

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE ZOOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL

RAÍSSA GUERRA SALES

**VARIAÇÃO VOCAL DE ESPÉCIES DA FAMÍLIA THAMNOPHILIDAE (AVES)
ASSOCIADAS A BARREIRAS RIBEIRINHAS NA AMAZÔNIA**

Recife
2016

RAÍSSA GUERRA SALES

**VARIAÇÃO VOCAL DE ESPÉCIES DA FAMÍLIA THAMNOPHILIDAE (AVES)
ASSOCIADAS A BARREIRAS RIBEIRINHAS NA AMAZÔNIA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biologia Animal, Área de Concentração Zoologia, da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Biologia Animal.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Bruna Martins Bezerra
Co-orientador: Prof. Dr. Luciano N. Naka

Recife
2016

Catálogo na fonte
Elaine Barroso
CRB 1728

Sales, Raíssa Guerra

Variação vocal de espécies da família Thamnophilidae (aves) associadas a barreiras ribeirinhas na Amazônia / Raíssa Guerra Sales-Recife: O Autor, 2016.

84 folhas: il., fig., tab.

Orientadora: Bruna Martins Bezerra

Coorientador: Luciano N. Naka

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco.

Centro de Biociências. Biologia Animal, 2016.

Inclui referências, apêndice e anexo

1. Thamnophilidae 2. Canto dos pássaros 3. Amazônia I. Bezerra, Bruna Martins (orientadora) II. Naka, Luciano N. (coorientador) III. Título

598

CDD (22.ed.)

UFPE/CB-2017-285

RAÍSSA GUERRA SALES

**VARIAÇÃO VOCAL DE ESPÉCIES DA FAMÍLIA THAMNOPHILIDAE (AVES)
ASSOCIADAS A BARREIRAS RIBEIRINHAS NA AMAZÔNIA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biologia Animal, Área de Concentração Zoologia, da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Biologia Animal.

Aprovada em: 16/11/ 2016

COMISSÃO EXAMINADORA

Dr. Carlos Barros de Araujo
Universidade Federal da Paraíba

Dr^a. Nicola Schiel
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Dr. Diego Astúa de Moraes
Universidade Federal de Pernambuco

Recife
2016

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha família por todo apoio, paciência e dedicação todos esses anos da minha existência: **Suani Guerra, Jarbas Sales e Ítalo Sales.**

Aos meus orientadores **Bruna Bezerra e Luciano Naka** pelas oportunidades de crescimento profissional e pessoal durante todo o processo, além de toda paciência.

Ao pessoal da Macaulay Library of Natural Sounds: **Greg Budney, Matt Medler e Emma Greig** por todos os ensinamentos, atenção e gravações cedidas.

Aos profissionais e pesquisadores responsáveis pelas gravações que utilizei, pois sem eles não teria minha principal fonte para este trabalho.

Ao professor **Thiago Gonçalves-Souza** da UFRPE, pela atenção e ajuda.

Ao meu anjo da guarda **Jonathan Ramos** (John John), por toda ajuda estatística e salvação em momentos de crises numéricas e toda amizade e apoio desde os tempos de graduação.

Aos meus amigos de vida pelos momentos de força, união e alegria: **Ana Márcia Braga, Andrea Ribeiro, Carol Queiroz, Tirza Xavier, Matheus Giusti, Caio Peixoto, Filipe Bezerra, Bruna Mirely, Paula Maia, Rômulo Nepomuceno, Leonardo Pereira** e, principalmente, ao meu amor **Tomaz Fornelos** por todo suporte e companheirismo. Obrigada pelos momentos maravilhosos!

Ao meu amigo maravilhoso do DF, **Lira Jr. Jaculi**, e às minhas flores **Tarciane Pires** e **Cori Lucena** por toda força e amor envolvidos no processo e por todos os trabalhos e seminários entregues no prazo e com conceito A!

Às pessoas mais livres que conheci: **Phillipe, Celina, Juliana, Helô, Ana Maiara, Leo e Diego** por toda companhia nos momentos mais felizes e engraçados possíveis, em qualquer lugar.

A todos do Ornitolab UFPE pelos momentos de aprendizagem, em especial, à **Flor Maria** que me acompanha desde o meu primeiro campo com aves, a rainha da Caatinga! Meu muito obrigado pelos ensinamentos e conversas.

A toda equipe de professores e técnicos do Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal (UFPE) por todo conhecimento, flexibilidade e ajuda. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), por todo apoio financeiro que viabilizou esta pesquisa.

RESUMO

Populações de aves podem se diferenciar morfológica e/ou geneticamente quando isoladas por uma barreira física. No entanto, ainda é incerto como a variação vocal em aves acompanha mudanças genotípicas e fenotípicas. Na região amazônica do Escudo das Guianas tem sido descrita uma importante zona de sutura, onde numerosos pares de espécies e diferentes subespécies se substituem geograficamente em margens opostas dos rios Branco e Negro. Cerca de um terço das espécies de aves típicas das florestas de terra firme (totalizando aproximadamente 80 taxa) possuem uma subespécie diferente ou uma alo-espécie do outro lado dessas barreiras. Das quase 80 espécies de aves com estrutura genética ou morfológica na região, pelo menos 15 pertencem à família *Thamnophilidae*. Este grupo é ideal para entender a relação entre as barreiras físicas e a variação vocal, pois acredita-se que estas aves herdaram o canto geneticamente. Além do mais, por terem cantos relativamente simples e estereotipados, são relativamente fáceis de serem analisados. Desta forma, estudando a variação vocal de populações isoladas por uma barreira física, é possível avaliar se estas se encontram em processo de diferenciação. Historicamente, o principal gargalo na realização de estudos bioacústicos era a obtenção de amostras do canto das aves para posterior análise em softwares específicos. Na última década, o número de amostras disponíveis em bancos de dados online tem aumentado dramaticamente. Infelizmente, o principal arquivo acústico digital do mundo (Xeno-canto) disponibiliza os arquivos de forma comprimida (mp3), o que tem levantado críticas sobre seu uso em pesquisas bioacústicas. Portanto, para poder aproveitar o enorme acervo disponível de gravações digitais disponíveis neste tipo de arquivos acústicos, é necessário avaliar a utilidade desse material em formato mp3. O capítulo 1 teve como objetivo testar se o formato comprimido de áudio distorce significativamente as gravações ornitológicas, avaliando se todas as variáveis medidas são afetadas da mesma forma ou se alguns parâmetros podem ser utilizados apesar do formato de qualidade reduzida, levando em consideração as propriedades acústicas da Família *Thamnophilidae*. Para esse teste foram utilizadas 27 gravações referentes a 3 espécies dessa família (*Herpsilochmus dorsimaculatus*, *Thamnophilus murinus* e *Thamnophilus amazonicus*), e testadas 27 variáveis acústicas. As variáveis vocais mais utilizadas em pesquisas ornitológicas (frequência, tempo, nº de notas e ritmo) não sofreram distorções significativas após compressão. No Capítulo 2, avaliei o grau de variação vocal em 19 linhagens de aves dessa família no Escudo das Guianas, onde várias espécies possuem diferentes graus de variação genética e fenotípica. Utilizando apenas as variáveis não afetadas pelo formato do áudio, avaliei se o grau de variação vocal está associado com o grau de variação genética entre os 19 pares de taxa separados pelas barreiras ribeirinhas. Os resultados sugerem que a variação genética não é um bom preditor da variação vocal; algumas espécies com pouca variação genética apresentaram uma grande variação vocal e pares de taxa muito diferenciados geneticamente tiveram cantos pouco diferenciados.

Palavras-chave: wav. mp3. bioacústica. especiação. papa-formigas.

ABSTRACT

Bird populations can differentiate morphologically and/or genetically when isolated on opposite sides of a geographic barrier. However, remains uncertain how vocal variation follows these genotypic and phenotypic changes. In the Amazon region the Guiana Shield has been described as an important suture zone, where several pairs of different species and subspecies geographically replace on opposite banks of the Branco and Negro rivers. About a third of the bird species typical of upland forests (totaling approximately 80 taxa) have a different subspecies or allo-species across these barriers. Of the nearly 80 species of birds with genetic or morphological structure in the region, at least 15 belong to *Thamnophilidae* family. This group is perfect to understand the relationship between physical barriers and vocal variation, since it's believed that these birds inherit genetically song. Moreover, by having relatively simple and stereotyped songs are relatively easy to be analyzed. Thus, studying the vocal range of isolated populations by a physical barrier, it is possible to evaluate whether these are in the process of differentiation. Historically, the main bottleneck in the realization of bioacoustics studies was to obtain samples of birdsong for later analysis of specific software. In the last decade, the number of samples available in online databases has increased dramatically. Unfortunately, the main digital sound file of the world (Xeno-canto) provides the compressed form of files (mp3), which is not suitable for bioacoustical research. Thus, there's a need to assess the usefulness of the material, taking into account the available audio format. Chapter 1 aimed to test whether the compressed audio format significantly distorts ornithological recordings assessing whether all the measured variables are affected in the same way or if some parameters can be used despite the reduced quality format, taking into account the acoustic properties of the *Thamnophilidae* Family. For this test were used 27 recordings relating to 3 species of this family (*Herpsilochmus dorsimaculatus*, *Thamnophilus murinus* and *Thamnophilus amazonicus*) and tested 27 acoustic variables. The vocal variables most used in ornithological research (frequency, time, number of notes and pace) showed no significant distortions after compression. In Chapter 2, I evaluated the degree of vocal range in 19 strains of birds of this family in the Guiana Shield, where several species have different degrees of genetic and phenotypic variation. Using only the variables unaffected by the audio format, evaluated if the degree of vocal variation is associated with the degree of genetic variation among the 19 pairs of taxa divided by river barriers. The results suggest that genetic variability is not a good predictor of the vocal range; some species with little genetic variation showed a great vocal variation and differentiated pairs of taxa had little genetically different songs.

Keywords: wav. mp3. bioacoustics. speciation. antshrike.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 COMPARAÇÃO ENTRE FORMATOS DE ÁUDIO (MP3 E WAV) PARA ESTUDOS BIOACÚSTICOS NA FAMÍLIA THAMNOPHILIDAE (AVES)	15
3 VARIAÇÃO VOCAL DE ESPÉCIES DA FAMÍLIA THAMNOPHILIDAE (AVES) ASSOCIADAS A BARREIRAS RIBEIRINHAS NA AMAZÔNIA.....	40
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	63
REFERÊNCIAS	64
APÊNDICE A - LISTA DAS AMOSTRAS E OS RESPECTIVOS RESPONSÁVEIS PELO BANCO DE DADOS (GRAVAÇÕES) UTILIZADAS NO CAPÍTULO 1 DESTE TRABALHO.	67
APÊNDICE B - LISTA DAS AMOSTRAS E OS RESPECTIVOS RESPONSÁVEIS PELO BANCO DE DADOS (GRAVAÇÕES) UTILIZADAS NO CAPÍTULO 2 DESTE TRABALHO.	68
APÊNDICE C - HISTOGRAMAS DAS VARIÁVEIS DO GRUPO DE TEMPO MOSTRANDO A DENSIDADE DOS DADOS PARA OS DOIS FORMATOS DE ÁUDIO TESTADOS (WAV E MP3), PARA AS TRÊS ESPÉCIES TESTADAS.....	72
APÊNDICE D - HISTOGRAMAS DAS VARIÁVEIS DO GRUPO DE FREQUÊNCIA MOSTRANDO A DENSIDADE DOS DADOS PARA OS DOIS FORMATOS DE ÁUDIO TESTADOS (WAV E MP3), PARA AS TRÊS ESPÉCIES TESTADAS.....	73
APÊNDICE E - HISTOGRAMAS DAS VARIÁVEIS DO GRUPO DE POTÊNCIA MOSTRANDO A DENSIDADE DOS DADOS PARA OS DOIS FORMATOS DE ÁUDIO TESTADOS (WAV E MP3), PARA AS TRÊS ESPÉCIES TESTADAS.....	75
APÊNDICE F - HISTOGRAMAS DAS VARIÁVEIS DO GRUPO DE ENTROPIA MOSTRANDO A DENSIDADE DOS DADOS PARA OS DOIS FORMATOS DE ÁUDIO TESTADOS (WAV E MP3), PARA AS TRÊS ESPÉCIES TESTADAS.....	76
APÊNDICE G - HISTOGRAMAS DAS VARIÁVEIS Nº DE NOTAS E RITMO MOSTRANDO A DENSIDADE DOS DADOS PARA OS DOIS FORMATOS DE ÁUDIO TESTADOS (WAV E MP3), PARA AS TRÊS ESPÉCIES TESTADAS.....	77
ANEXO A - SONOGRAMAS DOS PARES DE TAXA DA FAMÍLIA THAMNOPHILIDAE (EXEMPLARES DO E E W, RESPECTIVAMENTE) NO ESCUDO DAS GUIANAS, AMAZÔNIA	78

Nota: esse capítulo irá gerar um artigo científico que conta com a colaboração de outros pesquisadores. O mesmo será submetido para o periódico internacional *Journal of Ornithology* (Qualis A2, Área de Zoologia). Entretanto, para facilitar a leitura, nem todas as regras de formatação da revista estão sendo seguidas. Por exemplo, as figuras estão sendo inseridas no decorrer do texto para uma leitura mais harmoniosa. Além disso, a língua aqui ainda é o português, o que será alterado para inglês na versão final do artigo.

INTRODUÇÃO

Na região amazônica, grandes rios representam importantes barreiras biogeográficas para alguns grupos de organismos, especialmente para primatas e aves (AYRES & CLUTTON-BROCK, 1992; CAPPARELLA, 1991). Estas barreiras físicas, chamadas de barreiras ribeirinhas, são importantes na definição do padrão de distribuição de muitas espécies de aves, as quais podem apresentar populações diferenciadas (espécies ou subespécies) em margens opostas destes rios (CAPPARELLA, 1991; HAFFER, 1969). Em geral, estas populações podem se diferenciar morfológica e/ou geneticamente em lados opostos dos rios (NAKA et al., 2012), no entanto, pouco se sabe de como mudanças nas vocalizações das aves acompanham estas mudanças fenotípicas e genotípicas.

A bioacústica, através do estudo das vocalizações, representa uma importante ferramenta taxonômica em que, juntamente com os aspectos morfológicos e moleculares, pode ajudar a caracterizar as populações animais. Os cantos das aves, assim como outros caracteres usados por estas na escolha do parceiro (plumagem, comportamento) podem ser especialmente importantes no processo de especiação (EDWARDS et al., 2005). Desta forma, mudanças nas vocalizações das aves podem ser associadas com o processo de especiação, e o surgimento de diferenças vocais pode funcionar como barreira de isolamento reprodutivo pré-zigótica (EDWARDS et al., 2005).

Em geral, estudos de variação vocal, por não precisarem de espécimes ou trabalho laboratorial, precedem estudos morfológicos e genéticos. Há vários exemplos na ornitologia onde populações são definidas como espécies distintas por apresentar diferenças vocais (COHN-HAFT & BRAVO, 2013; ISLER et al., 2002, 2007; ISLER & WHITNEY, 2011). Em geral, o isolamento reprodutivo de populações alopátricas, inicialmente descritas como

espécies com base em diferenças vocais (por ex., no gênero *Hypocnemis*, ISLER et al., 2007), são posteriormente confirmadas com dados moleculares (por ex., TOBIAS et al., 2008). Existem, inclusive, protocolos baseados em dados empíricos que definem o número de diferenças vocais mínimas necessárias para considerar duas populações alopátricas de aves como diferentes espécies biológicas (ISLER et al., 1998).

Diferenças morfológicas podem ocorrer em decorrência de adaptações a condições ambientais (JAMES, 1982, 1983), ou em decorrência do isolamento geográfico (BRELSFORD, 2011). Quando se trata da diferenciação de populações separadas por barreiras biogeográficas, essas mudanças podem ocorrer através de diversos fatores, e entender como o isolamento geográfico e a variação genética afetam caracteres vocais e morfológicos é importante para compreender o processo de especiação e diferenciação. O canto das aves faz parte do seu fenótipo, e assim como as variáveis morfológicas, pode variar em populações isoladas em decorrência de processos seletivos (como seleção sexual) ou adaptativos (TOBIAS et al., 2010), processos neutrais, ou pode ainda permanecer sem modificações aparentes, se estes processos não estiverem atuando nessas populações.

Historicamente, os estudos com vocalizações de aves envolviam a coleta de sons na natureza, utilizando gravações e softwares para posterior análise do material obtido (PARKER et al., 1991). Nas últimas três décadas, foram criados arquivos acústicos em instituições acadêmicas. Estes arquivos, curados de forma profissional por instituições de renome internacional, funcionam como coleções biológicas e disponibilizam as amostras a pesquisadores interessados. Mais recentemente, como resultado da popularização da ciência, surgiram iniciativas internacionais que contam com material coletado por cientistas e leigos, aumentando de forma considerável o número de amostras disponíveis. Diferente dos arquivos acústicos tradicionais, o envio dos arquivos de som nestas iniciativas online é facilitado pelo uso de arquivos comprimidos (ocupando menor tempo e menor amplitude de frequência para o envio dos arquivos), como o mp3, o que implica numa compressão do som com as consequentes mudanças nas propriedades físicas (REMPEL et al., 2005).

As vocalizações das aves podem variar em diversos aspectos, desde a fonologia (que representa a organização dos sons no canto) e complexidade das sílabas, até a organização sintática (CATCHPOLE & SLATER, 2008). A hipótese de reconhecimento de espécies propõe que diferenças na estrutura do canto entre espécies diferenciadas funcionariam como um mecanismo para evitar ou reduzir a hibridização, assim como se acredita que a divergência na plumagem possa ter evoluído para evitar erros de acasalamento (SEDDON, 2005). A divergência nos cantos em populações alopátricas de *Suboscines*, cujas diferenças

vocais são geneticamente determinadas, devem contribuir para o isolamento reprodutivo (EDWARDS et al., 2005).

A família *Thamnophilidae* é típica da Região Neotropical, possuindo 211 espécies distribuídas em 45 gêneros e 518 taxa (ZIMMER & ISLER, 2016). Essa família é um grupo extenso da avifauna do Escudo das Guianas, inclusive com várias espécies e subespécies endêmicas da região. Caracterizam-se por aves de tamanhos pequeno a médio, a maioria com asas curtas, pernas e pés fortes, muitos com cauda curta, mas alguns com cauda longa, bico proporcionalmente grande, alguns com bico curvo; plumagem macia, geralmente não brilhante, mas muitos com mancha brilhante ou branco nas costas (ZIMMER & ISLER, 2016).

As aves da Família *Thamnophilidae* (conhecidas como papa-formigas) fazem parte de um grupo ideal para realizar estudos bioacústicos. Diferente dos Oscines, cujos cantos podem variar geograficamente por terem um componente cultural associado com o aprendizado, se acredita que os Suboscines, como os papa-formigas, herdaram o canto geneticamente (ISLER et al., 1998; KROODSMA, 1984). Do ponto de vista prático, o canto dos *Thamnophilidae* é estereotipado e relativamente simples de analisar (SEDDON, 2005). Por possuírem espécies com diferentes graus de variação genética e morfológica, a escolha desta Família se torna interessante do ponto de vista taxonômico e biogeográfico. Desta forma, mudanças geográficas no canto dos *Thamnophilidae* podem ser um indicativo de que populações isoladas tenham seguido caminhos evolutivos independentes (ISLER et al., 1998). Assim, o canto pode ser usado como uma ferramenta taxonômica para a identificação das mudanças evolutivas nas populações de uma das famílias numericamente mais importantes da região Neotropical. Os *Thamnophilidae*, com 34 gêneros e 80 espécies registradas no escudo das Guianas, representam aproximadamente 8% das espécies de aves registradas na Bacia do Rio Branco (NAKA et al., 2006).

No escudo das Guianas, cerca de um terço das espécies de aves típicas das florestas de terra firme possuem estrutura genética associada com algum rio (NAKA, 2011). Os rios Branco e Negro atuam como as duas principais barreiras biogeográficas para a avifauna amazônica, sendo a porção próxima da boca do Rio Negro, a mais importante barreira no Escudo das Guianas (NAKA, 2011). O Rio Branco, por sua vez, é a segunda maior barreira biogeográfica, sendo responsável por definir a distribuição geográfica de, pelo menos, 40 pares de táxons de aves (espécies e subespécies) endêmicas das florestas de terra firme da região amazônica (NAKA et al., 2012). O interflúvio Branco/Negro parece desempenhar, também, um significativo papel na delimitação de pares de taxa, ilustrando a importância da

região como uma zona de transição entre as áreas de endemismo que acompanham o interflúvio (NAKA, 2011).

REFERÊNCIAS

- AYRES, J. M. & CLUTTON-BROCK, T. H. River, boundaries and species range size in Amazonian primates. **The American Naturalist**, 140(3):531 – 537. 1992.
- BRELSFORD, A. Hybrid speciation in birds: allopatry more important than ecology? **Molecular Ecology**, 20(18):3705-3707. 2011.
- CAPPARELLA, A.P. Neotropical avian diversity and riverine barriers. **Acta Congressus Internationalis Ornithologici**, 20:307-316. 1991.
- CATCHPOLE, C. K. & SLATER, P. J. B. **Bird Song: Biological Themes and Variations**. New York: Cambridge University Press. 2008.
- COHN-HAFT, M. & BRAVO, G. A. **A new species of *Herpsilochmus antwren* from west of the Rio Madeira in Amazonian Brazil**. In: Handbook of the Birds of the World. Special Volume: New Species and Global Index, Barcelona, Lynx Edicions, p. 272 – 276. 2013.
- EDWARDS, S.V.; KINGAN, S. B.; CALKINS, J. D.; BALAKRISHNAN, C. N.; JENNINGS, W. B.; SWANSON, W. J.; MICHAEL D. SORENSON, M. D. Speciation in birds: Genes, geography, and sexual selection. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, 102(1):6550-6557. 2005.
- HAFFER, J. Speciation in Amazonian Forest Birds. **Science**, 165(3889):131-137. 1969.
- ISLER, M. L.; ISLER, P.; WHITNEY, B. Use of vocalizations to establish species limits in antbirds (Passeriformes: Thamnophilidae). **The Auk**, 115(3):577-590. 1998.
- ISLER, M. L.; ALONSO, J. A.; ISLER, P. R.; VALQUI, T.; BEGAZO, A.; WHITNEY, B. M. Rediscovery of a cryptic species and description of a new subspecies in the *Myrmeciza hemimelaena* complex (Thamnophilidae) of the neotropics. **The Auk**, 119(2):362-378. 2002.
- ISLER, M. L.; ISLER, P. R., WHITNEY, B. M. Species limits in antbirds (Thamnophilidae): the warbling antbird (*Hypochemis cantator*) complex. **The Auk**, 124(1):11-28. 2007.
- ISLER, M. L. & WHITNEY, B. M. Species Limits in Antbirds (Thamnophilidae): The Scale-Backed Antbird (*Willisornis poecilinotus*) Complex. **The Wilson Journal of Ornithology**, 123(1):1-14. 2011.
- JAMES, F.C. The ecological morphology of birds: a review. **Annales Zoologici Fennici**, 19: 265-275. 1982.
- JAMES, F.C. Environmental Component of Morphological Differentiation in Birds. **Science**, 221(4606):184-186. 1983.
- KROODSMA, D. E. Songs of the Alder Flycatcher (*Empidonax alnorum*) and Willow Flycatcher (*Empidonax traillii*) are innate. **The Auk**, 101:13-24. 1984.
- NAKA, L. N. Avian distribution patterns in the Guiana Shield: implications for the delimitation of Amazonian areas of endemism. **Journal of Biogeography**, 38(4):681-696. 2011.

NAKA, L. N.; COHN-HAFT, M.; MALLET-RODRIGUES, F.; SANTOS, M. P. D.; TORRES, M. F. The avifauna of the Brazilian state of Roraima, bird distribution and biogeography in the Rio Branco basin. **Revista Brasileira de Ornitologia**, 14(3):197-238. 2006.

NAKA, L. N.; BECHTOLDT, C. L.; HENRIQUES, L. M. P.; BRUMFIELD, R. T. The role of physical barriers in the location of avian suture zones in the Guiana Shield, northern Amazonia. **The American Naturalist**, 179(4):115-132. 2012.

PARKER, T. A. III. On the use of tape recorders in avifaunal surveys. **Auk**, 108:443–444. 1991.

REMPEL, R. S.; HOBSON, K. A.; HOLBORN, G.; WILGENBURG, S. L. V.; ELLIOTT, J. Bioacoustic monitoring of forest songbirds: interpreter variability and effects of configuration and digital processing methods in the laboratory. **Journal of Field Ornithology**, 76(1):1-11. 2005.

SEDDON, N. Ecological adaptation and species recognition drives vocal evolution in neotropical suboscine birds. **Evolution**, 59(1):200-215. 2005.

TOBIAS, J. A. BATES, J. M.; HACKETT, S. J.; SEDDON, N. Comment on “The Latitudinal Gradient in Recent Speciation and Extinction Rates of Birds and Mammals”. **Science**, 319, 901c. 2008.

TOBIAS, J. A.; Seddon, N.; Spottiswoode, C. N.; Pilgrim, J. D.; Fishpool, L. D. C.; Collar, N. J. Song divergence by sensory drive in Amazonian birds. **Evolution**, 64(10):2820-2839. 2010.

ZIMMER, K. & ISLER, M.L. **Typical Antbirds (Thamnophilidae)**. In: del Hoyo, J., Elliott, A., Sargatal, J., Christie, D.A. & de Juana, E. (eds.). *Handbook of the Birds of the World Alive*. Lynx Edicions, Barcelona. 2016.

