



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

**Filogeografia de *Phaethornis bourcieri* (Aves: Trochilidae): implicações
taxonômicas e biogeográficas**

LUCAS EDUARDO ARAÚJO SILVA

BELÉM – PARÁ

2012

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

**Filogeografia de *Phaethornis bourcieri* (Aves: Trochilidae): implicações
taxonômicas e biogeográficas**

LUCAS EDUARDO ARAÚJO SILVA

**Dissertação apresentada ao Programa de Pós-
graduação em Zoologia, Curso de Mestrado,
do Museu Paraense Emílio Goeldi e
Universidade Federal do Pará como requisito
parcial para obtenção do grau de mestre em
Zoologia.**

Orientador: Alexandre Aleixo

BELÉM – PARÁ

2012

LUCAS EDUARDO ARAÚJO SILVA

Filogeografia de *Phaethornis bourcieri* (Aves: Trochilidae): implicações taxonômicas e biogeográficas

Prof. Dr. Alexandre Aleixo (Orientador)

Coordenação de Zoologia, Museu Paraense Emílio Goeldi

Dra. Cristina Yumi Miyaki

Ph.D. Mario Cohn-Haft

Dr. José Salvatore Leister Patané

Dr. Fernando Jorge Guimarães Sequeira

Ph.D. Luciano Nicolás Naka

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao CNPq pela concessão da bolsa de pesquisa e auxílio ao trabalho de laboratório, financiado pelo projeto INCT em Biodiversidade e Uso da Terra da Amazônia (processo no. 574008/2008-0).

Ao Programa de Pós-graduação da Universidade Federal do Pará em convênio com o Museu Paraense Emílio Goeldi, pela oportunidade do mestrado.

Ao Prof. Dr. Alexandre Aleixo, pela orientação, amizade, críticas construtivas ao trabalho, apoio, ensinamentos e por ter confiado em mim para a realização deste estudo.

A Fátima Lima pela ajuda durante a minha estada como bolsista da coleção e no acesso ao material da coleção Ornitológica do Museu Paraense Emílio Goeldi.

Cynthia Helena Miléo de M. Bandeira pelos ensinamentos e ajuda durante os procedimentos laboratoriais desenvolvidos nesse projeto.

Aos amigos do MPEG pela ajuda e amizade: Romina Batista, Gregory Thom, Tibério Burlamaqui, Carla Sardeli, Leonardo Moura, Leonardo Miranda, Lincoln Carneiro, Carlos Eduardo Portes, Denise Martins, Shirliane Araujo, Luciano dos Anjos, Sidnei Dantas, Maya Faccio, Elinete Rodriguez, Antonita Santana, Mateus Ferreira, Bruno Almeida, Rodrigo Pena, José Luiz.

Às antigas moradoras da casa, porém atuais amigas: Osvanda, Fran, Any, Eline, Mel, e também aos agregados: Marco, Alice.

À minha esposa, Ana Kelly, por todo amor, atenção, muuuuita calma e apoio, e por dividir todos os momentos durante esses anos de convivência.

Aos meus pais e irmãos, Eduardo José, Maria das Graças, Giovanna Karla, Aileon Neto. Por toda ajuda, amor, ensinamentos e incentivo. Se não fosse por vocês eu não teria conseguido.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	6
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	14
ARTIGO	20
Abstract	20
Resumo	21
1. Introdução	23
2. Material e Métodos	25
2.1. Amostras de tecidos e espécimes utilizados	25
2.2. Procedimentos laboratoriais	25
2.2.1. Análises filogenéticas e datação molecular	26
2.3. Caracteres morfológicos	28
3. Resultados	29
3.1. Caracteres moleculares	29
3.1.1. Filogenia	30
3.1.2. Datação molecular	32
3.2. Caracteres morfológicos	32
3.2.1. Caracteres de variação contínua	32
3.2.2. Caracteres de variação discreta	33
4. Discussão	35
4.1. Taxonomia	35
4.2. Biogeografia	38
Agradecimentos	41
Referências Bibliográficas	42
Tabelas	49
Legendas das figuras	55
Figuras	56
ANEXO 1	60
ANEXO 2	62
ANEXO 3	66

1. INTRODUÇÃO GERAL

1.1 Diversificação das aves na Amazônia

A Amazônia é a maior e mais diversa floresta tropical do mundo, abrangendo mais de seis milhões de km² em nove países da América do Sul (Silva *et al.* 2005), sendo um bioma heterogêneo tanto na composição florística (Veloso, 1962; Pires, 1973; Silva *et al.* 2005) quanto faunística (Silva *et al.* 2005). Suas florestas e rios são importantes na regulação do clima, regime hidrológico regional e nacional, e do estoque de carbono terrestre (Fearnside, 1999).

Nas últimas décadas, a grande diversidade da Amazônia vem sendo alvo de um grande número de estudos e debates sobre os eventos que a originaram. As três principais hipóteses de diversificação para o bioma Amazônia propostas até hoje e baseadas no princípio da especiação geográfica ou alopátrica são: incursões marinhas no Mioceno, hipótese dos refúgios e rios como barreira (Antonelli *et al.* 2010).

De acordo com a hipótese de incursões marinhas, flutuações no nível do mar que ocorreram durante o Mioceno tardio ocasionaram tais incursões em certas partes da Amazônia, promovendo inundações nas planícies e formando três grandes blocos de terra (“ilhas”): o escudo das guianas, o escudo brasileiro e o sopé dos Andes (Räsänen *et al.* 1995; Webb, 1995; Bates, 2001). Essas grandes áreas mantiveram populações isoladas que se divergiram formando outras espécies (Bates, 2001). As regiões onde essas grandes “ilhas” se formaram, atualmente contém um grande número de endemismo de aves, o que pode ser resultado de um alto nível de especiação nestas áreas (Nores, 1999).

Segundo a hipótese de refúgios, flutuações climático-vegetacionais ocorridas durante o Pleistoceno e períodos anteriores, causadas pelos ciclos de Milankovitch com

periodicidades de 20.000 a 100.000 anos, levaram à fragmentações cíclicas de habitats florestais e a formações de refúgios ecológicos (manchas de floresta separadas por savana; (Haffer, 1992, 1997, 2001). De acordo com Haffer (1992), populações vegetais e animais, ecologicamente especializadas em ambientes florestais, ficaram isoladas em refúgios florestais durante fases climáticas mais secas, tornando-se alternativamente 1) extintas; 2) sobrevivendo esses períodos de isolamento sem muita alteração; ou 3) diferenciando-se em subespécies ou espécies antes de entrarem em contato secundário.

Já para a hipótese de rios como barreira, durante a formação da bacia hidrográfica amazônica, os rios foram surgindo e separando populações, que foram se divergindo e formando subespécies e espécies (Cracraft, 1985; Haffer, 1997). Esta hipótese foi descrita originalmente por Wallace (1852), que, em sua expedição à Amazônia, observou que o rio Amazonas e alguns de seus afluentes mais importantes separavam populações bastante diferenciadas de várias espécies de vertebrados. Com isso, dividiu a Amazônia em quatro distritos zoogeográficos (o equivalente atual à áreas de endemismo): Guiana, Equador, Peru e Brasil, limitados pelos rios Amazonas, Solimões, Negro e Madeira.

As áreas de endemismo na Amazônia são regiões delimitadas pelos grandes interflúvios em que cada uma possui seu próprio conjunto de linhagens com trajetórias evolutivas diferenciadas (Cracraft, 1985; Silva *et al.* 2005). Nesse sentido, áreas de endemismo são consideradas as menores unidades para análise biogeográfica e são a base para a formulação de hipóteses sobre os processos históricos responsáveis pela formação da sua biota regional (Cracraft, 1985). Atualmente, as seguintes oito áreas de endemismo são reconhecidas para a Amazônia principalmente com base em estudos de aves e primatas: Guiana, Imeri, Napo, Inambari, Rondônia, Tapajós, Xingu e Belém (*sensu* Silva *et al.* 2005) (Figura 1).

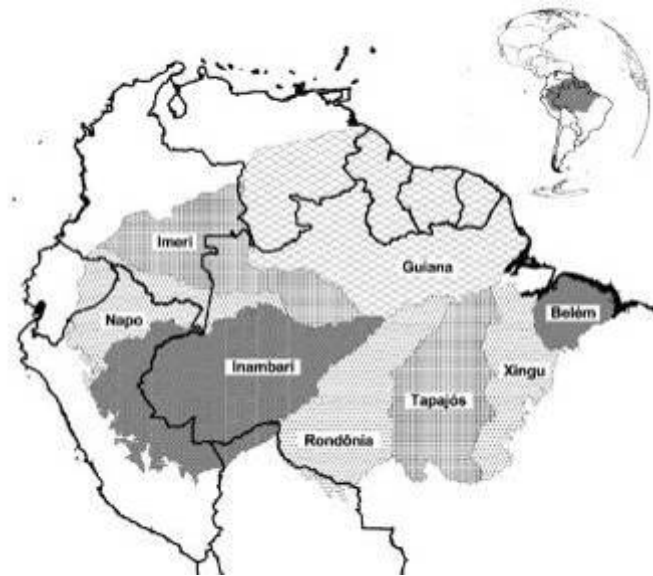


Figura 1. Localização das oito áreas de endemismo reconhecidas para vertebrados terrestres na Amazônia. Extraído de Silva *et al.* (2005).

1.2 Filogeografia

Filogeografia foi um termo criado por Avise (1987) para uma disciplina relativamente nova, naquela época, focada no estudo dos princípios e processos que governam as distribuições geográficas de linhagens genealógicas, especialmente dentro e entre espécies proximamente relacionadas (Avise, 2000). A abordagem filogeográfica envolve o estudo da genealogia e filogenia dos organismos, relacionando-a com processos biogeográficos, a fim de examinar o grau de congruência entre a distribuição de clados e barreiras ecogeográficas (Cheverson *et al.* 2005). Essa abordagem também pode ser utilizada no estudo comparativo de várias linhagens simpátricas, revelando importantes processos evolutivos que de alguma forma afetaram toda uma determinada biota (Avise, 2000).

Os dados moleculares, quando adequadamente integrados com biogeografia e estudos da variação fenotípica, têm grande potencial para testar hipóteses sobre os fatores que geram a diversidade de espécies em biomas florestais, e como estes mudaram através do tempo (Moritz *et al.* 2000). Nos últimos anos, estudos deste tipo tiveram importantes

desdobramentos, tanto para a taxonomia, quanto para o conhecimento da história evolutiva de várias linhagens de aves Neotropicais: Aleixo (2002, 2006), Eberhard e Bermingham (2004), McGuire *et al.* (2007), Ribas e Miyaki (2007), Ribas *et al.* (2007), Ribas *et al.* (2012).

1.3 Taxonomia

A família Trochilidae é a segunda maior da classe das aves com 328 espécies descritas, distribuídas principalmente na região Neotropical, alimentando-se principalmente de néctar e pequenos artrópodes (Stiles, 1995). Este tipo específico de forrageio demanda uma estrutura corporal especializada, com adaptações muito particulares quanto a sua morfologia, fisiologia e comportamento (Brown e Bowers, 1985). A família dos beija-flores é composta por duas subfamílias: Phaethornithinae e Trochilinae. Phaethornithinae difere de Trochilinae basicamente pelo tendão humeral e a predominância da coloração marrom e cinza, possuindo bico longo e formando arenas de apresentação (“leks”) para atrair fêmeas, além de não serem territoriais e ocorrerem predominantemente no sub-bosque das florestas Neotropicais (del Hoyo *et al.* 1999).

O gênero *Phaethornis* foi descrito por Swainson em 1827, para agrupar as espécies que apresentam coloração amarronzada, bico levemente curvado para baixo ou reto, mandíbula laranja, vermelha ou amarela e a 1ª retriz mais longa que as demais (Elliot, 1878). Atualmente, o gênero é considerado monofilético com 25 espécies descritas (Hinkelmann e Schuchmann, 1997; del Hoyo, 1999; McGuire, 2007), dentre estas, *Phaethornis bourcieri*.

Phaethornis bourcieri foi descrita originalmente por Lesson em 1832, como *Trochilus bourcieri*, tendo o bico levemente curvado e simplesmente “Brésil” como localidade tipo. Em 1852, Gould transferiu *T. bourcieri* para o gênero *Phaethornis*.

Pelzeln (1868) descreveu *Ametrornis abnormis*, diferenciando esta de *P. bourcieri* por conter o bico reto e não levemente curvado. Salvin e Elliot (1873) propuseram a sinonímia de *A. abnormis* e *P. bourcieri*, pois descobriram que estas não possuíam diferenças morfológicas, o que foi confirmado posteriormente também por Salvin (1892) e Hartert (1900).

Boucard (1891) descreveu *Phaethornis whitelyi* com distribuição no estado de Roraima e Guiana, diferenciando-se de *P. bourcieri* apenas pela coloração mais clara. Porém, posteriormente, Boucard (1895) considerou *P. whitelyi* uma mera variedade de *P. bourcieri*, sinonimizando-a com o táxon anterior.

Em seu estudo sobre as aves do baixo Amazonas, Griscom e Greenway (1941) ignoraram a sinonimização de Boucard (1895) e reconheceram duas subespécies em *P. bourcieri*: *P. b. bourcieri* (de coloração acinzentada e ocorrendo no Rio Tapajós, Peru, Equador, Colômbia e possivelmente alto Rio Negro) e *P. b. whitelyi*, com coloração marrom-pálida e com distribuição na Guiana, Suriname e sul da Venezuela.

Hinkelmann (1989), em uma revisão taxonômica com base em caracteres morfológicos (plumagem e morfometria), relatou que a separação das duas subespécies *P. b. bourcieri* e *P. b. whitelyi*, apenas por coloração, não é possível, confirmando a sinonimização destes táxons proposta por Boucard (1895). Hinkelmann (1989) ainda estudou a variação morfométrica e de plumagem em sete populações de *P. b. bourcieri*, descrevendo uma nova subespécie: *Phaethornis bourcieri major*, da região do baixo Rio Tapajós (localidade tipo Caxiricatuba).

Atualmente, duas subespécies pertencentes a populações alopátricas ainda são consideradas válidas em *P. bourcieri*, tendo o Rio Amazonas como barreira geográfica separando-as: *P. b. bourcieri*, que ocorre nas áreas de endemismo Guiana, Imeri, Napo e Inambari (*sensu*, Silva *et al.* 2005) e *P. b. major*, restrita à área de endemismo Tapajós (Figura 2).

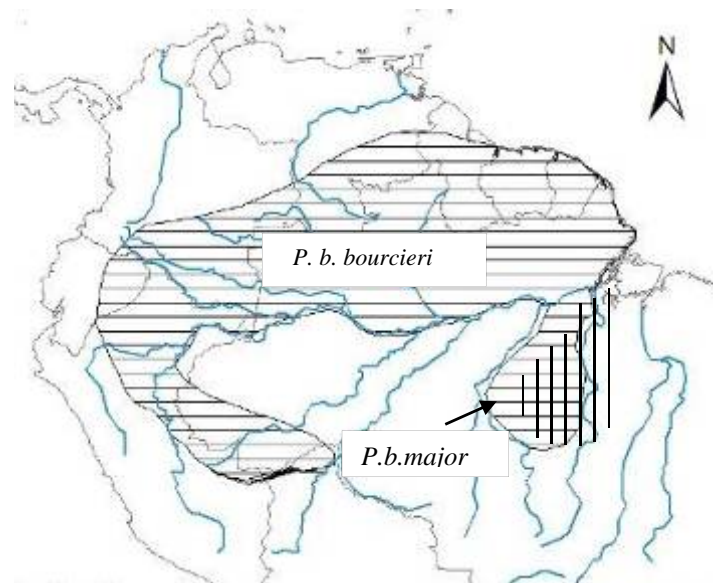


Figura 2. Mapa de distribuição e taxonomia de *Phaethornis bourcierii* conforme reconhecido atualmente. Baseado nas distribuições disponíveis no site NatureServe (<http://www.natureserve.org/infonatura>) e em espécimes coletados e depositados na Coleção Ornitológica Fernando C. Novaes do Museu Paraense Emílio Goeldi.

