & Patton 2000; ave, d'Horta *et al.* 2011).

Hipótese dos gradientes ecológicos

A hipótese dos gradientes ecológicos (HGE, Endler 1977; Smith *et al.* 1997) propõe que a diversificação pode ocorrer sem vicariância, mas pode ocorrer devido às mudanças ambientais em um gradiente ecológico que promove seleção divergente, inclusive na presença de fluxo gênico (Schneider *et al.* 1999). Segundo a HGE áreas de transição ecológica seriam pontos de encontro entre táxons irmãos ou outros grupos genéticos. Alguns estudos têm mostrado que ambientes de transição são comuns nas paisagens da floresta tropical (Lara *et al.* 2005). Na MA têm sido reportados casos de divergência genética em presença de fluxo gênico (ave, Cabanne *et al.* 2011). Assim, organismos nos biomas tropicais também poderiam se diversificar segundo a HGE (García-Moreno & Fjeldså 2000). Se a divergência genética, reprodutiva ou morfológica for maior entre populações que ocupam diferentes ambientes do que entre populações ocupando ambientes similares, a seleção pode estar levando à diversificação e a HGE não pode ser descartada. Mas se a divergência entre populações que ocupam ambientes similares e entre aquelas que ocupam ambientes diferentes for similar, então, fatores outros que não os ambientais, como a deriva, podem estar gerando diversificação e a HGE pode ser refutada (Coyne & Orr 2004, Lara *et al.* 2005, Benham & Witt 2016).

III. Modelos de estudo

A ordem Passeriformes é a maior das aves, compreendendo cerca de 6000 espécies chamadas comumente de aves canoras (Chatterjje 2015). Estas aves são na sua maioria relativamente pequenas e encontram-se em todas as áreas do planeta, exceto na Antártida (Austin 1961, Ridgely & Brown 1994). São caracterizadas por possuírem siringe bem desenvolvida para o canto (Chatterjje 2015), disposição dos dígitos anisodáctila, redução das vértebras cervicais e palato com estrutura peculiar (Austin 1961). Esta ordem compõe um grupo monofilético bem suportado (Chatterjje 2015) composto por três subordens: Acanthisittidae, Tyranni (Suboscine) e Passeri (Oscine) (Barker *et al.* 2004), sendo Acanthisittidae grupo irmão das outras duas subordens (Chatterjje 2015).

Na subordem Tyranni se encontra a família Thamnophilidae (Chatterjje 2015), separada da família Formicariidae baseada em estudos filogenéticos com bom suporte, e é composta de aves chamadas comumente de formigueiros (Ridgely & Brown, 1994). Thamnophilidae possui cerca de 200 espécies distribuídas nas áreas tropicais e subtropicais das Américas do Sul e Central (Sfectu 2014), de porte pequeno a médio e com dimorfismo sexual na plumagem (Ridgely & Brown, 1994). São arborícolas, mas se alimentam geralmente de artrópodes no solo e algumas espécies seguem correições de formigas para capturar pequenos invertebrados que fogem da correição (Sfectu 2014). Thamnophilidae inclui o gênero *Pyriglena*, que compreende três espécies exclusivas da América do Sul: *P. leuconota*, *P. atra* e *P. leucoptera*, conhecidas comumente como olhos-de-fogo devido à cor vermelha dos seus olhos, com marcado dimorfismo sexual na plumagem e seguidoras de correções de formigas (del Hoyo *et al.* 2003). *P. leuconota* é o grupo irmão de *P. atra* e *P. leucoptera*, duas espécies muito próximas que formam um clado bem suportado e que divergiram-se aparentemente há pouco tempo na MA (Maldonado-Coelho 2010). *Pyriglena atra* (Swainson, 1825) (BirdLife International 2016, Figura S1) também conhecida como papa-taoca-da-Bahia é endêmica de uma pequena área no nordeste do Brasil (Collar *et al.* 1992) ao norte do rio Paraguaçu (King 1879; Figura 1). Possui aproximadamente 17,5 centímetros de comprimento (BirdLife International 2016). Os machos são pretos e têm no dorso uma região com penas com base e franjas brancas (Ridgely & Brown 1994). Enquanto as fêmeas são marrom avermelhado no dorso e marrom no ventre; tem olhos vermelhos, cauda preta e pescoço esbranquiçado (USWFS 2010). A espécie ocorre em sub-bosque ou vegetação secundária onde pode ser encontrada em casais ou pequenos grupos, perto do solo evitando o interior da floresta e áreas muito descobertas (Willis & Oniki 1982). Enfrenta a contínua degradação de seu hábitat (Collar *et al.* 1992) devido ao desmatamento e ao desenvolvimento agrícola na Bahia (Willis & Oniki 1982), o que tem causado a redução da sua população (BirdLife International 2016). É considerada uma espécie ameaçada nacionalmente (Silva & Straube 2008, MMA 2014) e categorizada como ameaça de extinção (*endangered*) pela “*International Union for Conservation of Nature*” (IUCN, BirdLife International 2016).