**COMPARAÇÃO ENTRE FORMATOS DE ÁUDIO (MP3 E WAV) PARA ESTUDOS
BIOACÚSTICOS NA FAMÍLIA THAMNOPHILIDAE (AVES)**

Nota: esse capítulo irá gerar um artigo científico que conta com a colaboração de outros pesquisadores. O mesmo será submetido para o periódico internacional *Journal of Ornithology* (Qualis A2, Área de Zoologia). Entretanto, para facilitar a leitura, nem todas as regras de formatação da revista estão sendo seguidas. Por exemplo, as figuras estão sendo inseridas no decorrer do texto para uma leitura mais harmoniosa. Além disso, a língua aqui ainda é o português, o que será alterado para inglês na versão final do artigo.

2.1 INTRODUÇÃO

A comunicação acústica no mundo animal está relacionada com importantes interações biológicas, geralmente entre indivíduos da mesma espécie, que ajudam no processo de comunicação em diversas situações como alarme, reprodução, presença de alimento ou predador (SEYFARTH et al., 2010). As propriedades acústicas dos animais podem variar, pelo menos, em três fatores: (1) adaptação a vários fatores ecológicos, incluindo adaptação acústica para condições ambientais locais, (2) novas mutações que podem ser mais eficazes na estimulação de receptores da mesma espécie do sinal (e.g., seleção sexual), e (3) interações interespecíficas que podem levar tanto a convergência como a divergência dos sons (WEIR & WHEATCROFT, 2011).

Em 1929, Albert R. Brand conseguia produzir um gráfico a partir de um som através dos “pitches” (ciclos por segundo), dispositivos de gravações com fita magnética eram desenvolvidos e Fritz Pfleumer tirou a primeira patente em fita cassete (BAKER, 2001). Em 1935, um gravador (dispositivo de reprodução) chamado de magnetophon foi produzido por uma empresa alemã de eletrônicos. Um ano depois, o magnetophon era usado para fazer a primeira gravação em fita magnética da uma apresentação da Orquestra Filarmônica de Londres em Ludwigshafen (MCGRATH, 1999). Deste então, os materiais e equipamentos disponíveis para gravação de vocalizações de aves rapidamente proliferaram e evoluíram para uma instrumentação de qualidade cada vez melhor. A grande variedade de microfones, gravadores, e superfícies de gravação (fitas, cds, memórias digitais) oferecidos comercialmente, popularizou imensamente o uso destes equipamentos e portanto o número de gravações disponíveis tem aumentado exponencialmente.

A bioacústica, através do estudo das vocalizações, representa uma importante ferramenta taxonômica em que, juntamente com os aspectos morfológicos e moleculares,

pode ajudar a caracterizar as populações animais (PADIAL et al., 2008; ISLER et al., 2011; MEYER et al., 2012). Além da taxonomia, estudos nas áreas da evolução (GONZALEZ-VOYER et al., 2013; TIETZE et al., 2011, 2015) e comportamento (SEYFARTH et al., 2010; ROSA et al., 2016) também utilizam as expressões sonoras dos animais na caracterização acústica de populações e espécies. O canto das aves, por exemplo, assim como outros caracteres usados por estas na escolha do parceiro (plumagem, comportamento) podem ser especialmente importantes no processo de especiação (EDWARDS et al., 2005).

Historicamente, os estudos com vocalizações de aves envolviam a coleta de sons na natureza, utilizando gravações e softwares para posterior análise do material obtido (PARKER et al., 1991). Acompanhando a crescente disponibilidade de gravações realizadas principalmente por cientistas, nas últimas três décadas foram criados diversos arquivos acústicos em instituições acadêmicas, como a Macaulay Library da Universidade de Cornell, a British Library of Natural Sounds e o arquivo acústico da UNICAMP, entre outros. As gravações depositadas nestas e outras instituições passaram a representar uma parte importante das amostras utilizadas nos estudos. Estes arquivos, curados por profissionais em instituições de renome internacional, funcionam como coleções biológicas e disponibilizam as amostras a pesquisadores interessados. Mais recentemente, como resultado da popularização da ciência, surgiram iniciativas internacionais que aproveitam material acústico coletado por cientistas e leigos, aumentando de forma considerável o número de amostras disponíveis. Duas iniciativas fora das grandes instituições acadêmicas chamam a atenção pelo número elevado de gravações disponíveis, que incluem os sites Wikiaves (www.wikiaves.com.br) e Xeno-canto (www.xeno-canto.org). Wikiaves, por exemplo, é um especializado em disponibilizar fotografias e gravações de aves brasileiras (total de 106.425 gravações referentes a 1.681 espécies de aves). Xeno-canto é uma iniciativa internacional, com foco em todas as aves do mundo, que conta com 329.267 gravações de aves.

Diferente dos arquivos acústicos tradicionais, o envio dos arquivos de som nestas iniciativas online é facilitado pelo uso de arquivos comprimidos, ocupando menos espaço de armazenamento nos servidores e um menor tempo para a transferência dos arquivos digitais pela internet. As amostras neste tipo de arquivos não precisam ser solicitadas a um curador, pois todas as amostras se encontram disponíveis para download. Estas características estimularam o crescimento desproporcional deste tipo de arquivos online, em relação aos arquivos acústicos tradicionais das instituições científicas, que armazenam as gravações em formatos não comprimidos (por ex., formato wav). Estes bancos de dados disponíveis online disponibilizam os arquivos de áudio em formatos comprimidos, como mp3, o que implica

numa compressão do som com as consequentes mudanças nas suas propriedades físicas (REMPEL et al., 2005).

Embora o uso de formatos comprimidos tenha se popularizado em arquivos online, estes não são recomendados como formatos de gravação em estudos voltados para bioacústica (SPECHT, 2004). De fato, muitos gravadores (leigos e profissionais) costumam gravar em formato wav sem compressão, mas comprimem os arquivos para depositar estas gravações nos sites acima mencionados. A compressão dos arquivos de áudio no formato mp3 se dá pelo uso de um algoritmo e existem diversos tipos de transformações, dependendo do grau de compressão dos arquivos. Esse tipo de algoritmo comprime arquivos de som por omissão psicoacústica de dados inaudíveis para o ser humano, isto é, frequências que o ouvido humano não consegue distinguir: frequências < 20 Hz e > 20.000 Hz (MUZET, 2007). Isto permite que gravações que demandariam muita memória, possam ser armazenadas em meios de comunicação relativamente pequenas, como CDs. Entretanto, esta transformação acaba reduzindo a qualidade da gravação (bits), principalmente se apresentar altas frequências (SPECHT, 2004). Por isso, gravações em formato sem compressão são recomendadas em trabalhos científicos.

Na ornitologia, os arquivos em mp3 ainda são amplamente utilizados e muitos autores vêm utilizando gravações disponibilizadas através de Xeno-canto, como fonte de dados para pesquisas em diversas áreas, incluindo estudos que associam a variação vocal com filogenias moleculares (RHEINDT et al., 2008; ZUCCON et al., 2012), sistemática (ISLER et al., 2012), estudos evolutivos (WEIR & WHEATCROFT, 2011; GONZALEZ-VOYER et al., 2013), biogeográficos (CUERVO et al., 2014), comportamentais (TOUCHTON et al., 2014; ROSA et al., 2016) e fenológicos (BUXTON et al., 2016). Dado o uso difundido de arquivos comprimidos no formato mp3 em estudos com aves, é fundamental avaliar o efeito da transformação de arquivos de áudio em trabalhos bioacústicos nesse grupo, procurando avaliar como e quais variáveis acústicas são mais afetadas pela compressão do som. Neste capítulo avaliamos o uso do mp3 em três espécies da família *Thamnophilidae*: *Herpsilochmus dorsimaculatus*, *Thamnophilus amazonicus* e *Thamnophilus murinus*, cujas vocalizações apresentam claras diferenças vocais entre si, em relação a diversos parâmetros acústicos (e.g., frequências máximas e mínimas, número de notas, tempo, etc). A família escolhida é especialmente relevante, pois além de ser um táxon numericamente importante para a região Neotropical, numerosas populações tem sido recentemente elevadas a nível de espécie baseado em diferenças vocais (e.g., *Hypocnemis cantator* e *Hypocnemis flavescens*; ISLER et al., 2007).

O objetivo desse trabalho é comparar se diferentes parâmetros acústicos disponíveis para medida em Raven Pro 1.5 (Cornell Lab of Ornithology Bioacoustics Research Program) (CHARIF et al., 2010), um dos softwares mais amplamente utilizados em estudos de vocalizações em aves, são significativamente distorcidos após conversão de formatos wav para mp3, levando em consideração as propriedades acústicas da família *Thamnophilidae* (Passeriformes). Estudos que testem essa interferência nas gravações ornitológicas são escassos (e.g., REMPEL, 2005). Caso haja diferenças significativas nos dois formatos, é importante avaliar especificamente quais tipos de variáveis (tempo, frequência, entropia, potência, número de notas, ritmo) são afetadas pelo formato digital. Isso nos permitirá saber o quanto o uso do mp3 afeta a integridade dos dados em pesquisas com essa família de aves e se há algum tipo de restrição no uso de formatos de áudio comprimidos.

2.2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.2.1 Amostra e Processamento de Dados

A coleta de dados vocais foi realizada a partir de gravações depositadas no arquivo acústico Macaulay Library of Natural Sounds (www.macaulaylibrary.org) e da coleção pessoal de Luciano N. Naka (Apêndice A). Selecionei apenas gravações cuja qualidade (baixo ruído de fundo e qualidade da captação do som) permitisse realizar medidas de forma inequívoca. O formato original dos arquivos utilizados foi wav. Estes arquivos foram importados no programa Raven Pro 1.5 (CHARIF et al, 2010). Foram utilizadas 27 gravações do canto principal de indivíduos adultos, machos e diferentes (9 de cada espécie) de três espécies de aves da família *Thamnophilidae*: *Herpsilochmus dorsimaculatus*, *Thamnophilus murinus* e *Thamnophilus amazonicus*. As mesmas gravações foram analisadas no formato wav e mp3.

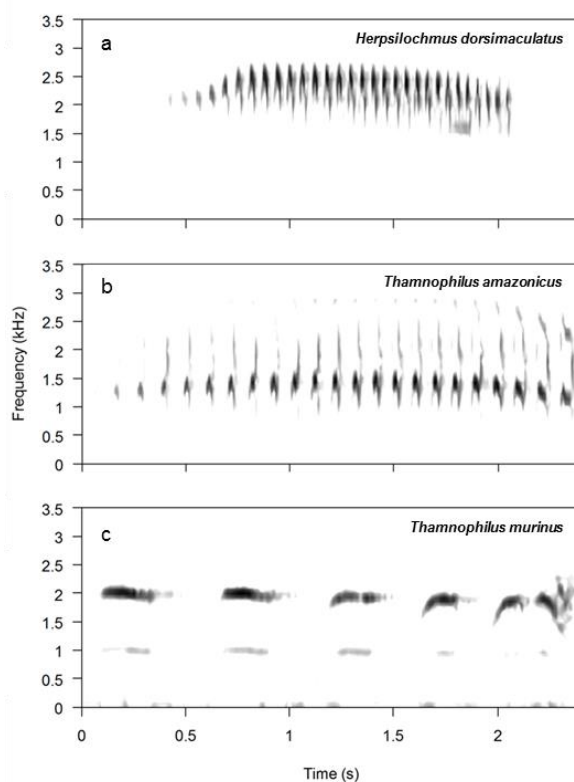
Para realizar as análises, as gravações originais em wav foram convertidas (comprimidas) para o formato mp3. Entretanto, devido a que o formato de áudio em mp3 não é compatível com Raven Pro (o programa utilizado para as análises) foi necessário reconverter estas para o formato wav. Esta reconversão funciona para poder utilizar arquivos em formato mp3 no RAVEN PRO, mas os formatos comprimidos não podem ser descomprimidos com o software.

2.2.2 Análises Acústicas

O objetivo deste estudo foi incluir a maior quantidade possível de variáveis acústicas. Desta forma, utilizamos todas variáveis de tempo, frequência, entropia e potência disponíveis no Programa Raven Pro 1.5 (Cornell Lab of Ornithology Bioacoustics Research Program) (CHARIF et al, 2010). O número de notas e o ritmo foram calculados diretamente dos sonogramas. No total, foram medidos 27 parâmetros vocais (Tabela 1). A conversão dos arquivos originais em formato wav para o formato mp3 foi realizada utilizando o programa Audacity® 2.1.1 (Audacity Team, 2016). Significância foi considerada quando $p \leq 0.05$.

Os estudos de caso selecionados incluem cantos bem diferenciados em relação a i) o número de notas (médias de 5 em *T. murinus* e 35 em *H. dorsimaculatus*), ii) frequência mínima (600 Hz em *T. amazonicus* e 1200 Hz em *H. dorsimaculatus*) e iii) frequência máxima (1500 Hz em *T. amazonicus* e 2100 Hz em *H. dorsimaculatus*) (Figura 1).

Figura 1: Representação gráfica do canto principal das três espécies analisadas neste trabalho. a) Chorozinho-de-costas-manchadas (*Herpsilochmus dorsimaculatus* – PNJUA53, LNN); b) Choca-canela (*Thamnophilus amazonicus* – ML64556); e c) Choca-murina (*Thamnophilus murinus* – ML51349).



Fonte: Macaulay Library of Natural Sounds e LNN.

Para analisar o canto das três espécies utilizei tanto as medidas chamadas de ‘medidas robustas’, as quais independem da localização do cursor na tela de análise, como as chamadas

‘não-robustas’, que dependem da localização do cursor (Tabela 1). As definições de cada parâmetro foram feitas com base no manual do Raven Pro 1.5 (CHARIF et al., 2010)

Tabela 1 - Classificação dos parâmetros vocais medidos quanto à robustez dos dados.

Variável	Tipo
Amplitude de frequência 90%	Não-robusta
Alta frequência	Robusta
Duração 90%	Não-robusta
Duração total	Não-robusta
Energia	Não-robusta
Entropia agregada	Não-robusta
Entropia máxima	Não-robusta
Entropia média	Não-robusta
Entropia mínima	Não-robusta
Frequência 5%	Robusta
Frequência 95%	Robusta
Frequência central	Robusta
Frequência máxima	Robusta
Frequência mínima	Robusta
Número de notas	Não-robusta
Pico de tempo	Não-robusta
Potência máxima	Robusta
Potência média	Não-robusta
Primeiro quarilo de frequência	Robusta
Primeiro quartil de tempo	Robusta
Ritmo	Não-robusta
Tempo 5%	Não-robusta
Tempo 95%	Não-robusta
Tempo central	Não-robusta
Tempo máximo	Não-robusta
Tempo mínimo	Robusta
Terceiro quartil de frequência	Robusta
Terceiro quartil de tempo	Robusta

Fonte: O Autor (2016).

2.2.2.1 Parâmetros vocais de tempo (Unidade: segundos)

Tempo máximo (Max Time): No sonograma, é a primeira vez na seleção em que ocorre uma amostra com amplitude igual à amplitude máxima. No espectrograma, a primeira vez na seleção em que um ponto desse espectrograma ocorre com um valor de potência igual à potência máxima.

Tempo central (Center Time): O ponto no tempo no qual a seleção é dividida em dois intervalos de tempo com a mesma energia.

Tempo mínimo (Min Time): A primeira vez na seleção em que ocorre uma amostra com uma amplitude igual à amplitude mínima.

Pico de tempo (Peak Time): A primeira vez na seleção em que uma amostra ocorre com uma amplitude igual ao pico de amplitude.

Primeiro Quartil de Tempo (1st Quartile Time): O ponto no tempo que divide a seleção em dois intervalos de tempo contendo 25% e 75% da energia na seleção.

Terceiro Quartil de Tempo (3rd Quartile Time): O ponto no tempo que divide a seleção em dois intervalos de tempo contendo 75% e 25% da energia na seleção.

Tempo 5% (Time 5%): O ponto no tempo que divide a seleção em dois intervalos de tempo contendo 5% e 95% da energia na seleção. O cálculo é semelhante ao do tempo central, exceto que a energia somada tem que ser superior a 5% da energia total, ao invés de 50%.

Tempo 95% (Time 95%): O ponto no tempo que divide a seleção em dois intervalos de tempo contendo 95% e 5% da energia na seleção. O cálculo é semelhante ao do tempo central, exceto que a energia somada tem que ser superior a 95% da energia total, ao invés de 50%.

Duração 90% (Duration 90%): A diferença entre os tempos de 5% e 95%.

Duração total (Delta time): Duração total do canto da seleção (canto).

2.2.2.2 *Parâmetros vocais de frequência (Unidade: Hertz)*

Frequência máxima (Max Frequency): Frequência no tempo de maior amplitude.

Alta frequência (High Frequency): A frequência no limite superior da seleção.

Frequência central (Center Frequency): Frequência que divide a seleção do canto em dois intervalos de frequência com energias iguais.

Frequência mínima (Low Frequency): A menor frequência da seleção.

Primeiro quarto de Frequência (1st Quartile Frequency): A frequência que divide a seleção em intervalos de duas frequências contendo 25 % e 75 % da energia na seleção.

Terceiro quarto de Frequência (3rd Quartile Frequency): A frequência que divide a seleção em intervalos de duas frequências contendo 75 % e 25 % da energia na seleção.

Frequência 5% (Frequency 5%): A frequência 5% divide a seleção do canto em dois intervalos de frequência contendo 5 e 95% da energia dessa seleção. O cálculo desta medida é semelhante ao da frequência central, com exceção de que a energia somada tem que ser superior a 5% da energia total, ao invés de 50%.

Frequência 95% (Frequency 95%): A frequência 95% divide a seleção do canto em dois intervalos de frequência, contendo 5 e 95% da energia dessa seleção. O cálculo desta medida

é semelhante ao da frequência central, com exceção de que a energia somada tem que ser superior a 95% da energia total.

Amplitude de frequência 90% (Bandwidth 90%): Diferença entre a frequência 5% e a frequência 95%. A frequência 5% divide a seleção do canto em dois intervalos de frequência contendo 5 e 95% da energia dessa seleção. O cálculo desta medida é semelhante ao da frequência central, com exceção de que a energia somada tem que ser superior a 5% da energia total, em vez de 50%. A frequência 95% divide a seleção do canto em dois intervalos de frequência, contendo 5 e 95% da energia dessa seleção. O cálculo desta medida é semelhante ao da frequência central, com exceção de que a energia somada tem que ser superior a 95% da energia total.

2.2.2.3 *Parâmetros vocais de entropia (Unidade: bits)*

Entropia agregada (Aggregate Entropy): A entropia agregada mede a desordem num som através da análise da distribuição de energia dentro de uma seleção. Valores de entropia mais altos correspondem a uma maior desordem no som.

Entropia média (Average Entropy): É calculada pela entropia para cada quadro na seleção e, em seguida, tomando a média destes valores. Como resultado, a entropia média descreve a quantidade de desordem para um típico espectro na seleção, ao passo que a entropia total corresponde a desordem geral no som.

Entropia máxima (Max Entropy): O máximo de todos os valores da amostra na seleção.

Entropia mínima (Min Entropy): O mínimo de todos os valores da amostra na seleção.

2.2.2.4 *Parâmetros vocais de potência (Unidade: Decibéis)*

Potência máxima (Max Power): Em um espectrograma em tons de cinza, a potência máxima em uma seleção é a potência no ponto mais escuro da seleção.

Potência média (Average Power): O valor médio da densidade de potência espectral do espectrograma, tal como aparece em cada pixel, ou bin do espectrograma, na seleção (isto é, o retângulo de tempo-frequência que se forma numa seleção do Raven). Os valores de densidade de potência espectral do espectrograma são somados, e o resultado é dividido, em seguida, pelo número de posições no tempo-frequência na seleção.

Energia (Energy): A energia total dentro dos limites da seleção.

2.2.2.5 Outros parâmetros

Número de notas: quantidade de notas numa seleção (canto).

Ritmo (PACE): número de notas por tempo.

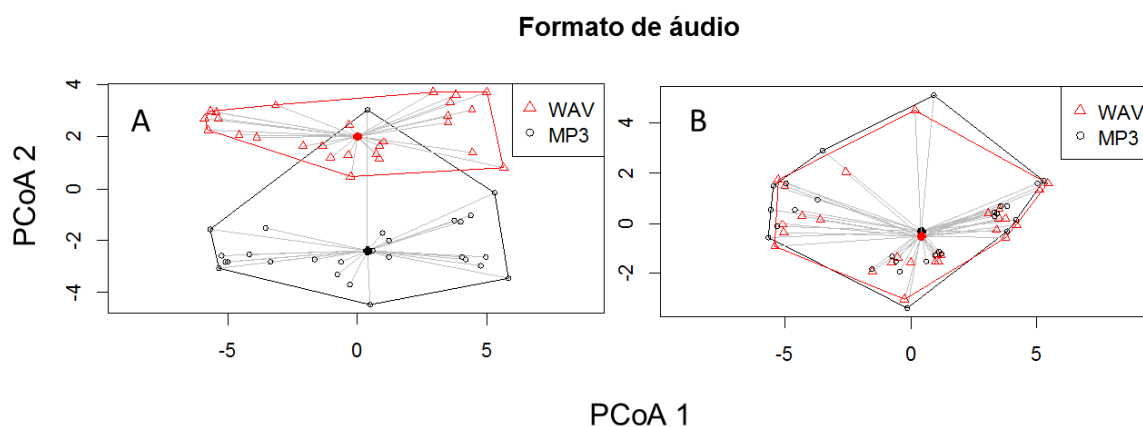
2.2.3 Análises Estatísticas

Para testar as variáveis antes e depois da conversão do formato de áudio (wav vs mp3) foram utilizadas 1) análise de variância (ANOVA) de dois fatores de medidas repetidas, e 2) análise de variância multivariada permutacional (PERMANOVA). A normalização dos dados foi feita no pacote *vegan* (OKSANEN et al., 2016); os histogramas foram produzidos no pacote *sm* (BOWMAN & AZZALINI, 2014) (ver Apêndices C-G); enquanto que a ANOVA de medidas repetidas foi feita usando o pacote *car* (FOX & WEISBERG, 2011). Todas as análises foram realizadas utilizando o software R Core Team (R Foundation for Statistical Computing, 2016).

2.3 RESULTADOS

De forma geral, os parâmetros vocais medidos sofrem distorções com o processo de compressão (Tabela 2). Quando todas as variáveis medidas são utilizadas nas análises multivariadas, observamos que o formato de áudio afeta significativamente os resultados das análises (PERMANOVA, $F_{(1,50)} = 31.03$, $p = < 0.01$, Figura 2A). Isto é, a compressão dos arquivos originais em formato wav e sua conversão para o formato mp3 afeta os parâmetros medidos. Uma vez que as 9 variáveis afetadas significativamente foram retiradas das análises (ver Tabela 3), não houve diferenças significativas no conjunto de vocalizações analisadas mesmo após a conversão dos formatos para as três espécies (PERMANOVA, $F_{(1,50)} = 0.65$ $p = 0.52$, Figura 2B).

Figura 2: Resultados da Análise de Coordenadas Principais (PCoA) comparando as gravações em formato wav (triângulos vermelhos) e mp3 (círculos pretos) usando todas os parâmetros medidos (A), e usando apenas os parâmetros não afetados significativamente pela conversão do formato (Tabela 3).



Fonte: O Autor (2016).

Estes resultados apontam que os parâmetros acústicos não são afetados de forma uniforme em todas as variáveis (Tabela 3). As variáveis de entropia (entropia máxima, média, mínima e agregada) e de potência (potência máxima, média, pico de potência e energia) foram claramente afetadas (Tabela 3 e Figuras 3 e 4). Por outro lado, as variáveis mais comumente usadas de tempo (tempo máximo, central, mínimo, pico de tempo, primeiro quartil de tempo, terceiro quartil de tempo, tempo 5%, tempo 95%, duração 90% e duração total) e frequência (frequência máxima, central, mínima, primeiro quartil de frequência, terceiro quartil de frequência, frequência 95%, pico de frequência e alta frequência) não foram afetadas significativamente (Tabela 4 e Figuras 5 e 6).

Tabela 2 - Valores médios e desvio padrão de cada variável vocal medida nos arquivos originais (wav) e nos arquivos comprimidos (mp3), para as três espécies estudadas.