1.4 Filogenia

Hinkelmann e Schuchmann (1997) produziram a primeira estimativa filogenética para alguns táxons da sub-família Phaethornithinae baseada em 96 caracteres morfológicos externos, chegando a conclusão que a posição de *Phaethornis bourcierii* é incerta. *Phaethornis syrmatorphorus* apresentou-se como o táxon irmão de *P. philippii* e *P. koepckeeae*. Portanto, de acordo com esses autores, o caráter compartilhado entre as duas últimas espécies e *P. bourcierii*, o bico reto, não curvado, constitui na verdade uma homoplasia (caráter que evoluiu de forma independente).

Posteriormente, McGuire *et al.* (2007), reconstruíram uma filogenia com base em caracteres moleculares para 151 táxons de beija-flores, onde *Phaethornis bourcierii* mostrou-se como táxon irmão de *P. hispidus*, com estas duas espécies formando um grupo

monofilético com *P. augusti*, *P. koepckeae* e *P. philippii*, resultado distinto daquele encontrado por Hinkelmann e Schuchmann (1997; Figura 3).

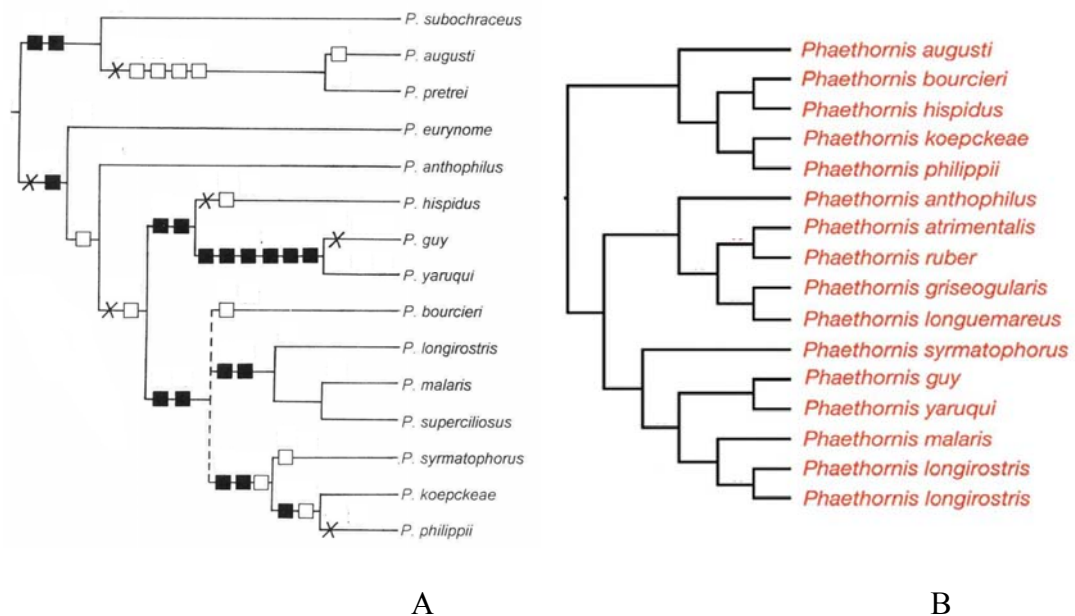


Figura 3. Relações filogenéticas de *Phaethornis bourcieri* com base em duas filogenias distintas: A - Hinkelmann e Schuchmann (1997), quadrados pretos representam sinapomorfias; quadrados brancos homoplasias; X representa perda secundária de um caráter. B - McGuire *et al.* (2007). Na filogenia B todos os nós são estatisticamente bem apoiados com probabilidade posterior ≥ 0.95 .

A hipótese filogenética mais resolvida e apoiada até o momento (McGuire *et al.* 2007), aponta para a monofilia de *Phaethornis bourcieri* e *P. hispidus*, porém problemas de identificação de espécimes testemunho (V. Piacentini obs. pess.), onde o espécime identificado como *P. hispidus* é na verdade um indivíduo de *P. bourcieri*, invalida algumas conclusões sobre o posicionamento filogenético de *P. bourcieri* na referida filogenia.

Atualmente, não há uma hipótese filogenética que trate do nível subespecífico no gênero *Phaethornis* e que inclua *P. bourcieri bourcieri* e *P. bourcieri major*, bem como que determine claramente qual espécie do gênero *Phaethornis* é realmente mais próxima destes táxons, nem se estes são monofiléticos. Apesar de serem aceitos hoje, os táxons reunidos

como subespécies em *Phaethornis bourcieri* têm sua validade, limites interespecíficos e história evolutiva ainda não completamente elucidados, havendo necessidade de uma nova revisão utilizando-se, além da taxonomia tradicional, novos métodos de análises comparativas, como a biologia molecular.

2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aleixo, A. (2002) Molecular systematics and the role of “varzea” – “terra-firme” ecotone in the diversification of *Xiphorhynchus* woodcreepers (Aves: Dendrocolaptidae). *Auk*, 119: 621 – 640.
- Aleixo, A. (2006) Historical diversification of floodplain forest specialist species in the Amazon: a case study with two species of the avian genus *Xiphorhynchus* (Aves: Dendrocolaptidae). *Biological Journal of the Linnean Society*, 89: 383–395.
- Antonelli, A. Quijada-Mascareñas A. Crawford, A. J. Bates, J. M. Velazco, P. M. and Wüster, W. (2010) Molecular studies and phylogeography of Amazonian tetrapods and their relation to geological and climatic models, p. 386-404. Em: Hoorn, C., Wesselingh, F.P. (eds.) *Amazonia: landscape and species evolution A look into the past*. Wiley-Blackwell.
- Avice, J. C. (2000) *Phylogeography. The History and Formation of Species*, Harvard University Press, Cambridge, MA.
- Bates, J. M. (2001) Avian diversification in Amazonia: evidence for historical complexity and a vicariance model for a basic pattern of diversification, p. 119-137. Em: Viera, I., D’incão, M. A. Silva, J. M. C. Oren, D. (eds.). *Diversidade Biológica e Cultural da Amazônia*. Belém: Museu Paraense Emilio Goeldi.

- Boucard, A. (1891) Notes on Rare species of Hummingbirds and description of several supposed new species in Boucard's Museum. *The Humming birds*, 1: 17-53.
- Boucard, A. (1895) Genera of humming birds. *The Humming birds*, 5: 1-402.
- Brown, J. H. Bowers, M. A. (1985) Community organization in hummingbirds: relationships between morphology and ecology. *Auk*, 102: 251-269.
- Cheviron, Z. A. Hackett, S. J. Capparella A. P. (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.
- Cracraft, J. (1985) Historical biogeography and patterns of differentiation with the South American avifauna: Areas of endemism. *Ornithological Monographs*, 36: 49-84.
- del Hoyo, J. Elliott, A. e Christie, D. (1999) (eds.). Handbook of the Birds of the World. v. 5. Barcelona: Lynx Edicions.
- Eberhard, J. R. Bermingham, E. (2004) Phylogeny and biogeography of the *Amazona ochrocephala* (Aves: Psittacidae) complex. *Auk*, 121: 318-332.
- Elliot, D. G. (1878) A classification and synopsis the Trochilidae. *Smithsonian Contributions to Knowledge*, 317: 1-294.

- Fearnside, P. M. (1999) Biodiversity as an environmental service in Brazil's Amazonian forests: risks, value and conservation. *Environmental Conservation*, 26: 305-321.
- Gould, J. (1852) A Monograph of the Trochilidae or family of Hummingbirds. I, p. 22, 23, 25.
- Griscom, L. Greenway, J. C. Jr. (1941) Birds of lower Amazonian. *Bulletin of the Museum of Comparative Zoology*, 88 (3): 85-340.
- Haffer, J. (1992) Ciclos de tempo e indicadores de tempo na história da Amazônia. *Estudos Avançados*, 6 (5).
- Haffer, J. (1997) Alternative models of vertebrate speciation in Amazonian: an overview. *Biodiversity and Conservation*, 6: 451-477.
- Haffer, J. (2001) Hypotheses to explain the origin of species in Amazonia. Em: Viera, I., D'incão, M. A., Silva, J. M. C., Oren, D. (eds.). *Diversidade Biológica e Cultural da Amazônia*. Belém: Museu Paraense Emilio Goeldi.
- Hartert, E. (1900) Trochilidae. *Das Tierreich*, 9: 1-254.
- Hinkelmann, C. (1989) Notes on taxonomy and geographic variation of *Phaethornis bourcieri* (Aves: Trochilidae) with the description of a new subspecies. *Bonner Zoologische Beiträge*, 40(2): 99-107.

- Hinkelmann, C. Schuchmann, K. L. (1997) Phylogeny of the Hermit Hummingbirds (Trochilidae: Phaethornithinae). *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, 32: 142-163.
- Lesson, R. P. (1832) *Les Trochilidées ou Les Colibris et les oiseaux-mouches, suivis d'un index générale dans lequel sont decrits et classes*. Paris: Arthus Bertrand.
- McGuire, J. A. Witt, C. C. Altshuler, D. L. Rensen, J. V. Jr. (2007) Phylogenetic Systematics and Biogeography of Hummingbirds: Bayesian and Maximum Likelihood Analyses of Partitioned Data and Selection of an Appropriate Partitioning Strategy. *Systematic Biology*, 56(5):837-856.
- Moritz, C. Patton, J. L. Schneider, C. J. Smith, T. B. (2000) Diversification of rainforest faunas: an integrated molecular approach. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 31: 533-563.
- Nores, M. (1999) An alternative hypothesis for the origin of Amazonian bird diversity. *Journal of Biogeography*, 26: 475-485.
- Pelzeln, A. v. (1868) *Zur Ornithologie Brasiliens. Resultate von Johann Natterers Reisen in den Jahren 1817 bis 1835*. Wien: A. Pichler's Witwe & Sohn.
- Pires, J. M. (1973) Tipos de vegetação da Amazônia. *Puplicações avulsas*. Belém: Museu Paraense Emílio Goeldi.

- Räsänen, M. E. Linna, A. M. Santos, J. C. R. Negri, F. R. (1995) Late Miocene tidal deposits in the Amazonian foreland basin. *Science*, 269: 386–390.
- Ribas, C. C. Miyaki, C. Y. (2007) Análise comparativa de padrões de diversificação em quatro gêneros de psitacídeos neotropicais. *Revista Brasileira de Ornitologia*, 15 (2): 245-252
- Ribas, C. C. Tavares, E. S. Yoshihara, C. Miyaki, C. Y. (2007) Phylogeny and biogeography of Yellow-headed and Blue-fronted Parrots (*Amazona ochrocephala* and *Amazona aestiva*) with special reference to the South American taxa. *Ibis*, 149: 564–574.
- Ribas, C. C. Aleixo, A. Nogueira, A. R. Miyaki, C. Y. 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.
- Salvin, O. Elliot, D. G. (1873) Notes on the Trochilidse. The Genus *Phaethornis*. *Ibis*, 3: 1-14.
- Salvin, O. (1892) *Catalogue of the Birds in the British Museum*. v. 16. London: British Museum (Natural History).
- Silva J. M. C. Rylands, A. B. Fonseca, G. A. B. (2005) O destino das áreas de endemismo da Amazônia. *Megadiversidade*, 1: 124-131.
- Stiles, F. G. (1995) Behavioral, ecological and morphological correlates of foraging for arthropods by the hummingbirds of a tropical wet forest. *The Condor*, 97: 853-878.

Veloso, H. P. (1962) Os grandes climaxes do Brasil. II – considerações gerais sobre a vegetação da região amazônica. *Memorial Instituto Oswaldo Cruz*, 3 (60).

Wallace, A. R.. (1852) On the monkeys of the Amazon. *Proceedings of the Zoological Society of London*, 20: 107-110.

Webb, S. D. (1995) Biological implications of the middle Miocene Amazon seaway. *Science*, 269: 361–362.

Filogeografia de *Phaethornis bourcieri* (Aves: Trochilidae): implicações taxonômicas e biogeográficas

Lucas Eduardo Araújo-Silva¹; Vítor de Queiroz Piacentini²; Luís Fábio Silveira²; Alexandre Aleixo^{3,4}

¹ Curso de Pós-Graduação em Zoologia, Universidade Federal do Pará / Museu Paraense Emílio Goeldi, Caixa Postal 399, CEP 66040-170, Belém, Pará, Brasil.

² Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo, Seção Ornitologia, CEP 04263-000, São Paulo, Brasil.

³ Coordenação de Zoologia, Museu Paraense Emílio Goeldi, Caixa Postal 399, CEP 66040-170, Belém, Pará, Brasil.

⁴ Autor para correspondência. E-mail: aleixo@museu-goeldi.br

Abstract. Phylogeography of the Straight-billed Hermit *Phaethornis bourcieri* (Aves: Trochilidae): biogeographic and taxonomic implications. The Straight-billed Hermit *Phaethornis bourcieri* inhabits the understory of upland *terra-firme* forest, being distributed through most of the Amazon. Currently, two allopatric taxa considered valid and, regarded as subspecies, are included in *P. bourcieri*: *P. b. bourcieri* and *P. b. major*. Nonetheless, these taxa have their validity, inter-specific limits, and evolutionary history not fully elucidated. Here, we used morphological and molecular characters to review the taxonomy and propose a phylogenetic hypothesis for populations and taxa grouped under *Phaethornis bourcieri*. Our results showed that *P. bourcieri* is part of the straight-billed Hermit clade, along with *P.*

philippii and *P. koepckeae*, and that the subspecies *major* is closer to the latter two species rather than populations grouped under nominate *bourcieri*. Our phylogenetic hypotheses recovered three main reciprocally monophyletic clades under nominate *bourcieri* separated by the Negro and Solimões rivers. These clades (along with the distantly related *major*) are best treated as valid phylogenetic and biological species, for which only three valid names are applicable. The diversification of the straight-billed Hermit clade (*P. bourcieri*, *P. philippii*, and *P. koepckeae*) is centered in the Amazon and appears to be tightly linked with the formation of the modern Amazon drainage during the Plio-Pleistocene.

Key Words: Amazonia, cryptic species, diversification, Plio-pleistocene.

Resumo. *Phaethornis bourcieri* é uma espécie de beija-flor que habita o sub-bosque de florestas de terra-firme, distribuindo-se por quase toda Amazônia. Atualmente, duas subespécies alopátricas entre si são consideradas válidas, em *P. bourcieri*: *P. b. bourcieri*, *P. b. major*. Apesar de serem aceitos hoje, os táxons têm sua validade, limites interespecíficos e história evolutiva ainda não completamente elucidados. Com isso, foram utilizados caracteres morfológicos e moleculares para rever a taxonomia e propor uma hipótese filogenética para as populações e táxons agrupados em *Phaethornis bourcieri*. Nossos resultados mostraram que *P. bourcieri* faz parte do clado de *Phaethornis* de bico reto juntamente com *P. philippii* e *P. koepckeae* e que a subespécie *major* é mais próxima das últimas espécies em vez de populações agrupadas como *bourcieri*. Nossas hipóteses filogenéticas recuperaram três principais clados reciprocamente monofiléticos de *P. bourcieri* da margem norte do rio Amazonas separados pelos rios Negro e Solimões. Estes clados (juntamente com *major*) são melhor tratados como espécies biológicas e filogenéticas, para as quais apenas três nomes válidos são aplicáveis. A diversificação do clado de *Phaethornis* de bico reto (*P. bourcieri*, *P.*

philippii, e *P. koepckeae*) está centrado na Amazônia e parece estar intimamente ligado com a formação da drenagem amazônica moderna durante o Plio-Pleistoceno.

Palavras chave: Amazônia, diversificação, espécies crípticas, Plio-Pleistoceno.