Pyriglena leucoptera (Vieillot, 1818) (Birdlife Internacional 2016, Figura S1) também conhecida como papa-formiga ou papa-taoca-do-sul (WWF-Brasil 2010) se distribui amplamente na Mata Atlântica. Tem distribuição no Brasil desde o sul da Bahia até o norte do Rio Grande do Sul e ao sul de Mato Grosso. Já no Paraguai ocorre desde o sul de Canindeyú até Itapúa e na Argentina, na província de Misiones (Ridgely & Brown 1994; Figura 1). Possui aproximadamente 18 cm de comprimento e olhos vermelhos brilhantes. Os machos são preto brilhante, têm no dorso uma pequena área de penas brancas que fica pouco exposta e uma barra branca na curvatura das asas. Enquanto as fêmeas são indistinguíveis das fêmeas de *P. atra* (Ridgely & Brown, 1994). É geralmente vista em pares na floresta úmida de dossel baixo com vegetação densa (Ridgely & Brown 1994, WWF-Brasil 2010). A espécie é considerada comum (Stotz *et al.* 1996) e está categorizada como de menor preocupação (*least concern*) pela IUCN (Bird Life International 2016). No entanto, a população parece estar diminuindo (Bird Life International 2016) devido à destruição do seu habitat (del Hoyo *et al.* 2003).

P. atra e *P. leucoptera* têm distribuição parapátrica próximo ao médio curso da margem norte do rio Paraguau onde ocorre uma zona de hibridação entre as duas espécies (Maldonado-Coelho 2012). Devido à provável recente divergência entre *P. atra* e *P. leucoptera*, elas são bons modelos para estudar processos evolutivos envolvidos em diversificação. Além disso, como essas duas espécies formam um clado bem suportado, provavelmente se divergiram na MA e pela sua ampla distribuição conjunta nesse domínio, são bons modelos para estudar a biogeografia da MA.

O presente estudo teve como objetivo compreender a história evolutiva de duas espécies de aves da Mata Atlântica, *P. atra* e *P. leucoptera*, bem como os processos biogeográficos envolvidos. Assim, foi realizada uma análise filogeográfica baseada em marcadores com diferentes tipos de herança (materna, biparental e ligado ao cromossomo Z), com a intenção de contribuir para a compreensão dos processos evolutivos e biogeográficos que originaram e têm mantido a grande biodiversidade na MA. Nesse contexto, buscamos responder duas questões principais: (i) Qual hipótese de diversificação se ajusta melhor à história das espécies selecionadas no presente estudo? (ii) Os padrões filogeográficos de marcadores com diferentes tipos de herança são congruentes? Para responder a primeira questão foram testadas algumas das predições de cada uma das hipóteses de origem da biodiversidade para verificar se o padrão encontrado no modelo de estudo foi congruente.

Conclusões

O presente estudo apresenta evidências de que mudanças climáticas no Pleistoceno tardio podem ter sido importantes na estruturação filogeográfica de *Pyriglena atra* e *Pyriglena leucoptera* na Mata Atlântica (MA). O padrão filogeográfico encontrado foi congruente com a hipótese dos isolados de montanha, mas não, aparentemente, com outras hipóteses alternativas propostas para a MA, como a hipótese de refúgios florestais no contexto do modelo paleoclimático de Carnaval & Moritz (2008), a hipótese de estruturas fisiográficas como barreiras ou a hipótese dos gradientes ecológicos. Assim, as quatro linhagens de *Pyriglena* aqui encontradas parece poder terem se originado em alopatria possivelmente devido às mudanças climáticas do Pleistoceno tardio que podem ter restringido parte da floresta úmida (e as populações de *Pyriglena*) em diferentes cadeias montanhosas da MA. Ainda, os rios de Contas, Pardo e Doce parecem ser barreiras secundárias limitando o livre fluxo gênico entre margens o que ajudaria a manter a identidade das linhagens encontradas.

Se faz necessário realizar uma análise com mais marcadores que permita confirmar ou refutar a estimativa de data de divergência entre a única linhagem de *P. atra* e a linhagem de *P. leucoptera* geograficamente mais próxima (LCN), bem como as linhagens encontradas em *P. leucoptera*. Isso é importante, pois o tempo estimado no presente estudo parece ser recente demais para que as duas espécies pudessem ter desenvolvido algumas características fenotípicas diferenciadoras e porque essa data foi mais recente do que o tempo de divergência entre linhagens intraespecíficas de *P. leucoptera*.