Variáveis	<i>H. dorsimaculatus</i>		<i>T. amazonicus</i>		<i>T. murinus</i>	
	wav	mp3	wav	mp3	wav	mp3
Alta frequência	2437,5 (±129,7)	2521,9 (±138)	1818,9 (±81,3)	1826,3 (±83,3)	2144,5 (±111,0)	2078,8 (±126,7)
Amplitude de frequência 90%	464,2 (±79,2)	652,0 (±159,9)	485,7 (±106,5)	519,1 (±73,7)	372,4 (±45,6)	363,7 (±45,2)
Duração 90%	0,6 (±0,1)	0,6 (±0,6)	0,9 (±0,1)	0,9 (±0,1)	1,0 (±0,0)	1,0 (±0,0)
Duração total	1,7 (±0,3)	1,7 (±0,5)	2,7 (±0,3)	2,7 (±0,3)	2,2 (±0,1)	2,1 (±0,1)
Energia	116,3 (±9,5)	196,7 (±41,2)	118,8 (±5,2)	215,3 (±5,4)	121,7 (±2,3)	218,0 (±2,2)
Entropia agregada	2248,4 (±193,4)	1724,5 (±111,2)	2174,5 (±272,8)	1731,4 (±268,9)	1937,9 (±93,9)	1645,7 (±218,4)
Entropia máxima	2678,0 (±168,8)	2057,5 (±140,8)	2555,9 (±236,7)	1953,0 (±405,5)	2337,3 (±149,2)	2046,9 (±148,5)
Entropia média	2156,6 (±148,5)	1676,4 (±113,3)	2092,2 (±225,8)	1640,4 (±231,1)	1845,8 (±67,2)	1526,8 (±150,2)
Entropia mínima	1655,7 (±225,0)	1395,6 (±165,0)	1569,8 (±420,4)	1248,5 (±298,2)	1636,5 (±60,8)	1315,9 (±171,2)
Frequência 5%	1794,5 (±101,6)	1691,0 (±132,3)	1198,7 (±117,7)	1166,7 (±49,4)	1590,3 (±113,5)	1556,4 (±79,5)
Frequência 95%	2258,6 (±101,8)	2343 (±118,2)	1684,4 (±72,1)	1685,8 (±79,2)	1962,7 (±92,9)	1920,1 (±106,1)
Frequência central	2095,9 (±82,7)	2089,5 (±116,8)	1514,5 (±72,1)	1508,7 (±47,4)	1796,0 (±94,0)	1821,2 (±101,6)
Frequência máxima	2107,9 (±68,5)	2109,9 (±99,2)	1528,9 (±80,4)	1521,3 (±67,8)	1788,9 (±100,5)	1823,8 (±98,0)
Frequência mínima	1244,7 (±349,1)	1285,0 (±273,1)	673,0 (±125,8)	769,6 (±101,2)	1174,7 (±36,2)	1216,8 (±81,4)
Número de notas	33,8 (±4,6)	32,7 (±5,4)	23,8 (±2,3)	23,5 (±2,0)	6,4 (±0,5)	6,4 (±0,5)
Pico de tempo	1,0 (±0,3)	1,0 (±0,4)	1,7 (±0,2)	1,7 (±0,2)	1,4 (±0,3)	1,3 (±0,4)
Potência máxima	94,4 (±9,5)	172,7 (±40,5)	94,7 (±5,1)	190,1 (±5,0)	98,3 (±2,5)	193,7 (±2,6)
Potência média	83,4 (±9,8)	163,9 (±40,6)	84,0 (±4,9)	180,7 (±4,9)	88,5 (±2,5)	185,5 (±2,6)
Primeiro quartil de frequência	1990,6 (±88,2)	1923,7 (±70,5)	1403,7 (±99,3)	1410,2 (±118,5)	1733,8 (±133,0)	1679,7 (±149,2)
Primeiro quartil de tempo	0,9 (±0,3)	0,9 (±0,3)	1,4 (±0,2)	1,4 (±0,1)	0,9 (±0,1)	0,9 (±0,1)
Ritmo	20,4 (±1,4)	20,3 (±3,1)	8,8 (±0,8)	8,7 (±1,0)	3,0 (±0,3)	3,0 (±0,3)
Tempo 5%	0,7 (±0,3)	0,7 (±0,3)	1,1 (±0,1)	1,1 (±0,1)	0,7 (±0,0)	0,7 (±0,0)
Tempo 95%	1,3 (±0,3)	1,3 (±0,4)	2,0 (±0,2)	2,0 (±0,2)	1,6 (±0,1)	1,7 (±0,1)
Tempo central	1,0 (±0,3)	1,00 (±0,4)	1,6 (±0,2)	1,6 (±0,2)	1,2 (±0,1)	1,2 (±0,1)
Tempo máximo	1,0 (±0,4)	1,0 (±0,4)	1,7 (±0,2)	1,7 (±0,2)	1,4 (±0,3)	1,3 (±0,4)
Tempo mínimo	1,1 (±0,4)	1,1 (±0,6)	1,7 (±0,2)	1,8 (±0,2)	1,3 (±0,5)	1,4 (±0,5)
Terceiro quartil de frequência	2174,9 (±98,7)	2214,1 (±75,8)	1606,2 (±69,4)	1596,8 (±76,0)	1894,1 (±111,6)	1875,0 (±102,7)
Terceiro quartil de tempo	1,1 (±0,3)	1,1 (±0,4)	1,8 (±0,2)	1,8 (±0,2)	1,5 (±0,1)	1,5 (±0,1)

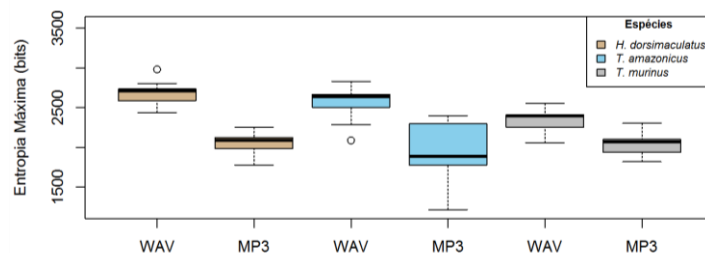
Fonte: O Autor (2016).

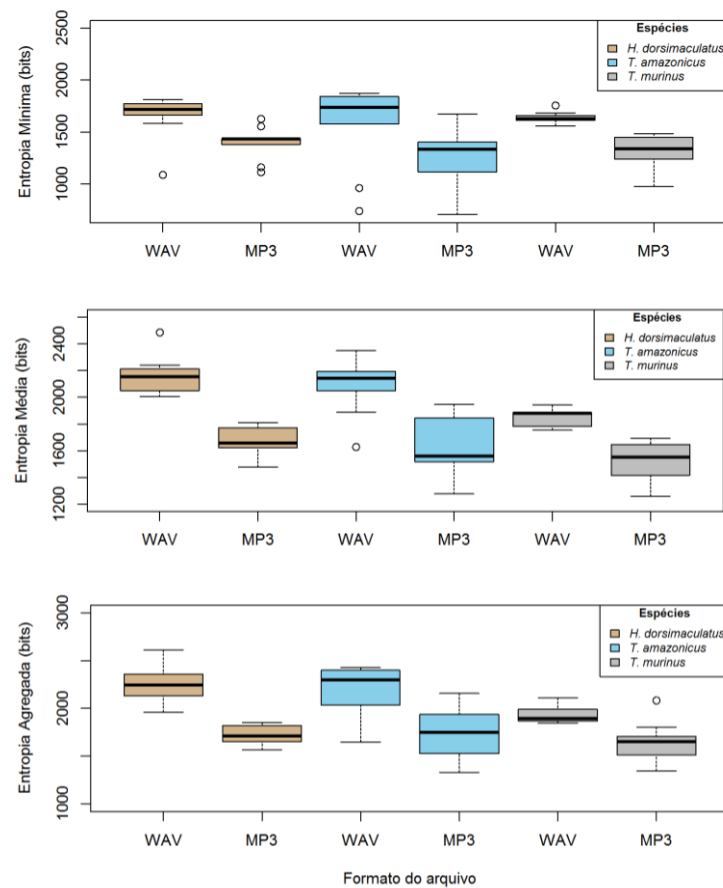
Tabela 3: Resultado das Análises de Variância de medidas repetidas (ANOVA) para cada variável acústica medida após a compressão dos arquivos wav e sua respectiva transformação em formato mp3, organizados por tipo de parâmetro. Destacam-se em **negrito** os parâmetros não afetados significativamente, sugerindo que o formato mp3 poderia ser usado em análises acústicas para as espécies avaliadas.

Tipo de parâmetro	Parâmetro vocal	F _(1,50)	p	Significância
Tempo	Tempo central	0.02	0.89	NS
	Terceiro quartil de frequência	0.02	0.89	NS
	Frequência central	0.03	0.86	NS
	Tempo 95 %	0.04	0.83	NS
	Tempo máximo	0.06	0.8	NS
	Primeiro quartil de tempo	0.07	0.79	NS
	Alta frequência	0.08	0.78	NS
	Duração total	0.08	0.78	NS
	Tempo mínimo	0.12	0.73	NS
	Terceiro quartil de tempo	0.13	0.72	NS
	Tempo 5 %	0.14	0.71	NS
Frequência	Frequência máxima	0.18	0.68	NS
	Pico de frequência	0.18	0.68	NS
	Duração 90 %	0.18	0.68	NS
	Pico de tempo	0.18	0.67	NS
	Frequência 95 %	0.29	0.59	NS
	Frequência mínima	1.3	0.26	NS
	Primeiro quartil de frequência	1.57	0.22	NS
	Frequência 5 %	4.13	0.04	S
	Amplitude de frequência 90 %	6.54	0.01	S
Entropia	Entropia mínima	20.18	< 0.001	S
	Entropia agregada	55.33	< 0.001	S
	Entropia máxima	61.05	< 0.001	S
	Entropia média	83.98	< 0.001	S
Potência	Potência máxima	356.62	< 0.001	S
	Energia	358.74	< 0.001	S
	Potência média	370.73	< 0.001	S
Outros parâmetros	Número de notas	0.31	0.58	NS
	Ritmo	0.01	0.91	NS

Fonte: O Autor (2016).

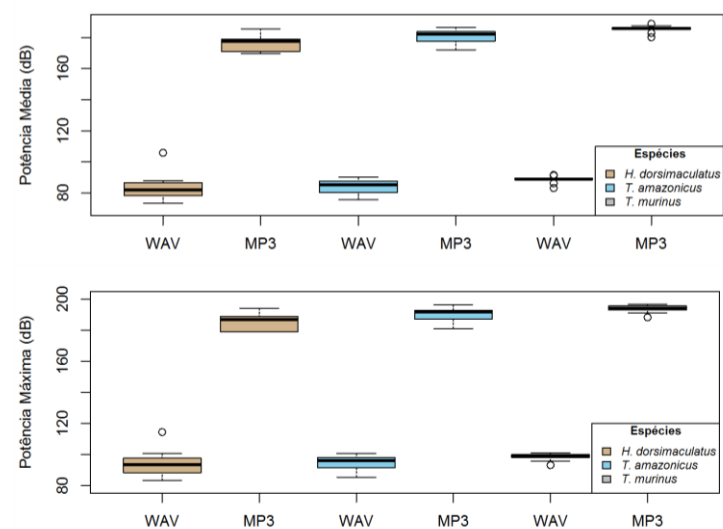
Figura 3: Valores de entropia máxima, média, mínima, e agregada (em bits) para as três espécies estudadas nos arquivos de áudio originais (wav) e comprimidos (mp3). Em todas as espécies, e para todas as variáveis, os valores de entropia dos arquivos convertidos (mp3) são significativamente mais baixos que os arquivos originais (ver Tabela 3).

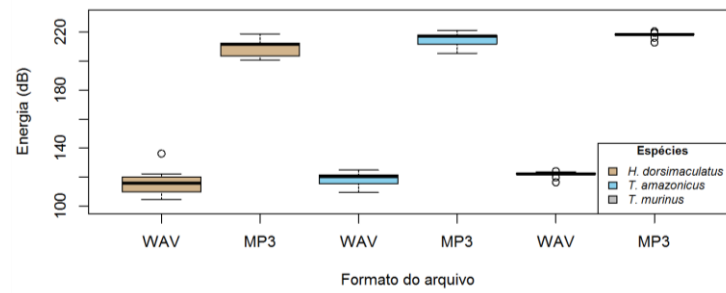




Fonte: O Autor (2016).

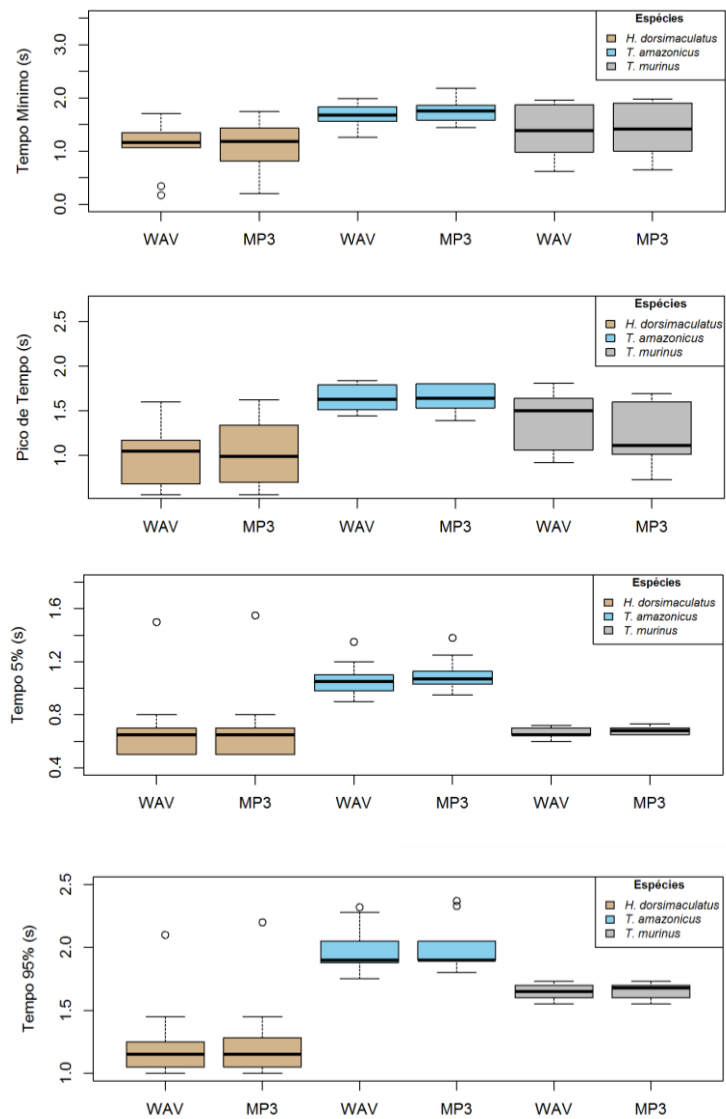
Figura 4: Valores de potência máxima, média e energia (em decibéis) para as três espécies estudadas nos arquivos de áudio originais (wav) e comprimidos (mp3). Em todas as espécies, e para todas as variáveis, os valores de potência dos arquivos convertidos (mp3) são significativamente mais baixos que os arquivos originais (ver Tabela 3).

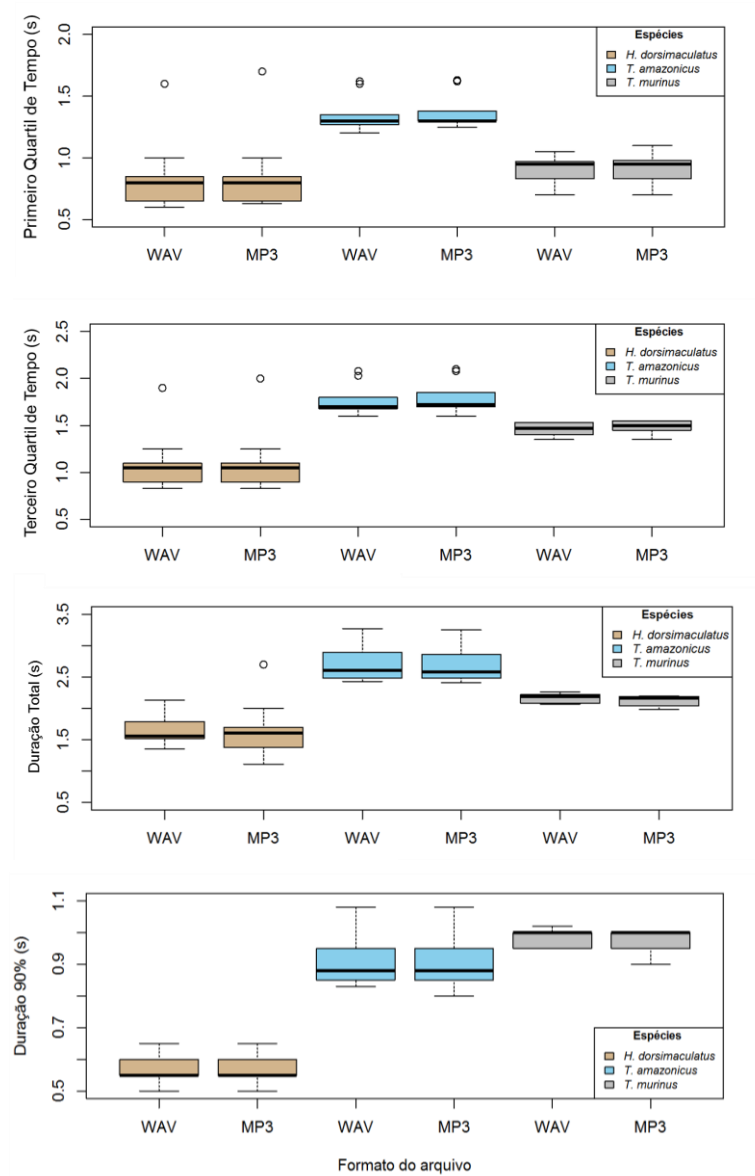




Fonte: O Autor (2016).

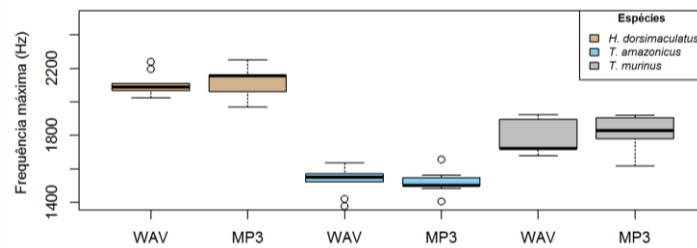
Figura 5: Valores de tempo (em segundos) para as três espécies estudadas, nos arquivos de áudio originais (wav) e comprimidos (mp3). Em todas as espécies, e para todas as variáveis, os valores de potência dos arquivos convertidos (mp3) não diferem significativamente dos arquivos originais (ver Tabela 3).

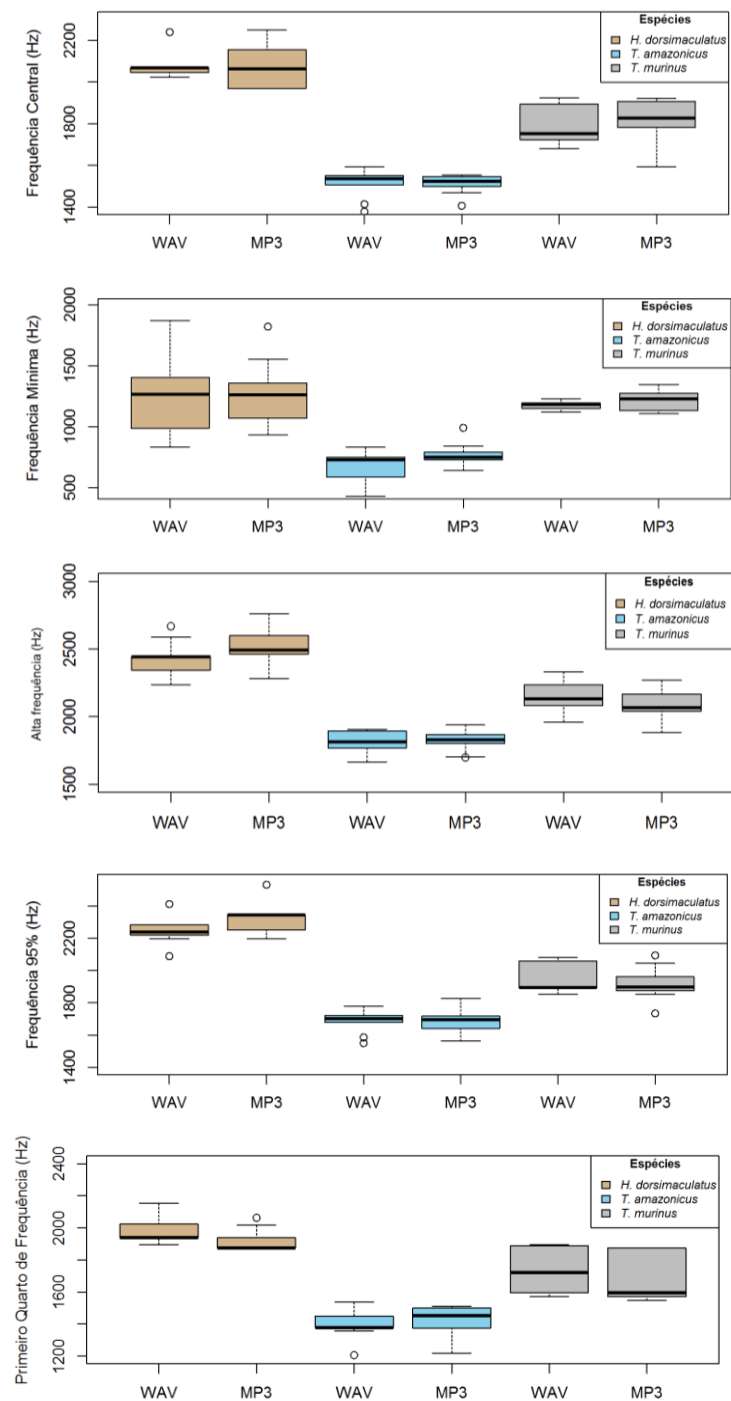




Fonte: O Autor (2016).

Figura 6: Valores de frequência (em hertz) para as três espécies estudadas nos arquivos de áudio originais (wav) e comprimidos (mp3). Em todas as espécies, e para todas as variáveis, os valores de potência dos arquivos convertidos (mp3) não diferem significativamente dos arquivos originais (ver Tabela 3).

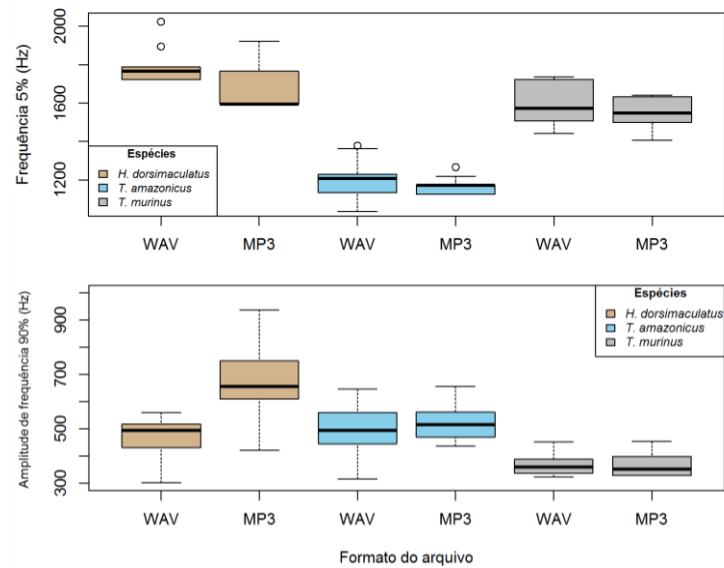




Fonte: O Autor (2016).

Dentro do grupo de frequência, a frequência 5% e a amplitude de frequência 90% apresentaram valores significativos em relação ao formato de áudio devendo ter restrições quando utilizadas em formato mp3 (Tabela 3, Figura 7).

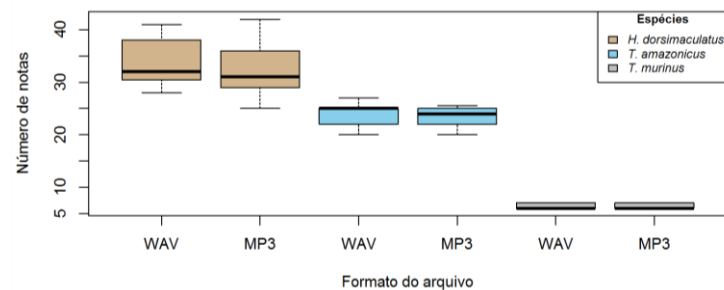
Figura 7: Variáveis de frequência (em hertz) para as três espécies estudadas nos arquivos de áudio originais (wav) e comprimidos (mp3) que apresentaram valores significativamente diferentes dos arquivos originais (ver Tabela 3).



Fonte: O Autor (2016).

O número de notas não apresentou diferenças significativas na conversão dos arquivos originais (wav) para mp3 nas três espécies estudadas (Tabela 3, Figura 8).

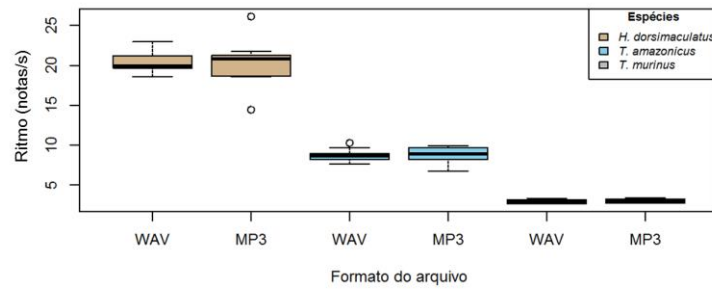
Figura 8 - Valores de número de notas para as três espécies estudadas nos arquivos de áudio originais (wav) e comprimidos (mp3) que não diferem dos arquivos (ver Tabela 3).



Fonte: O Autor (2016).

A variável ritmo também não sofreu distorção com a conversão do formato original de áudio (Tabela 3, Figura 9), não apresentando restrição de uso para ela no formato mp3.

Figura 9 - Valores de ritmo para as três espécies estudadas nos arquivos de áudio originais (wav) e comprimidos (mp3) que não diferem significativamente dos arquivos originais (ver Tabela 3).



Fonte: O Autor (2016).

2.4 DISCUSSÃO

Neste capítulo investigamos como a compressão de arquivos de áudio do formato wav para mp3 transforma variáveis físicas de cantos de aves na família *Thamnophilidae*, com o intuito de verificar a validade do uso de bancos de dados com amostras acústicas em formato mp3. Apesar do uso difundido de arquivos comprimidos na literatura ornitológica e evolutiva (e.g., RHEINDT et al., 2008; WEIR & WHEATCROFT, 2011; ZUCCON et al., 2012; ISLER et al., 2012; GONZALEZ-VOYER et al., 2013; CUERVO et al., 2014; TOUCHTON et al., 2014; BUXTON et al., 2016; ROSA et al., 2016), existem poucos trabalhos que avaliem como a compressão do formato de áudio original afeta a qualidade das gravações (mas veja REMPEL et al., 2005 e SPECHT, 2004). Nossos dados apontaram que algumas variáveis (entropia máxima, média, mínima e agregada, potência máxima e média, frequência 5% e amplitude de frequência 90%) sofrem alterações significativas quando comprimidos durante a conversão de formato. Por outro lado, algumas variáveis não parecem ser afetadas significativamente (e.g., tempo máximo, central, mínimo, pico de tempo, primeiro quarto de tempo, terceiro quarto de tempo, tempo 5%, tempo 95%, duração 90%, duração total, frequência máxima, central, mínima, primeiro quarto de frequência, terceiro quarto de frequência, frequência 95%, alta frequência, nº de notas e ritmo). Estes resultados sugerem o uso de arquivos mp3, desde que sejam consideradas cautelosamente as variáveis pouco alteradas nas análises envolvendo estrutura física do som. Isto é especialmente relevante quando não houver gravações em formato wav disponíveis, ou quando o número amostral seja insuficiente.