1. Introdução

A Amazônia é a maior e mais diversa floresta tropical do mundo, abrangendo mais de seis milhões de km² em nove países da América do Sul (Silva *et al.* 2005), sendo um bioma heterogêneo tanto na composição florística (Veloso, 1962; Pires, 1973; Silva *et al.* 2005) quanto faunística (Silva *et al.* 2005). Suas florestas e rios são importantes na regulação do clima, regime hidrológico regional e nacional, e do estoque de carbono terrestre (Fearnside, 1999). Nas últimas décadas, a grande biodiversidade da Amazônia vem sendo alvo de um grande número de estudos e debates sobre os eventos que a originaram (Haffer, 1992, 1997, 2001; Räsänen *et al.* 1995; Webb, 1995; Bates, 2001; Antonelli *et al.* 2010; Ribas *et al.* 2012). Os dados moleculares, quando adequadamente integrados com biogeografia e estudos da variação fenotípica, têm grande potencial para testar hipóteses sobre os fatores que geram a diversidade de espécies em biomas florestais, e como estes mudaram através do tempo (Moritz *et al.* 2000). Nos últimos anos, estudos deste tipo tiveram importantes desdobramentos, tanto para a taxonomia, quanto para o conhecimento da história evolutiva de várias linhagens de aves Neotropicais: Aleixo (2002, 2006), Eberhard e Bermingham (2004), McGuire *et al.* (2007), Ribas e Miyaki (2007), Ribas *et al.* (2007), Aleixo *et al.* (2009), Ribas *et al.* (2012).

Neste contexto, *Phaethornis bourcierii* (Aves: Trochilidae) é uma espécie de beija-flor que habita o sub-bosque de florestas de terra-firme, distribuindo-se por quase toda Amazônia (del Hoyo, 1999). Atualmente, duas subespécies pertencentes a populações alopátricas são consideradas válidas em *P. bourcierii*, tendo o Rio Amazonas como barreira geográfica separando-as: *P. b. bourcierii*, que ocorre nas áreas de endemismo Guiana, Imeri, Napo e Inambari (*sensu*, Silva *et al.* 2005) e *P. b. major*, restrita à área de endemismo Tapajós.

Hinkelmann e Schuchmann (1997) produziram a primeira estimativa filogenética para alguns táxons da sub-família Phaethornithinae baseada em 96 caracteres morfológicos externos, chegando a conclusão que a posição de *Phaethornis bourcieri* é incerta. *Phaethornis syrmatophorus* apresentou-se como o táxon irmão de *P. philippii* e *P. koepckea*. Portanto, de acordo com esses autores, o caráter compartilhado entre as duas últimas espécies e *P. bourcieri*, o bico reto, não curvado, constitui na verdade uma homoplasia (caráter que evoluiu de forma independente).

Posteriormente, McGuire *et al.* (2007), reconstruíram uma filogenia com base em caracteres moleculares para 151 táxons de beija-flores, onde *Phaethornis bourcieri* mostrou-se como táxon irmão de *P. hispidus*, com estas duas espécies formando um grupo monofilético com *P. augusti*, *P. koepckea* e *P. philippii*, resultado distinto daquele encontrado por Hinkelmann e Schuchmann (1997).

A hipótese filogenética mais resolvida e apoiada até o momento (McGuire *et al.* 2007), aponta para a monofilia de *Phaethornis bourcieri* e *P. hispidus*, porém problemas de identificação de espécimes testemunho (V. Piacentini obs. pess.), onde o espécime identificado como *P. hispidus* é na verdade um indivíduo de *P. bourcieri*, invalida algumas conclusões sobre o posicionamento filogenético de *P. bourcieri* na referida filogenia, já que fica a dúvida de onde a espécie *P. hispidus* estaria de fato inserida.

Atualmente, não há uma hipótese filogenética que trate do nível subespecífico no gênero *Phaethornis* e que inclua *P. bourcieri bourcieri* e *P. bourcieri major*, bem como que determine claramente qual espécie do gênero *Phaethornis* é realmente mais próxima destes táxons, nem se estes são monofiléticos. Apesar de serem aceitos hoje, os táxons reunidos como subespécies em *Phaethornis bourcieri* têm sua validade, limites interespecíficos e história evolutiva ainda não completamente elucidados, havendo necessidade de uma nova

revisão utilizando-se, além da taxonomia tradicional, novos métodos de análises comparativas, como a biologia molecular.

Desse modo, o presente trabalho teve como objetivos revisar a taxonomia e propor uma hipótese filogenética para os táxons agrupados em *Phaethornis bourcieri*. A hipótese filogenética foi usada para testar a monofilia das populações de *Phaethornis bourcieri* e reconstruir o contexto espaço-temporal da sua diversificação.

2. Material e Métodos

2.1 Amostras de tecidos e espécimes utilizados

O trabalho foi realizado utilizando amostras de tecido muscular (peito) coletadas em campo e depositadas na Coleção Ornitológica Fernando C. Novaes, do Museu Paraense Emílio Goeldi (MPEG), sendo 16 amostras de *P. bourcieri bourcieri* e 13 de *P. bourcieri major* (Figura 1A; Anexo 1). Para a análise morfológica, foram examinados 160 espécimes, para toda a distribuição dos táxons, depositados em coleções ornitológicas brasileiras e estrangeiras (Tabela 1), sendo 147 peles de *P. b. bourcieri* e 13 peles de *P. b. major* (Figura 1B; Anexo 2).

2.2 Procedimentos laboratoriais

Os tecidos utilizados foram seqüenciados para toda a extensão dos genes mitocondriais citocromo b (citb) e NADH desidrogenase 2 (ND2) e para o intron 5 do gene nuclear β -fibrinogenio (BF5; Tabela 2). O DNA total foi extraído utilizando-se procedimentos padrões com a técnica de fenol-clorofórmio (Sambrook *et al.* 1989).

As regiões gênicas foram amplificadas via PCR (“Polymerase Chain Reaction”). O volume total das reações de PCR foi de 25 µl, contendo: tampão 10x (2,5µl), 20ng (1µl) de DNA genômico, 10 mM (1µl) de dNTPs, 50 mM (1,5µl) de MgCl₂, 1U (0,2µl) de *Taq* DNA polimerase e 200 ng/µl (0,5µl) de cada um dos iniciadores (Tabela 2).

O perfil de amplificação para os diferentes genes foi: um passo inicial de 5 minutos a 95°C para a homogeneização da temperatura do bloco; seguido de 35 ciclos com 1 minuto a 95°C; 1 minuto a 54°C (Citb), 55°C e 60° C (ND2) e 58°C (BF5) (temperatura de associação dos iniciadores); e 1 minuto a 72°C; um passo final de 5 minutos, a 72°C, para polimerização de eventuais moléculas, das quais a polimerase tenha se dissociado antes do final da síntese total do fragmento. As amostras amplificadas foram conferidas em eletroforese por meio de gel de agarose 1% e purificadas seguindo o protocolo de Polietileno Glicol (PEG-8000).

Os produtos das amplificações foram sequenciados direta e automaticamente utilizando-se o kit “Big Dye Terminator Cycle Sequencing Standart Version 3.1” no seqüenciador ABI 3130 da Applied Biosystems de acordo com as especificações do fabricante.

2.2.1 Análises filogenéticas e datação molecular

As seqüências nucleotídicas foram editadas e alinhadas manualmente com a utilização do aplicativo BioEdit 7.0.5 (Hall, 1999). Para reconstrução de haplótipos do gene nuclear (BF5) foi utilizado o programa PHASE 2.1, aceitando-se resultados de probabilidade >70% (Stephens *et al.* 2001).

Foi feita uma plotagem gráfica das transições e transversões em função das distâncias genéticas para cada marcador com auxílio do programa Data Analysis and Molecular Biology and Evolution – DAMBE (Xia e Xie, 2001), com o objetivo de avaliar uma possível saturação no número de mutações entre os táxons comparados.

As filogenias foram estimadas pelos critérios de Máxima Verossimilhança (MV), com os suportes de ramos estimados por 1000 pseudo-réplicas de *bootstrap* e Inferência Bayesiana (IB), utilizando-se os programas RAxML-7.0.3 (Stamatakis, 2006) e MrBayes v3.1.2 (Huelsenbeck e Ronquist, 2001) respectivamente. Foram utilizadas seqüências de várias espécies do gênero *Phaethornis* (Anexo 1; sendo que de algumas espécies foi possível utilizar apenas sequências do gene ND2 retiradas do GenBank; Anexo 3) em uma análise exploratória com o objetivo de se conhecer a espécie mais próxima de *P. bourcieri* para ser utilizada como grupo externo.

Para determinar o modelo que melhor explica a evolução dos genes seqüenciados, foi utilizado o programa jModeltest 0.1.1. A IB foi realizada seguindo o modelo escolhido para cada gene em separado, com o conjunto de dados concatenado e particionado por gene. A análise ocorreu seguindo a seguinte estratégia de busca: foram feitas duas corridas independentes de 5.000.000 gerações cada (sendo três cadeia quentes e uma fria por corrida), com a amostragem de uma árvore a cada 500 gerações. O software TRACER 1.4 (Rambaut e Drummond 2007) foi utilizado para determinar quando as análises alcançam a estabilidade. Foram descartadas árvores (500.000) obtidas antes da corrente de Markov atingir valores de verossimilhança estáveis e convergentes. Para determinar a distância genética dentro e entre populações (conforme delimitadas pelas hipóteses filogenéticas produzidas), foi calculada a distância-p não corrigida com o conjunto de dados concatenado no programa MEGA 4.1. Para estimar a idade de diversificação dos táxons, foi realizada uma análise de relógio molecular, a qual foi conduzida utilizando-se como calibrante a taxa de 2,1% de substituições nucleotídicas para cada milhão de anos com base no gene *citb* (Weir e Schluter 2008) no programa BEAST v 1.6. Foi selecionada a opção do relógio relaxado “*Relaxed clock: uncorrelated Lognormal*” (com 10 000 000 de gerações), a qual assume taxas independentes de evolução molecular nos diferentes ramos (Drummond *et al.* 2007).

Para determinar o tempo de coalescência das diferentes populações e posterior comparação entre as árvores de genes e espécies, foi realizada uma análise de árvore de espécies “*SpeciesTree*” no programa BEAST v 1.6, utilizando-se a opção *BEAST. Nessa análise foram utilizados todos os genes sequenciados, fixando-se a taxa de evolução do gene *citb* em 2,1% para cada milhão de anos (Weir e Schluter 2008) e estimando-se aquela para os outros genes (ND2 e BF5). Como *prior*, foi utilizada a opção “*Species Tree: Yule Process*”. Foi selecionada a opção do relógio relaxado “*Relaxed clock: uncorrelated Lognormal*” e realizada uma corrida de 200 000 000 de gerações.

2.3 Caracteres morfológicos

Para a análise de caracteres morfológicos, foram analisados caracteres de variação contínua (morfometria externa) e caracteres de variação discreta (plumagem). Foram mensurados três caracteres morfométricos (terminologia livremente traduzida a partir de Baldwin *et al.* 1931): comprimento de bico (da ponta à primeira pena supralateral da maxila), comprimento máximo da asa achatada e comprimento de cauda. Além dessas medidas, também foi tomado o comprimento da “projeção da cauda”, aqui definido como a distância entre as pontas da retriz 1 (central) e retriz 2 (subcentral). A medida de asa foi tomada com o auxílio de uma régua com anteparo em seu ponto zero, arredondando-se para o milímetro mais próximo; as demais medidas foram tomadas com paquímetro de precisão de 0,05 mm, mas arredondando-se para 0,5 mm mais próximo. Quando as medidas de asa e cauda diferiam entre os lados direito e esquerdo do espécime, tomou-se sempre aquela do lado esquerdo.

Para análise dos caracteres de variação contínua, primeiramente, todos os caracteres morfométricos foram log-transformados, sendo realizado um Teste – T de *Student* com o objetivo de detectar dimorfismo sexual nos táxons. Foi realizada uma Análise de Função

Discriminante (AFD) para testar a hipótese de segregação entre as populações distintas conforme recuperadas pela análise molecular. Os grupos foram definidos com base nas diferentes populações monofiléticas reveladas pela análise molecular com o objetivo de se averiguar se os caracteres morfométricos são congruentes com os moleculares. Todas as análises dos caracteres de variação contínua foram realizadas utilizando-se o programa SYSTAT 12 para Windows (Systat Software, San Jose, California, USA) aceitando o nível de significância $P \leq 0.05$.

A definição das cores, utilizadas essencialmente na descrição dos táxons válidos, foi feita seguindo a codificação do catálogo de Smithe (1975). Através da categorização dos caracteres discretos nos diferentes táxons estudados, foi avaliado se, pelo menos, um deles pode ser considerado uma apomorfia de um determinado grupo, ou seja, um caráter que diagnosticará este mesmo grupo dos demais dentro da espécie. A determinação destas apomorfias é a condição essencial para caracterização de espécies filogenéticas (Cracraft 1983; Aleixo, 2007). O conceito de espécie adotado foi o Conceito Filético Geral de Espécie - CFGE (de Queiroz 1998).

3. Resultados

3.1 Caracteres moleculares

Dos genes estudados, foram obtidos 2629 pares de base (pb) sendo, 1022 pb do gene *citb* (Frequência de bases: A=0.2881, C=0.3452, G=0.1172, T=0.2495); 1035 pb do ND2 (Frequência de bases: A=0.3303, C=0.3745, G=0.0722, T=0.2230) e 572 pb do gene *BF5* (Frequência de bases: A=0.3133, C=0.1658, G=0.1975, T=0.3234). Não foram observadas saturações dentro das populações de *P. bourcierii* para qualquer um dos genes sequenciados.

Dos marcadores utilizados, o que teve o maior número de sítios filogeneticamente informativos foi o gene ND2 (PI = 291), seguido do *citb* (PI = 173) e BF5 (PI = 33). Os melhores modelos evolutivos (BIC) encontrados para os diferentes genes sequenciados foram: HKY+I para o gene *citb*, TIM1+I+G para o ND2 e HKY+G para o gene BF5.

Os níveis de divergências não corrigidos (distância-p) dentro e entre populações naturais agrupadas em *P. bourcieri* foram calculados com base no agrupamento gerado pela hipótese filogenética. Estes variaram entre 1 e 6% entre as populações e 0,02 e 1% dentro de cada população em *P. bourcieri* (Tabela 3). A distância genética entre os espécimes atribuídos ao táxon *P. bourcieri major* (clado A) e aqueles dos demais clados de *P. bourcieri* (6%), foi igual ou superior àquela separando táxons proximamente relacionados e que sempre foram tratados como espécies biológicas distintas no gênero *Phaethornis*, como *P. philippii*, *Phaethornis koepckeae* e *P. bourcieri* (Tabela 3). No caso das populações atribuídas ao táxon *P. bourcieri bourcieri* (clados B, C e D), a divergência entre elas foi menor (3%) e comparável àquela entre populações de *P. philippii*, mas, bem superior àquela obtida entre populações dos respectivos clados (0,02 a 0,03) ou entre diferentes populações de *P. hispidus* (0,02; Tabela 3).

3.1.1 Filogenia

As hipóteses filogenéticas obtidas neste estudo mostram com um forte suporte estatístico que *Phaethornis bourcieri* é na verdade próxima de *P. koepckeae* e *P. philippii*, formando um grupo monofilético com estes táxons, ao invés de *P. hispidus*, conforme proposto anteriormente (McGuire *et al.* 2007; Figura 2). Devido ao fato deste estudo não ter amostrado todas as espécies do gênero *Phaethornis*, não foi possível determinar com segurança qual espécie ou grupo de espécies é mais próximo do clado *Phaethornis bourcieri*, *P. koepckeae* e

P. philippii (Figura 2). No entanto, como *Phaethornis hispidus* foi uma das poucas espécies para as quais conseguimos sequências para todos os genes, e seu posicionamento filogenético fora do clado *P. bourcieri*, *P. koepckeae* e *P. philippii* foi fortemente apoiado, utilizamos esta espécie como grupo externo nas análises seguintes.

Todas as árvores de genes obtidas (MV e IB) resgataram a mesma topologia com alto suporte estatístico, apresentando *Phaethornis bourcieri* como um grupo parafilético. A hipótese filogenética obtida mostra que *P. bourcieri* é composta por quatro clados bem apoiados (chamados aqui de A, B, C e D), formados por populações delimitadas por grandes rios amazônicos (Figura 3). O suporte obtido para a monofilia recíproca dos clados C e D foi considerado baixo para MV, porém significativo e quase significativo, respectivamente, para os clados C e D com base na IB; a árvore de espécies obtida também identificou com alto valor de probabilidade posterior a monofilia recíproca dos clados (Figura 4A).