Como observado no presente estudo, apesar de os marcadores mitocondriais serem bastante informativos para reconstruções filogeográficas é importante utilizar diversos tipos de marcadores de modo a recuperar de forma mais robusta a história dos processos evolutivos dos organismos e dos possíveis fatores geradores dessa biodiversidade.

Referências Bibliográficas

- Ab`Saber A N. 1977. Os domínios morfoclimáticos na América do Sul. *Geomorfologia*, 52: 1-23.
- Amaro R C, Rodrigues M T, Yonenaga-Yassuda Y, Carnaval A C. 2012 Demographic processes in the montane Atlantic rainforest: molecular and cytogenetic evidence from the endemic frog *Proceratophrys boiei*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 62: 880-888.
- Almeida-Abreu PA & Renger F E. 2002. Serra do Espinhaço meridional: um orógeno de colisão do Mesoproterozóico. *Revista Brasileira de Geociências*, 32: 1-14.
- Alvarez-Presas M, Sánchez-García A, Carbayo F, Rozas J, Riutort M. 2014. Insights into the origin and distribution of biodiversity in the Brazilian Atlantic forest hot spot: a statistical phylogeographic study using a low-dispersal organism. *Heredity*, 112: 656-665.
- Amaral F R, Albers P K, Edwards S, Miyaki C. 2013. Multilocus tests of Pleistocene refugia and ancient divergence in a pair of Atlantic Forest antbirds (*Myrmeciza*). *Molecular Ecology*, 22: 3996-4013.
- Aleixo A. 2004. Historical diversification of a terra-firme forest bird superspecies: a phylogeographic perspective on the role of different hypotheses of Amazonian diversification. *Evolution*, 58: 1303-1317.
- Austin O L. 1961. *Birds of the World*. Golden Press Inc., New York. 320 pp.
- Avise J C, Arnold J, Ball R M, Bermingham E, Lamb T, Niegel J E, Reeb C A, Saunders N C. 1987. Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*, 18: 489-522.
- Avise J C. 2009. Phylogeography: retrospect and prospect. *Journal of Biogeography*, 36: 3-15.
- Axelsson E, Smith N G C, Sundstrom H, Berlin S, Ellegren H. 2004. Male-biased mutation rate and divergence in autosomal, Z-linked and W-linked introns of chicken and turkey. *Molecular Biology and Evolution*, 18: 1538-1547.
- Backström N, Lindell J, Zhang Y, Palkopoulou E, Qvarnström A, Sætre G, Ellegren H. 2010. A high-density scan of the Z chromosome in *Ficedula* flycatchers reveals candidate loci for diversifying selection. *Evolution*, 64: 3461-3475.
- Bandelt H J, Forster P, Rohl A. 1999. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*, 16: 37-48.
- Barker F K, Cibois A, Schikler P, Feinstein J, Cracraft J. 2004. Phylogeny and diversification of the largest avian radiation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101: 11040-11045.
- Batalha-Filho H. 2012. Padrões e processos de diversificação em aves da Amazônia e da Mata Atlântica. Tese de doutoramento. Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.
- Beheregaray L B. 2008. Twenty years of phylogeography: the state of the field and the challenges for the southern hemisphere. *Molecular Ecology*, 17: 3754-3774.
- Benham P M, Cuervo A M, McGuire J A, Witt C C. 2015. Biogeography of the Andean metal-tail hummingbirds: contrasting evolutionary histories of tree line and habitat generalist clades. *Journal of Biogeography*, 42: 763-77.
- BirdLife International 2016. *Pyriglena atra*. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2014.3. <www.iucnredlist.org>. Downloaded on 02 April 2015.
- BirdLife International. 2016. *Pyriglena leucoptera*. The IUCN Red List of Threatened Species 2016: e.T22701700A93844956. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2016-3.RLTS.T22701700A93844956.en>. Downloaded on 23 June 2017.
- Borge T, Webster M T, Andersson G, Sætre G P. 2005. Contrasting patterns of polymorphism and divergence on the Z chromosome and autosomes in two *Ficedula* flycatcher species. *Genetics*, 171: 1861-1873.