Rempel e colaboradores (2005) também testaram a diferença entre arquivos de áudio em wav e mp3. Nesse estudo, os mesmos sinais acústicos foram gravados simultaneamente utilizando dois gravadores: *MiniDisc* (mp3) e *Digital Audio Tape* (wav). Posteriormente, as gravações foram comprimidas e comparadas com os arquivos gerados do *MiniDisc* (já comprimidos internamente no gravador), demonstrando que não houve uma diferença significativa entre as gravações uma vez que compararam com o arquivo originalmente comprimido. Estes autores não chegaram a listar quais variáveis foram testadas, nem compararam o efeito da compressão digital após a gravação já ter sido realizada. Quando ocorre a redução dos bits através do algoritmo de redução de dados numa gravação comprimida, esse procedimento pode produzir um ruído adicional (quantização) no sinal decodificado. Mesmo algoritmos mais sofisticados como o presente no formato mp3 vão levar a perda de informações ou distorção (SPECHT, 2004).

Afortunadamente, as variáveis de entropia e potência são normalmente pouco utilizadas em estudos bioacústicos em aves. O conceito físico de entropia está relacionado a um processo irreversível e só tende a aumentar (e nunca a diminuir) em relação à desordem do corpo físico (PINEDA, 2006). Ou seja, depois de feita a compressão, os danos causados nos arquivos não podem ser disfeitos, prejudicando os resultados. No processo de compressão do áudio, normalmente a faixa dinâmica de um sinal de áudio é reduzida (HENRIQUES, 2007), diminuindo a diferença entre sons mais graves (frequências mais baixas) e mais agudos (frequências mais altas). Esta característica da compressão de arquivos de áudio afeta as medidas de potência que possam ser utilizadas em estudos bioacústicos. Entretanto, outras variáveis afetam as medidas de potência, como a distância do indivíduo e energia do canto, por exemplo. Essas variáveis estão relacionadas com a intensidade sonora que é definida como a energia que atravessa uma área num determinado intervalo de tempo (DURÁN, 2003). Por ser de difícil medição, costuma-se relacioná-la ao nível de pressão sonora; a intensidade do som é proporcional ao quadrado da pressão sonora, que é inversamente proporcional à distância (DURÁN, 2003). Por isto, a potência é uma variável pouco utilizada, pois pode ser de difícil medição. Simplificando essa relação, quanto maior a distância do indivíduo, maior deve ser a potência para captar o sinal. Como a pressão sonora é inversamente proporcional à distância, isso faz com o que se percam decibéis à medida que a distância aumenta. Neste caso, a não ser que sejam utilizadas gravações com distâncias padronizadas, o uso das variáveis de potência não é recomendável.

Em relação aos resultados que não foram afetados pela conversão do formato, temos os grandes grupos de frequência e tempo, além do número de notas e ritmo; variáveis

amplamente utilizadas em pesquisas de bioacústica de aves (KROODSMA & KONISHI, 1991; MEYER et al., 2012; MOSELEY & WILEY, 2013; ROSA et al., 2016; CUERVO, 2014; ISLER, 2012). As variáveis de frequência e tempo são parâmetros vocais básicos para análises do som, sendo mais comumente utilizadas as frequências máxima e mínima (podendo ser do canto ou de alguma(s) nota(s) específicas(s)) e o intervalo de tempo. Sendo assim, ciente de que são parâmetros importantes e bastante utilizados em análises acústicas de aves, realçamos a importância da utilização dos bancos de dados online para contribuir na amostragem dessas pesquisas, quando necessário. É importante ressaltar que os limites de frequência devem ser levados em consideração, uma vez que frequências mais altas tendem a uma maior distorção quando comprimidas (SPECHT, 2004). No caso das espécies aqui analisadas, as variáveis de frequência não foram alteradas o que demonstra que, para alguns grupos de aves que possam ter níveis de frequência semelhantes aos dessas espécies (600 a 2100 Hz), esse tipo de procedimento pode ser feito sem grandes distorções e esses parâmetros serem viáveis para análises acústicas. Como a variável ritmo depende dos dados de número de notas e intervalo de tempo, ela também não sofreu nenhuma distorção.

A robustez dos dados poderia ser um fator que atrapalhasse na análise de diversas variáveis aqui listadas como robustas (Tabela 1), as que dependem da posição do cursor na seleção do Raven para a extração dos dados, o que não ocorreu. Olhando os resultados, claramente a robustez não interferiu de forma significativa uma vez que temos uma similaridade geral dos resultados. As duas exceções de variáveis que sofreram distorção do grande grupo de frequência (frequência 5% e amplitude de frequência 90%) possuem classificações diferentes quanto à robustez, o que mais uma vez não indica nenhum tipo de interferência da forma como foram obtidas.

Neste estudo, demonstramos que a conversão (compressão) dos arquivos de áudio do formato wav para mp3 transforma significativamente algumas variáveis físicas. Por outro lado, demonstramos que a transformação não afeta da mesma forma todas as variáveis utilizadas nas espécies consideradas no presente estudo. De forma geral, as variáveis de entropia e potência são afetadas significativamente, enquanto que as variáveis de tempo e frequência sofreram poucas ou nenhuma mudança (Tabela 3). Quando as variáveis afetadas são retiradas das análises, as diferenças entre os formatos de áudio deixam de ser significativas. Estes resultados indicam que o uso de gravações no formato mp3 pode ser realizado usando variáveis de tempo e frequência, assim como o número de notas e o ritmo.

REFERÊNCIAS

- Audacity(R) 2.1.1 software is copyright (c) 1999-2016 Audacity Team. GNU General Public License. The name Audacity(R) is a registered trademark of Dominic Mazzoni. Disponível em: <http://audacityteam.org>. Acesso em 12 fev. 2016.
- BAKER, M. C. Bird song research: the past 100 years. **Bird Behaviour**. 14:3–50. 2001.
- BUXTON, R. T.; BROWN, E.; SHARMAN, L.; GABRIELE, C. M.; MCKENNA, M. F. Using bioacoustics to examine shifts in songbird phenology. **Ecology and Evolution**, 6(14): 4697–4710. 2016.
- BOWMAN, A. W. & AZZALINI, A. 2014. **R package 'sm': nonparametric smoothing methods**. Version 2.2-5.4. Disponível em: <http://www.stats.gla.ac.uk/~adrian/sm>
- CHARIF, R. A.; WAACK A. M.; STRICKMAN, L. M. **Raven Pro 1.4 User's Manual**. Cornell Lab of Ornithology, Ithaca, NY. 2010.
- CUERVO, A. M.; STILE, F. G.; LENTINO, M.; BRUMFIELD, R. T.; DERRYBERRY, E. P. Geographic variation and phylogenetic relationships of *Myiopagis olallai* (Aves: Passeriformes; Tyrannidae), with the description of two new taxa from the Northern Andes. **Zootaxa**, 3873(1):001–024. 2014.
- DURÁN, José Enrique Runas. **Biofísica – Fundamentos e Aplicações**, São Paulo, Ed. Pearson, 2003.
- EDWARDS, S.V.; KINGAN, S. B.; CALKINS, J. D.; BALAKRISHNAN, C. N.; JENNINGS, W. B.; SWANSON, W. J.; MICHAEL D. SORENSON, M. D. Speciation in birds: Genes, geography, and sexual selection. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, 102(1):6550-6557. 2005.
- FOX, J. & WEISBERG, S. An {R} **Companion to Applied Regression**, Second Edition. Thousand Oaks CA: Sage. 2011. Disponível em: <http://socserv.socsci.mcmaster.ca/jfox/Books/Companion>. Acesso em: 25 mar. 2016.
- GONZALEZ-VOYER, A., DEN TEX, R. -J.; CASTELLÓ, A.; LEONARD. J A. 2013. Evolution of acoustic and visual signals in Asian barbets. **J. Evol. Biol.** 26:647–659.
- HENRIQUES, Fábio. **Guia de Mixagem**. 2ed. Rio de Janeiro, Música & Tecnologia, 2007. 155 p.
- IRWIN, D. E. 1999. Song variation in an avian ring species. **Evolution**, 54(3):998-1010.
- ISLER, M. L.; ISLER, P.; WHITNEY, B. Use of vocalizations to establish species limits in antbirds (Passeriformes: Thamnophilidae). **The Auk**, 115(3):577-590. 1998.
- ISLER, M. L.; ISLER, P. R.; WHITNEY, B. Species limits in antbirds (Thamnophilidae): the warbling antbird (*Hypocnemis cantator*) complex. **The Auk**, 124(1):11-28. 2007.
- ISLER, M. L.; ISLER, P. R.; WHITNEY, B. M.; ZIMMER, K. J.; WHITTAKER, A. Species limits in antbirds (Aves: Passeriformes: Thamnophilidae): an evaluation of *Frederickena unduligera* (Undulated Antshrike) based on vocalizations. **Zootaxa**, 2305:61–68. 2009.

ISLER, M. L.; WHITNEY, B. M. Species Limits in Antbirds (Thamnophilidae): The Scale-Backed Antbird (*Willisornis poecilinotus*) Complex. **The Wilson Journal of Ornithology**, 123(1):1-14. 2011.

ISLER, M. L.; CUERVO, A. M.; BRAVO, G. A.; BRUMFIELD, R. T. An integrative approach to species-level systematics reveals the depth of diversification in an Andean Thamnophilid, the long-tailed antbird. **The Condor**, 114(3):571–583. 2012.

KROODSMA, D. E. Songs of the Alder Flycatcher (*Empidonax alnorum*) and Willow Flycatcher (*Empidonax traillii*) are innate. **The Auk**, 101:13-24. 1984.

KROODSMA, D. E. & KONISHI, M. A suboscine bird (Eastern Phoebe, *Sayornis phoebe*) develops normal song without auditory feedback. **Animal Behaviour**, 42:477-487. 1991.

MCGRATH, Kimberley A. **World of invention**. Detroit, MI: Gale. 1999. p. 494.

MEYER, D.; HODGES, J. K.; WIJAYA, A.; ROSS, C.; HAMMERSCHMIDT, K. Acoustic structure of male loud-calls support molecular phylogeny of Sumatran and Javanese leaf monkeys (genus *Presbytis*). **BMC Evolutionary Biology**, 12:16. 2012.

MOSELEY, D. L. & R. WILEY, R. H. Individual differences in the vocalizations of the buff-throated woodcreeper (*Xiphorhynchus guttatus*), a suboscine bird of neotropical forests. **Behaviour**, 150:1107–1128. 2013.

MUZET, A. Environmental noise, sleep and health. **Sleep Medicine Reviews**, 11:135–142. 2007.

NAKA, L. N.; COHN-HAFT, M.; MALLET-RODRIGUES, F.; SANTOS, M. P. D.; TORRES, M. F. The avifauna of the Brazilian state of Roraima, bird distribution and biogeography in the Rio Branco basin. **Revista Brasileira de Ornitologia**, 14(3):197-238. 2006.

NAKA, L. N.; BECHTOLDT, C. L.; HENRIQUES, L. M. P.; BRUMFIELD, R. T. The role of physical barriers in the location of avian suture zones in the Guiana Shield, northern Amazonia. **The American Naturalist**, 179(4):115-132. 2012.

OKSANEN, J.; BLANCHET, F. G.; FRIENDLY, M.; KINDT, R.; LEGENDRE, P.; MCGLINN, D.; MINCHIN, P. R.; O'HARA, R. B.; SIMPSON, G. L.; SOLYMOS, P.; STEVENS, M. H. H.; SZOECS, E.; WAGNER, H. **vegan: Community Ecology Package**. R package version 2.4-0. 2016. Disponível em: <https://CRAN.R-project.org/package=vegan>. Acesso em: 4 fev. 2016.

PADIAL J. M.; KÖHLER, J.; MUÑOZ, A.; DE LA RIVA, I. Assessing the taxonomic status of tropical frogs through bioacoustics: geographical variation in the advertisement calls in the *Eleutherodactylus discoidalis* species group (Anura). **Zoological Journal of the Linnean Society**, 152:353-365. 2008.

PARKER, T. A. III. On the use of tape recorders in avifaunal surveys. **Auk**. 108:443–444. 1991.

PINEDA, José Octávio de Carvalho. A Entropia segundo Claude Shannon: o desenvolvimento do conceito fundamental da teoria da informação. 2006. 126 f. Tese (Doutorado) - Curso de História da Ciência, Pontifícia Universidade Católica de São Paulo, São Paulo, 2006. Cap. 1.

R Core Team. R: **A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2016. Disponível em: <https://www.R-project.org/>. Acesso em: 4 fev. 2016.

REMPEL, R. S.; HOBSON, K. A.; HOLBORN, G.; WILGENBURG, S. L. V.; ELLIOTT, J. Bioacoustic monitoring of forest songbirds: interpreter variability and effects of configuration and digital processing methods in the laboratory. **Journal of Field Ornithology**, 76(1):1-11. 2005.

ROSA, G. L. M.; ELLIS, J. M.; BONACCORSO, E.; DOS ANJOS, L. Friend or foe? Social system influences the allocation of signals across functional categories in the repertoires of the NewWorld jays. **Behaviour**. 153(4):467. 2016.

RHEINDT, F. E.; NORMAN, J.A.; CHRISTIDIS, L. DNA evidence shows vocalizations to be a better indicator of taxonomic limits than plumage patterns in *Zimmerius* tyrant-flycatchers. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 48:150–156. 2008.

SEDDON, N. Ecological adaptation and species recognition drives vocal evolution in neotropical suboscine birds. **Evolution**, 59(1):200-215. 2005.

SEYFARTH, R. M.; CHENEY, D. L.; BERGMAN, T.; FISCHER, J.; ZUBERBÜHLER, K.; HAMMERSCHMIDT, K. The central importance of information in studies of animal communication. **Animal Behaviour**, 8:3–8. 2010.

SPECHT, R. **Lossy Audio Data Compression Effects**. 2004. Disponível em: <http://www.avisoft.com/compression.htm>. Acesso em: 27 jul. 2016.

TIETZE, D. T.; MARTENS, J.; SUN, Y.; SEVERINGHAUS, L. L.; PÄCKERT, M. Song evolution in the coal tit *Parus ater*. **J. Avian Biol.** 42: 214-230. 2011.

TIETZE, D. T.; MARTENS, J.; FISCHER, B. S.; SUN, Y.; KLUSSMANN-KOLB, A.; PÄCKERT, M. Evolution of leaf warbler songs (Aves: Phylloscopidae). **Ecology and Evolution**. 5(3):781–798. 2015.

TOUCHTON, J. M.; NATHALIE SEDDON, N.; TOBIAS, J. A. Captive rearing experiments confirm song development without learning in a Tracheophone Suboscine Bird. **PLoS One**, 9(4):e95746. 2014.

WEIR, J. T. & WHEATCROFT, D. A latitudinal gradient in rates of evolution of avian syllable diversity and song length. **Proceedings Of The Royal Society of London B**, 278:1713-1720. 2011.

ZIMMER, K. J. & ISLER, M. L. **Family Thamnophilidae (Typical antbirds)**. In: Handbook of the birds of the world. 8 ed. Barcelona, Spain, Lynx Edicions. p. 448–681, 2003.

ZUCCON, D.; PRYS-JONES, R.; RASMUSSEN, P. C.; ERICSON, P. G. P. The phylogenetic relationships and generic limits of finches (Fringillidae). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 62:581–596. 2012.

**VARIAÇÃO VOCAL DE ESPÉCIES DA FAMÍLIA THAMNOPHILIDAE (AVES)
ASSOCIADAS A BARREIRAS RIBEIRINHAS NA AMAZÔNIA**

Nota: esse capítulo irá gerar um artigo científico que conta com a colaboração de outros pesquisadores. O mesmo será submetido para o periódico internacional *Journal of Biogeography* (Qualis A1, Área de Biogeografia). Entretanto, para facilitar a leitura, nem todas as regras de formatação da revista estão sendo seguidas. Por exemplo, as figuras estão sendo inseridas no decorrer do texto para uma leitura mais harmoniosa. Além disso, a língua aqui ainda é o português, o que será alterado para inglês na versão final do artigo.

3.1 INTRODUÇÃO

A especiação alopátrica é vista como o principal mecanismo de diversificação biológica em vertebrados (SMITH et al., 2014). Sob este modo de especiação, populações contínuas são separadas por reconfigurações da paisagem, como a separação de placas tectônicas, elevação de montanhas, ou formação de grandes rios. Na região Amazônica, os grandes rios são apontados como possíveis forças vicariantes, especialmente para primatas e aves (AYRES & CLUTTON-BROCK, 1992; CAPPARELLA, 1991). As barreiras ribeirinhas, como estes rios costumam ser denominados, são importantes na definição do padrão de distribuição de muitas espécies de aves (HAFFER, 1992).

As barreiras ribeirinhas podem afetar os padrões de diversidade de espécies na paisagem amazônica de diferentes formas: i) rios podem ter desempenhado um papel significativo no processo de especiação (geração de novas espécies), impedindo o fluxo gênico entre populações que uma vez se distribuíram de forma contínua, mas que agora estão separadas pelos rios, gerando a eventual evolução de espécies irmãs em margens opostas; ii) a expansão das espécies de seus centros de origem pode ser interrompida pela presença de grandes cursos de água; portanto, eles podem ser restritos a apenas uma das margens, e iii) cursos de água podem reduzir a probabilidade de dispersão e re-colonização de espécies localmente extintas em uma das margens (GASCON et al., 2000). Em geral, estas populações podem se diferenciar morfológica e/ou geneticamente em lados opostos dos rios (NAKA et al., 2012), no entanto, pouco se sabe de como mudanças nas vocalizações das aves acompanham estas mudanças fenotípicas e genotípicas.

Diferenças morfológicas podem ocorrer em decorrência de mudanças adaptativas às condições ambientais (JAMES, 1982, 1983), ou em decorrência de mudanças relativamente neutras como resultado do isolamento geográfico (BRELSFORD, 2011). Quando se trata da

diferenciação de populações separadas por barreiras geográficas, essas mudanças podem ocorrer através de diversos fatores; entender como o isolamento geográfico e a variação genética afetam caracteres vocais e morfológicos é importante para compreender o processo de especiação e diferenciação fenotípica. O canto das aves faz parte do seu fenótipo, e assim como as variáveis morfológicas, pode variar em populações isoladas em decorrência de processos seletivos (como seleção sexual), adaptativos (TOBIAS et al., 2010), ou neutrais, ou ainda permanecer sem modificações aparentes, se estes processos não estiverem atuando nessas populações.

As vocalizações das aves podem variar em diversos aspectos, desde a fonologia (que representa a organização do som no canto) e complexidade das sílabas, até a organização sintática (CATCHPOLE & SLATER, 2008). A hipótese de reconhecimento de espécies propõe que diferenças na estrutura do canto entre espécies diferenciadas funcionariam como um mecanismo para evitar ou reduzir a hibridização, assim como se acredita que a divergência na plumagem possa ter evoluído para evitar acasalamento interespecífico (SEDDON, 2005). A divergência nos cantos em populações alopátricas de Suboscines, cujas diferenças vocais são geneticamente determinadas, pode evoluir mais lentamente, mas também deve contribuir para o isolamento reprodutivo (EDWARDS et al., 2005).

No escudo das Guianas, cerca de um terço das espécies de aves típicas das florestas de terra firme possuem estrutura genética associada com algum rio (NAKA, 2011). Os rios Branco e Negro atuam como duas das principais barreiras biogeográficas para a avifauna amazônica, sendo a porção próxima da boca do Rio Negro, a mais importante barreira no Escudo das Guianas (NAKA, 2011). O Rio Branco, por sua vez, é a segunda maior barreira biogeográfica da região, sendo responsável por definir a distribuição geográfica de pelo menos 40 pares de táxons de aves (espécies e subespécies) endêmicas das florestas de terra firme da região amazônica (NAKA et al., 2012). O interflúvio Branco/Negro parece desempenhar, também, um significativo papel na delimitação de pares de taxa, ilustrando a importância da região como uma zona de sutura e transição entre as áreas de endemismo que acompanham o interflúvio (NAKA, 2011).

As aves da família Thamnophilidae se caracterizam por serem animais de tamanho pequeno a médio (incluindo espécies do gênero *Myrmotherula* que chegam a medir menos de 10 cm de comprimento até espécies maiores, como *Taraba major*, que pode alcançar 20 cm de comprimento) (ZIMMER & ISLER, 2016). Do ponto de vista vocal, o canto dos Thamnophilidae é estereotipado e relativamente simples de analisar (SEDDON, 2005). As vocalizações nesta família de aves são especialmente importantes, pois os papa-formigas

apresentam pouca diferenciação morfológica, e por viverem em ambientes onde há pouca luminosidade, haveria uma maior dependência da utilização dos sinais acústicos, tanto para o reconhecimento de espécies, como na escolha do companheiro (SEDDON, 2005).

O grau de divergência genética pode ser avaliado através da distância genética (D), a qual se baseia na quantificação das diferenças alélicas acumuladas por loco entre populações ou espécies relacionadas evolutivamente (NEI, 1972). Assumindo que as taxas de mutação genética por ano são relativamente constantes, como sugerido pelo relógio molecular (ZUCKERKANDL & PAULING, 1962), então pode se assumir que a distância genética representa o tempo de divergência entre populações isoladas reprodutivamente. Uma vez que D é uma medida do número acumulado de diferenças de codões por loco, ele também pode ser estimado a partir de sequências de aminoácidos em proteínas, mesmo para espécies distantemente relacionadas. Assim, quando disponível, a distância genética entre qualquer par de organismos pode ser medida em termos de D , e pode ser interpretada como um proxy do tempo que estas duas populações passaram sem intercambiar genes (NEI, 1972).

Neste trabalho, eu estudei o grau de variação vocal em 19 linhagens de aves da família *Thamnophilidae* no Escudo das Guianas, na Amazônia setentrional, onde várias espécies possuem diferentes graus de variação genética e fenotípica associadas com barreiras ribeirinhas. Utilizei dados moleculares (distância genética) e de distribuição geográfica já disponíveis nas bacias dos rios Negro e Branco (NAKA et al., 2012) para correlacionar a variação vocal com a distância genética (D) em alguns pares de populações de aves separadas pelos rios Negro e Branco. Alguns dos pares estudados representam a mesma espécie (sem variação fenotípica descrita); outros pares são considerados diferentes subespécies (em espécies politípicas); enquanto que alguns dos pares estudados podem ser considerados espécies irmãs (ou alo-espécies). O principal objetivo deste capítulo é avaliar se o nível de variação vocal pode ser explicado pelo grau de variação genética. Este será o primeiro estudo na região amazônica em comparar o grau de variação vocal e genética em múltiplos pares de taxa que se substituem geograficamente em lados opostos de conhecidas barreiras ribeirinhas.

3.2 MATERIAIS E MÉTODOS

3.2.1 Distribuição das espécies de *Thamnophilidae*

Para definir os pontos de quebras fenotípicas e filogeográficas das espécies de *Thamnophilidae* no Escudo das Guianas, utilizei os dados apresentados por Naka (2011) e Naka et al. (2012). Nesses artigos são mapeadas as quebras de 12 das 19 espécies (ou pares de espécies) analisadas. Das 19 linhagens de aves utilizadas neste estudo, 3 representam pares de espécies (spp), 11 representam pares de subespécies (ssp) e 5 espécies não apresentam estrutura fenotípica descrita (sp) (ver Anexo A). Apesar de não apresentar estrutura fenotípica descrita, algumas das espécies incluídas neste estudo parecem representar espécies com variação genética críptica (NAKA, 2010).

3.2.2 Variação genética

Para definir a distância geográfica entre populações, subespécies ou pares de espécies, em lados opostos das quebras biogeográficas acima descritas, usei dados moleculares apresentados por Naka e colaboradores (2012) e Quitiaquez (2012). Os dados apresentados nessas publicações são exclusivamente mitocondriais, obtidos através do sequenciamento da unidade 2 do gene NADH dehydrogenase (também conhecido como ND2). Este gene tem sido amplamente usado no passado para descrever a estrutura genética de populações de aves, tanto de taxa que divergiram recentemente, como de taxa mais antigas (PRICE, 2008; ZINK & BARROWCLOUGH, 2008). As distâncias genéticas aqui apresentadas foram calculadas usando o Programa Paup 4.0 (SWOFFORD, 2001), utilizando os modelos de evolução molecular mais adequados para cada táxon definidos por Modeltest (POSADA & CRANDALL, 1998).

3.2.3 Variação vocal

As gravações utilizadas nesse trabalho foram obtidas através de gravações realizadas em campo (por Luciano Naka) e bancos de dados online, como Xeno-canto (<http://www.xeno-canto.org>) e Macaulay Library of Natural Sounds (www.macaulylibrary.org) (ver Apêndice B). No total, foram utilizadas 142 gravações sendo 88 da Macaulay Library (wav), 33 do Luciano Naka (wav) e 21 do Xeno-canto (mp3). A média de gravações por par de taxa foi de 4 gravações (± 1.07). Em apenas dois casos (*Thamnophilus punctatus* e *Myrmoborus myotherinus*) utilizei apenas uma gravação para caracterizar uma das populações.