O Clado A inclui a população que habita o interflúvio Tapajós-Xingú, pertencente ao táxon *Phaethornis bourcieri major*. As análises filogenéticas mostraram que o clado A é mais proximamente relacionado às espécies *P. koepckeae* e *P. philippii* do que com a forma nominal *Phaethornis boucieri bourcieri*. O clado B é formado por espécimes que habitam a calha norte do Rio Amazonas, da margem leste do Rio Negro até as Guianas (área de endemismo Guiana). O clado C é formado por espécimes que habitam a calha norte do Rio Amazonas, da margem oeste do Rio Negro até a margem esquerda do Rio Solimões, nas áreas de endemismo Imeri e Napo (*sensu* Silva *et al.* 2005). O clado D é formado por indivíduos encontrados entre os Rios Solimões e Madeira na área de endemismo Inambari (Figuras 2 e 3).

3.1.2 Datação molecular

A árvore de espécies obtida resgatou a mesma topologia gerada pelas árvores de genes estimadas por MV e IB, com alto suporte estatístico (probabilidade posterior) para todos os nós, confirmando a parafilia de *P. bourcieri* e a formação dos clados A, B, C e D (Figura 4). Os intervalos de confiança dos tempos de coalescência entre os clados formados na árvore de espécies foram semelhantes àqueles dos tempos de divergência obtidos com base na datação molecular Bayesiana (Figura 4B).

Com base nos cronogramas estimados, a divergência mais antiga ocorreu entre 6,25 e 3 milhões de anos atrás, separando as populações atribuídas a *P. bourcieri bourcieri* do clado contendo *P. bourcieri major*, *P. philippii* e *P. koepckeae*. A segunda divergência ocorreu entre 5,4 e 2,25 milhões de anos, separando *P. bourcieri major* e o clado formado por *P. philippii* e *P. koepckeae*. Apesar da estimativa de tempo ter sido feita sem a utilização de *P. koepckeae*, sabe-se pela hipótese filogenética que a divergência do ancestral de *koepckeae-philippii* com relação a *P. bourcieri major* foi anterior à separação entre *major* e *philippii*.

Entre 4,25 e 1,75 milhões de anos ocorreu a separação entre o clado B, habitante da área de endemismo Guiana, e o ancestral dos clados C e D de *P. bourcieri*. A população que habita a área de endemismo Inambari (Clado D) se separou do clado C (áreas de endemismo Napo e Imeri), mais recentemente, entre 1 e 0,25 milhões de anos atrás.

3.2 Caracteres morfológicos

3.2.1 Caracteres de variação contínua

Uma análise de teste-T revelou que, com exceção do clado A, todos os demais clados de *P. bourcieri* revelados pela análise molecular possuem dimorfismo sexual para os caracteres morfológicos de variação contínua mensurados (Tabela 4). No caso do clado B, os sexos

diferenciam-se pelo comprimento do bico ($P = 0.000$) e projeção da cauda ($P = 0.021$); no clado C, o dimorfismo sexual se manifesta no comprimento do bico ($P = 0.011$) e comprimento da cauda ($P = 0,004$), enquanto que no clado D os sexos se diferenciam pelo comprimento do bico ($P = 0,000$) e comprimento da asa ($P = 0,014$). Com exceção da medida da projeção da cauda no clado B (em que as fêmeas têm maiores) em todos os outros casos, os machos têm medidas maiores do que as fêmeas (Tabela 4).

Uma Análise de Função Discriminante realizada com os indivíduos separados por sexo mostrou que não há diferença morfométrica que distinga consistentemente entre os clados A-D de *P. bourcieri*, tanto para os indivíduos machos quanto fêmeas (Tabela 5 e 6). Essa análise revelou apenas uma tendência de separação entre o clado A e os demais de *P. bourcieri*, porém, com apenas 60% dos espécimes agrupados corretamente para as fêmeas (Wilks's Lambda = 0.377; $F = 4.334$; $P = 0.000$) e 67% para os machos (Wilks's Lambda = 0.508; $F = 5.337$; $P = 0.000$; Tabela 5 e 6).

3.2.2 Caracteres de variação discreta

Com base nas séries de espécimes analisados, não há como distinguir, por coloração, qualquer uma das populações de *P. bourcieri* do Peru, Equador, Colômbia, Venezuela, Guianas e norte do Brasil, correspondentes aos clados B, C e D recuperados pela filogenia molecular (Figura 2; ver também Hinkelmann 1989). De maneira geral, os espécimes destes clados são bastante amarronzados, com as margens das retrizes ocre-dourado. As coberteiras subcaudais são ocráceas, bastante amarronzadas, sendo um pouco mais claras nos indivíduos da Colômbia (espécimes depositados na ANSP). Nos espécimes do oeste da distribuição de *P. bourcieri* (Amazônia peruana e equatoriana, correspondentes aos clados C e D), a estria gular branca comumente atinge o peito (c. 1,5-2 cm), contrastando bem com as laterais do pescoço

marrom-acizentadas (mais para marrom no caso dos espécimes peruanos depositados em LSUMZ), sendo a estria mais evidente do que em espécimes da Guiana (clado B). No entanto, não faltam exemplos de sobreposição destes padrões de coloração: ao menos dois espécimes do Peru são tão marrons quanto os guianenses, incluindo entre esses dois o mais marrom de toda a série. Também os espécimes de toda a série da ANSP (clado D) parecem ser bastante marrons, não diferindo do espécime da Guiana (clado B) presente para comparação naquela mesma coleção. No MNHN, um espécime de Cayenne (clado B) tem tanto branco na garganta quanto o espécime equatoriano (clado D) da série lá presente. Além do tom geral da coloração, há também alguma variação na extensão da ponta preta na mandíbula: espécimes da Guiana, Suriname e Bolívar (clado B) no FMNH mostram a ponta preta bastante mais reduzida do que nos espécimes ocidentais (clados C e D), ainda que um espécime do Peru (FMNH 277696) também a apresente assim reduzida, com um segundo espécime da mesma localidade apresentando a ponta negra mais extensa, em conformidade com os indivíduos do oeste.

Apesar dessa indiferenciação de plumagem entre os clados B, C e D de *P. bourcierii*, os espécimes do interflúvio Tapajós- Xingu (clado A) tem uma combinação de caracteres que permite diferenciá-los das demais populações. Espécimes do clado A são um pouco mais claros (menos ocráceos e mais cinzas) no ventre (mais facilmente notável na cor das subcaudais; MPEG, MZUSP), tendo a estria gular algo mais comprida, os lados do pescoço mais puramente cinza e com contraste mais bem definido com a estria gular e malar, a qual é branca e tende a ficar sempre em evidência (salvo peles mal preparadas), resultando num marcado padrão facial/de garganta distinto das outras populações. Por fim, informações de etiqueta apontam para uma mandíbula entre laranja e vermelho nos espécimes do clado A, ao passo que nos clados B – D possuem mandíbulas variando de laranja a amarelo, com um ou outro raro caso de mandíbula reportada como vermelha (ANSP, COP, INPA, LSUMZ).

Embora as diferenças sejam sutis, quando analisadas em conjunto, elas permitem diagnosticar os espécimes do clado A dos demais quanto a caracteres de plumagem de variação discreta.

4. Discussão

4.1. Taxonomia

Os dados moleculares revelaram que as espécies de bico reto do gênero *Phaethornis* (*P. bourcieri*, *P. philippii* e *P. koepckeae*) formam um clado altamente apoiado pelas árvores de espécie, Bayesiana e de máxima verossimilhança (Figura 2 e 4A). Embora esse padrão deva ser interpretado com cautela, já que o objetivo deste estudo não foi reconstruir uma filogenia completa para o gênero *Phaethornis*, ele contrasta com a filogenia proposta por Hinkelmann e Schuchmann (1997) com base em 96 caracteres morfológicos externos. Nessa filogenia, *P. philippii* e *P. koepckeae* também formam um clado, mas a posição de *P. bourcieri* não é resolvida dentro de um clado maior que inclui, além de *P. philippii* e *P. koepckeae*, outras quatro espécies: *P. longirostris*, *P. malaris*, *P. superciliosus* e *P. syrmatophorus*.

Similarmente, as filogenias obtidas no presente estudo também diferem daquela proposta por McGuire *et al.* (2007), onde *P. hispidus* aparece inserido com alto apoio num clado que contém *P. bourcieri*, *P. philippii* e *P. koepckeae* e como irmão de *P. bourcieri*. Conforme aludido anteriormente, um erro experimental (onde o suposto espécime de *P. hispidus* sequenciado na verdade se tratou de um indivíduo de *P. bourcieri*; V. Piacentini obs. pess.), permite invalidar as conclusões do estudo de McGuire *et al.* (2007) com relação ao posicionamento filogenético de *P. bourcieri*. Desse modo, o presente estudo é o primeiro a corroborar a monofilia das espécies de bico reto do gênero *Phaethornis* (*P. bourcieri*, *P.*

philippii e *P. koepckeae*), conforme antecipado por Reichenbach (1854) quando reuniu as três espécies em um gênero à parte, nomeado *Ametrornis* e que foi aceito em algumas revisões taxonômicas do gênero *Phaethornis* ao longo dos anos (Piacentini, 2011). Mais recentemente Piacentini (2011) incluiu, com base numa análise qualitativa de caracteres morfológicos externos de quase todos os táxons descritos do gênero, as espécies *P. bourcieri*, *P. philippii* e *P. koepckeae* no chamado grupo “*Ametrornis*”, considerado por ele como um grupo natural e concordando, portanto, com o presente estudo. Uma filogenia completa do gênero *Phaethornis*, quando disponível, permitirá avaliar com maior segurança a forte evidência apresentada neste estudo sobre a monofilia das espécies de bico reto do gênero *Phaethornis*. Por outro lado, as análises moleculares mostraram que os táxons agrupados em *P. bourcieri* (clados A, B, C e D) não são monofiléticos. A parafilia revelada pela filogenia molecular, juntamente com as diferenças morfológicas (plumagem) apresentadas, permite a separação do táxon *major* (clado A) como espécie filogenética plena independente de *P. bourcieri* e endêmica do interflúvio Tapajós-Xingú (Figura 3). Altas probabilidades posteriores reveladas pela árvore coalescente de espécies apoiando a monofilia recíproca do táxon *major* (clado A) com relação aos demais de *P. bourcieri*, além de *P. philippii* e *P. koepckeae*, também, indicam um significativo isolamento reprodutivo de *major*, permitindo sua classificação como espécie biológica distinta.

De modo parecido, todas as árvores obtidas mostram a monofilia recíproca entre os demais clados de *P. bourcieri* (B, C e D; Figura 2 e 4), o que permite a sua classificação como espécies independentes tanto com base no conceito filogenético como biológico de espécie. No entanto, apesar deste avançado grau de independência evolutiva entre as linhagens B, C e D de *P. bourcieri*, não foram encontrados caracteres morfológicos que as distingam consistentemente uma das outras. Portanto, assim como Hinkelmann (1989), não encontramos diagnose de plumagem entre os clados B, C e D de *P. bourcieri*, mas apenas uma variação na

extensão da ponta preta da mandíbula, em que espécimes da Guiana (clado B) mostram a ponta preta bem mais reduzida do que os espécimes do oeste da Amazônia (clados C e D). Esta pequena variação morfológica contrasta fortemente com os dados moleculares do presente estudo, bem como com padrões de diferenciação vocal aparentes entre os clados B, C e D de *P. bourcieri* (M. Cohn-Haft, com. pess), o que, em conjunto, implica na existência de espécies crípticas e o reconhecimento destes clados como espécies válidas.

Do ponto de vista nomenclatural, atualmente o nome *bourcieri* está sendo aplicado às três linhagens evolutivas (clados B, C e D), uma vez que a sua localidade tipo é bastante vaga (“Brasil”) (Lesson, 1832). Um segundo nome, *whitelyi* (localidade tipo Monte Roraima; Boucard, 1891), é aplicável indiscutivelmente ao clado B, que agrupa populações da área de endemismo Guiana. Poucos anos após a sua descrição, *whitelyi* foi considerado sinônimo júnior de *P. bourcieri* com base no padrão de variação da plumagem (Boucard 1891, 1895), embora posteriormente tenha sido interpretado por vários autores como válido e tratado como subespécie de *P. bourcieri* (del Hoyo *et al.* 1999). Um terceiro nome é *abnormis*, descrito por Pelzeln (1868) de Marabitanas (margem direita do alto Rio Negro, estado do Amazonas) e, portanto, aplicável ao clado C. Posteriormente, Salvin e Elliot (1873) propuseram a sinonímia entre *A. abnormis* e *P. bourcieri* com base numa suposta ausência de diferenças morfológicas, o que foi confirmado também por Salvin (1892) e Hartert (1900). Hinkelmann (1989) também não encontrou diferença morfológica que diagnosticasse estes dois táxons. Desse modo, poderiam ser reconhecidas como espécies válidas e morfológicamente crípticas *P. whitelyi* (clado B) e *P. abnormis* (clado C), além do clado D, para o qual talvez o nome *bourcieri* pudesse ser aplicado. Futuros estudos poderão revelar o grau de diferenciação vocal entre estes clados, possivelmente fornecendo também uma diagnose fenotípica entre eles, além da genotípica aqui demonstrada.

4.2 Biogeografia

A grande diversidade da Amazônia vem sendo alvo de um grande número de estudos e debates acerca dos eventos que originaram sua grande riqueza biológica (Haffer, 1992, 1997, 2001; Räsänen *et al.* 1995; Webb, 1995; Bates, 2001; Antonelli *et al.* 2010; Ribas *et al.* 2012). No entanto, ainda não há uma teoria sintética que explique o processo de diversificação da rica biota Amazônica, uma vez que, dependendo do táxon e de suas características ecológicas e evolutivas, sua divergência pode ter sido influenciada por diferentes eventos que não afetaram outras linhagens (Aleixo e Rossetti, 2007). Por esse motivo, não é nossa intenção testar as diferentes hipóteses de diversificação propostas para a biota Amazônica até hoje, mas sim, contextualizar o padrão espacial e temporal de diversificação dos táxons em estudo.

Conforme verificado em outros estudos (Aleixo e Rossetti 2007, Ribas *et al.*, 2012, Fernandes *et al.*, no prelo), rios Amazônicos delimitam consistentemente populações reciprocamente monofiléticas das linhagens de *P. bourcierii* (Figura 3). Por esse motivo, seu processo de diversificação parece ter sido grandemente influenciado pela formação dos rios Amazônicos. No caso dos clados de *P. bourcierii*, a divergência mais antiga ocorreu entre o fim do Mioceno e o Plioceno separando o clado *major-philippii-koepckeeae* (distribuído ao sul do rio Amazonas entre o rio Xingu e o sopé dos Andes) do clado *whitelyi-abnormis-bourcierii* (distribuído predominantemente ao norte do Rio Amazonas, com apenas uma população [clado D] ocorrendo ao sul deste rio, na porção oeste da área de endemismo Inambari). Portanto, esse evento inicial poderia ter sido correlacionado com a formação do Amazonas, uma vez que o intervalo de confiança do tempo estimado dessa divergência sobrepõe com aquele estimado para a formação do Rio Amazonas como barreira com base na filogeografia do gênero *Psophia*, também associado a florestas de terra-firme da Amazônia (Ribas *et al.*

2012). Nesse cenário, o clado D teria colonizado a área de endemismo Inambari após a formação do Rio Amazonas, possivelmente pelas suas cabeceiras, o que parece ser apoiado por duas linhas de evidências: 1) o clado D é derivado e se diversificou mais recentemente, juntamente com o clado C, dentre todas as linhagens dos *Phaethornis* de bico reto (Figura. 4; ver abaixo); e 2) a distribuição de *P. bourcierii* na área de endemismo Inambari é concentrada na sua porção oeste, mas próxima do alto Amazonas e seus tributários (Figura 3), onde se sobrepõe com a distribuição de *P. philippii*, linhagem proximamente relacionada e mais amplamente distribuída nessa área de endemismo, o que implica em contato secundário neste setor particular da Amazônia.