- Bouckaert R, Heled J, Kühnert D, Vaughan T, Wu C-H, Xie D, Suchard MA, Rambaut A, Drummond A J. 2014. BEAST 2: a software platform for bayesian evolutionary analysis. *PLoS Computational Biology*, 10: e1003537.
- Brito H P, Edwards S V. 2009. Multilocus phylogeography and phylogenetics using sequence-based markers. *Genetica*, 135: 439-455.
- Bruen TC, Philippe H, Bryant D. 2006. A simple and robust statistical test for detecting the presence of recombination. *Genetics*, 172: 2665–2681.
- Bruford MW, Hanotte O, Brookfield JFY, Burke T. 1992. Multi and single-locus DNA fingerprinting. *In: Hoelzel AR (ed.) Molecular Genetic Analysis of Populations: a Pratical Approach*, pp. 225–269. IRL Press, Oxford.
- Cabanne G S, d’Horta F M, Sari E H R, Santos F R, Miyaki C Y. 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 G S, D’Horta F M, Meyer D, Silva J M C, Miyaki C Y. 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.
- Carnaval A C, Moritz C. 2008. Historical climate modeling predicts patterns of current biodiversity in the Brazilian Atlantic forest. *Journal of Biogeography*, 35: 1187–1201.
- Carnaval A C, Hickerson M J, Haddad C F B, Rodrigues M T, Moritz C. 2009. Stability predicts genetic diversity in the Brazilian Atlantic Forest Hotspot. *Science*, 32: 785–789.
- Carnaval A C, Waltari E, Rodrigues M T, Rosauer D, VanDerWal J, Damasceno R, Prates I, Strangas M, Spanos Z, Rivera D, Pie M R, Firkowski C, Bornschein M, Ribeiro L F, Moritz C. 2014. Prediction of phylogeographic endemism in an environmentally complex biome. *Proceedings of the Royal Society of London*, 281: 1792.
- Carstens B C, Stoute H N, Reid N. 2009. An information-theoretical approach to phylogeography. *Molecular Ecology*, 18: 4270-4282.
- Chapman F M. 1917. The distribution of bird-life in Colombia. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 36: 1–729.
- Chatterjje S. 2015. *The Rise of Birds*. 2nd edition. Johns Hopkins University Press, Baltimore. 392 pp.
- Colinvaux P A. 1998. A new vicariance model for Amazonian endemics. *Global Ecology and Biogeography Letters*, 7: 95-96.
- Colinvaux PA, De Oliveira P E, Bush M B. 2000. Amazonian and Neotropical plant communities on glacial time-scales: the failure of the aridity and refuge hypotheses. *Quaternary Science Reviews*, 19: 141–169.
- Collar N J, Gonzaga L P, Krabbe N, Madroño Nieto A, Naranjo L G, Parker T A, Wege D C. 1992. *Threatened birds of the Americas: the ICBP/IUCN Red Data Book*. International Council for Bird Preservation, Cambridge. 1150 pp.
- Corander J, Tang J. 2007. Bayesian analysis of population structure based on linked molecular information. *Mathematical Biosciences*, 205: 19-31.
- Corander J, Marttinen P, Sirén J, Tang J. 2008. Enhanced Bayesian modeling in BAPS software for learning genetic structures of populations. *BMC Bioinformatics*, 9: 539-552.
- Costa L P. 2003. The historical bridge between the Amazon and the Atlantic Forest of Brazil: a study of molecular phylogeography with small mammals. *Journal of Biogeography*, 30: 71–86.
- Coyne J A, Orr H A. 2004. *Speciation*. Sinauer Associates, Inc., Sunderland. 480 pp.
- Cracraft J. 1985. Historical biogeography and patterns of differentiation within the South America avifauna: areas of endemism. *Ornithological Monographs*, 36: 49–84.
- Cracraft J, Prum R O. 1988. Patterns and processes of diversification: speciation and historical congruence in some neotropical birds. *Evolution*, 42: 603-620.