Como utilizei também gravações disponibilizadas originalmente em mp3, para descrever e analisar o canto das aves utilizei unicamente variáveis que não são afetadas pelo

formato de gravação (ver Capítulo 1). Desta forma, as variáveis selecionadas para caracterizar a variação vocal das espécies incluíram 7 parâmetros vocais, seguindo as definições com base no manual do Raven Pro 1.5 (CHARIF et al., 2010):

1. *Número de notas*: Contagem do número total de notas ao longo de todo o canto. Não-robusta.
2. *Duração do canto*: período de tempo entre o início da primeira nota e o final da última nota. Unidade: s. Não-robusta.
3. *Ritmo*: número de notas por segundo (calculado pela razão entre o número de notas e a duração do canto). Não-robusta.
4. *Frequência máxima (Max Frequency)*: Frequência no tempo de maior amplitude. Unidade: Hz. Robusta.
5. *Frequência central (Center Frequency)*: Frequência que divide a seleção do canto em dois intervalos de frequência com energias iguais. Unidade: Hz. Robusta.
6. *Frequência mínima (Low Frequency)*: A menor frequência da seleção. Unidade: Hz. Robusta.
7. *Amplitude de frequência*: intervalo de frequência entre as frequências máxima e mínima do canto. Unidade: Hz. Não-robusta.

Para poderem ser analisados no Raven Pro 1.5, os arquivos obtidos em formato mp3 foram convertidos ao formato wav utilizando o programa Audacity® 2.1.1 (Audacity Team, 2016).

3.2.4 Análises de dados

Para avaliar os graus de variação vocal e genética em múltiplas espécies de aves da família *Thamnophilidae*, foi feita uma regressão linear utilizando a distância vocal euclidiana, baseada nas médias dos parâmetros vocais por população, e os dados de distância genética já existentes disponíveis em Naka et al. (2012) e Quitiaquez (2012). Para cada boxplot, foi realizada uma análise de variância (ANOVA).

Todas as análises foram realizadas no software R Core Team (R Foundation for Statistical Computing, 2016). A normalização dos dados foi feita a usando do pacote *vegan* (OKSANEN et al., 2016) e os gráficos utilizando o pacote *ggplot* (WICKHAM, 2009). Significância foi considerada quando $p \leq 0.05$.

3.3 RESULTADOS

Os parâmetros vocais variaram de acordo com as propriedades acústicas de cada espécie (Tabela 1). As duas espécies do gênero *Epinecrophyla* separadas pelo Rio Branco (*E. gutturalis* e *E. pyrrhonota*), por exemplo, apresentaram as frequências mais altas (máxima, central e mínima) variando de 3.981 Hz (frequência mínima) a 6.517 Hz (frequência máxima), tendo assim, a maior amplitude de frequência. As duas subespécies amostradas no gênero *Willisornis* (*W. p. pocilinotus* e *W. p. duidae*) possuem o canto mais longo, com uma duração de 6 a 8 segundos. Já *Thamnomanes caesius* é a espécie com o maior número de notas no canto, com 46 a 48 notas. Por fim, *Herpsilochmus dorsimaculatus* apresentou o ritmo mais veloz, de 20 a 21 notas/s.

Os resultados mostram que os pares de populações analisados, sejam eles dentro de uma mesma espécie (como *H. dorsimaculatus* e *T. caesius*), diferentes subespécies dentro de uma mesma espécie (como *Cercomacra cinerascens immaculata/cinerascens* ou *Myrmotherula a. axillaris/melaena*), ou ainda pares de espécies (como *Epinecrophyla gutturalis/E. pyrrhonota* e *Hypocnemis cantator/H. flavescens*), apresentam níveis de variação vocal variável, indo de 0.27 (no par de espécies *Gymnopithys rufigula/G. leucaspis*) a 2.2 (no par de espécies *E. gutturalis/E. pyrrhonota*) (ver Tabela 2). O nível de variação vocal não foi estatisticamente diferente se comparados os pares de espécies, subespécies ou dentro de uma mesma espécie (ANOVA, $F_{(2,16)} = 0.82$, $p = 0.54$) (Figura 1), embora os valores médios indiquem um valor maior nos pares de espécies, como seria esperado.

Tabela 1: Valores médios e desvio padrão de cada variável vocal medida nas populações em lados opostos das respectivas quebras biogeográficas definidas por Naka et al. (2012).

Táxon	Quebra ¹	Par ²	n	Nº de notas	Duração (s)	Ritmo (nº notas/s)	Frequência máxima (Hz)	Frequência central (Hz)	Frequência mínima (Hz)	Amplitude de frequência (Hz)
<i>Epinecrophylla gutturalis</i>	B	E	3	33,9 (±3,13)	2,0 (±0,16)	17,2 (±0,70)	6124,1 (±246,27)	6270,5 (±173,87)	3981,0 (±296,99)	2143,1 (±322,25)
<i>Epinecrophylla pyrrhonota</i>	B	W	5	22,2 (±5,06)	1,6 (±0,16)	14,2 (±4,87)	6517,4 (±198,91)	6445,6 (±212,42)	5115,9 (±230,81)	1401,5 (±413,44)
<i>Myrmophylax atrothorax</i>	N	E	3	6,7 (±1,26)	1,6 (±0,14)	4,2 (±0,54)	4493,3 (±366,30)	4493,3 (±439,90)	2784,6 (±196,26)	1708,7 (±176,53)
<i>Myrmophylax atrothorax</i>	N	W	3	6,5 (±0,87)	1,5 (±0,05)	4,3 (±0,43)	4652,2 (±276,77)	4564,8 (±146,21)	2809,9 (±281,53)	1842,2 (±144,06)
<i>Myrmotherula brachyura</i>	N	E	7	20,9 (±4,04)	2,5 (±0,52)	8,3 (±0,82)	2669,8 (±226,58)	2695,5 (±198,78)	1530,1 (±248,92)	1139,7 (±181,31)
<i>Myrmotherula brachyura</i>	N	W	7	29,9 (±5,69)	2,2 (±0,32)	13,4 (±1,23)	2716,3 (±175,97)	2660,9 (±108,27)	1635,7 (±156,55)	1080,5 (±142,28)
<i>Myrmotherula a. axillaris</i>	BN	E	4	22,9 (±2,25)	2,3 (±0,25)	10,2 (±0,67)	2422,5 (±88,79)	2304,1 (±187,72)	1256,8 (±250,42)	1165,7 (±321,71)
<i>Myrmotherula a. melaena</i>	BN	W	4	8,83 (±0,76)	2,6 (±0,29)	3,35 (±0,09)	2894,8 (±836,75)	2902,0 (±830,60)	1408,8 (±151,78)	1486,0 (±740,05)
<i>Myrmotherula menetriesii cinereiventris</i>	B	E	5	10,6 (±1,64)	5,7 (±0,57)	1,9 (±0,31)	3505,6 (±134,81)	3324,7 (±167,91)	2438,1 (±192,44)	1067,5 (±186,32)
<i>Myrmotherula m. pallida</i>	B	W	6	10,9 (±1,69)	6,6 (±1,32)	1,7 (±0,09)	3409,4 (±280,98)	3244,3 (±100,67)	2094,8 (±297,84)	1314,7 (±347,87)
<i>Thamnomanes caesius</i>	B	E	3	46,3 (±20,39)	4,7 (±1,63)	9,7 (±1,00)	2454,8 (±569,72)	2627,1 (±410,84)	1160,1 (±137,92)	1294,7 (±513,09)
<i>Thamnomanes caesius</i>	B	W	3	48,0 (±1,00)	5,5 (±0,96)	8,9 (±1,31)	3409,5 (±803,03)	2907,0 (±407,93)	866,3 (±168,25)	2543,2 (±823,33)
<i>Herpsilochmus dorsimaculatus</i>	B	E	4	34,5 (±2,89)	1,6 (±0,16)	21,2 (±0,64)	2110,3 (±164,96)	2088,8 (±177,59)	1522,6 (±152,17)	587,7 (±136,02)
<i>Herpsilochmus dorsimaculatus</i>	B	W	4	34,4 (±4,11)	1,7 (±0,29)	20,4 (±1,24)	2055,3 (±88,63)	2033,7 (±94,97)	1335,8 (±338,42)	719,5 (±290,35)
<i>Thamnophilus murinus cayennensis</i>	B	E	3	5,8 (±1,04)	2,2 (±0,35)	2,7 (0,15)	1780,1 (±99,42)	1765,7 (±113,92)	1032,1 (±60,70)	748,0 (±55,80)
<i>Thamnophilus m. murinus</i>	B	W	3	5,7 (±0,58)	2,0 (±0,27)	2,8 (±0,10)	1938,0 (±43,10)	1923,6 (±49,77)	1281,2 (±31,60)	656,8 (±29,51)
<i>Thamnophilus punctatus</i>	B	E	4	10,6 (±1,18)	3,1 (±0,35)	3,5 (±0,32)	1658,1 (±82,48)	1658,1 (±82,48)	1127,8 (±50,16)	530,3 (±92,41)
<i>Thamnophilus punctatus</i>	B	W	1	10,5	2,64	3,95	1636,55	1658,10	1316,60	319,95
<i>Thamnophilus amazonicus divaricatus</i>	B	E	3	23,3 (±1,61)	2,8 (±0,37)	8,4 (±0,88)	1557,6 (±32,89)	1543,2 (±12,44)	712,5 (±150,67)	845,1 (±182,80)
<i>Thamnophilus a. cinereiceps</i>	B	W	3	33,3 (±5,13)	3,6 (±0,63)	9,3 (±0,18)	1418,8 (±111,22)	1380,3 (±78,64)	721,5 (±130,33)	697,2 (±69,13)
<i>Cymbilaimus l. lineatus</i>	B	E	3	7,2 (±1,26)	2,9 (±0,73)	2,5 (±0,21)	1571,9 (±43,8)	1557,6 (±54,21)	1267,3 (±68,05)	304,6 (±41,79)
<i>Cymbilaimus l. intermedius</i>	B	W	3	5,0 (±0,00)	2,9 (±0,35)	1,7 (±0,20)	1500,2 (±81,53)	1464,3 (±86,15)	1272,9 (±90,11)	227,3 (±17,30)
<i>Hylophylax n. naevius</i>	B	E	3	17, 0 (±7,81)	3,6 (±1,86)	4,8 (±0,27)	4394,7 (±83,22)	4303,5 (±154,60)	2494,9 (±90,93)	1899,8 (±134,16)
<i>Hylophylax n. consobrinus</i>	B	W	3	16,2 (±1,61)	3,5 (±0,39)	4,6 (±0,07)	4557,7 (±454,93)	4385,5 (±217,69)	2079,0 (±291,98)	2478,7 (±544,24)

Tabela 1 - Valores médios e desvio padrão de cada variável vocal medida nas populações dos lados opostos dos rios Branco (B), Negro (N) e interflúvio Branco/Negro (BN), no Escudo das Guianas. (continuação)

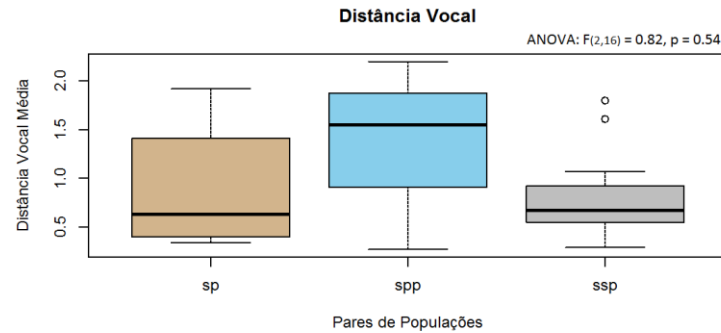
Táxon	Quebra ¹	Par ²	n	Nº de notas	Duração (s)	Ritmo (nº notas/s)	Frequência máxima (Hz)	Frequência central (Hz)	Frequência mínima (Hz)	Amplitude de frequência (Hz)
<i>Myrmoborus myotherinus ardesiacus</i>	N	E	1	8,0	3,055	2,62	3574,5	3574,5	2574,1	1000,4
<i>Myrmoborus m. elegans</i>	N	O	6	9,9 (±1,20)	3,7 (±0,47)	2,7 (±0,24)	3646,3 (±305,34)	3596,0 (±224,21)	2291,0 (±397,60)	1355,3 (±229,28)
<i>Percnostola r. rufifrons</i>	B	E	4	5,9 (±1,18)	2,1 (±0,36)	2,8 (±0,11)	2632,4 (±71,13)	2648,6 (±55,58)	1836,3 (±279,08)	796,2 (±233,54)
<i>Percnostola rufifrons minor</i>	B	O	4	8,5 (±1,73)	2,5 (±0,55)	3,4 (±0,21)	2627,1 (±93,02)	2621,7 (±106,01)	1974,3 (±272,87)	652,7 (±196,57)
<i>Cercomacra cinerascens immaculata</i>	B	E	5	14,3 (±1,30)	5,0 (±0,79)	2,9 (±0,24)	2355,7 (±182,47)	2325,6 (±136,18)	1255,2 (±90,07)	1100,6 (±215,05)
<i>Cercomacra c. cinerascens</i>	B	O	3	15,0 (±0,00)	7,4 (±1,09)	2,1 (±0,29)	2378,9 (±365,47)	2264,1 (±269,86)	1225,9 (±32,66)	1153,0 (±339,04)
<i>Cercomacra tyrannina saturator</i>	BN	E	3	31,7 (±3,51)	2,3 (±0,51)	14,0 (±2,91)	2584,0 (±621,08)	2569,6 (±597,27)	1837,5 (±941,89)	746,5 (±454,09)
<i>Cercomacra t. tyrannina</i>	BN	O	7	24,7 (±4,03)	2,3 (±0,26)	10,6 (±1,32)	2479,4 (±131,22)	2387,1 (±128,85)	1014,7 (±233,73)	1464,7 (±131,31)
<i>Hypocnemis cantator</i>	B	E	4	10,5 (±0,58)	2,6 (±0,54)	4,2 (±0,63)	3273,0 (±140,66)	3283,8 (±150,73)	1618,3 (±290,76)	1654,8 (±371,84)
<i>Hypocnemis flavescens</i>	B	O	3	10,3 (±1,53)	2,6 (±0,23)	4,0 (±0,32)	2759,4 (±129,29)	2687,6 (±205,24)	1705,8 (±291,32)	1053,6 (±310,50)
<i>Willisornis p. poecilinotus</i>	BN	E	4	10,0 (±2,45)	5,8 (±0,89)	1,8 (±0,54)	3359,2 (±365,42)	3224,6 (±354,45)	2086,0 (±359,89)	1273,2 (±211,04)
<i>Willisornis p. duidae</i>	BN	O	3	8,8 (±2,36)	7,5 (±1,27)	1,2 (±0,12)	3265,9 (±97,10)	3014,6 (±197,35)	1842,0 (±61,47)	1423,8 (±102,01)
<i>Gymnopithys rufigula</i>	N	E	3	12,7 (±1,15)	2,7 (±0,39)	4,67 (±0,37)	3100,8 (±227,91)	3043,3 (±131,57)	1639,2 (±540, 44)	1461,6 (±401,23)
<i>Gymnopithys leucaspis</i>	N	O	4	11,0 (±2,16)	2,5 (±0,54)	4,3 (±0,17)	3133,1 (±177,13)	3176,1 (±73,52)	1548,1 (±343,63)	1584,9 (±480,12)

1 Quebras biogeográficas. Localização das principais quebras biogeográficas detectadas para cada par de populações/subespécies/espécies: Rio Branco (B), Rio Negro (N), interflúvio Branco/Negro (BN).

2 População a leste (E) ou oeste (W) da quebra biogeográfica detectada.

Fonte: O Autor (2016).

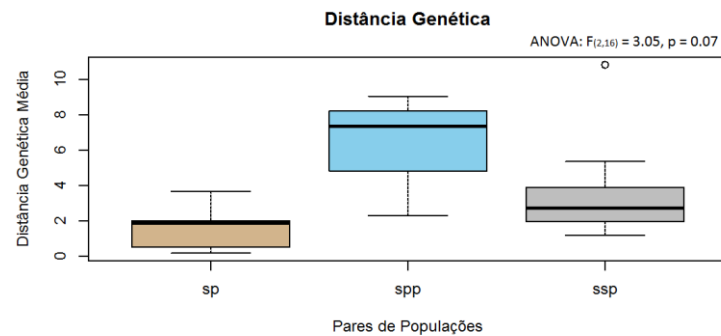
Figura 1: Boxplot da distância vocal entre pares de populações da mesma espécie (sp), de alo-espécies (spp) e de subespécies diferentes (ssp) no Escudo das Guianas.



Fonte: O Autor (2016).

A distância genética também foi variável entre os pares estudados, variando de praticamente nula (0.17%) em populações de *Thamnophilus punctatus* em lados opostos do Rio Branco, até 10.88% entre as duas subespécies de *Willisornis poecilinotus* (*poecilinotus* vs *duidae*). Como esperado, o grau de diferenciação genética entre diferentes espécies foi maior do que a distância entre diferentes subespécies ou populações da mesma espécie (ANOVA, $F(2,16) = 3.05, p = 0.07$) (Figura 2).

Figura 2: Boxplot da distância genética entre pares de populações da mesma espécie (sp), de alo-espécies (spp) e de subespécies diferentes (ssp) no Escudo das Guianas.



Fonte: O Autor (2016).

Tabela 2: Distância vocal e genética em 19 pares de populações, divididos por uma barreira biogeográfica no Escudo das Guianas: Rio Branco (B), Rio Negro (N) ou interflúvio Branco/Negro (BN). As populações podem representar populações da mesma espécie potencialmente isoladas pelo rio Branco (sp), diferentes subespécies (ssp) ou pares de espécies (spp). A distância vocal foi obtida através das médias dos parâmetros vocais de cada população. As distâncias genéticas corrigidas foram obtidas de Naka (2010), Naka et al. (2012) e Quitiaquez (2012).

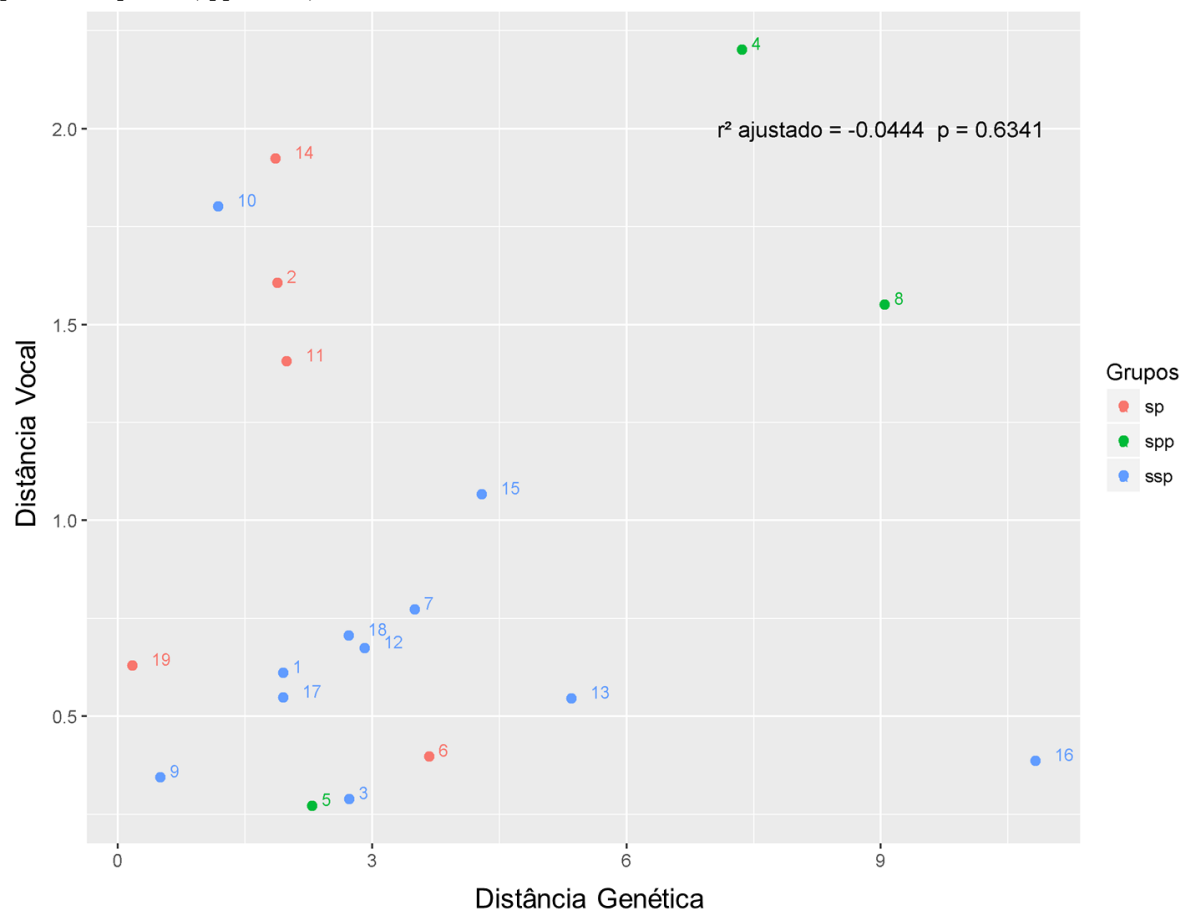
Par de população ou taxa	Local de quebra biogeográfica	Pares de populações	Distância Vocal	Distância Genética
1. <i>Cercomacra cinerascens immaculata/cinerascens</i>	B	ssp	0,61	1.95
2. <i>Cercomacra tyrannina saturator/tyrannina</i>	BN	ssp	1.61	1.88
3. <i>Cymbilaimus l. lineatus/intermedius</i>	B	ssp	0.29	2.73
4. <i>Epinecrophylla gutturalis</i> / <i>E. pyrrhonota</i>	B	spp	2.20	7.36
5. <i>Gymnopathys rufigula</i> /G. <i>leucaspis</i>	N	spp	0.27	2.29
6. <i>Herpsilochmus dorsimaculatus</i>	B	sp	0.40	3.67
7. <i>Hylophilax n. naevius</i> / <i>consobrinus</i>	B	ssp	0.77	3.5
8. <i>Hypocnemis cantator</i> /H. <i>flavescens</i>	B	spp	1.55	9.04
9. <i>Myrmophylax atrothorax</i>	N	sp	0.34	0.5
10. <i>Myrmotherula a. axillaris/melaena</i>	BN	ssp	1.80	1.18
11. <i>Myrmotherula brachyura</i>	N	sp	1.41	1.99
12. <i>Myrmotherula menetriesii cinereiventris/pallida</i>	B	ssp	0.67	2.91
13. <i>Percnostola r. rufifrons/minor</i>	B	ssp	0.55	5.35
14. <i>Thamnomanes caesius</i>	B	sp	1.92	1.86
15. <i>Thamnophilus amazonicus divaricatus/cinereiceps</i>	B	ssp	1.07	4.29
16. <i>Willisornis p. poecilinotus/duidae</i>	BN	ssp	0.39	10.82
17. <i>Thamnophilus murinus cayennensis/murinus</i>	B	ssp	0.55	1.95
18. <i>Myrmoborus myotherinus ardesiacus/elegans</i>	N	ssp	0.71	2.72
19. <i>Thamnophilus punctatus</i>	B	sp	0.63	0.17

Fonte: O Autor (2016).

Analisando todos os pares, encontramos que o grau de variação vocal (distância vocal multivariada) entre as populações de lados opostos das quebras biogeográficas não foi explicado pelo grau de variação genética dessas mesmas populações ($r^2_{(1, 17)} = 0.04$, $p = 0.63$) (Tabela 2, Figura 3). Quando analisados separadamente, a variação nos sete diferentes parâmetros univariados testados (frequência máxima, frequência central, frequência mínima, amplitude de frequência, duração, ritmo e nº de notas) também não pode ser explicada pela variação genética (Tabela 3, Figs 4-10). A frequência máxima variou entre 0 (sem variação entre *Percnostola r. rufifrons/minor*) até 900 Hz (em duas populações de *Thamnomanes caesius* sem diferenciação fenotípica descrita) (Figura 4). A frequência central variou de 0 (sem variação para o *Thamnophilus punctatus*) a 600 Hz (em duas populações de *M. axillaris* sem diferenciação fenotípica descrita) (Figura 5). A frequência mínima variou de cerca de 0 (sem variação nas duas subespécies de *Cymbilaimus lineatus*) a 1.100 Hz (nas duas espécies

do gênero *Epinecrophylla*) (Figura 6). O nível de variação na amplitude de frequência foi de ~50 Hz (nas duas subespécies de *Cercomacra cinerascens*) a 1.250 Hz (nas duas populações de *T. punctatus* sem diferenciação fenotípica descrita) (Figura 7). Em relação à duração total do canto, ela variou de quase 0 (sem variação nas subespécies de *Cymbilaimus. lineatus*) a 2 segundos (nas duas subespécies de *Cercomacra cinerascens*) (Figura 8). No que se refere ao ritmo, este variou de cerca de 0 (sem variação para *Myrmophylax atrothorax*) a 7 notas/tempo (nas duas subespécies de *Myrmotherula axillaris*) (Figura 9). Por último, o número de notas chegou a variar de 0 (sem variação para *Herpsilochmus dorsimaculatus*) a 14 (nas duas subespécies *Myrmotherula axillaris*) (Figura 10).

Figura 3: Relação entre a distância vocal (eixo y) e a distância genética (eixo x) em 19 pares de populações de aves da família *Thamnophilidae*, no Escudo das Guianas. As cores representam o grau de diferenciação taxonômica, incluindo populações de uma mesma espécie (sp, vermelho), diferentes subespécies (ssp, azul) e pares de espécies (spp, verde).