Posteriormente, entre 5,4 e 2,25 milhões de anos (Plioceno tardio – Pleistoceno), ocorreu a divergência entre o clado A (*major*) e o clado formado por *P. philippii* e *P. koepckeae*, separados pelo rio Tapajós, portanto, fornecendo uma estimativa para o surgimento deste rio como barreira biogeográfica. Esta estimativa é mais antiga do que aquela proposta para a formação do Tapajós como barreira com base nos dados filogeográficos do gênero *Psophia* (entre 0.58 e 1.24 milhões de anos; Ribas *et al.* 2012), mas os intervalos de confiança de ambas estimativas se sobrepõem grandemente, não descartando a hipótese de um único evento de vicariância afetando as duas linhagens concomitantemente. Por outro lado, a estimativa de formação do Rio Tapajós com base na separação do clado A (*major*) é similar àquela inferida para a separação entre *Xiphorhynchus spixii* e *X. elegans* (Aleixo 2004), embora o método de datação deste último estudo tenha sido pontual e não baseado num cronograma Bayesiano ou coalescente, limitando, portanto, esta comparação.

Entre 4,25 e 1,75 milhões de anos (Plioceno tardio – Pleistoceno), ocorreu a divergência entre o clado B (*whitelyi*) e o ancestral dos clados C e D, correspondente à formação do Rio Negro como barreira biogeográfica. Esta estimativa é mais antiga do que aquela proposta para a formação do Negro como barreira com base nos dados filogeográficos de *Psophia* (entre 0.47

e 1.03 milhões de anos; Ribas *et al.* 2012), mas os intervalos de confiança de ambas estimativas também se sobrepõe grandemente. Finalmente, entre 1 e 0,25 milhões de anos (Pleistoceno tardio - Holoceno), ocorreu a divergência entre os clados C e D, correspondente à formação do Rio Solimões como barreira biogeográfica. Nenhum dos eventos de cladogênese estimados para o gênero *Psophia* pode ser correlacionado com a formação do Rio Solimões, o que impede comparações diretas e sugere respostas diferentes à eventos biogeográficos. Outros estudos dataram a formação dos tributários do alto Amazonas / Solimões (e.g., Marañon) entre 1.8 e 4 milhões de anos para o complexo *Myrmeciza hemimelaena* (Thamnophilidae; Fernandes *et al.*, no prelo) e 1.4 ± 0.64 milhões de anos para *Lepidothrix coronata* (Pipridae; Cheviron *et al.* 2005), portanto, com sobreposição entre as estimativas deste último grupo e aquela obtida para a separação entre os clados C e D, o que pode indicar respostas a um mesmo evento. Uma análise demográfica revelou que as populações de *L. coronata* ao sul do Solimões (com distribuição análoga ao clado D) tem sinais de expansão, enquanto aquelas ao norte do rio (com distribuição análoga ao clado C) estão em equilíbrio. Portanto, uma possibilidade é que a separação entre os clados C e D não esteja necessariamente correlacionada com a formação do rio, mas sim com o tempo de aquisição da monofilia recíproca entre eles após um evento de colonização de populações ancestrais da margem sul do rio Solimões através das cabeceiras, conforme discutido acima e inferido para uma linhagem co-distribuída e com requisitos ecológicos parecidos como é o caso de *L. coronata* (Cheviron *et al.* 2005).

Apesar de se tratarem de linhagens filogeneticamente distantes, o padrão sequencial inferido de formação dos grandes rios Amazônicos como barreiras biogeográficas é bastante similar entre *Psophia*, *L. coronata* e os *Phaethornis* de bico reto, excetuando-se a resposta à formação do Solimões, não detectada em *Psophia* (Cheviron *et al.* 2005, Ribas *et al.* 2012).

Considerando apenas os rios que separam populações reciprocamente monofiléticas de

Psophia e dos *Phaethornis* de bico reto, a sequência de formação das barreiras é idêntica e envolve: (1) Amazonas; (2) Tapajós; (3) Negro. O mesmo acontece quando se compara *L. coronata* e os *Phaethornis* de bico reto (1) Negro e (2) Solimões. O fato dos intervalos de confiança destas estimativas de tempo sobrepostos indica a possibilidade de se tratarem realmente dos mesmos eventos de diversificação. Em conjunto, os dados filogeográficos obtidos para os *Phaethornis* de bico reto parecem confirmar o importante papel dos rios Amazônicos no processo de diversificação da biota, chamando a atenção também para a importância de eventos de colonização e expansão demográfica no processo de diferenciação geográfica e especiação entre linhagens proximamente relacionadas.

Agradecimentos

O primeiro autor agradece ao CNPq pela concessão da bolsa de mestrado e auxílio ao trabalho de laboratório, financiado pelo projeto INCT em Biodiversidade e Uso da Terra da Amazônia (processo no. 574008/2008-0). Luís Fábio Silveira e Alexandre Aleixo agradecem ao CNPq pela concessão das bolsas de produtividade. Agradecemos também a todos os curadores e equipes das coleções visitadas e/ou que disponibilizaram material para realização deste estudo. E aos revisores anônimos pela leitura e revisão do manuscrito.

Referências Bibliográficas

Aleixo, A. (2002) Molecular systematics and the role of “varzea” – “terra-firme” ecotone in the diversification of *Xiphorhynchus* woodcreepers (Aves: Dendrocolaptidae). *Auk*, 119: 621-640.

- Aleixo, A. (2004) Historical Diversification of a “Terra-Firme” Florest Bird Superspecies: A Phylogeographic Perspective on the Role of Different Hypotheses of Amazonian Diversification. *Evolution*, 58: 1303-1317.
- Aleixo, A. (2006) Historical diversification of floodplain forest specialist species in the Amazon: a case study with two species of the avian genus *Xiphorhynchus* (Aves: Dendrocolaptidae). *Biological Journal of the Linnean Society*, 89: 383–395.
- Aleixo, A. (2007) Conceitos de espécie e o eterno conflito entre continuidade e operacionalidade: uma proposta de normatização de critérios para o reconhecimento de espécies pelo Comitê Brasileiro de Registros Ornitológicos. *Revista Brasileira de Ornitologia*, 15(2): 297-310.
- Aleixo, A. Rossetti, D. F. (2007) Avian gene trees, landscape evolution, and geology: towards a modern synthesis of Amazonian historical biogeography? *Journal of Ornithology*, 148: 443–453.
- Antonelli, A. Quijada-Mascareñas A. Crawford, A. J. Bates, J. M. Velazco, P. M. Wüster, W. (2010) Molecular studies and phylogeography of Amazonian tetrapods and their relation to geological and climatic models, p. 386-404. Em: Hoorn, C. Wesselingh, F.P. (eds.) Amazonia: landscape and species evolution A look into the past. Wiley-Blackwell.

- Baldwin, S. P. Oberholser, H. C. Worley, L. G. (1931) *Measurements of birds*. v. 2. Cleveland, Ohio: Scientific Publications of the Cleveland Museum of Natural History.
- Bates, J. M. (2001) Avian diversification in Amazonia: evidence for historical complexity and a vicariance model for a basic pattern of diversification, p. 119-137. Em: Viera, I. D'incão, M. A. Silva, J. M. C. Oren, D. (eds.). *Diversidade Biológica e Cultural da Amazônia*. Belém: Museu Paraense Emilio Goeldi.
- Boucard, A. (1891) Notes on Rare species of Hummingbirds and description of several supposed new species in Boucard's Museum. *The Humming birds*, 1: 17-53.
- Boucard, A. (1895) Genera of humming birds. *The Humming birds*, 5: 1-402.
- Cheviron, Z. A. Hackett, S, J. Capparella A. P. (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.
- Cracraft, J. (1983). Species concepts and speciation analysis. *Current Ornithology*, 1: 159-187.
- Queiroz, de K. (2005) Ernst Mayr and the modern concept of species. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, , 102: 6600-6607.

- del Hoyo, J. Elliott, A. e Christie, D. (1999) (eds.). Handbook of the Birds of the World. v. 5. Barcelona: Lynx Edicions.
- Drummond, A. J. Ho, S. Y. W. Rawlence, N. Rambaut, A. (2007). A Rough Guide to BEAST 1.4.
- Eberhard, J. R. Bermingham, E. (2004) Phylogeny and biogeography of the *Amazona ochrocephala* (Aves: Psittacidae) complex. *Auk*, 121: 318-332.
- Haffer, J. (1992) Ciclos de tempo e indicadores de tempo na história da Amazônia. *Estudos Avançados*, 6 (5).
- Haffer, J. (1997) Alternative models of vertebrate speciation in Amazonian: an overview. *Biodiversity and Conservation*, 6: 451-477.
- Haffer, J. (2001) Hypotheses to explain the origin of species in Amazonia. Em: Viera, I., D'incão, M. A., Silva, J. M. C., Oren, D. (eds.). Diversidade Biológica e Cultural da Amazônia. Belém: Museu Paraense Emilio Goeldi.
- Hall, T. A. (1999) Bioedit: a user-friendly biological sequence alignment editor analysis program for windows 95/98/nt. *Nucleic Acids Symposium Series*, 41: 95-98.
- Hartert, E. (1900) Trochilidae. *Das Tierreich*, 9: 1-254.

- Hinkelmann, C. (1989) Notes on taxonomy and geographic variation of *Phaethornis bourcieri* (Aves: Trochilidae) with the description of a new subspecies. *Bonner Zoologische Beiträge*, 40(2): 99-107.
- Hinkelmann, C. Schuchmann, K. L. (1997) Phylogeny of the Hermit Hummingbirds (Trochilidae: Phaethornithinae). *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, 32: 142-163.
- Huelsenbeck, J. P. Hall, B. (2001) Mrs. Bayes: Bayesian inference of phylogeny: A program for the Bayesian Analysis. Disponível em: <<http://brahms.biology.rochesters.edu/software.html>>.
- Huelsenbeck, J. P. Ronquist F. (2001) MRBAYES: Bayesian inference of phylogeny. *Bioinformatics*, 17: 754–755.
- McGuire, J. A. Witt, C. C. Altshuler, D. L. Remsen, J. V. Jr. (2007) Phylogenetic Systematics and Biogeography of Hummingbirds: Bayesian and Maximum Likelihood Analyses of Partitioned Data and Selection of an Appropriate Partitioning Strategy. *Systematic Biology*, 56(5):837–856.
- Moritz, C. Patton, J. L. Schneider, C. J. Smith, T. B. (2000) Diversification of rainforest faunas: an integrated molecular approach. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 31: 533 – 563.
- Pelzeln, A. v. (1868) *Zur Ornithologie Brasiliens. Resultate von Johann Natterers Reisen in den Jahren 1817 bis 1835*. Wien: A. Pichler's Witwe & Sohn.

- Piacentini, V. de Q. (2011) *Taxonomia e distribuição geográfica dos representantes do gênero Phaethornis Swainson, 1827 (Aves: Trochilidae)*. Tese de doutorado. São Paulo: Universidade de São Paulo, Instituto de Biociências.
- Pires, J. M. (1973) Tipos de vegetação da Amazônia. *Publicações avulsas*. Belém: Museu Paraense Emílio Goeldi.
- Reichenbach, L. (1854) Aufzählung der Colibris oder Trochilideen in ihrer wahren natürlichen Verwandtschaft, nebst Schlüssel ihrer Synonymik. *Journal für Ornithologie*, 1(extra heft): 1-24.
- Ribas, C. C. Miyaki, C. Y. (2007) Análise comparativa de padrões de diversificação em quatro gêneros de psitacídeos neotropicais. *Revista Brasileira de Ornitologia*, 15(2): 245-252.
- Ribas, C. C. Tavares, E. S. Yoshihara, C. Miyaki, C. Y. (2007) Phylogeny and biogeography of Yellow-headed and Blue-fronted Parrots (*Amazona ochrocephala* and *Amazona aestiva*) with special reference to the South American taxa. *Ibis*, 149: 564-574.
- Ribas, C. C. Aleixo, A. Nogueira, A. R. Miyaki, C. Y. 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.

- Räsänen, M. E. Linna, A. M. Santos, J. C. R. Negri, F. R. (1995) Late Miocene tidal deposits in the Amazonian foreland basin. *Science*, 269: 386–390.
- Sambrook J, Fritsch E. F. Maniatis T. (1989) *Molecular cloning: a laboratory manual*. New York: Cold Spring Harbor.
- Salvin, O. Elliot, D. G. (1873) Notes on the Trochilidse. The Genus *Phaethornis*. *Ibis*, 3: 1-14.
- Salvin, O. (1892) *Catalogue of the Birds in the British Museum*. v. 16. London: British Museum (Natural History).
- Silva J.M.C. Rylands, A. B. Fonseca, G. A. B. (2005) O destino das áreas de endemismo da Amazônia. *Megadiversidade*, 1: 124-131.
- Smithe, F. B. (1975) *Naturalist's Color Guide*. New York: The American Museum of Natural History.
- Stephens, M.N. J. Smith, N. J. Donnelly, P. (2001) A new statistical method for haplotype reconstruction from population data. *American Journal of Human Genetics*, 68: 978-989.
- Veloso, H. P. (1962) Os grandes climaxes do Brasil. II – considerações gerais sobre a vegetação da região amazônica. *Memorial Instituto Oswaldo Cruz*, 3 (60).
- Xia, X., Xie. Z. (2001) DAMBE: Data analysis in molecular biology and evolution. *Journal of Heredity*, 92: 371-373.

Webb, S. D. (1995). Biological implications of the middle Miocene Amazon seaway. *Science*, 269: 361-362.

Weir, J. T. Schluter, D. (2008) Calibrating the avian molecular clock. *Molecular Ecology*, 17: 2321-2328.

Tabela 1: Lista das coleções científicas visitadas, com as acrônimas utilizadas ao longo do texto, localização do acervo e total de espécimes examinados.

Acronímia	Nome e localização	Nº de espécimes
AMNH	American Museum of Natural History, Nova Iorque, EUA	15
ANSP	Academy of Natural Science of Philadelphia, Filadélfia, EUA	8
CMNH	Carnegie Museum of Natural History, Pittsburgh, EUA	7
COP	Colección Ornitológica Phelps, Caracas, Venezuela	1
DMNH	Delaware Museum of Natural History, Wilmington, EUA	1
FMNH	Field Museum of Natural History, Chicago, EUA	11
ICN	Instituto de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Bogotá, Colômbia	11
INPA	Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, AM	4
LSUMZ	Museum of Natural Sciences, Louisiana State University, Baton Rouge, EUA	23
MBML	Museu de Biologia Prof. Mello Leitão, Santa Teresa, ES	3
MCZ	Museum of Comparative Zoology, Harvard University, Boston, EUA	2
MNHN	Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris, França	1
MNRJ	Museu Nacional do Rio de Janeiro, Universidade Federal do Rio de Janeiro	13
MPEG	Museu Paraense Emílio Goeldi, Belém, PA	39
MZUSP	Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo, SP	5
RG	Coleção Rolf Grantsau, São Bernardo do Campo, SP 94	6
USNM	National Museum of Natural History, Smithsonian Institution, Washington DC, EUA	10

Tabela 2. Iniciadores utilizados para os genes sequenciados.

Gene	Iniciadores	Sequência (5'-3')
Citb	L 14841	GCT TCC ATC CAA CAT CTC AGC ATG ATG
	H 16064	CTT CGA TCT TTG GCT TAC AAG ACC
Citb	L 14990	CCA TCC AAC ATC TCA GCA TGA TGA AA
	H 15764	CCT CCT AGT TTG TTG GGG ATT GA
Citb	L 15660	CCG ATA AAA TCC CAT TCC ACC C
	H 16064	CTT CGA TCT TTG GCT TAC AAG ACC
ND2	L 5215	TAT CGG GCC CAT ACC CCG AAA AT
	H 6313	CTC TTA TTT AAG GCT TTG AAG GC
ND2	L 5215	TAT CGG GCC CAT ACC CCG AAA AT
	H 5766	DGA DGA RAA DGC YAR RAY YTT DCG
ND2	L 5758	GGN GGN TGR RBH GGN YTD AAY CAR AC
	H 6313	CTC TTA TTT AAG GCT TTG AAG GC
BF5	S713	CGC CAT ACA GAG TAT ACT GTG ACA T
	AS767	GCC ATC CTG GCG ATC TGA A

Tabela 3. Divergência genética não corrigida (distância-p) entre diferentes clados de *Phaethornis* de bico reto (*P. boucieri*, *P. philippii* e *P. koepckeae*). **A** – Clado A; **B** – Clado B; **C** – Clado C; **D** – Clado D; **P. p** – *Phaethornis philippii*; **P. k** – *Phaethornis koepckeae*; **P. h** – *Phaethornis hispidus*; **D.p** – Distância-p dentro de cada população.