- Cruz F W J, Burns S J, Karmann I, Sharp W D, Vuille M, Cardoso A O, Ferrari J A, Silva Dias P L, Viana O J. 2005. Insolation-driven changes in atmospheric circulation over the past 116,000 years in subtropical Brazil. *Nature*, 434: 63–66.
- D'Horta F M, Cabbane G S, Meyer D, Miyaki C Y. 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.
- de Almeida F F M, Carneiro C D R. 1998. Origem e evolução da Serra do Mar. *Revista Brasileira de Geociências*, 28: 135-150.
- del Hoyo J, Elliot A, Christie D. 2003. *Handbook of the Birds of the World. Volume 8: Broadbills to Tapaculos*. Lynx Editions. Barcelona. 845 pp.
- Derby O A. 1906. The Serra of Espinhaço. *Brazilian Journal of Geology*, 14: 374–401.
- Edgar R C. 2004. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Research*, 32: 1792-1797.
- Endler J A. 1977. *Geographic variation, speciation, and clines*. Princeton University Press, Princeton. 262 pp.
- 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, Laval G, Schneider S. 2005. Arlequin (version 3.0): An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics*, 1: 47-50.
- Fernandes A, Cohn-Haft M, Hrbek T, Farias I. 2014. Rivers acting as barriers for bird dispersal in the Amazon. *Revista Brasileira de Ornitologia*, 22:363-373.
- Fouquet A, Recoder R, Teixeira Jr M, Cassimiro J, Amaro R, Camacho C, Damasceno R, Carnaval A C, Moritz C, Rodrigues T. 2012. Molecular phylogeny and morphometric analyses reveal deep divergence between Amazonia and Atlantic Forest species of *Dendrophryniscus*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 62: 826–838.
- Flot J-F. 2007. **Champuru 1.0: a computer software for unraveling mixtures of two DNA sequences of unequal lengths. *Molecular Ecology Resources*, 7: 974-977.**
- Fu Y X. 1997. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics*, 147: 915-925.
- García-Moreno J, Fjeldså J. 2000. Chronology and mode of speciation in the Andean avifauna. *Bonn Zoological Monographs*, 46: 25–46.
- Garreaud, R D. 2000. Cold air incursions over subtropical South America: mean structure and dynamics. *Monthly Weather Review*, 128: 2544–2559.
- Garrick R C, Bonatelli I A S, Hyseni C, Morales A, Pelletier T, Perez F P, Rice E, Staler J D, Symula R E, Thom M C, Carstens B C. 2015. The evolution of phylogeographic data sets. *Molecular Ecology*, 24: 1164-1171.
- Geise L, Pereira L G, Bossi D E P, Bergallo H G. 2004. Pattern of elevational distribution and richness of non-volant mammals in Itatiaia National Park and its surroundings, in Southeastern Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, 64: 599-612.
- Goerck J M. 1997. Patterns of rarity in the birds of the Atlantic Forest of Brazil. *Conservation Biology*, 11: 112–118.
- Griffiths R, Double M, Orr K, Dawson R. 1998. A DNA test to sex most birds. *Molecular Ecology*, 7: 1071–1075.
- Guindon S, Gascuel O. 2003. A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood. *Systematic Biology*, 52: 696–704.
- Haffer J. 1985. Avian zoogeography of the Neotropical lowlands. *Ornithological Monographs*, 36: 113–146.
- Hare M P. 2001. Prospects for nuclear gene phylogeography. *Trends in Ecology and Evolution*, 16:700-706.

- Harley R M. 1995. Introduction. *In*: Stannard B L, Harvey Y B, Harley R M. Flora of the Pico das Almas, Chapada Diamantina – Bahia, Brazil. Kew Royal Botanic Gardens, London. pp 1-40.
- Harrigan R J, Mazza M E, Sorenson M D. 2008. Computation vs. cloning: evaluation of two methods for haplotype determination. *Molecular Ecology Resources*, 8: 1239–1248.
- Harvey M G, Brumfield R T. 2015. Genomic variation in a widespread Neotropical bird (*Xenops minutus*) reveals divergence, population expansion, and gene flow. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 83: 305-316.
- Hasegawa M, Kishino H, Yano T .1985. Dating of the human ape splitting by a molecular clock of mitochondrial DNA. *Journal of Molecular Evolution*, 22: 160–174.
- Hayes F E, Sewlal J A. 2004. The Amazon river as a dispersal barrier to passerine birds: effects of river width, habitat and taxonomy. *Journal of Biogeography*, 31: 1809-1818.
- Helded J, Drummond A J. 2008. Bayesian inference of population size history from multiple loci. *BMC Evolutionary Biology*, 8: 289-303.
- Hey J, Nielsen R. 2004. Multilocus methods for estimating population sizes, migration rates and divergence time, with applications to the divergence of *Drosophila pseudoobscura* and *D. persimilis*. *Genetics*, 167: 747-760.
- Hey J, Nielsen R. 2007. Integration within the Felsenstein equation for improved Markov chain Monte Carlo methods in population genetics. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104: 2785–2790.
- Hewitt G M, 1996. Some genetic consequences of ice ages, and their role in divergence and speciation. *Biological Journal of the Linnean Society*, 58: 247–276.
- Hickerson M J, Carstens B C, Cavender-Bares J, Crandall K A, Graham C H, Johnson J B. 2010. Phylogeography's past, present and future: 10 years after Avise, 2000. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 54: 291-301.
- Hijmans R J, Guarino J, Bussink C, Barrantes I, Rojas E. 2004. DIVA-GIS: a geographic information system for the analysis of biodiversity data. Available at: <http://www.diva-gis.org>.
- Hijmans R J. 2016. Package 'geosphere'. URL <https://www.rdocumentation.org/packages/geosphere/versions/1.5-5>
- Huson D H, Bryant D. 2006. Application of phylogenetic networks in evolutionary studies. *Molecular Biology and Evolution*, 23: 254–267.
- Hudson R R, Kaplan N L. 1985. Statistical properties of the number of recombination events in the history of a sample of DNA sequences. *Genetics*, 111: 147–164.
- Ibrahim K, Nichols R A & Hewitt G M. 1996. Spatial patterns of genetic variation generated by different forms of dispersal during range expansion. *Heredity*, 77: 282–291.
- Jakobsson M, Rosenberg N A. 2007. CLUMPP: a cluster matching and permutation program for dealing with label switching and multimodality in analysis of population structure. *Bioinformatics*, 23: 1801–1806.
- Johnson KP, Sorenson MD. 1998. Comparing molecular evolution in two mitochondrial protein coding genes (cytochrome band ND2) in the dabbling ducks (Tribe: Anatini). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 10: 82–94.
- Kearse M, Moir R, Wilson A, Stones-Havas S, Cheung M, Sturrock S, Buxton S, Cooper A, Markowitz S, Duran C, Thierer T, Ashton B, Mentjies P, Drummond A. 2012. Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics*, 28: 1647-1649.
- Kattan G, Tello S, Giraldo M, Cadena C D. 2016. Neotropical bird evolution and 100 years of the enduring ideas of Frank M. Chapman. *Biological Journal of the Linnean Society*, 117: 407–413.
- King W B. 1979. Red Data Book, 2: Aves. Second edition. International Union for Conservation of Nature. IUCN, Morges. 240pp.
- Lara M C, Patton J L. 2000 Evolutionary diversification of spiny rats (genus *Trinomys*, Rodentia: Echimyidae) in the Atlantic Forest of Brazil. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 130: 661-686.