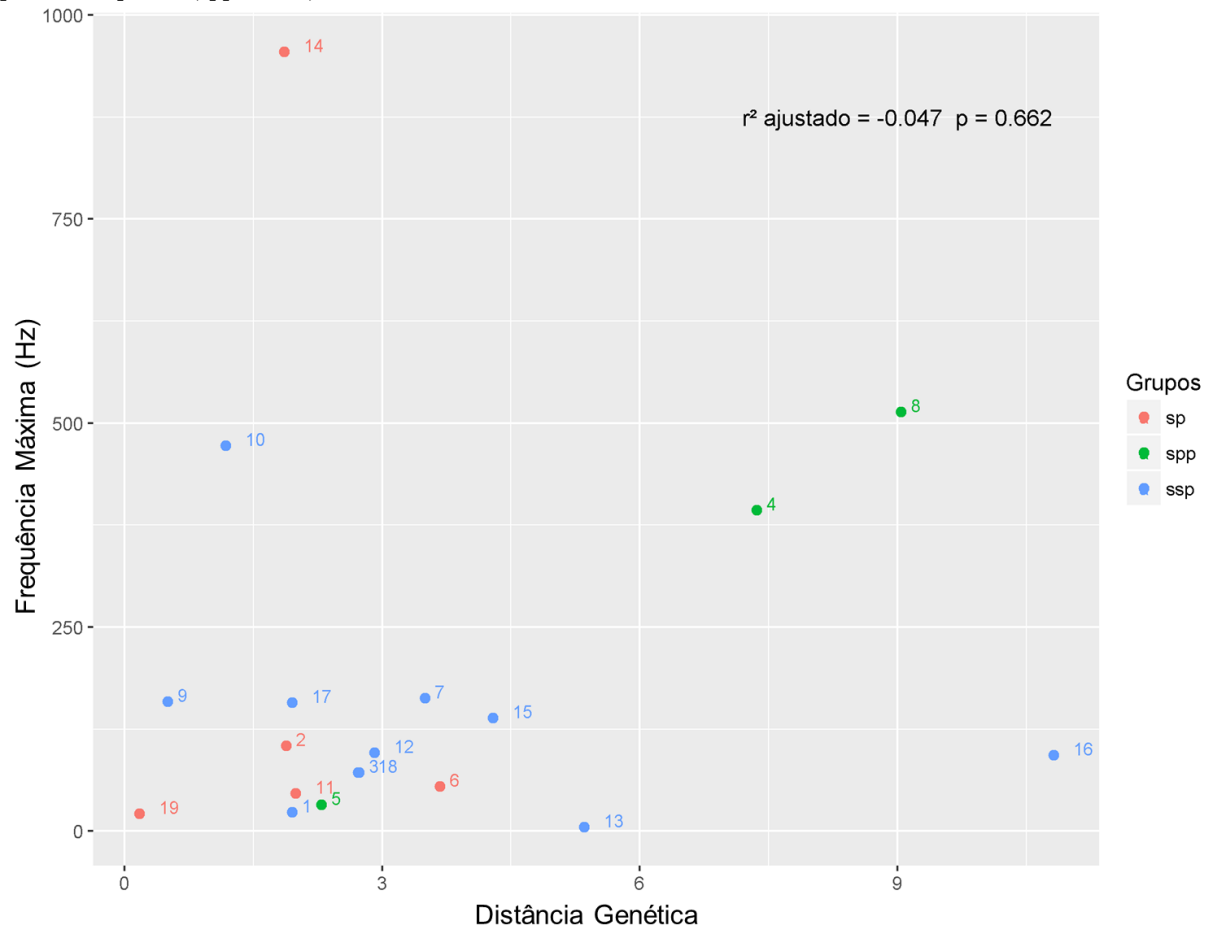
Fonte: O Autor (2016).

Tabela 3 - Valores da regressão linear para cada variável dos cantos medidos.

Parâmetro vocal	F-stat	P Value	r ² ajustado	df 1	df 2
Frequência máxima	0.1979	0.662	-0.0466	1	17
Frequência central	18.345	0.1933	0.0443	1	17
Frequência mínima	0.7704	0.3923	-0.0129	1	17
Duração	0.7807	0.3893	-0.0123	1	17
Amplitude de frequência	0.2161	0.6479	-0.0455	1	17
Nº de notas	2,00E-04	0.9876	-0.0588	1	17
Ritmo	0.4432	0.5145	-0.0319	1	17

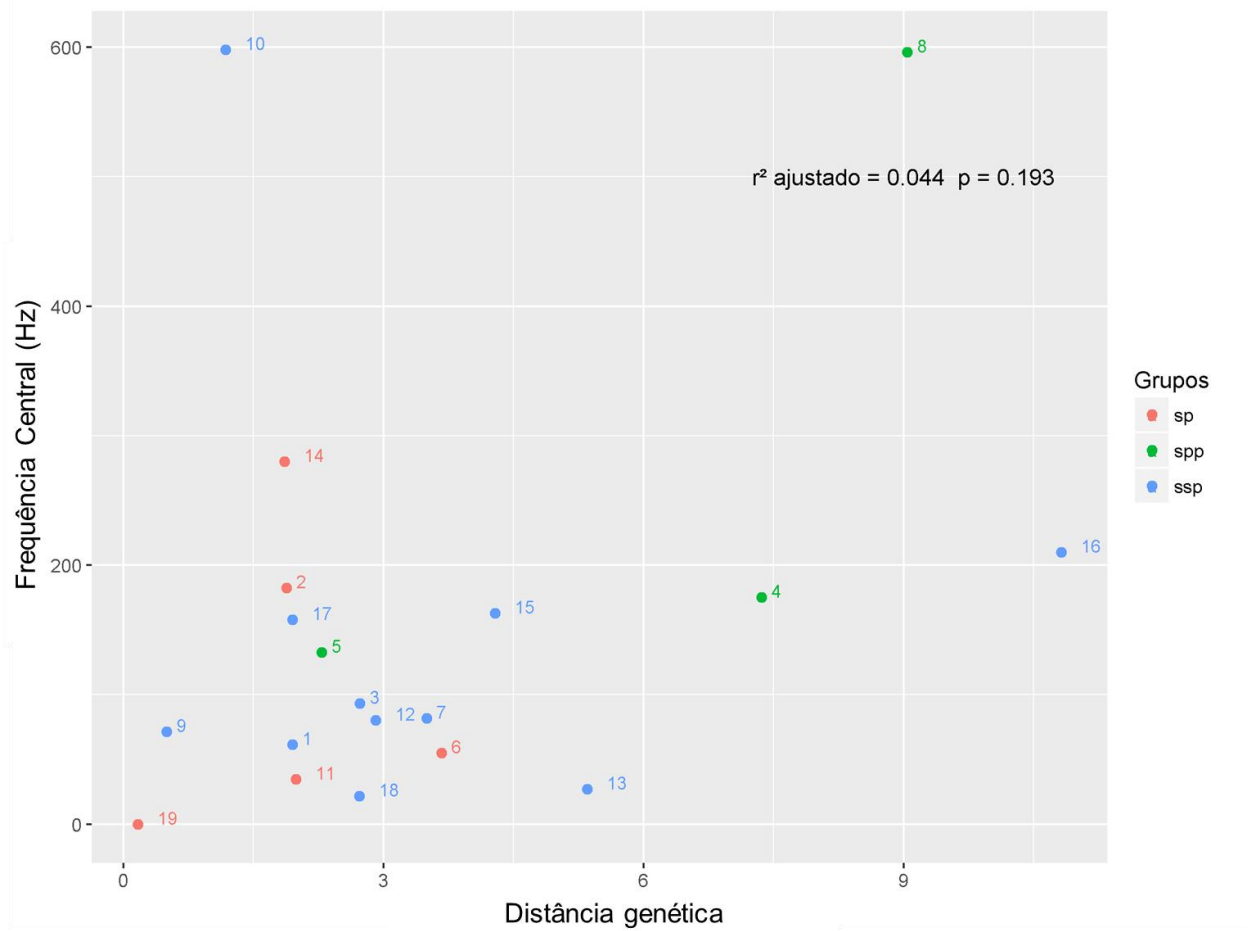
Fonte: O Autor (2016).

Figura 4: Relação entre a frequência máxima (eixo y) e a distância genética (eixo x) em 19 pares de populações de aves da família *Thamnophilidae*, no Escudo das Guianas. As cores representam o grau de diferenciação taxonômica, incluindo populações de uma mesma espécie (sp, vermelho), diferentes subespécies (ssp, azul) e pares de espécies (spp, verde).



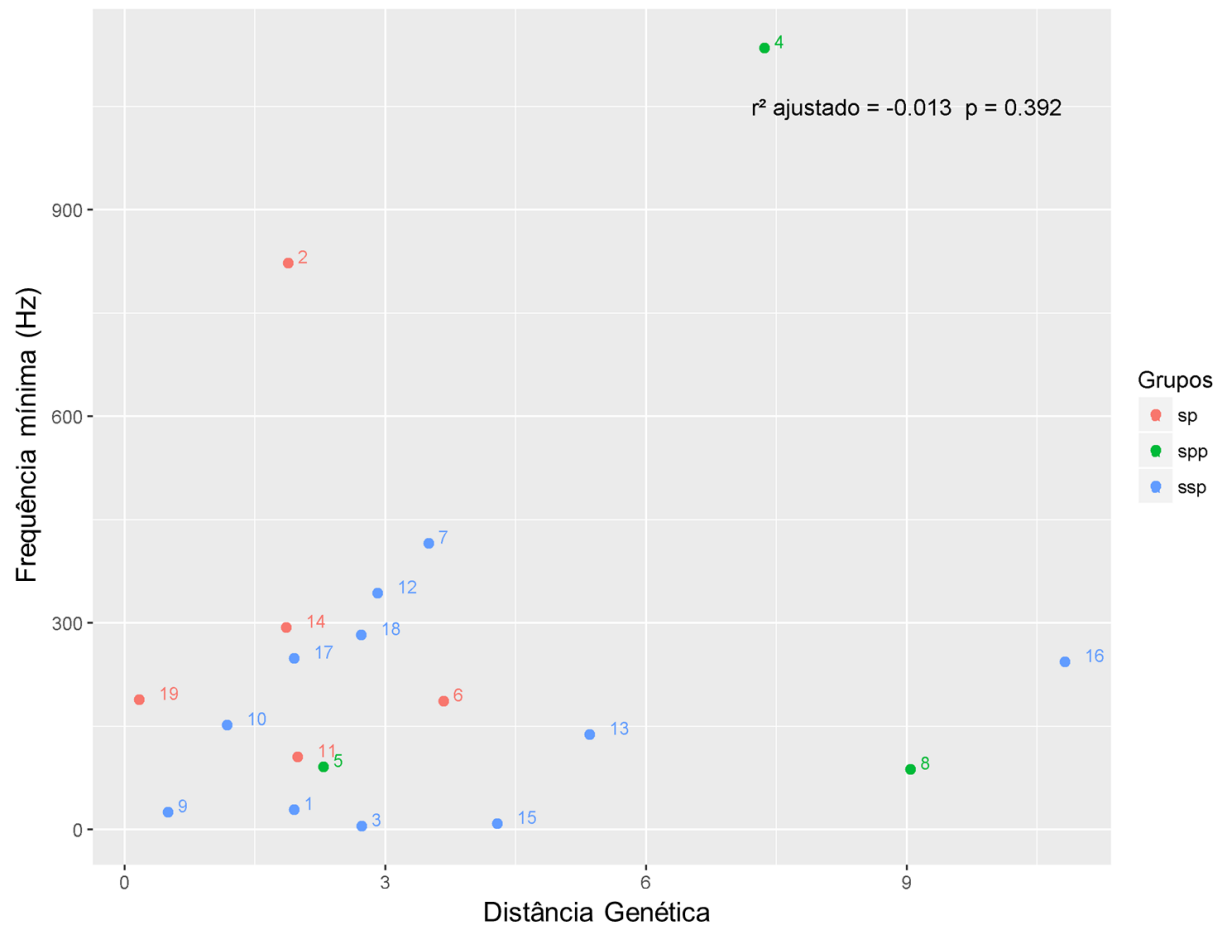
Fonte: O Autor (2016).

Figura 5: Relação entre a frequência central (eixo y) e a distância genética (eixo x) em 19 pares de populações de aves da família *Thamnophilidae*, no Escudo das Guianas. As cores representam o grau de diferenciação taxonômica, incluindo populações de uma mesma espécie (sp, vermelho), diferentes subespécies (ssp, azul) e pares de espécies (spp, verde).



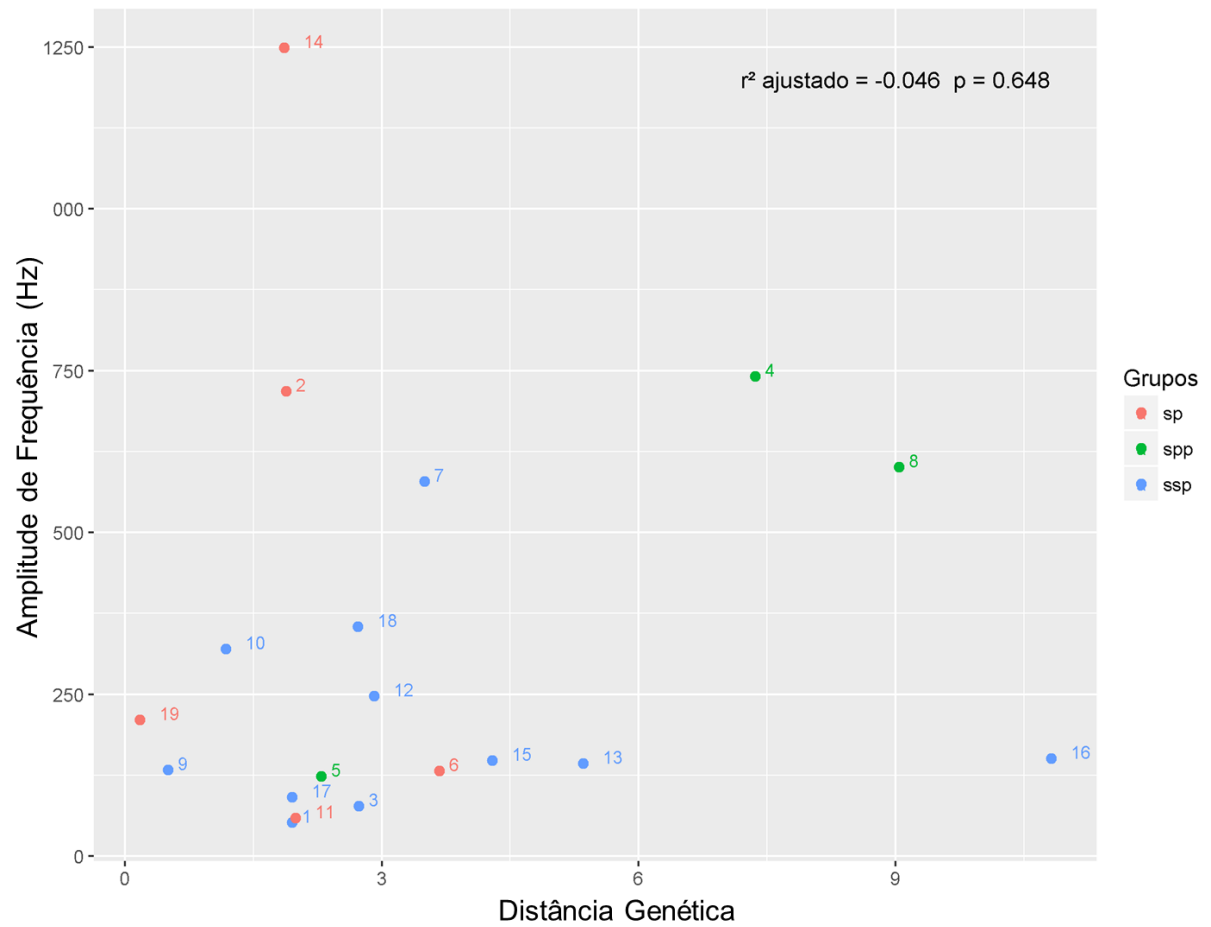
Fonte: O Autor (2016).

Figura 6: Relação entre a frequência mínima (eixo y) e a distância genética (eixo x) em 19 pares de populações de aves da família *Thamnophilidae*, no Escudo das Guianas. As cores representam o grau de diferenciação taxonômica, incluindo populações de uma mesma espécie (sp, vermelho), diferentes subespécies (ssp, azul) e pares de espécies (spp, verde).



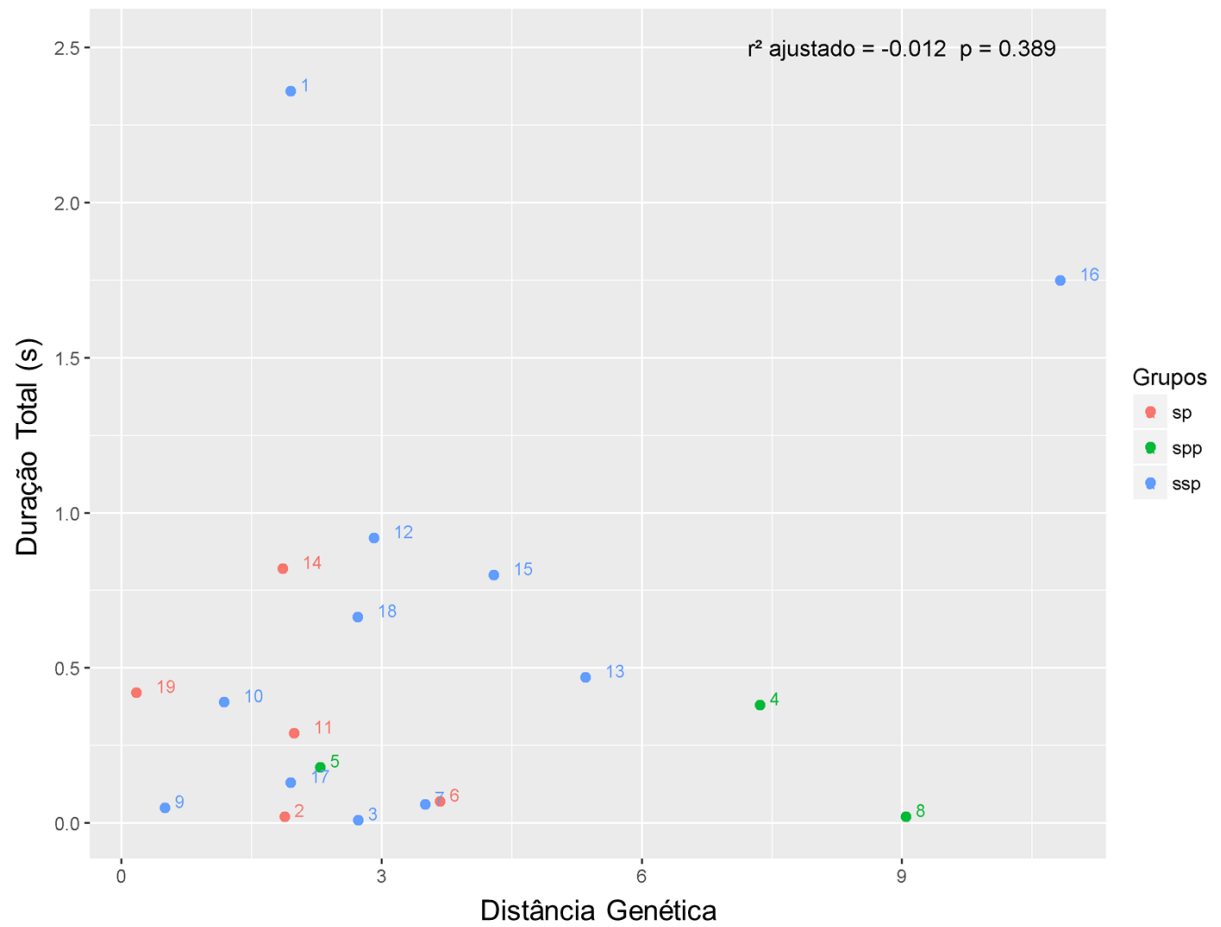
Fonte: O Autor (2016).

Figura 7: Relação entre a amplitude de frequência (eixo y) e a distância genética (eixo x) em 19 pares de populações de aves da família *Thamnophilidae*, no Escudo das Guianas. As cores representam o grau de diferenciação taxonômica, incluindo populações de uma mesma espécie (sp, vermelho), diferentes subespécies (ssp, azul) e pares de espécies (spp, verde).



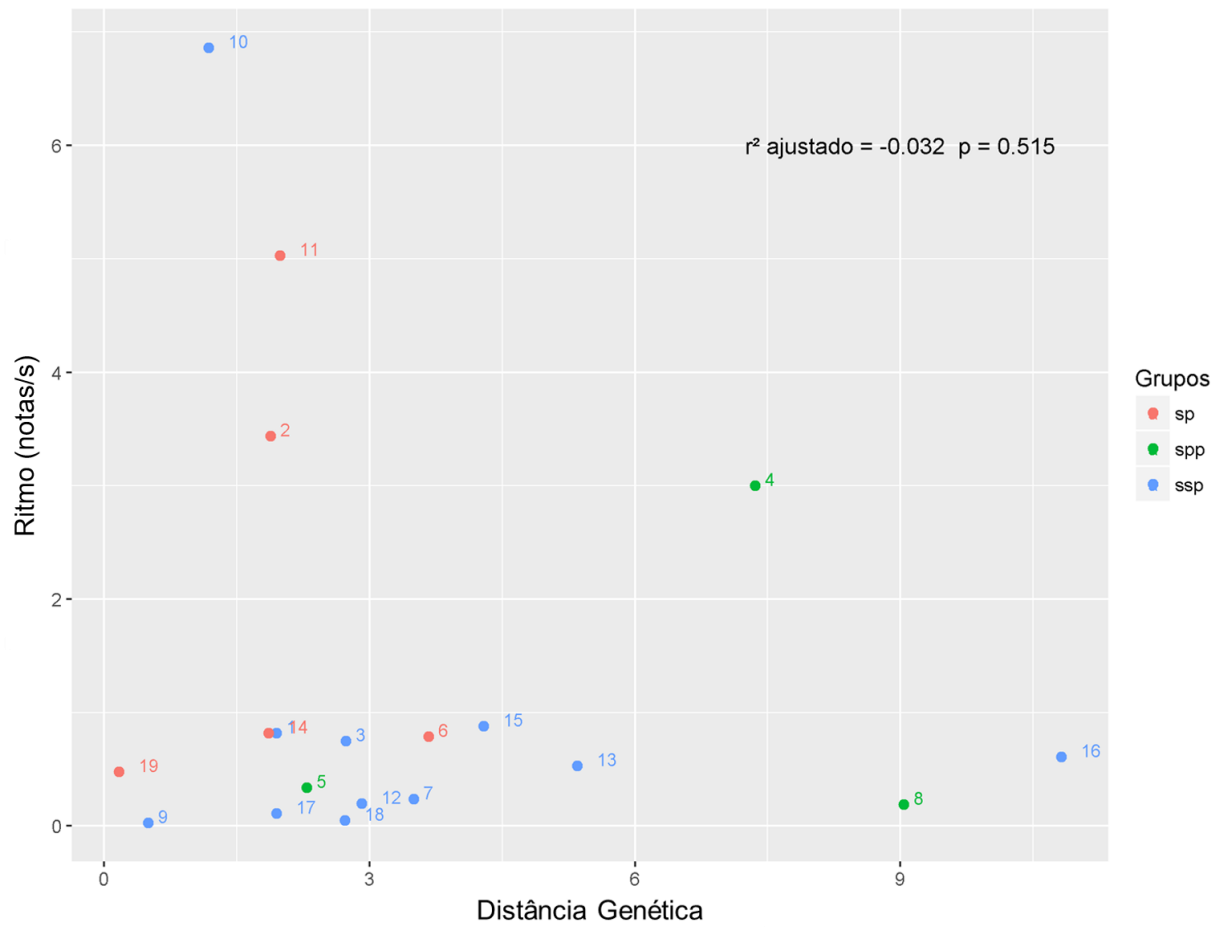
Fonte: O Autor (2016).

Figura 8: Relação entre a duração total do canto (eixo y) e a distância genética (eixo x) em 19 pares de populações de aves da família *Thamnophilidae*, no Escudo das Guianas. As cores representam o grau de diferenciação taxonômica, incluindo populações de uma mesma espécie (sp, vermelho), diferentes subespécies (ssp, azul) e pares de espécies (spp, verde).



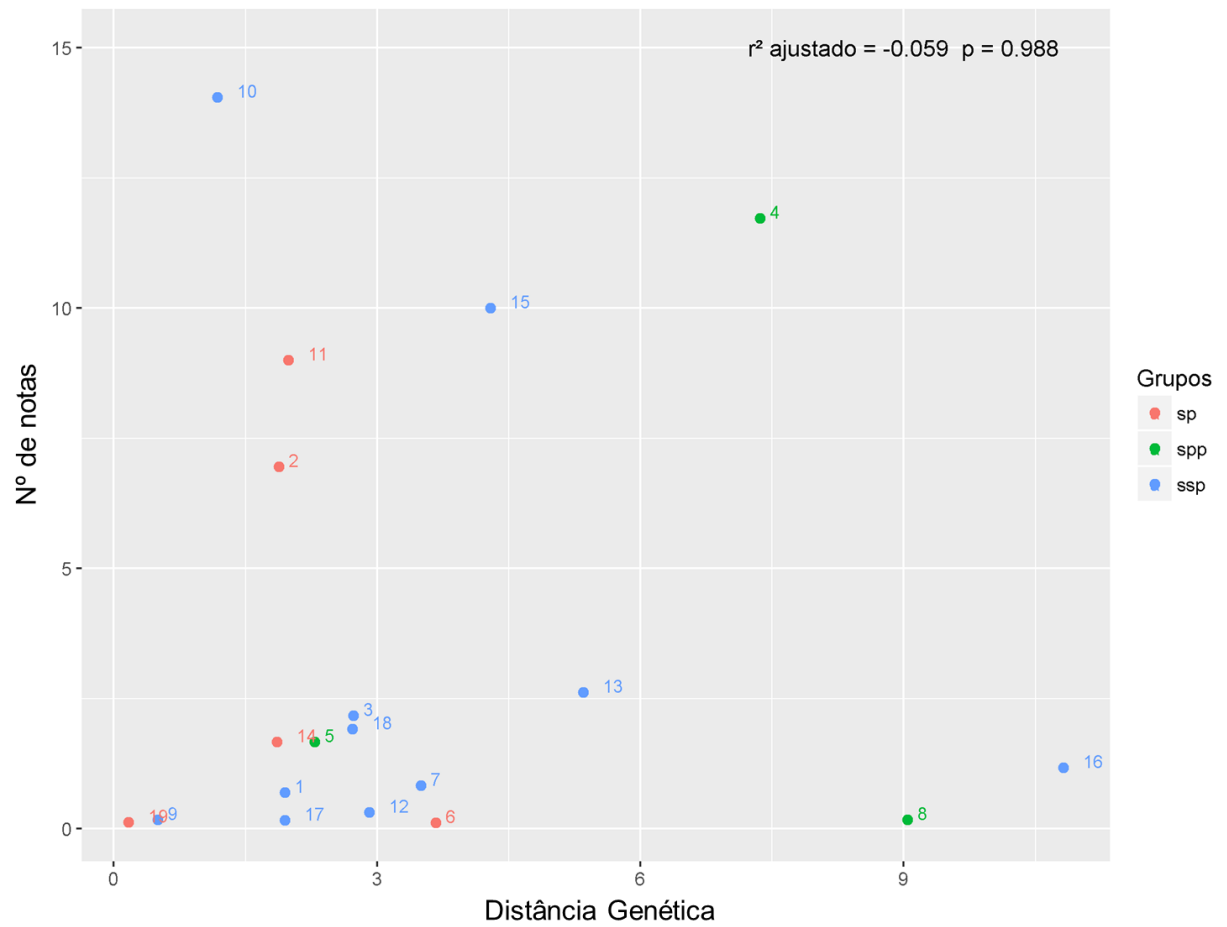
Fonte: O Autor (2016).