	A	B	C	D	P. p	P. k	D.p
A							1%
B	6%						0,03%
C	6%	3%					0,02%
D	6%	3%	1%				0,03%
P. p	5%	6%	6%	6%			3%
P. k	6%	5%	5%	6%	5%		-
P. h	10%	10%	10%	10%	10%	11%	0,02%

Tabela 4. Estatística descritiva dos caracteres morfométricos dos clados de *Phaethornis bourcieri* revelados pelas análises filogenéticas moleculares: **C. B** – Comprimento do bico; **C. A** – Comprimento da asa; **C. C** – Comprimento da cauda; **P. C** – Projeção da cauda; **N** – número de espécimes mensurados; **DP** – desvio padrão.

CLADOS	N	C. B (mm)		C. A (mm)		C. C (mm)		P. C (mm)	
		Média±DP	Min-Max	Média±DP	Min-Max	Média±DP	Min-Max	Média±DP	Min-Max
CLADO A									
♂	7	61,2 +- 3,45	55 – 64	31,5 +- 2,43	28,5 - 35	63,7 +- 3,46	59 - 67,5	29,9 +- 1,9	27 - 32,5
♀	6	58,4 +- 2,07	56 – 61	31,1 +- 0,65	30,5 - 32	61,6 +- 2,97	59 - 66,5	29,6 +- 2,63	27,5 - 34
CLADO B									
♂	23	58,2 +- 1,95	54 – 61	30,1 +- 1,37	28 - 33	58,4 +- 2,66	52 - 63	26,5 +- 1,88	23 - 30,5
♀	13	55,8 +- 0,99	54 – 57	29,7 +- 1,28	28 - 33	58,1 +- 2,97	54 - 61	28,1 +- 1,99	24,5 - 32
CLADO C									
♂	6	58,3 +- 1,96	55 – 61	29,7 +- 0,82	28,5 - 31	58 +- 1,05	57 - 60	25,2 +- 1,83	23 - 27
♀	6	55,2 +- 2,64	51 – 59	28,7 +- 1,99	27 - 32,5	56 +- 2,00	53,5 - 58,5	26,9 +- 1,62	25,5 - 30
CLADO D									
♂	55	57,6 +- 1,85	53 – 62	28,9 +- 1,21	26,5 - 31	56,3 +- 3,36	51,5 - 67,5	24,4 +- 2,93	20 - 31,5
♀	27	55,5 +- 1,89	52 – 59	28,2 +- 1,45	25,5 - 31	57,7 +- 1,74	51 - 58,5	25,5 +- 2,33	20 - 30

Tabela 5. Matriz de classificação (Jackknife) da Análise de Função Discriminante dos clados de *Phaethornis bourcieri* revelados pelas análises filogenéticas moleculares com base nos caracteres morfométricos de espécimes fêmeas.

CLADOS	A	B	C	D	% Correto
A	3	2	0	0	60
B	2	7	4	0	54
C	0	2	0	4	0
D	0	6	8	13	48
TOTAL	5	17	12	17	45

Tabela 6. Matriz de classificação (Jackknife) da Análise de Função Discriminante dos clados de *Phaethornis bourcieri* revelados pelas análises filogenéticas moleculares com base nos caracteres morfométricos de espécimes machos.

CLADOS	A	B	C	D	% Correto
A	4	1	1	0	67
B	2	11	6	4	48
C	0	2	1	3	17
D	1	10	12	32	58
TOTAL	7	24	20	39	53

Legendas das Figuras

Figura 1. Mapa de distribuição das localidades das amostras de tecido (A) e espécimes taxidermizados (B) de *Phaethornis bourcieri* utilizados neste estudo. *P. b. bourcieri*: triângulos pretos; *P. b. major*: círculos pretos (Hinkelmann 1989).

Figura 2. Hipótese filogenética proposta para *P. bourcieri* e outras espécies de *Phaethornis* com base em 2.629 pares de base nos genes mitocondriais *citb* e *ND2* e no íntron nuclear *BF5*. Números acima dos ramos representam valores de *bootstrap* obtidos por Máxima Verossimilhança (à esquerda) e probabilidades posteriores Bayesianas (à direita). Baixos valores de apoio aos diferentes nós estão em vermelho ou não foram inseridos.

Figura 3. Mapa de distribuição dos clados de *Phaethornis bourcieri* revelados pelas análises filogenéticas moleculares: A – clado A; B – clado B; C – clado C; e D – clado D.

Figura 4. Cronogramas de diversificação dos *Phaethornis* de bico reto com base em uma árvore coalescente de espécies (A) e uma análise Bayesiana concatenada (B). Ver texto para detalhes sobre a taxa de calibração utilizada. Números nos nós indicam médias do tempo de divergência, enquanto as barras azuis mostram os intervalos de confiança associados e estas estimativas. No caso da árvore de espécies, os números sobre os ramos indicam os respectivos valores de probabilidade posterior.

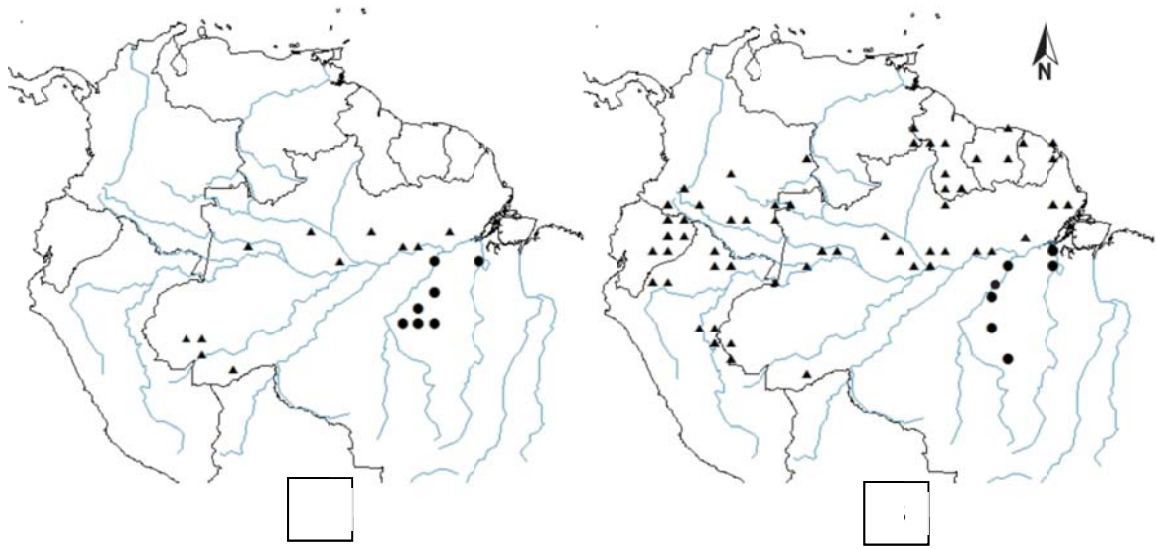


Figura 1

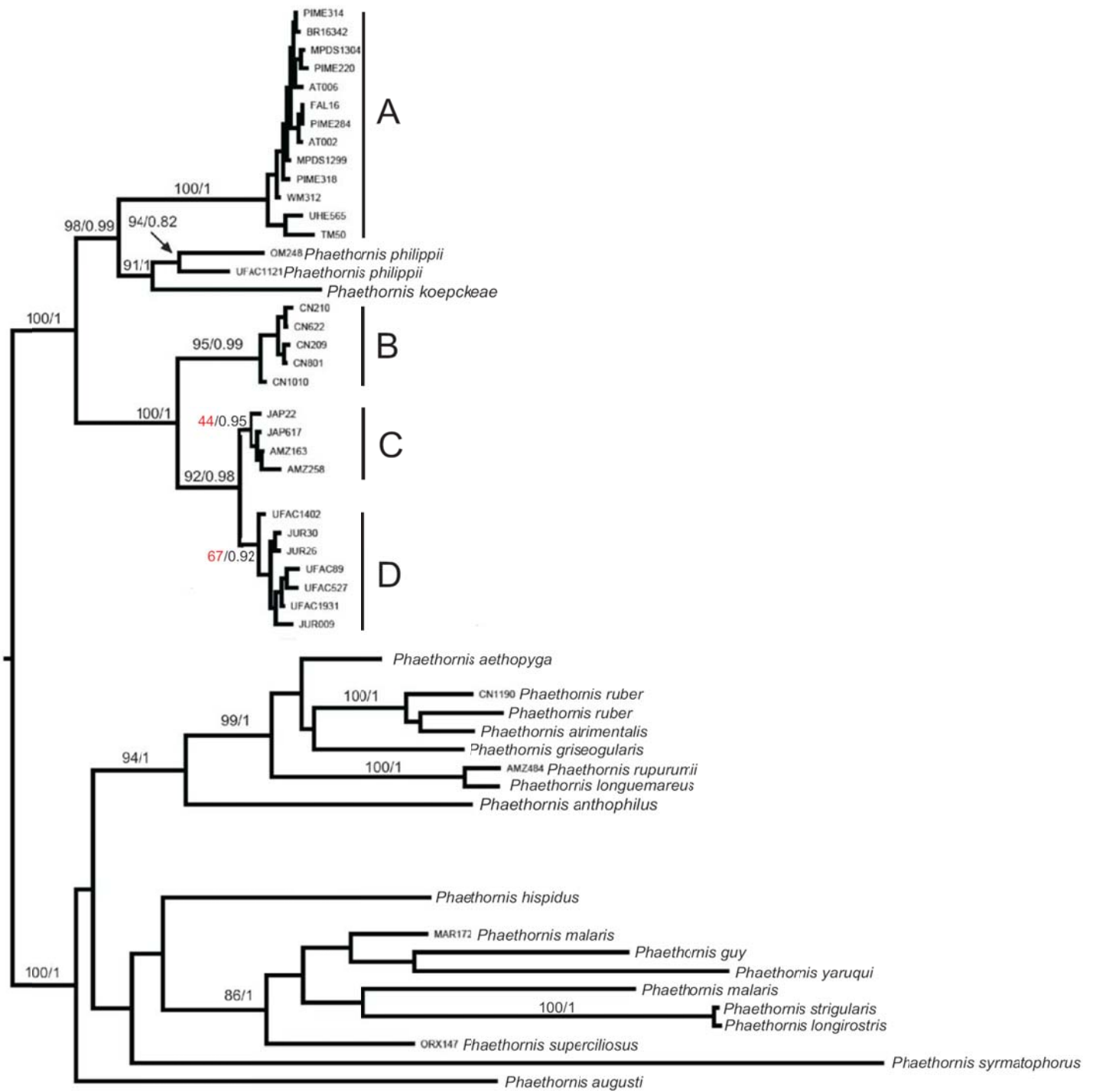


Figura 2

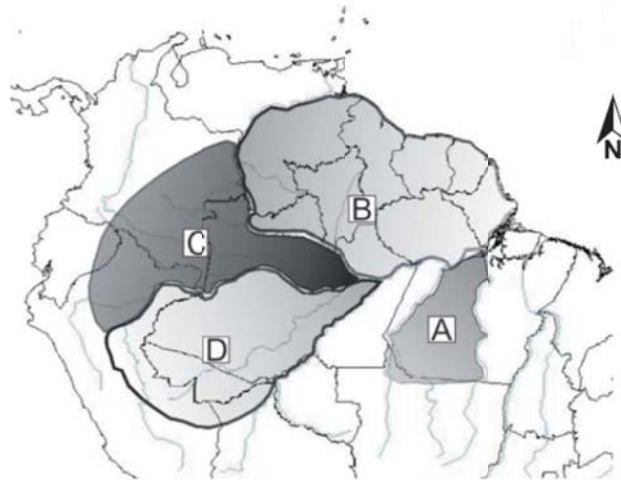
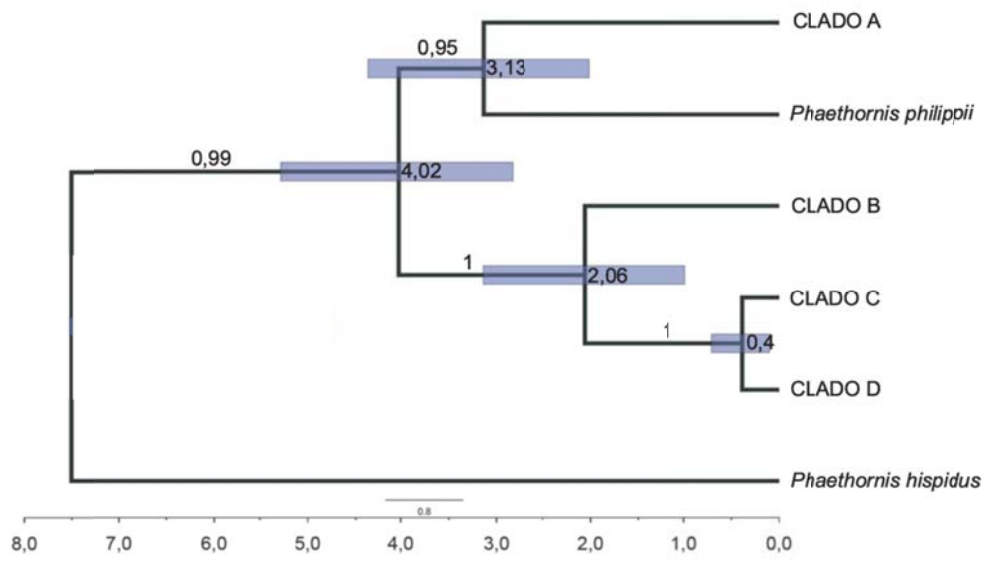
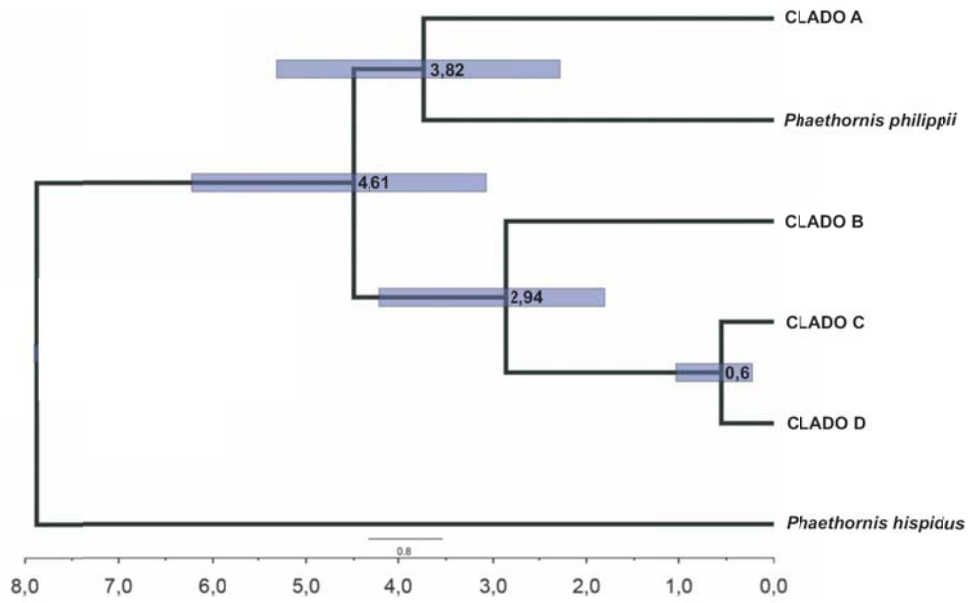


Figura 3



A



B

Figura 4

ANEXO 1. Espécimes de *Phaethornis* utilizados nas análises moleculares (genes: Citb, ND2 e BF5). Nomes seguem o arranjo proposto neste trabalho.