- Lara M C, Geise L, Schneider C J. 2005. Diversification of small mammals in the Atlantic forest of Brazil: testing the alternatives. *In*: Lacey E A, Myers P (eds). *Mammalian Diversification: from Chromosomes to Phylogeography* (a Celebration of the Career of James L. Patton). University of California Press Berkeley, Los Angeles. pp. 311–335.
- Ledru M P, Soares Braga P I, Soubiès F, Fournier M, Martin L, Suguio K, Turcq B. 1996. The last 50,000 years in the Neotropics (Southern Brazil): evolution of vegetation and climate. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 123: 239–257.
- Ledru M, Mourguiart P, Riccomini C. 2009. Related changes in biodiversity, insolation and climate in the Atlantic rainforest since the last interglacial. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 271: 140–152.
- Leite F S F, Juncá F A, Eterovick P C. 2008. Status do conhecimento, endemismo e conservação de anfíbios anuros da Serra do Espinhaço, Brasil. *Megadiversidade*, 4: 158-176.
- Leite Y L R, Costa L P, Loss A C, Rocha R G, Batalha-Filho H, Bastos A C, Quaresma V S, Fagundes V, Paresque, Passamani M, Pardini R. 2016. Neotropical forest expansion during the last glacial period challenges refuge hypothesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 113: 1008-10013.
- Librado P, Rozas J. 2009. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 25: 1451–1452.
- Lugli L & Haddad C F B. 2006. New species of *Bokermannohyla* (Anura, Hylidae) from central Bahia, Brazil. *Journal of Herpetology*, 40: 7-15.
- Maldonado-Coelho M. 2010. Evolution and biogeography of South American fire-eyes (genus *Pyriglena*): insights from molecules and songs. PhD Dissertation. University of Missouri, St Louis.
- 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 J G, Silveira L F, Batalha-Filho H, Ricklefs R. 2013. Rivers, refuges and population divergence of fire-eye antbirds (*Pyriglena*) in the Amazon Basin. *Journal of Evolutionary Biology*, 26: 1090-1107.
- Martins F M. 2011. Historical biogeography of the Brazilian Atlantic forest and the Carnaval–Moritz model of Pleistocene refugia: what do phylogeographical studies tell us? *Biological Journal of the Linnean Society*, 104: 499-509.
- McNeely J A, Miller K R, Reid W V, Mittermeier R A, Werner T B. 1990. *Conserving the World's Biological Diversity*. IUCN, Gland. 193 pp.
- MMA. 2014. Lista Nacional Oficial de Espécies da Fauna Ameaçadas de Extinção. Portaria No 444, de 17 de dezembro de 2014. *Diário Oficial da União - Seção 1*. Nº 245, 18 de dezembro de 2014.
- Moore R P, Robinson W D, Lovette I J, Robinson T R. 2008. Experimental evidence for extreme dispersal limitation in tropical forest birds. *Ecology Letters*, 11: 960–968.
- Moreau R E. 1966. *The Bird Faunas of Africa and its Islands*. Academic Press, New York. 424 pp.
- Müller P. 1973. *Dispersal Centers of Terrestrial Vertebrates in the Neotropical Realm. A Study in the Evolution of the Neotropical Biota and its Native Landscape*. Springer, The Hague. 244 pp.
- Myers N, Mittermeier R A, Mittermeier C G, Fonseca G A, Kent J. 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*, 403: 853-858.
- Nei M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press, New York. 512 pp.
- Oliveira-Filho A T, Ratter J A. 1995. A study of the origin of central Brazilian forests by the analysis of plant species distribution patterns. *Edinburgh Journal of Botany*, 52: 141-94.
- Oliveira-Filho A T, Fontes M A L. 2000. Patterns of floristic differentiation among Atlantic forests in southeastern Brazil and the influence of climate. *Biotropica*, 32: 793–810.
- Oliveira Filho A T, Jarenkow, J A, Nogueira Rodal M J. 2006. Floristic relationships of seasonally dry forests of Eastern South America based on tree species distribution patterns. *In*: Pennington T, Lewis G P, Ratter J A. *Neotropical Savannas and Dry forests: Plant Diversity, Biogeography, and Conservation*. Taylor & Francis, New York. 152-179 pp.