Figura 9: Relação entre o ritmo (eixo y) e a distância genética (eixo x) em 19 pares de populações de aves da família *Thamnophilidae*, no Escudo das Guianas. As cores representam o grau de diferenciação taxonômica, incluindo populações de uma mesma espécie (sp, vermelho), diferentes subespécies (ssp, azul) e pares de espécies (spp, verde).



Fonte: O Autor (2016).

Figura 10: Relação entre o número de notas (eixo y) e a distância genética (eixo x) em 19 pares de populações de aves da família *Thamnophilidae*, no Escudo das Guianas. As cores representam o grau de diferenciação taxonômica, incluindo populações de uma mesma espécie (sp, vermelho), diferentes subespécies (ssp, azul) e pares de espécies (spp, verde).



Fonte: O Autor (2016).

3.4 DISCUSSÃO

O isolamento geográfico é reconhecido como um dos principais fatores para a especiação (COYNE & ORR, 2004). O grau de diferenciação de populações alopátricas depende de diversos fatores, incluindo o tempo que essas duas populações passaram em isolamento (MAYR & O'HARA, 1986), o tamanho da população efetiva (CARLING et al., 2010), a presença de seleção (EDWARDS et al., 2005), adaptação ao meio (SLABBEKOORN & SMITH, 2002), ou a própria estocasticidade da deriva gênica (BERTRAND, 2013). Entender como as barreiras biogeográficas inibem a dispersão e o fluxo gênico é importante para entender melhor o processo de especiação (NAKA, 2011). Na Amazônia, os grandes rios são responsáveis por esse processo e a perda da comunicação entre essas populações pode separar os caminhos evolutivos de uma população que já foi panmíctica. Dependendo do tipo de mudanças que possam surgir, estas podem funcionar como barreiras de isolamento pré-zigótico, como é o caso do canto das aves (EDWARDS et al., 2005). Este trabalho trouxe exemplos práticos de mudanças que vêm ocorrendo em populações de aves numa família bastante representativa da região Neotropical (Thamnophilidae), algumas das quais se encontram separadas há milhares de anos. Mas até que ponto a variação vocal pode ser utilizada na determinação dos limites das espécies de aves?

Há décadas que a variação nas vocalizações das aves, particularmente nos Suboscines, têm sido interpretada com um reflexo da variação genética das populações (RAPOSO & HÖFLING, 2003). Raposo e Höfling (2003) sugerem que as vocalizações têm sido tratadas como um “super-caráter”, onde estas são consideradas mais importantes do que outras características do fenótipo, sendo um caráter mais informativo para detectar divergência recente das espécies. No entanto, vimos no presente estudo que a variação genética não é um bom preditor da variação vocal de 19 pares de populações/subespécies/espécies de uma família altamente representativa da região Neotropical. Estes resultados devem ser ampliados em futuros estudos evolutivos com mais espécies e dados moleculares e morfológicos para uma melhor compreensão do que realmente influencia as mudanças nas vocalizações das aves.

Neste trabalho avaliamos a variação vocal em 19 pares de espécies de Suboscines (família Thamnophilidae) com diferentes níveis de variação genética e fenotípica em lados opostos de importantes barreiras ribeirinhas na Amazônia. Os resultados mostraram que não

podemos explicar o grau de variação vocal através da variação genética. Isso tem implicações importantes para o processo de especiação, pois sugere que a variação vocal não se desenvolve seguindo um relógio, diferente da variação genética que segue o relógio molecular.

Conforme esperado, a distância genética parece ser maior entre espécies do que dentre subespécies ou dentro da mesma espécie. Entretanto, esta relação não se manteve em relação à distância vocal, a qual não foi estatisticamente significativa entre os três grupos taxonômicos.

Não deixa de surpreender que algumas das espécies com populações sem diferenciação taxonômica descrita possuem níveis de variação genética e vocal, tanto ou mais elevados do que diferentes espécies. Geneticamente, isso poderia ser explicado pela presença de espécies crípticas (e.g., casos de diferenciação genética, sem variação fenotípica) (BICKFORD et al., 2006). Em geral, estudos de populações (subespécies) de Suboscines em lados opostos de rios amazônicos têm mostrado que quando apresentam variação vocal, também apresentam diferenciação genética (RODRIGUES et al., 2013; COHN-HAFT & BRAVO, 2013). Dez dos pares de populações/espécies estudadas (i.e. *Willisornis p. poecilinotus/duidae*, *H. cantator/H. flavescens*, *E.gutturalis/E. pyrrhonota*, *Percnostola r. rufifrons/minor*, *Tamnophilus a. divaricatus/cinereiceps*, *H. dorsimaculatus*, *Myrmotherula m. cinereiventris/pallida*, *Cymbilaimus l. lineatus/intermedius*, *Myrmoborus m. ardesiacus/elegans* e *G. rufigula/G. leucaspis*) não apresentaram variação vocal aparente, apesar de terem níveis relativamente elevados de diferenciação genética no Escudo das Guianas (e.g., acima de 2%,) que tem sido considerado por parte da literatura como o limiar separando de diferenciação para espécies biológicas de aves (HEBERT et al., 2004). Isso sugere que embora a presença de variação vocal seja, em geral, acompanhada por variação genética, nem sempre a variação genotípica resulta em mudanças nas vocalizações.

O surgimento de variação fenotípica e genotípica em populações isoladas por uma barreira física pode ser o resultado da quebra de fluxo gênico através do processo de especiação alopátrica (COYNE & ORR, 2004). Essa quebra no fluxo gênico pode resultar no surgimento de duas populações geneticamente distintas. Quanto maior for o tempo em isolamento entre as duas populações, maior deveria ser a sua divergência genética (MAYR & O'HARA, 1986). Portanto, o mecanismo de deriva gênica pode resultar em mudanças genéticas, independentemente de mudanças no fenótipo. A taxa relativamente constante de mutações genéticas foi interpretada como evidência do relógio molecular (ZUCKERKANDL & PAULING, 1962). Para genes mitocondriais, como o citocromo b, estima-se que um

milhão de anos em isolamento represente aproximadamente 2% de divergência genética (WEIR & SCHLUTER, 2008). Nossos resultados mostram a dificuldade de inferir uma taxa de mudanças fenotípicas, sendo difícil inferir o tempo de divergência através de caracteres da plumagem ou do canto.

O grau de variação vocal entre as populações de Suboscines de lados opostos das quebras biogeográficas não foi explicado pelo grau de variação genética dessas mesmas populações. Algumas características fenotípicas, principalmente aquelas sob efeito de seleção sexual (plumagem e canto), podem mudar rapidamente, funcionando como mecanismo de isolamento reprodutivo pré-zigótico (EDWARDS et al., 2005), inibindo o cruzamento entre indivíduos em processo de especiação. Trabalhos empíricos sugerem que tanto mudanças morfológicas como vocais podem se estabelecer numa população em curtos períodos de tempo ou até em poucas gerações através de pressões seletivas (GRANT & GRANT, 2009). Por outro lado, este estudo sugere que características do canto podem permanecer sem mudanças, mesmo em pares de populações que parecem não intercambiar genes há mais de um milhão de anos.

Dentre os 19 pares de taxa estudados, alguns apresentaram níveis de variações genética muito elevados. No caso do *W. poecilinotus*, que possui clara variação morfológica (principalmente nas fêmeas) e uma marcante diferenciação genética de 10.8% (NAKA et al., 2012) entre as duas populações separadas pelo interflúvio Branco/Negro (*Willisornis p. poecilinotus* e *Willisornis p. duidae*), não apresentam grandes diferenças nas vocalizações. Esse é um exemplo de uma espécie vocalmente críptica. Entretanto, é possível que as diferenças vocais não estejam nos cantos principais, mas sim em outras manifestações vocais, como os chamados ou apelos. Dentro do gênero *Willisornis* já foram apontadas diferenças na duração das notas nos chamados de contato (*contact calls* em inglês) das populações de *Willisornis* do norte e sul da Amazônia (ISLER & WHITNEY, 2011). Da mesma forma, as populações de *M. brachyura* separadas pelo Rio Negro, a variação do canto não apresentou suporte para uma diferenciação vocal entre elas, mas apresentam chamados (*calls* em inglês) claramente distintos (L. Naka, comm. pess.).

Por outro lado, algumas espécies com elevada diferenciação genética como é o caso das duas subespécies de *Percnostola rufifrons* separadas pelo Rio Branco (*Percnostola r. rufifrons* e *Percnostola r. minor*), não apresentaram variação vocal no canto, nem nos chamados (ISLER et al., 2001). A espécie *T. amazonicus* também apresenta elevados níveis de variação genética e uma clara variação morfológica (especialmente nas fêmeas) associado com o Rio Branco (NAKA et al., 2012), aliada a possíveis mudanças no uso do habitat

(ZIMMER & ISLER, 2003). Estes dados sugerem que as duas subespécies separadas pelo Rio Branco (*Thamnophilus a. cinereiceps* e *Thamnophilus a. divaricatus*) poderiam ser consideradas como duas espécies diferentes (com variação genética e morfológica), mesmo sem ter desenvolvido variação vocal. De fato, a presença de diferenças em, pelo menos, dois caracteres independentes (plumagem e molecular, vocal e molecular, ou vocal e de plumagem) tem sido considerada a regra na descrição de novos táxons na Amazônia (WHITNEY & COHN-HAFT, 2013). Neste caso específico, um estudo rigoroso nos caracteres morfológicos, genéticos e vocais incluindo todas as cinco subespécies que formam parte do complexo *T. amazonicus* seria necessário para entender o melhor arranjo taxonômico deste grupo. Para espécies crípticas que possam estar em processo de especiação é possível que o tempo de isolamento destas populações não tenha sido suficiente para que elas desenvolvessem diferenças fenotípicas (plumagem ou canto).

Estes resultados apontam para a importância de estudos como este para tentar compreender como a variação do genótipo afeta o fenótipo, e como ambos atuam em conjunto no processo evolutivo. Zonas de contato e de sutura, onde múltiplas espécies possuem quebras genéticas e fenotípicas oferecem uma oportunidade única para realizar estudos comparativos e devem ser mais explorados em estudos evolutivos.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O uso do mp3 em pesquisas ornitológicas pode ser feita desde que tomem os devidos cuidados como demonstrado no Capítulo 1 deste trabalho. As variáveis devem ser testadas de acordo com as propriedades acústicas do grupo estudado. No caso da Família *Thamnophilidae*, as variáveis mais comumente utilizadas em trabalhos de bioacústica não são distorcidas significativamente, porém mais testes são necessários, incluindo mais espécies, para uma conclusão final do uso dos arquivos de áudio comprimidos nas demais famílias das aves.

Estudos na área da bioacústica relacionados às barreiras biogeográficas ainda são incipientes. A influência das vocalizações das aves no processo de especiação ainda é pouco clara. Embora pareça claro que mudanças nas vocalizações possam funcionar como um mecanismo de isolamento pré-zigótico, ainda resta entender como mudanças no genoma das aves (sem mudanças fenotípicas) influenciam no processo de especiação. Questões sobre como o canto acompanha a variação genética ou como as mudanças genéticas estão relacionadas à variação vocal dos *Suboscines* ainda precisam de respostas. A família *Thamnophilidae* tem vários estudos demonstrando variações vocais em populações isoladas, e o fato desse estudo ter apontado a ausência de divergência no canto, nos leva a perceber que a mudança genética pode não estar acompanhada pela diferenciação vocal nesse grupo.

REFERÊNCIAS

- AYRES, J. M. & CLUTTON-BROCK, T. H. River, boundaries and species range size in Amazonian primates. **The American Naturalist**. 140(3):531 – 537. 1992.
- BICKFORD, D.; LOHMAN, D. J.; SODHI, N. S.; NG, P. K. L.; MEIER R.; WINKER, K.; INGRAM, K. K.; DAS, I. Cryptic species as a window on diversity and conservation. **Trends in Ecology and Evolution**, 22:148-155. 2006.
- BRELSFORD, A. Hybrid speciation in birds: allopatry more important than ecology? **Molecular Ecology**, 20(18):3705-3707. 2011.
- CAPPARELLA, A.P. Neotropical avian diversity and riverine barriers. **Acta Congressus Internationalis Ornithologici**, 20:307-316. 1991.
- CATCHPOLE, C. K.; SLATER, P. J. B. **Bird Song: Biological Themes and Variations**. New York: Cambridge University Press. 2008.
- CHARIF, R. A.; WAACK A. M.; STRICKMAN, L. M. **Raven Pro 1.4 User's Manual**. Cornell Lab of Ornithology, Ithaca, NY. 2010.
- COHN-HAFT, M. & BRAVO, G. A. **A new species of *Herpsilochmus antwren* from west of the Rio Madeira in Amazonian Brazil**. In: Handbook of the Birds of the World. Special Volume: New Species and Global Index, Barcelona, Lynx Edicions, p. 272 – 276. 2013.
- COYNE, J. A. & ORR, H. A. **Speciation**. Sinauer Associates, Sunderland, MA. 2004. P. 545.
- EDWARDS, S.V.; KINGAN, S. B.; CALKINS, J. D.; BALAKRISHNAN, C. N.; JENNINGS, W. B.; SWANSON, W. J.; MICHAEL D. SORENSON, M. D. Speciation in birds: Genes, geography, and sexual selection. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, 102(1):6550-6557. 2005.
- GASCON, C.; MALCOLM, J. R.; PATTON, J. L.; SILVA, M. N. F.; BOGARTI, J. P.; LOUGHEED, S. C.; PERES, C. A.; NECKEL, S.; BOAG, P. T. Riverine barriers and the geographic distribution of Amazonian species. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 97(25):13672–13677. 2000.
- GRANT, P. R. & GRANT, B. R. The secondary contact phase of allopatric speciation in Darwin's finches. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, 106(48):20141-8. 2009.
- HAFFER, J. Speciation in Amazonian Forest Birds. **Science**, 165(3889):131-137. 1969.
- HAFFER, J. On the “river effect” in some birds of southern Amazonia. Bol. Mus. Para. Emilio Goeldi, sér. Zool. 8:217-245. 1992.
- HEBERT, P. D. N.; STOECKLE, M. Y.; ZEMLAK, T. S.; FRANCIS. C. M. Identification of Birds through DNA Barcodes. **PLoS Biol**, 2(10): e312. 2004.
- ISLER, M. L.; ISLER, P.; WHITNEY, B. Use of vocalizations to establish species limits in antbirds (Passeriformes: Thamnophilidae). **The Auk**, 115(3):577-590. 1998.

- ISLER, M. L.; ALONSO, J. A.; ISLER, P. R.; WHITNEY, B. M. A new species of *Percnostola* antbird (Passeriformes: Thamnophilidae) from Amazonian Peru, and an analysis of species limits within *Percnostola rufifrons*. **The Wilson Bulletin**, 113(2):164-176. 2001.
- ISLER, M. L. & WHITNEY, B. M. Species Limits in Antbirds (Thamnophilidae): The Scale-Backed Antbird (*Willisornis poecilinotus*) Complex. **The Wilson Journal of Ornithology**, 123(1):1-14. 2011.
- JAMES, F.C. The ecological morphology of birds: a review. **Annales Zoologici Fennici**, 19:265-275. 1982.
- JAMES, F.C. Environmental Component of Morphological Differentiation in Birds. **Science**, 221(4606):184-186. 1983.
- KROODSMA, D. E. Songs of the Alder Flycatcher (*Empidonax alnorum*) and Willow Flycatcher (*Empidonax traillii*) are innate. **The Auk**, 101:13-24. 1984.
- MAYR, E.; O'HARA, R.J. The biogeographic evidence supporting the Pleistocene forest refuge hypothesis. **Evolution**, 40(1):55-67. 1986.
- NAKA, L. N. **The role of physical and ecological barriers in the diversification process of birds in the Guiana Shield, Northern Amazonia**. 2010. 156 f. Tese (Doutorado) - Curso de Filosofia, Louisiana State University, Baton Rouge, 2010.
- NAKA, L. N. 2011. Avian distribution patterns in the Guiana Shield: implications for the delimitation of Amazonian areas of endemism. **Journal of Biogeography**, 38;(4):681-696.
- NAKA, L. N.; BECHTOLDT, C. L.; HENRIQUES, L. M. P.; BRUMFIELD, R. T. The role of physical barriers in the location of avian suture zones in the Guiana Shield, northern Amazonia. **The American Naturalist**, 179(4):115-132. 2012.
- NEI, M. Genetic distance between populations. **American naturalist**, pp. 283-292. 1972.
- OKSANEN, J.; BLANCHET, F. G.; FRIENDLY, M.; KINDT, R.; LEGENDRE, P.; MCGLINN, D.; MINCHIN, P. R.; O'HARA, R. B.; SIMPSON, G. L.; SOLYMOS, P.; STEVENS, M. H. H.; SZOECS, E.; WAGNER, H. **vegan: Community Ecology Package**. R package version 2.4-0. 2016. Disponível em: <https://CRAN.R-project.org/package=vegan>. Acesso em: 20 Maio 2016.
- POSADA, D. & CRANDALL, K. A. MODELTEST: testing the model of DNA substitution. **Bioinformatics**, 4:817-818. 1998.
- PRICE, T. D. **Speciation in birds**. Roberts, Greenwood Village, CO. 2008.
- QUITIAQUEZ, José Julian Rodríguez. **Padrões de diferenciação genética e morfológica da família Thamnophilidae (Aves) na Bacia do Rio Branco**. 2012. 50 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós-graduação em Recursos Naturais, Universidade Federal de Roraima, Boa Vista, 2012.

- RAPOSO, M. A. & HÖFLING, E. Overestimation of vocal characters in Suboscine taxonomy (Aves: Passeriformes: Tyranni): causes and implications. **Lundiana**, 4(1):35-42. 2003.
- RODRIGUES, E.B.; ALEIXO, A.; WHITTAKER, A.; NAKA L.N. **Molecular systematics and taxonomic revision of the Lineated Woodcreeper complex (*Lepidocolaptes albolineatus*: Dendrocolaptidae), with description of a new species from southwestern Amazonia**. In: Handbook of The Birds of The World, Lynx Edicions, Barcelona, 2013. p. 248 – 252.
- SEDDON, N. Ecological adaptation and species recognition drives vocal evolution in neotropical suboscine birds. **Evolution**, 59(1):200-215. 2005.
- SMITH, B. T.; MCCORMACK, J. E.; CUERVO, A. M.; HICKERSON, M. J.; ALEIXO, A.; CADENA, C. D.; PÉREZ-EMÁN, J.; BURNEY, C. W.; XIE, X.; HARVEY, M. G.; FAIRCLOTH, B. C. The drivers of tropical speciation. **Nature**, 515(7527):406-409. 2014.
- SWOFFORD, David L. **PAUP*: phylogenetic analysis using parsimony (*and other methods)**. Version 4.0b10. Sinauer, Sunderland, MA. 2001.
- TOBIAS, J. A.; Seddon, N.; Spottiswoode, C. N.; Pilgrim, J. D.; Fishpool, L. D. C.; Collar, N. J. Song divergence by sensory drive in Amazonian birds. **Evolution**, 64(10):2820-2839. 2010.
- WEIR, J. T. & SCHLUTER, D. Calibrating the avian molecular clock. **Molecular Ecology**, 17(10):2321-2328. 2008.
- WHITNEY, B. M. & COHN-HAFT, M. **Fifteen new species of Amazonian birds. Handbook of the Birds of the World Alive**. Lynx Edicions, Barcelona. 2013.
- WICKHAM, Hadley. **ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis**. Springer-Verlag New York, 2009. Disponível em: <https://cran.r-project.org/web/packages/ggplot2/citation.html>
- ZIMMER, K. & ISLER, M.L. 2016. **White-shouldered Antshrike (*Thamnophilus aethiops*)**. In: del Hoyo, J., Elliott, A., Sargatal, J., Christie, D.A. & de Juana, E. (eds.). Handbook of the Birds of the World Alive. Lynx Edicions, Barcelona. Disponível em: <http://www.hbw.com/node/56674>.
- ZIMMER, K. J. & ISLER, M. L. **Family Thamnophilidae (Typical antbirds)**. In: Handbook of the birds of the world. 8 ed. Barcelona, Spain, Lynx Edicions. 2003. p. 448–681.
- ZINK, R. M. & BARROWCLOUGH, G. F. Mitochondrial DNA under siege in avian phylogeography. **Molecular Ecology**, 17: 2107–2121. 2008.
- ZUCKERKANDL, E. & PAULING, L. B. **Molecular disease, evolution, and genetic heterogeneity**, In: Horizons in Biochemistry. Academic Press, New York. 1962. p. 189–225.

APÊNDICE A - LISTA DAS AMOSTRAS E OS RESPECTIVOS RESPONSÁVEIS PELO BANCO DE DADOS (GRAVAÇÕES) UTILIZADAS NO CAPÍTULO 1 DESTE TRABALHO.

Táxon	Voucher	País	Gravador
<i>H. dorsimaculatus</i>	ML 34988	Brasil	Richard O. Bierregaard
<i>H. dorsimaculatus</i>	ML 35045	Brasil	Richard O. Bierregaard
<i>H. dorsimaculatus</i>	ML 46974	Brasil	Richard O. Bierregaard
<i>H. dorsimaculatus</i>	ML 46977	Brasil	Richard O. Bierregaard
<i>H. dorsimaculatus</i>	ML 48626	Brasil	Mário Con-Haft
<i>H. dorsimaculatus</i>	ML 48629	Brasil	Mário Con-Haft
<i>H. dorsimaculatus</i>	ML 48701	Brasil	Mário Con-Haft
<i>H. dorsimaculatus</i>	ML 48701	Brasil	Mário Con-Haft
<i>H. dorsimaculatus</i>	PNJUA53	Brasil	Luciano N. Naka
<i>T. murinus</i>	ML 51349	Equador	Gregory F. Budney
<i>T. murinus</i>	ML 52907	Venezuela	Steven L. Hilly
<i>T. murinus</i>	ML 53370	Equador	Lewis K. Kibler
<i>T. murinus</i>	ML 53372	Equador	Lewis K. Kibler
<i>T. murinus</i>	ML 61763	Venezuela	Paul A. Schwartz
<i>T. murinus</i>	ML 61765	Venezuela	Paul A. Schwartz
<i>T. murinus</i>	ML 61766	Venezuela	Paul A. Schwartz
<i>T. murinus</i>	ML 61767	Venezuela	Paul A. Schwartz
<i>T. murinus</i>	ML 61770	Venezuela	Paul A. Schwartz
<i>T. amazonicus</i>	ML 25547	Suriname	Thomas H. Davis
<i>T. amazonicus</i>	ML 41075	Brasil	Richard O. Bierregaard
<i>T. amazonicus</i>	ML 52777	Venezuela	Steven L. Hilly
<i>T. amazonicus</i>	ML 61908	Venezuela	Paul A. Schwartz
<i>T. amazonicus</i>	ML 64553	Venezuela	Kevin J. Zimmer
<i>T. amazonicus</i>	ML 64556	Venezuela	Kevin J. Zimmer
<i>T. amazonicus</i>	ML 65970	Guiana	Theodore A. Parker III
<i>T. amazonicus</i>	ML 70032	Guiana	Theodore A. Parker III
<i>T. amazonicus</i>	ML72313	Guiana	Davis W. Finch

APÊNDICE B - LISTA DAS AMOSTRAS E OS RESPECTIVOS RESPONSÁVEIS PELO BANCO DE DADOS (GRAVAÇÕES) UTILIZADAS NO CAPÍTULO 2 DESTE TRABALHO.