Nº Tombo	Táxon	Nº de coleta	Localidade
MPEG 65553	<i>Phaethornis major</i>	AT006	Brasil, Pará, Trairão, APA Tapajós, Área Sul, Rio Novo, margem esquerda (6o49'58,9"S;56o09'47,8"W)
MPEG 69009	<i>Phaethornis major</i>	PIME220	Brasil, Pará, Altamira, Flona do Trairão (04o36'31,5"S;55o29'47,6"W)
MPEG 67677	<i>Phaethornis major</i>	FAL016	Brasil, Pará, Altamira, Floresta Nacional de Altamira (05o29'28,7"S;55o08'17,9"W)
MPEG 55601	<i>Phaethornis major</i>	UHE565	Brasil, Pará, Altamira, Rio Xingu, margem esquerda (UHE Belo Monte 3o22'77"S;51o55'75"W)
MPEG 56040	<i>Phaethornis major</i>	WM312	Brasil, Pará, Belterra, FLONA do Tapajós, BR163 km 117 (04o37'S;56o36'W)
MPEG 69559	<i>Phaethornis major</i>	PIME314	Brasil, Pará, Itaituba, Km 85 Transgarimpeira
MPEG 69562	<i>Phaethornis major</i>	PIME318	Brasil, Pará, Itaituba, Km 85 Transgarimpeira
MPEG 63861	<i>Phaethornis major</i>	TM050	Brasil, Pará, Itaituba, PARNA Jamanxin (05o39'S;55o31'W)
MPEG 65673	<i>Phaethornis major</i>	MPDS 1299	Brasil, Pará, Jacareacanga, FLONA Crepori, Rio das Tropas, Cotovelo (6o31'823"S; 57o26'40,4"W)
MPEG 65674	<i>Phaethornis major</i>	MPDS 1304	Brasil, Pará, Jacareacanga, FLONA Crepori, Rio das Tropas, Cotovelo (6o31'823"S; 57o26'40,4"W)
MPEG 69069	<i>Phaethornis major</i>	PIME284	Brasil, Pará, Novo Progresso, Comunidade Nova Fronteira (06o30'0,16"S;55o12'58,7"W)
MPEG 65551	<i>Phaethornis major</i>	AT 002	Brasil, Pará, Trairão, APA Tapajós, Área Sul, Rio Novo, margem esquerda (área 1)(6o49'58,9"S;56o09'47,8"W)
MPEG 59114	<i>Phaethornis major</i>	BR163-042	Brasil, Pará, Altamira, Castelo dos Sonhos, Fazenda Jamanxin (9o23'22,9"S,55o02'12,8"W)
MPEG 66180	<i>Phaethornis whitelyi</i>	CN1010	Brasil, Pará, Almeirim, REBIO Maicuru (00o49'S;53o55'W)
MPEG 65735	<i>Phaethornis whitelyi</i>	CN622	Brasil, Pará, Oriximiná, ESEC Grão Pará (01o17'S;58o41'W)
MPEG 65740	<i>Phaethornis whitelyi</i>	CN801	Brasil, Pará, Oriximiná, ESEC Grão Pará (01o17'S;58o41'W)
MPEG 64601	<i>Phaethornis whitelyi</i>	CN209	Brasil, Pará, Faro, FLOTA de Faro (01o42'S;57o12'W)
MPEG 64600	<i>Phaethornis whitelyi</i>	CN210	Brasil, Pará, Faro, FLOTA de Faro (01o42'S;57o12'W)
MPEG 59353	<i>Phaethornis abnormis</i>	AMZ258	Brasil, Amazonas, Barcelos, Rio Cuiuni, margem direita (00o47'26"S;63o10'13"W)
MPEG 62447	<i>Phaethornis abnormis</i>	JAP617	Brasil, Amazonas, Japurá, Rio Acanauí (01o56'12,4"S;66o36'18,8"W)
MPEG 62456	<i>Phaethornis abnormis</i>	JAP022	Brasil, Amazonas, Japurá, Rio Mapari (02o02'59,6"S;67o15'47,1"W)
MPEG 59352	<i>Phaethornis abnormis</i>	AMZ163	Brasil, Amazonas, Novo Airão, Igarapé-Açu (02o51'13"S,60o51'05"W)
MPEG 63707	<i>Phaethornis bourcierii</i>	UFAC1931	Brasil, Acre, Feijó, Rio Envira, Novo Porto, Foz do Ig. Paraná do Ouro (8°27'35,5"S;70°33'22,9"W)
MPEG 69987	<i>Phaethornis bourcierii</i>	JUR 009	Brasil, Acre, Feijó, Foz do Rio Jurupari (07o51'32,4"S;70o03'10,5"W)
MPEG 69986	<i>Phaethornis bourcierii</i>	JUR 026	Brasil, Acre, Feijó, Baixo Rio Jurupari, Humaitá (07o57'36,0"S;69o56'45,0"W)
MPEG 69985	<i>Phaethornis bourcierii</i>	JUR 030	Brasil, Acre, Feijó, Baixo Rio Jurupari, Humaitá (07o57'36,0"S;69o56'45,0"W)
MPEG 59923	<i>Phaethornis bourcierii</i>	UFAC089	Brasil, Acre, Porto Acre, Reserva Humaitá (09o45'24,1"S;67°40'14,1"W)
MPEG 63265	<i>Phaethornis bourcierii</i>	UFAC1402	Brasil, Acre, Santa Rosa, margem esquerda Rio Purus, foz do Chandless (09o06'57,4"S;69o49'53,9"W)
MPEG 60487	<i>Phaethornis bourcierii</i>	UFAC 527	Brasil, Acre, Tarauacá, Floresta Estadual Rio Gregório, próximo ponte Rio Acuraua (08o04'04,6"S;71o10'37"W)

MPEG 67125	<i>Phaethornis hispidus</i>	MOP 050	Brasil, Pará, Ourilandia do Norte, Serra do Puma
MPEG 67126	<i>Phaethornis hispidus</i>	MOP 053	Brasil, Pará, Ourilandia do Norte, Serra do Puma
MPEG 67732	<i>Phaethornis hispidus</i>	MOP 075	Brasil, Pará, Parauapebas, Serra do Puma (06o26,96'S;51o03,84'W)
MPEG 67256	<i>Phaethornis hispidus</i>	TLP(A) 040	Brasil, Mato Grosso, Paranaíta, Rio Teles Pires (09o25'310"S;56o33'753"W)
MPEG 61226	<i>Phaethornis hispidus</i>	UFAC 929	Brasil, Acre, Rio Branco, Transcreana (AC-090) km 70, Ramal Jarinal km 11 (09o54'02,1"S,68o28'32,1"W)
MPEG 63705	<i>Phaethornis hispidus</i>	UFAC 1848	Brasil, Acre, Feijó, Rio Envira, Novo Porto, Foz do Ig. Paraná do Ouro (8o27'35,5"S;70o33'22,9"W)
MPEG 70069	<i>Phaethornis aethopyga</i>	PIME422	Brasil, Pará, Altamira, Castelo dos Sonhos, BR163
MPEG 69145	<i>Phaethornis aethopyga</i>	TLP(C)146	Brasil, Mato Grosso, Paranaíta, Rio Teles Pires, margem direita
MPEG 59120	<i>Phaethornis aethopyga</i>	BR163-151	Brasil, Pará, Novo Progresso BR163 km 20 SW
MPEG 59118	<i>Phaethornis aethopyga</i>	BR163-031	Brasil, Pará, Altamira, Castelo dos Sonhos, BR163 km 30 SW
MPEG 69655	<i>Phaethornis aethopyga</i>	PIME 472	Brasil, Pará, Jacareacanga, Igarapé do Rato (05o24'02,3"S;56o55'04,2"W)
MPEG 57532	<i>Phaethornis malaris</i>	MAR172	Brasil, Amazonas, Manicoré, Rodovia do Estanho, km 126 (08o39'01,3"S, 61o25'12,5"W)
MPEG 69840	<i>Phaethornis superciliosus</i>	ORX147	Brasil, Pará, Oriximiná, Lago Sapucúá, Comunidade Casinha
MPEG 62002	<i>Phaethornis philippii</i>	UFAC 1121	Brasil, Acre, Mâncio Lima, Estrada do Barão, Comunidade São Domingos (07o33'10,0S;72o59'00,6"W)
MPEG 71003	<i>Phaethornis philippii</i>	OM 248	Brasil, Rondônia, Machadinho D'Oeste, margem direita Rio Jiparaná (08o54'32,9"S;62o0'0,03"W)
MPEG 66416	<i>Phaethornis ruber</i>	CN 1190	Brasil, Pará, Almeirim, FLOTA do Paru (00o56'S;53o14'W)
MPEG 59345	<i>Phaethornis rupurumii</i>	AMZ484	Brasil, Amazonas, Barcelos, Rio Aracá, (00o25'12"S,62o56'13"W)

ANEXO 2. Espécimes de *Phaethornis* utilizados nas análises morfológicas. Nomes seguem o arranjo proposto neste trabalho.

Nº Tombo	Táxon	Localidade
MZUSP 88724	<i>Phaethornis major</i>	Brasil, Pará, Porto de Moz, Terra Preta, marg. esq. Xingu
MZUSP 83568	<i>Phaethornis major</i>	Brasil, Pará, Porto de Moz, Terra Preta, marg. esq. Xingu
MZUSP 88722	<i>Phaethornis major</i>	Brasil, Pará, Porto de Moz, Sítio Sete Irmãos
MPEG 55601	<i>Phaethornis major</i>	Brasil, Pará, Rio Xingu, margem esquerda, Vitória do Xingu (3o22'46"S, 51o44'55.07"W)
MPEG 55602	<i>Phaethornis major</i>	Brasil, Pará, Rio Xingu, margem esquerda, Vitória do Xingu (3o22'46"S, 51o44'55.07"W)
MCZ 173642	<i>Phaethornis major</i>	Brasil, Pará, Caxiricatuba, Rio Tapajos
MNRJ 17991	<i>Phaethornis major</i>	Brasil, Pará, Rio Jamanxim, Tucunaré
MPEG 59113	<i>Phaethornis major</i>	Brasil, Pará, Altamira, 30 km SW Castelo dos Sonhos, Fazenda Jamanxin (9o23'22,9"S,55o02'12,8"W)
MPEG 59114	<i>Phaethornis major</i>	Brasil, Pará, Altamira, 30 km SW Castelo dos Sonhos, Fazenda Jamanxin (9o23'22,9"S,55o02'12,8"W)
MPEG 59115	<i>Phaethornis major</i>	Brasil, Pará, 20 km SW de Novo Progresso (7o11'29,1"S,55o29'43.3"W)
MPEG 15518	<i>Phaethornis major</i>	Brasil, Pará, Rio Tapajós, Itaituba (4o17'S, 55o59'W)
CMNH 77539	<i>Phaethornis major</i>	Brasil, Pará, Miritituba, margem direita do Rio Tapajós
RG 4185	<i>Phaethornis major</i>	Brasil, Pará, Fordlândia
USNM 625119	<i>Phaethornis whitelyi</i>	Guiana inglesa, , North Side Acari Mountains
USNM 625386	<i>Phaethornis whitelyi</i>	Guiana inglesa, , Upper Essequibo River
USNM 626770	<i>Phaethornis whitelyi</i>	Guiana inglesa, , Mount Roraima, North Slope
USNM 626815	<i>Phaethornis whitelyi</i>	Guiana inglesa, , Mount Roraima, North Slope
MNH 1989.390	<i>Phaethornis whitelyi</i>	Guiana inglesa, ,Monte Roraima
USNM 627171	<i>Phaethornis whitelyi</i>	Guiana inglesa, , Kako River, Makwaima Savannah
USNM 632736	<i>Phaethornis whitelyi</i>	Guiana inglesa, , Kopinang Village, ca 7 km SW at Kopinang River
FMNH 120099	<i>Phaethornis whitelyi</i>	Guiana inglesa, East Berbice-Corentyne, Itabu Creek Head, Boundary Camp
FMNH 120100	<i>Phaethornis whitelyi</i>	Guiana inglesa, East Berbice-Corentyne, Itabu Creek Head, Boundary Camp
FMNH 120101	<i>Phaethornis whitelyi</i>	Guiana inglesa, East Berbice-Corentyne, Itabu Creek Head, Boundary Camp
FMNH 120107	<i>Phaethornis whitelyi</i>	Guiana inglesa, East Berbice-Corentyne, Itabu Creek Head, Boundary Camp
USNM 636986	<i>Phaethornis whitelyi</i>	Guiana inglesa, Upper Takutu - Upper Essequibo, Upper Rewa River
LSUMZ 175348	<i>Phaethornis whitelyi</i>	Guiana inglesa, NEEDS EDITING, Kopinang River, 7 km SW Kopinang
AMNH 125324	<i>Phaethornis whitelyi</i>	Guiana inglesa, Minnehaha creek, 18 mi up Potaro Road
COP 4080	<i>Phaethornis whitelyi</i>	Guiana inglesa, Carimang River
LSUMZ 178328	<i>Phaethornis whitelyi</i>	Suriname, Sipaliwini District, Lely Gebergte
LSUMZ 178410	<i>Phaethornis whitelyi</i>	Suriname, Sipaliwini District, Bakhuis Gebergte, ca. 85 km SSE Apura
LSUMZ 178411	<i>Phaethornis whitelyi</i>	Suriname, Sipaliwini District, Bakhuis Gebergte, ca. 85 km SSE Apura
MCZ 143860	<i>Phaethornis whitelyi</i>	Suriname, 4 mile from Lelydorp sta.
CMNH 61733	<i>Phaethornis whitelyi</i>	Guiana Francesa, Saut Tamanoir (Fleuve Mana)
CMNH 62527	<i>Phaethornis whitelyi</i>	Guiana Francesa , Saut Tamanoir (Fleuve Mana)
AMNH 479057	<i>Phaethornis whitelyi</i>	Guiana Francesa, Ipousin, R. Approuague, Cayenne
AMNH 479058	<i>Phaethornis whitelyi</i>	Guiana Francesa, Cayenne
AMNH 479059	<i>Phaethornis whitelyi</i>	Guiana Francesa, Cayenne
AMNH 37053	<i>Phaethornis whitelyi</i>	Guiana Francesa, "Cayenne"
MZUSP 62929	<i>Phaethornis whitelyi</i>	Brasil, Amapá, Serra do Navio
RG 6124	<i>Phaethornis whitelyi</i>	Brasil, Amapá, Serra do Navio