- Patton J L, da Silva M N F, Malcolm J R .1994 Gene genealogy and differentiation among arboreal spiny rats (Rodentia, Echimyidae) of the Amazon Basin: a test of the riverine barrier hypothesis. *Evolution*, 48: 1314-1323.
- Payseur BA. 2010. Using differential introgression in hybrid zones to identify genomic regions involved in speciation. *Molecular Ecology Resources*, 10: 806–20.
- Pellegrino K C M, Rodrigues M T, Waite A N, Morando M, Yassuda Y Y, Sites J. 2005. Phylogeography and species limits in the *Gymnodactylus darwini* complex (Gekkonidae, Squamata): genetic structure coincides with river systems in the Brazilian Atlantic Forest. *Biological Journal of the Linnean Society*, 85: 13–26.
- Phillimore A B, Orme C D L, Thomas G H, Blackburn T M, Bennett P M, Gaston K J, Owens I P F. 2008. Sympatric speciation in birds is rare: insights from range data and simulations. *The American Naturalist*, 171: 646-657.
- Pires G M D, Cabanne G S, Rodrigues F S. 2011. How Past Vicariant Events Can Explain the Atlantic Forest Biodiversity?, *Ecosystems Biodiversity*, PhD. Oscar Grillo (Ed.), InTech, DOI: 10.5772/24032. Available from: <https://www.intechopen.com/books/ecosystems-biodiversity/how-past-vicariant-events-can-explain-the-atlantic-forest-biodiversity->
- Polzin T, Daneschmand S V. 2003. On Steiner trees and minimum spanning trees in hypergraphs. *Operations Research Letters*, 31: 12-20.
- Pritchard J K, Stephens M, Donnelly P. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155: 945–959.
- R Development Core Team. 2008. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org/>.
- Ramos-Onsins S E, Rozas J .2002. Statistical properties of new neutrality tests against population growth. *Molecular Biology and Evolution*, 19: 2092–2100.
- Ribeiro A C. 2006. Tectonic history and the biogeography of the fresh water fishes from the coastal drainages of eastern Brazil: an example of faunal evolution associated with a divergent continental margin. *Neotropical Ichthyology*, 4: 225-246.
- Ribeiro P L, Borba E L, Smidt E C, Lambert S M, Schnadelbach A S, van den Berg C. 2008. Genetic and morphological variation in the *Bulbophyllum exaltatum* (Orchidaceae) complex occurring in the Brazilian “campos rupestres”: implications for taxonomy and biogeography. *Plant Systematics and Evolution*, 270: 109-137.
- Ribeiro C M, Metzger J P, Camargo A, Ponzoni F J, Makiko C. 2009. The Brazilian Atlantic Forest: how much is left, and how is the remaining forest distributed? Implications for conservation. *Biological Conservation*, 142: 1141-1153.
- Ridgely R S, Brown W L. 1994. *The Birds of South America. Vol. II, The Suboscine Passerines*. University of Texas Press, Austin. 940 pp.
- Rizzini C T. 1997. *Tratado de fitogeografia do Brasil*, 2 ed. Ambito cultural Edições Ltda, Rio de Janeiro. 747 pp.
- Roig-Juñent S, Domínguez M C, Flores G E, Mattoni C. 2006. Biogeographic history of South American arid lands: a view from its arthropods using TASS analysis. *Journal of Arid Environments*, 66: 404–420.
- Rosenberg N A. 2004. Distruct: a program for the graphical display of population structure. *Molecular Ecology Notes*, 4: 137-138
- Sfectu N. 2014. *The Birds World*. Lulu Enterprises, Raleigh. 1844 pp.
- Schneider C J, Smith T B, Larison B, Moritz C.1999 A test of alternative models of diversification in tropical rainforests: Ecological gradients vs. rainforest refugia. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 96: 13869-13873.
- Smith T B, Wayne R K, Girman D J, Bruford M W. 1997 A role for ecotones in generating rainforest biodiversity. *Science*, 276: 1855-1857.