RG 6736	<i>Phaethornis whitelyi</i>	Brasil, Amapá, Serra do Navio
RG 7356	<i>Phaethornis whitelyi</i>	Brasil, Amapá, Serra do Navio
RG 7416	<i>Phaethornis whitelyi</i>	Brasil, Amapá, Serra do Navio
RG 6979	<i>Phaethornis whitelyi</i>	Brasil, Amapá, Serra do Navio
MNRJ 29872	<i>Phaethornis whitelyi</i>	Brasil, Amapá, Serra do Navio
MBML 534	<i>Phaethornis whitelyi</i>	Brasil, Amapá, Serra do Navio
MNRJ 40663	<i>Phaethornis whitelyi</i>	Brasil, Amapá, Serra do Navio, rio Amapari
MPEG 23961	<i>Phaethornis whitelyi</i>	Brasil, Amapá, Serra do Navio, Rio Amapari (0o53'N,52o00'W)
USNM 514732	<i>Phaethornis whitelyi</i>	Brasil, Amapa, margem esquerda do Rio Amapari
USNM 514727	<i>Phaethornis whitelyi</i>	Brasil, Amapa, Porto Platon
USNM 514728	<i>Phaethornis whitelyi</i>	Brasil, Amapa, Porto Platon
MPEG 51005	<i>Phaethornis whitelyi</i>	Brasil, Pará, Almeirim, Estação Ecológica do Jari
MPEG 34534	<i>Phaethornis whitelyi</i>	Brasil, Pará, Rio Trombetas, Cruz Alta (01o30'S 56o45'W)
MPEG 62238	<i>Phaethornis whitelyi</i>	Brasil, Pará, Oriximiná, Porto de Trombetas, Platô Cipô
MNRJ 40686	<i>Phaethornis whitelyi</i>	Brasil, Amazonas, Estrada Manaus - Rio Branco (Manaus) [= BR-164]
MNRJ 40687	<i>Phaethornis whitelyi</i>	Brasil, Amazonas, Granja Modelo, Manaus
INPA 178	<i>Phaethornis whitelyi</i>	Brasil, Amazonas, margem direita do Rio Uatumã, Balbina
INPA 392	<i>Phaethornis whitelyi</i>	Brasil, Amazonas, margem direita do Rio Uatumã
INPA 395	<i>Phaethornis whitelyi</i>	Brasil, Amazonas, margem direita do Rio Uatumã
INPA 536	<i>Phaethornis whitelyi</i>	Brasil, Amazonas, Manaus, Distr. Agropecuário de SUFRAMA,
MPEG 45504	<i>Phaethornis whitelyi</i>	Brasil, Amazonas, Manaus, Distrito Agropecuário da SUFRAMA, ZF-3 km 33 (2o38'S 59o50'W)
AMNH 178989	<i>Phaethornis abnormis</i>	Ecuador, Napo, Rio Suno, acima de Avila
AMNH 178991	<i>Phaethornis abnormis</i>	Ecuador, Napo, Rio Suno, acima de Avila
AMNH 178994	<i>Phaethornis abnormis</i>	Ecuador, Napo, Rio Suno, acima de Avila
CMNH 142855	<i>Phaethornis abnormis</i>	Ecuador, Napo, Avila
CMNH 142899	<i>Phaethornis abnormis</i>	Ecuador, Napo, Avila
MNRJ 40097	<i>Phaethornis abnormis</i>	Ecuador, Napo, Avila, Rio Cochayacu, Napo
MNRJ 40092	<i>Phaethornis abnormis</i>	Ecuador, Napo, Avila, Rio Cochayacu, Napo
MNRJ 40095	<i>Phaethornis abnormis</i>	Ecuador, Napo, Loreto - Avila, Napo
MNRJ 40093	<i>Phaethornis abnormis</i>	Ecuador, Napo, Loreto, N Oriente
MNRJ 40094	<i>Phaethornis abnormis</i>	Ecuador, Napo, Loreto
MNRJ 40089	<i>Phaethornis abnormis</i>	Ecuador, Napo, Loreto
MNRJ 40091	<i>Phaethornis abnormis</i>	Ecuador, Napo, Rio San Miguel, Puerto Lebol, N Oriente
DMNH 59692	<i>Phaethornis abnormis</i>	Ecuador, Napo, Baeza Rd km 17 to Lago Agrio; Lago Agrio, 250 m
ANSP 183107	<i>Phaethornis abnormis</i>	Ecuador, Napo, Zancudo Cocha
LSUMZ 70883	<i>Phaethornis abnormis</i>	Ecuador, Napo Prov., Limoncocha
LSUMZ 82888	<i>Phaethornis abnormis</i>	Ecuador, Napo Prov., Limoncocha
LSUMZ 82890	<i>Phaethornis abnormis</i>	Ecuador, Napo Prov., Limoncocha
LSUMZ 82892	<i>Phaethornis abnormis</i>	Ecuador, Napo Prov., Limoncocha
AMNH 185175	<i>Phaethornis abnormis</i>	Ecuador, Manabi, Baixo San José
AMNH 185177	<i>Phaethornis abnormis</i>	Ecuador, Manabi, Baixo San José
AMNH 185179	<i>Phaethornis abnormis</i>	Ecuador, Manabi, Baixo San José
AMNH 185778	<i>Phaethornis abnormis</i>	Ecuador, Manabi, Baixo San José
ANSP 182295	<i>Phaethornis abnormis</i>	Ecuador, Morona-Santiago, 5 Km SW Taisha
ANSP 182297	<i>Phaethornis abnormis</i>	Ecuador, Morona-Santiago, 5 Km SW Taisha
ANSP 187170	<i>Phaethornis abnormis</i>	Ecuador, Sucumbios, Ca. 14 km N Tigre Playa

ANSP 187176	<i>Phaethornis abnormis</i>	Ecuador, Sucumbios , Ca. 20 km NE Lumbaqui
ANSP 187177	<i>Phaethornis abnormis</i>	Ecuador, Sucumbios , Ca. 20 km NE Lumbaqui
MNRJ 40096	<i>Phaethornis abnormis</i>	Ecuador, Los Ríos , Montalbo, Oriente
MBML 535	<i>Phaethornis abnormis</i>	Ecuador, Los Ríos, Montalvo, Oriente, Equador
MBML 538	<i>Phaethornis abnormis</i>	Ecuador, Chaquisca Yaco, Equador
MZUSP 73255	<i>Phaethornis abnormis</i>	Colombia, Putumayo, San Antonio Guamuez
FMNH 286827	<i>Phaethornis abnormis</i>	Colombia, Putumayo, San Antonio Guamuez
FMNH 292761	<i>Phaethornis abnormis</i>	Colombia, Putumayo, Estacion de Bombeo Guamués
FMNH 292762	<i>Phaethornis abnormis</i>	Colombia, Putumayo, Estacion de Bombeo Guamués
FMNH 292764	<i>Phaethornis abnormis</i>	Colombia, Putumayo, Estacion de Bombeo Guamués
ICN 34056	<i>Phaethornis abnormis</i>	Colombia, Amazonas, Leticia, Quebradon del Ayo., 40 km al sur de La Pedrera
ICN 24427	<i>Phaethornis abnormis</i>	Colombia, Amazonas, Araracuara, rio Caquetá
AMNH 115819	<i>Phaethornis abnormis</i>	Colombia, Caquetá, Florencia
ANSP 151298	<i>Phaethornis abnormis</i>	Colombia , Caqueta , Morelia
ANSP 151299	<i>Phaethornis abnormis</i>	Colombia , Caqueta , Morelia
ICN 33171	<i>Phaethornis abnormis</i>	Colombia, Caquetá, Solano, Chiribiquete, Puerto Abeja
ICN 33233	<i>Phaethornis abnormis</i>	Colombia, Caquetá, Solano, Chiribiquete, Puerto Abeja
ICN 32003	<i>Phaethornis abnormis</i>	Colombia, Caquetá, Rio Cunare, Raudal El Tubo
ICN 32865	<i>Phaethornis abnormis</i>	Colombia, Caquetá, PNN Chiribiquete, rio Mesay
ICN 9628	<i>Phaethornis abnormis</i>	Colombia, Vaupés, Cerro de Mitú
ICN 31814	<i>Phaethornis abnormis</i>	Colombia, Vaupés, Correg. La libertad, Serrania de Taraira
ICN 33039	<i>Phaethornis abnormis</i>	Colombia, Guainía, Puerto Inírida, ca. 1 km NE La Ceiba
ICN 33040	<i>Phaethornis abnormis</i>	Colombia, Guainía, Puerto Inírida, ca. 1 km NE La Ceiba
ICN 33658	<i>Phaethornis abnormis</i>	Colombia, Guaviare, San José del Guaviare
FMNH 277696	<i>Phaethornis abnormis</i>	Peru, Amazonas, Puerto Galilea, Rio Santiago
FMNH 277697	<i>Phaethornis abnormis</i>	Peru, Amazonas, Puerto Galilea, Rio Santiago
LSUMZ 87359	<i>Phaethornis abnormis</i>	Peru, Amazonas Dept., Vicinity Huampami on Río Cenepa
LSUMZ 109370	<i>Phaethornis abnormis</i>	Peru, Loreto Dept., 1.5 km S Libertad, S bank Río Napo, 80 km N Iquitos
LSUMZ 109371	<i>Phaethornis abnormis</i>	Peru, Loreto Dept., 1 km N Río Napo, 157 km by river NNE Iquitos
LSUMZ 109372	<i>Phaethornis abnormis</i>	Peru, Loreto Dept., 1 km N Río Napo, 157 km by river NNE Iquitos
LSUMZ 109375	<i>Phaethornis abnormis</i>	Peru, Loreto Dept., 1 km N Río Napo, 157 km by river NNE Iquitos
LSUMZ 109376	<i>Phaethornis abnormis</i>	Peru, Loreto Dept., 1 km N Río Napo, 157 km by river NNE Iquitos
LSUMZ 114668	<i>Phaethornis abnormis</i>	Peru, Loreto Dept., Lower Rio Napo region E bank Rio Yanayacu, ca 90 Km N Iquitos
LSUMZ 114669	<i>Phaethornis abnormis</i>	Peru, Loreto Dept., Lower Rio Napo region E bank Rio Yanayacu, ca 90 Km N Iquitos
LSUMZ 119368	<i>Phaethornis abnormis</i>	Peru, Loreto Dept., Quebrada Oran, ca 5 km N Rio Amazonas, 85 km NE Iquitos
LSUMZ 119369	<i>Phaethornis abnormis</i>	Peru, Loreto Dept., Quebrada Oran, ca 5 km N Rio Amazonas, 85 km NE Iquitos
LSUMZ 172795	<i>Phaethornis abnormis</i>	Peru, Loreto Dept., Ca. 54 km NNW mouth Río Morona on west bank
AMNH 255264	<i>Phaethornis abnormis</i>	Peru, Boca rio Curaray
AMNH 255265	<i>Phaethornis abnormis</i>	Peru, Boca rio Curaray
MPEG 17274	<i>Phaethornis abnormis</i>	Brasil, Amazonas, Rio Uaupés, afluente direito Rio Negro, Jauareté (0o35'N, 69o11'W)
MPEG 31656	<i>Phaethornis abnormis</i>	Brasil, Amazonas, Igarapé Turi, afluente direito Rio Papuri, afluente Rio Uaupés, Povoação Santa Cruz
MPEG 31657	<i>Phaethornis abnormis</i>	Brasil, Amazonas, Igarapé Turi, afluente direito Rio Papuri, afluente Rio Uaupés,

		Povoação Santa Cruz
MPEG 43013	<i>Phaethornis abnormis</i>	Brasil, Amazonas, Lago Paricá, Maraã, Santa Rita (1o50'N,65o42'W)
MPEG 43014	<i>Phaethornis abnormis</i>	Brasil, Amazonas, Lago Paricá, Maraã, Santa Rita (1o50'N,65o42'W)
MPEG 62446	<i>Phaethornis abnormis</i>	Brasil, Amazonas, Maarã, rio Cumapi
MPEG 59352	<i>Phaethornis abnormis</i>	Brasil, Amazonas, Estrada Manacapuru-Novo Airão km 75 (02o51'S;60o52'W)
MPEG 59353	<i>Phaethornis abnormis</i>	Brasil, Amazonas, Rio Cuiuni, margem direita, Barcelos (00o47'26"S,63o10'13"W)
MPEG 50529	<i>Phaethornis abnormis</i>	Brasil, Amazonas, Rio Jaú, margem esquerda, Novo Airão, Igarapé Patauaú, PNJ (1o52'S, 61o45'W)
MPEG 50530	<i>Phaethornis abnormis</i>	Brasil, Amazonas, Rio Jaú, margem esquerda, Novo Airão, Igarapé Patauaú, PNJ (1o52'S, 61o45'W)
MPEG 62447	<i>Phaethornis abnormis</i>	Brasil, Amazonas, Japurá, rio Acanauí (01o56'12,4"S;66o36'18,8"W)
MPEG 62448	<i>Phaethornis abnormis</i>	Brasil, Amazonas, Japurá, rio Acanauí (01o56'12,4"S;66o36'18,8"W)
MPEG 62449	<i>Phaethornis abnormis</i>	Brasil, Amazonas, Japurá, rio Acanauí (01o56'12,4"S;66o36'18,8"W)
MPEG 62450	<i>Phaethornis abnormis</i>	Brasil, Amazonas, Japurá, rio Acanauí (01o56'12,4"S;66o36'18,8"W)
MPEG 62451	<i>Phaethornis abnormis</i>	Brasil, Amazonas, Japurá, rio Mapari (02o02'59,6"S;67o15'47,1"W)
MPEG 62452	<i>Phaethornis abnormis</i>	Brasil, Amazonas, Japurá, rio Mapari (02o02'59,6"S;67o15'47,1"W)
MPEG 62453	<i>Phaethornis abnormis</i>	Brasil, Amazonas, Japurá, rio Mapari (02o02'59,6"S;67o15'47,1"W)
MPEG 62454	<i>Phaethornis abnormis</i>	Brasil, Amazonas, Japurá, rio Mapari (02o02'59,6"S;67o15'47,1"W)
MPEG 62455	<i>Phaethornis abnormis</i>	Brasil, Amazonas, Japurá, rio Mapari (02o02'59,6"S;67o15'47,1"W)
MPEG 62456	<i>Phaethornis abnormis</i>	Brasil, Amazonas, Japurá, rio Mapari (02o02'59,6"S;67o15'47,1"W)
CMNH 97626	<i>Phaethornis abnormis</i>	Brasil, Amazonas, margem esquerda do Rio Solimões
CMNH 98355	<i>Phaethornis abnormis</i>	Brasil, Amazonas, margem esquerda do Rio Solimões
MPEG 52032	<i>Phaethornis bourcieri</i>	Brasil, Acre, Marechal Taumaturgo, margem esquerda Rio Tejo, ca 5 km da foz (9o00'N,72o42'W)
MPEG 52033	<i>Phaethornis bourcieri</i>	Brasil, Acre, Marechal Taumaturgo, margem esquerda Rio Tejo, ca 5 km da foz (9o00'N,72o42'W)
MPEG 52716	<i>Phaethornis bourcieri</i>	Brasil, Acre, Alto Rio Moa, margem direita, Mâncio Lima, Igarapé Ramon (PNSD 7o27'S, 73o46'W)
MPEG 59922	<i>Phaethornis bourcieri</i>	Brasil, Acre, Porto Acre, Reserva Humaitá (09o45'24,1"S,67o40'14,1"W)
MPEG 59923	<i>Phaethornis bourcieri</i>	Brasil, Acre, Porto Acre, Reserva Humaitá (09o45'24,1"S,67o40'14,1"W)
MPEG 52548	<i>Phaethornis bourcieri</i>	Brasil, Acre, Rio Juruá, margem esquerda, Porto Walter, Igarapé São Luiz (8o50'S, 72o54'W)
MPEG 52549	<i>Phaethornis bourcieri</i>	Brasil, Acre, Rio Juruá, margem esquerda, Porto Walter, Igarapé São Luiz (8o50'S, 72o54'W)
MPEG 58008	<i>Phaethornis bourcieri</i>	Brasil, Acre, PARNA Serra do Divisor, 106 km SW Cruzeiro do Sul (08o20'50"S, 73o18'24"W)
LSUMZ 156242	<i>Phaethornis bourcieri</i>	Peru, Ucayali Dept., SE. slope Cerro Tahuayo, ca. 65 km ENE Pucallpa
LSUMZ 156246	<i>Phaethornis bourcieri</i>	Peru, Ucayali Dept., SE. slope Cerro Tahuayo, ca. 65 km ENE Pucallpa
LSUMZ 156247	<i>Phaethornis bourcieri</i>	Peru, Ucayali Dept., SE. slope Cerro Tahuayo, ca. 65 km ENE Pucallpa
LSUMZ 156249	<i>Phaethornis bourcieri</i>	Peru, Ucayali Dept., W. bank Río Shesha, ca. 65 km ENE Pucallpa
FMNH 320237	<i>Phaethornis bourcieri</i>	Peru, Loreto, Calientillo, Contamana

ANEXO 3. Sequências do gene ND2 de espécies de *Phaethornis* retiradas do GenBank utilizadas no trabalho.

N° Tombo	Táxon	N° do GenBank
UMZ 599	<i>Phaethornis antophilus</i>	EU042574.1
UMZ 604	<i>Phaethornis augusti</i>	EU042576.1
AMNH PEP 1971	<i>Phaethornis griseogularis</i>	EU042578.1
LSUMZ B-35952	<i>Phaethornis longuemareus</i>	EU042580.1
LSUMZ B-1969	<i>Phaethornis atrimentalis</i>	EU042575.1
LSUMZ B-28503	<i>Phaethornis longirostris</i>	EU042579.1
LSUMZ B-12138	<i>Phaethornis syrmatophorus</i>	EU042583.1
LSUMZ B-7812	<i>Phaethornis yaruqui</i>	EU042584.1
LSUMNS B-5479	<i>Phaethornis koepckeae</i>	AY830513.1
LSUMNS B-28342	<i>Phaethornis guy</i>	AY830511.1
LSUMNS B-27511	<i>Phaethornis malaris</i>	AY830514.1
LSUMNS B-9481	<i>Phaethornis ruber</i>	AY830515.1