- Silva J M C, Straube F C. 1996. Systematics and biogeography of scaled woodcreepers (Aves: Dendrocolaptidae). *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, 31: 3–10.
- Silva J M C, Sousa M C, Castelletti CH M. 2004. Areas of endemism for passerine birds in the Atlantic forest, South America. *Global Ecology and Biogeography*, 13: 85–92.
- Silveira LF, Straube F C. 2008. Aves. *In*: Machado A B M, Drummond G M, Paglia AP. Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção. Vol. 2. Ministério do Meio Ambiente & Fundação Biodiversitas, Brasília. pp. 378-679.
- Sokal R R, Rohlf F J. 1995. *Biometry: The principles and practice of statistics in biological research*, 4th ed. W.H. Freeman and CO, New York. 937 pp.
- Stattersfield A J, Crosby M J, Long A, Wege D C. 1998 *Endemic bird areas of the world: priorities for bird conservation*. BirdLife International, Cambridge. 860 pp.
- Stephens M, Smith NJ, Donnelly P, 2001. A new statistical method for haplotype reconstruction from population data. *The American Journal of Human Genetics*, 68: 978–989.
- Stephens M, Donnelly P. 2003. A comparison of bayesian methods for haplotype reconstruction from population genotype data. *The American Journal of Human Genetics*, 73: 1162–1169.
- Stotz D F, Fitzpatrick J W, Parker T A, Moskovits D K. 1996. *Neotropical Birds: Ecology and Conservation*. University of Chicago Press, Chicago. 483 pp.
- Tajima F. 1989. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics*, 123: 585–595.
- Templeton A R. 2006. *Population Genetics and Microevolutionary Theory*. John Wiley & Sons, Hoboken. 720 pp.
- Thomé MT, Zamudio KR, Giovanelli JG, Haddad F, Baldissera F, Alexandrino J. 2010. Phylogeography of endemic toads and post-Pliocene persistence of the Brazilian Atlantic Forest. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 55: 1018-1031.
- Toews D P L, Brelsford A. 2012. The biogeography of mitochondrial and nuclear discordance in animals. *Molecular Ecology*, 21: 3907-3930.
- USFWS. 2010. Listing seven Brazilian bird species as endangered status. *Federal Register* 75: 23 pp.
- Vanzolini P E, Williams E E. 1970. South American anoles: the geographic differentiation and evolution of the *Anolis chrysolepis* species group (Sauria:Iguanidae). *Arquivo de Zoologia*, 19: 1–298.
- Vasconcelos MF, Lopes L E, Machado C G, Bornschein M R, Rodrigues M. 2008. As aves dos campos rupestres da Cadeia do Espinhaço: diversidade, endemismo e conservação. *Megadiversidade*, 4: 197-217.
- Vasconcelos M F, Chaves A V, dos Santos F R. 2012. First record of *Augastes scutatus* for Bahia refines the location of a purported barrier promoting speciation in the Espinhaço Range, Brazil. *Revista Brasileira de Ornitologia*, 20: 443-446.
- Wallace AR. 1852. On the monkeys of the Amazon. *Proceedings of the Zoological Society of London*, 20: 107–110.
- Wang XF, Auler AS, Edwards RL. 2004. Wet periods in northeastern Brazil over the past 210 kyr linked to distant climate anomalies. *Nature*, 432: 740–743.
- Weir J T, Price M. 2011. Andean uplift promotes lowland speciation through vicariance and dispersal in *Dendrocincla* woodcreepers. *Molecular Ecology*, 20: 4550-63.
- Wier J T, Schluter D. 2008. Calibrating the avian molecular clock. *Molecular Ecology*, 17: 2321-2328.
- Willis E O, Oniki Y. 1982. Behaviour of fringe-backed fire-eyes (*Pyriglena atra*, Formicariidae): a test case for taxonomy versus conservation. *Revista Brasileira de Biologia*, 42: 213-223.
- Winger B M, Bates J M. 2015. The tempo of trait divergence in geographic isolation: avian speciation across the Marañon Valley of Peru. *Evolution*, 69: 772-787.
- Won Y J, Hey J. 2005. Divergence population genetics of chimpanzees. *Molecular Biology and Evolution*, 22: 297–307.
- WWF-Brasil. 2010. *Guia de Aves da Mata Atlântica Paulista*. Athalaia Gráfica e Editora Ltda, Brasília. 132

pp.

Zhang D X, Hewitt G M. 2003. Nuclear DNA analyses in genetic studies of populations: practice, problems and prospects. *Molecular Ecology*, 12: 563–584.