Par de taxa	Voucher	País	Gravador
<i>Cercomacra cinerascens immaculata / cinerascens</i>	ML 72421	Guiana	Davis W. Finch
<i>Cercomacra cinerascens immaculata / cinerascens</i>	ML 195684	Guiana	Mark B. Robbins
<i>Cercomacra cinerascens immaculata / cinerascens</i>	ML 144539	Guiana	Mark B. Robbins
<i>Cercomacra cinerascens immaculata / cinerascens</i>	ML 134367	Guiana	Brian J. O'Shea
<i>Cercomacra cinerascens immaculata / cinerascens</i>	ML 195491	Guiana	Mark B. Robbins
<i>Cercomacra cinerascens immaculata / cinerascens</i>	XC81769	Colômbia	Andrew Spencer
<i>Cercomacra cinerascens immaculata / cinerascens</i>	XC258452	Equador	John V. Moore
<i>Cercomacra cinerascens immaculata / cinerascens</i>	PNJUAU315	Brasil	Luciano N. Naka
<i>Cercomacra cinerascens immaculata / cinerascens</i>	A228	Brasil	Luciano N. Naka
<i>Cercomacra t. saturator / tyrannina</i>	ML 41061	Brasil	Richard O. Bierregaard
<i>Cercomacra t. saturator / tyrannina</i>	XC98553	Guiana	Niels Poul Dreyer
<i>Cercomacra t. saturator / tyrannina</i>	XC8723	Brasil	Nick Athanas
<i>Cercomacra t. saturator / tyrannina</i>	2002_21_A	Brasil	Luciano N. Naka
<i>Cercomacra t. saturator / tyrannina</i>	ML 117018	Brasil	Curtis A. Marantz
<i>Cercomacra t. saturator / tyrannina</i>	ML 88217	Brasil	Curtis A. Marantz
<i>Cercomacra t. saturator / tyrannina</i>	ML 88250	Brasil	Curtis A. Marantz
<i>Cercomacra t. saturator / tyrannina</i>	ML 113214	Brasil	Curtis A. Marantz
<i>Cercomacra t. saturator / tyrannina</i>	ML 113212	Brasil	Curtis A. Marantz
<i>Cymbilaimus l. lineatus/intermedius</i>	ML 106350	Guiana	Davis W. Finch
<i>Cymbilaimus l. lineatus/intermedius</i>	ML 134446	Guiana	Brian J O'Shea
<i>Cymbilaimus l. lineatus/intermedius</i>	ML 89832	Guiana	Davis W. Finch
<i>Cymbilaimus l. lineatus/intermedius</i>	ML 88253	Brasil	Curtis A. Marantz
<i>Cymbilaimus l. lineatus/intermedius</i>	ML 117010	Brasil	Curtis A. Marantz
<i>Cymbilaimus l. lineatus/intermedius</i>	2002_20_A	Brasil	Luciano N. Naka
<i>Epinecrophylla gutturalis / haematonota</i>	ML 73056	Guiana	Theodore A. Parker, III
<i>Epinecrophylla gutturalis / haematonota</i>	ML 72429	Guiana	Davis W. Finch
<i>Epinecrophylla gutturalis / haematonota</i>	ML 193242	Guiana	Mark B. Robbins
<i>Epinecrophylla gutturalis / haematonota</i>	ML 144606	Guiana	Mark B. Robbins
<i>Epinecrophylla gutturalis / haematonota</i>	ML 77976	Guiana	Davis W. Finch
<i>Epinecrophylla gutturalis / haematonota</i>	ML 113184	Brasil	Curtis A. Marantz
<i>Epinecrophylla gutturalis / haematonota</i>	PNJUAU274	Brasil	Luciano N. Naka
<i>Epinecrophylla gutturalis / haematonota</i>	2002_18_B	Brasil	Luciano N. Naka
<i>Gymnopithys leucaspis</i>	ML 112795	Brasil	Curtis A. Marantz
<i>Gymnopithys leucaspis</i>	ML 88236	Brasil	Curtis A. Marantz
<i>Gymnopithys leucaspis</i>	ML 64714	Brasil	Kevin J. Zimmer
<i>Gymnopithys leucaspis</i>	ML 516254	Colômbia	Kathi Borgmann
<i>Gymnopithys rufigula</i>	ML 74428	Brasil	Philip C. Stouffer
<i>Gymnopithys rufigula</i>	ML 48755	Brasil	Mario Cohn-Haft

APÊNDICE B - LISTA DAS AMOSTRAS E OS RESPECTIVOS RESPONSÁVEIS PELO BANCO DE DADOS (GRAVAÇÕES) UTILIZADAS NO CAPÍTULO 2 DESTE TRABALHO (continuação)

Par de taxa	Voucher	País	Gravador
<i>Gymnopathys rufigula</i>	ML 195626	Guiana	Mark B. Robbins
<i>Herpsilochmus dorsimaculatus</i>	ML 34988	Brasil	Richard O. Bierregaard & Douglas F. Stotz
<i>Herpsilochmus dorsimaculatus</i>	ML 35045	Brasil	Richard O. Bierregaard & Douglas F. Stotz
<i>Herpsilochmus dorsimaculatus</i>	ML 46977	Brasil	Richard O. Bierregaard
<i>Herpsilochmus dorsimaculatus</i>	ML 48626	Brasil	Mario Cohn-Haft
<i>Herpsilochmus dorsimaculatus</i>	PNJAU53	Brasil	Luciano N. Naka
<i>Herpsilochmus dorsimaculatus</i>	A265	Brasil	Luciano N. Naka
<i>Herpsilochmus dorsimaculatus</i>	XC75071	Colômbia	Pablo Florez
<i>Herpsilochmus dorsimaculatus</i>	XC81761	Colômbia	Andrew Spencer
<i>Hypocnemis cantator / flavescens</i>	ML 62044	Brasil	Paul A. Schwartz
<i>Hypocnemis cantator / flavescens</i>	ML 88340	Brasil	Curtis A. Marantz
<i>Hypocnemis cantator / flavescens</i>	ML 48740	Brasil	Mario Cohn-Haft
<i>Hypocnemis cantator / flavescens</i>	ML 34948	Brasil	Richard O. Bierregaard
<i>Hypocnemis cantator / flavescens</i>	PAUJIA7	Venezuela	Luciano N. Naka
<i>Hypocnemis cantator / flavescens</i>	PAUJIA37	Venezuela	Luciano N. Naka
<i>Hypocnemis cantator / flavescens</i>	XC303170	Brasil	Gabriel Leite
<i>Myrmotherula a. axillaris / melaena</i>	ML 74344	Brasil	Philip C. Stouffer
<i>Myrmotherula a. axillaris / melaena</i>	ML 72302	Guiana	Davis W. Finch
<i>Myrmotherula a. axillaris / melaena</i>	ML 145485	Guiana	Mark B. Robbins
<i>Myrmotherula a. axillaris / melaena</i>	ML 84970	Guiana	Davis W. Finch
<i>Myrmotherula a. axillaris / melaena</i>	XC226459	Brasil	Peter Boesman
<i>Myrmotherula a. axillaris / melaena</i>	XC226460	Brasil	Peter Boesman
<i>Myrmotherula a. axillaris / melaena</i>	2002_18_B	Brasil	Luciano N. Naka
<i>Myrmotherula brachyura</i>	ML 127477	Brasil	Curtis A. Marantz
<i>Myrmotherula brachyura</i>	ML 42874	Brasil	Richard O. Bierregaard & Andrew Whittaker
<i>Myrmotherula brachyura</i>	ML 34913	Brasil	Richard O. Bierregaard & John M. Bates
<i>Myrmotherula brachyura</i>	ML 46973	Brasil	Richard O. Bierregaard
<i>Myrmotherula brachyura</i>	ML 46975	Brasil	Richard O. Bierregaard
<i>Myrmotherula brachyura</i>	PAUJIA48	Venezuela	Luciano N. Naka
<i>Myrmotherula brachyura</i>	JUFARI-15	Brasil	Luciano N. Naka
<i>Myrmotherula brachyura</i>	ML 112800	Brasil	Curtis A. Marantz
<i>Myrmotherula brachyura</i>	ML 88214	Brasil	Curtis A. Marantz
<i>Myrmotherula brachyura</i>	PNJAU42	Brasil	Luciano N. Naka
<i>Myrmotherula brachyura</i>	PNJAU79	Brasil	Luciano N. Naka
<i>Myrmotherula brachyura</i>	PNJAU84	Brasil	Luciano N. Naka
<i>Myrmotherula brachyura</i>	PNJAU285	Brasil	Luciano N. Naka
<i>Myrmotherula brachyura</i>	PNJAU305	Brasil	Luciano N. Naka
<i>Myrmotherula menetriesii cinereiventris / pallida</i>	ML 48768	Brasil	Mario Cohn-Haft
<i>Myrmotherula menetriesii cinereiventris / pallida</i>	ML 144641	Guiana	Mark B. Robbins
<i>Myrmotherula menetriesii cinereiventris / pallida</i>	ML 134360	Guiana	Brian J. O'Shea

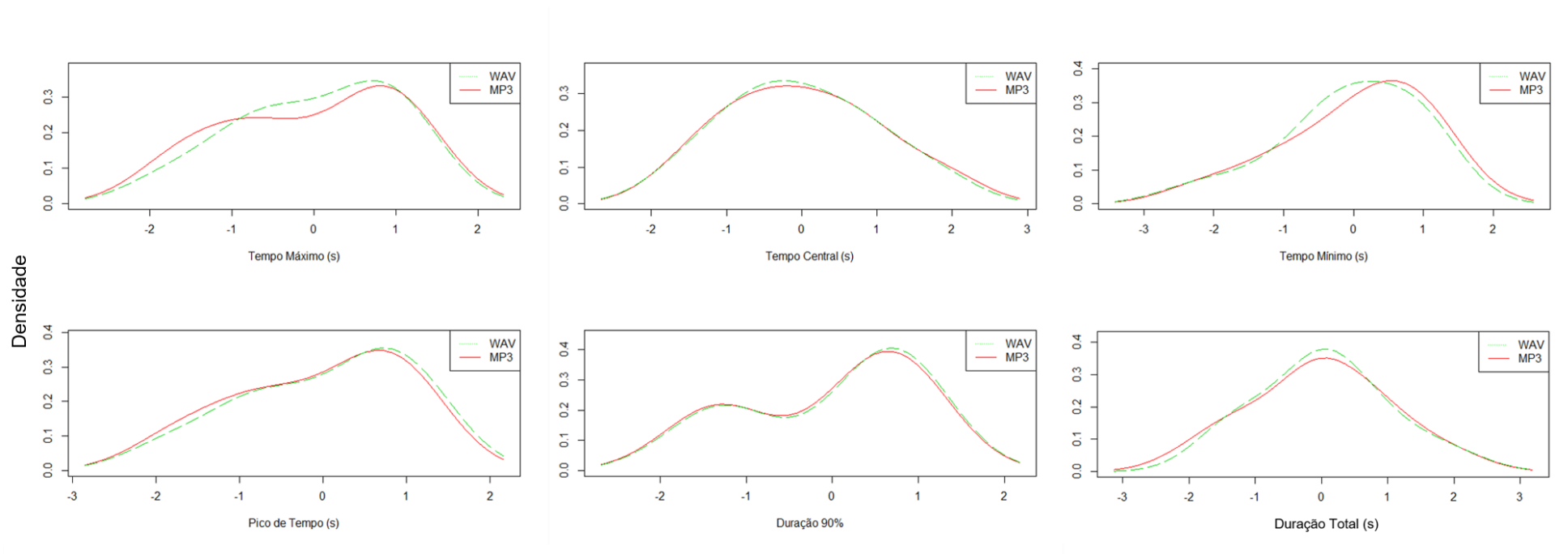
APÊNDICE B - LISTA DAS AMOSTRAS E OS RESPECTIVOS RESPONSÁVEIS PELO BANCO DE DADOS (GRAVAÇÕES) UTILIZADAS NO CAPÍTULO 2 DESTE TRABALHO (continuação)

Par de taxa	Voucher	País	Gravador
<i>Myrmotherula menetriesii cinereiventris / pallida</i>	ML 85015	Guiana	Davis W. Finch
<i>Myrmotherula menetriesii cinereiventris / pallida</i>	ML 70067	Guiana	Theodore A. Parker, III
<i>Myrmotherula menetriesii cinereiventris / pallida</i>	ML 52746	Venezuela	Steven L. Hilty
<i>Myrmotherula menetriesii cinereiventris / pallida</i>	PNJUAUA25	Brasil	Luciano N. Naka
<i>Myrmotherula menetriesii cinereiventris / pallida</i>	PNJUAUA73	Brasil	Luciano N. Naka
<i>Myrmotherula menetriesii cinereiventris / pallida</i>	PNJUAUA90	Brasil	Luciano N. Naka
<i>Myrmotherula menetriesii cinereiventris / pallida</i>	2002_19_B	Brasil	Luciano N. Naka
<i>Myrmotherula menetriesii cinereiventris / pallida</i>	2002_18_B	Brasil	Luciano N. Naka
<i>Percnostola r. rufifrons / minor</i>	ML 205515	Brasil	Thiago V. V. Costa
<i>Percnostola r. rufifrons / minor</i>	ML 205510	Brasil	Thiago V. V. Costa
<i>Percnostola r. rufifrons / minor</i>	ML 62050	Brasil	Paul A. Schwartz
<i>Percnostola r. rufifrons / minor</i>	ML 74346	Brasil	Philip C. Stouffer
<i>Percnostola r. rufifrons / minor</i>	ML 113162	Brasil	Curtis A. Marantz
<i>Percnostola r. rufifrons / minor</i>	ML 113177	Brasil	Curtis A. Marantz
<i>Percnostola r. rufifrons / minor</i>	2002_19_B	Brasil	Luciano N. Naka
<i>Percnostola r. rufifrons / minor</i>	2002_21_A	Brasil	Luciano N. Naka
<i>Thamnomanes caesius</i>	ML 39414	Brasil	Richard O. Bierregaard
<i>Thamnomanes caesius</i>	ML 39412	Brasil	Richard O. Bierregaard
<i>Thamnomanes caesius</i>	ML 73057	Guiana	Theodore A. Parker, III
<i>Thamnomanes caesius</i>	XC202004	Brasil	Hans Matheve
<i>Thamnomanes caesius</i>	XC81765	Colômbia	Andrew Spencer
<i>Thamnomanes caesius</i>	XC258386	Equador	John V. Moore
<i>Thamnophilus amazonicus divaricatus / cinereiceps</i>	ML 41075	Brasil	Richard O. Bierregaard
<i>Thamnophilus amazonicus divaricatus / cinereiceps</i>	ML 77979	Guiana	Davis W. Finch
<i>Thamnophilus amazonicus divaricatus / cinereiceps</i>	ML 89855	Guiana	Davis W. Finch
<i>Thamnophilus amazonicus divaricatus / cinereiceps</i>	ML 113145	Brasil	Curtis A. Marantz
<i>Thamnophilus amazonicus divaricatus / cinereiceps</i>	PNJUAUA298	Brasil	Luciano N. Naka
<i>Thamnophilus amazonicus divaricatus / cinereiceps</i>	JUFARI-87	Brasil	Luciano N. Naka
<i>Thamnophilus murinus cayennensis / murinus</i>	ML 70091	Guiana	Theodore A. Parker, III
<i>Thamnophilus murinus cayennensis / murinus</i>	ML 90691	Guiana	Donald J. Kerr
<i>Thamnophilus murinus cayennensis / murinus</i>	ML 89862	Guiana	Davis W. Finch

APÊNDICE B - LISTA DAS AMOSTRAS E OS RESPECTIVOS RESPONSÁVEIS PELO BANCO DE DADOS (GRAVAÇÕES) UTILIZADAS NO CAPÍTULO 2 DESTE TRABALHO. (continuação)

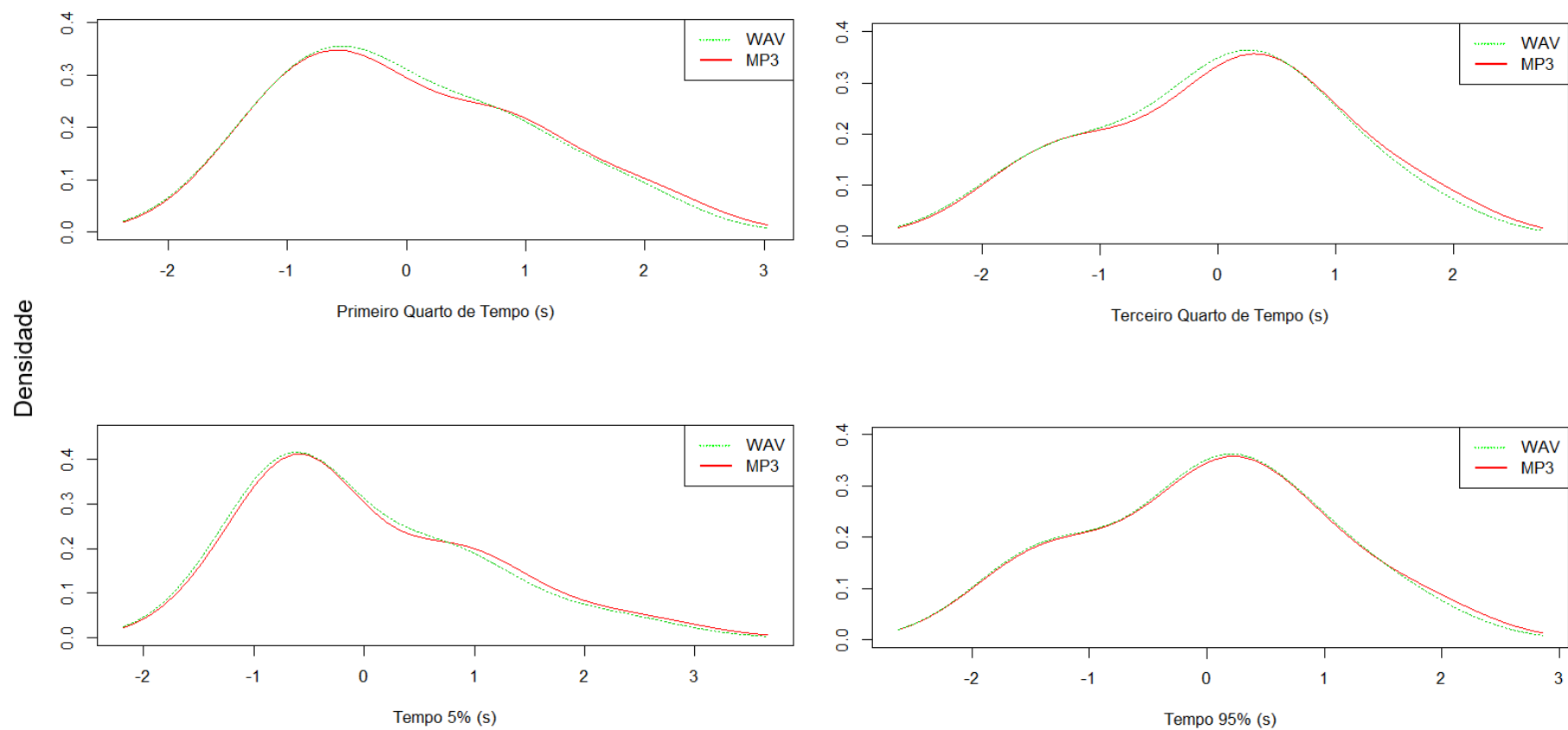
Par de taxa	Voucher	País	Gravador
<i>Thamnophilus murinus cayennensis / murinus</i>	ML30916	Peru	Theodore A. Parker, III
<i>Thamnophilus murinus cayennensis / murinus</i>	ML53370	Equador	Lewis F. Kibler
<i>Thamnophilus murinus cayennensis / murinus</i>	ML53372	Equador	Lewis F. Kibler
<i>Willisornis p. poecilinotus / duidae</i>	ML 205501	Brasil	Thiago V. V. Costa
<i>Willisornis p. poecilinotus / duidae</i>	ML 74342	Brasil	Philip C Stouffer
<i>Willisornis p. poecilinotus / duidae</i>	ML 42824	Brasil	Richard O. Bierregaard & Andrew Whittaker
<i>Willisornis p. poecilinotus / duidae</i>	ML 62182	Venezuela	Paul A Schwartz
<i>Willisornis p. poecilinotus / duidae</i>	PNJAU122	Brasil	Luciano N. Naka
<i>Willisornis p. poecilinotus / duidae</i>	XC6156	Venezuela	Chris Parrish
<i>Myrmoborus myotherinus ardesiacus / elegans</i>	ML 46905	Brasil	Richard O. Bierregaard
<i>Myrmoborus myotherinus ardesiacus / elegans</i>	ML 88218	Brasil	Curtis A. Marantz
<i>Myrmoborus myotherinus ardesiacus / elegans</i>	ML 117013	Brasil	Curtis A. Marantz
<i>Myrmoborus myotherinus ardesiacus / elegans</i>	ML 88219	Brasil	Curtis A. Marantz
<i>Myrmoborus myotherinus ardesiacus / elegans</i>	ML 64710	Brasil	Kevin J. Zimmer
<i>Myrmoborus myotherinus ardesiacus / elegans</i>	PNJAU24	Brasil	Luciano N. Naka
<i>Myrmoborus myotherinus ardesiacus / elegans</i>	PNJAU82	Brasil	Luciano N. Naka
<i>Thamnophilus punctatus</i>	ML 144418	Guiana	Mark B. Robbins
<i>Thamnophilus punctatus</i>	ML 144368	Guiana	Mark B. Robbins
<i>Thamnophilus punctatus</i>	ML 127464	Brasil	Curtis A. Marantz
<i>Thamnophilus punctatus</i>	ML 72308	Guiana	Davis W. Finch
<i>Thamnophilus punctatus</i>	MARACA_15-4_1	Brasil	Luciano N. Naka
<i>Hylophilax n. naevius / consobrinus</i>	XC22226	Venezuela	Andrew Spencer
<i>Hylophilax n. naevius / consobrinus</i>	XC74916	Suriname	Daniel Lane
<i>Hylophilax n. naevius / consobrinus</i>	XC74917	Suriname	Daniel Lane
<i>Hylophilax n. naevius / consobrinus</i>	JUFARI-34	Brasil	Luciano N. Naka
<i>Hylophilax n. naevius / consobrinus</i>	XC90280	Brasil	Jeremy Minns
<i>Hylophilax n. naevius / consobrinus</i>	XC224459	Brasil	Peter Boesman
<i>Myrmophylax atrothorax</i>	2002_18_B	Brasil	Luciano N. Naka
<i>Myrmophylax atrothorax</i>	2002_21_A	Brasil	Luciano N. Naka
<i>Myrmophylax atrothorax</i>	XC139199	Brasil	Thiago O. Laranjeiras
<i>Myrmophylax atrothorax</i>	XC81383	Colômbia	Andrew Spencer
<i>Myrmophylax atrothorax</i>	XC106298	Colômbia	Oswaldo Cortes
<i>Myrmophylax atrothorax</i>	XC249694	Equador	Nick Athanas

APÊNDICE C - HISTOGRAMAS DAS VARIÁVEIS DO GRUPO DE TEMPO MOSTRANDO A DENSIDADE DOS DADOS PARA OS DOIS FORMATOS DE ÁUDIO TESTADOS (WAV E MP3), PARA AS TRÊS ESPÉCIES TESTADAS.



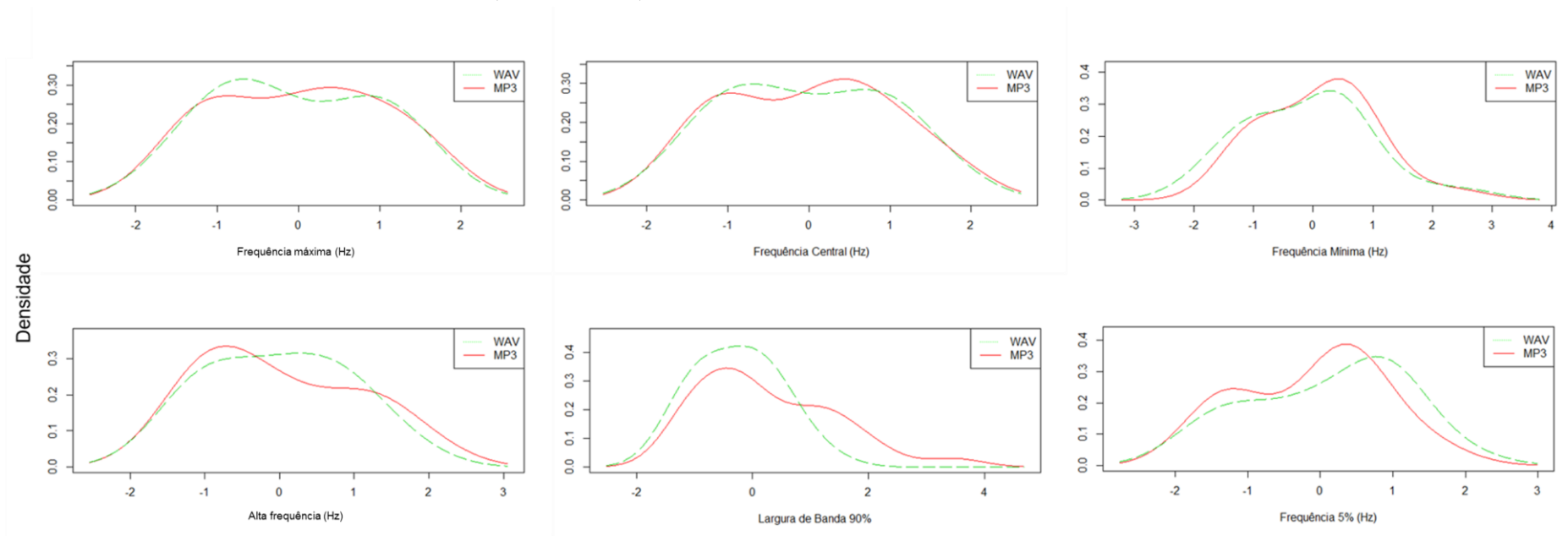
Fonte: O Autor (2016).

APÊNDICE C - HISTOGRAMAS DAS VARIÁVEIS DO GRUPO DE TEMPO MOSTRANDO A DENSIDADE DOS DADOS PARA OS DOIS FORMATOS DE ÁUDIO TESTADOS (WAV E MP3), PARA AS TRÊS ESPÉCIES TESTADAS. (continuação)



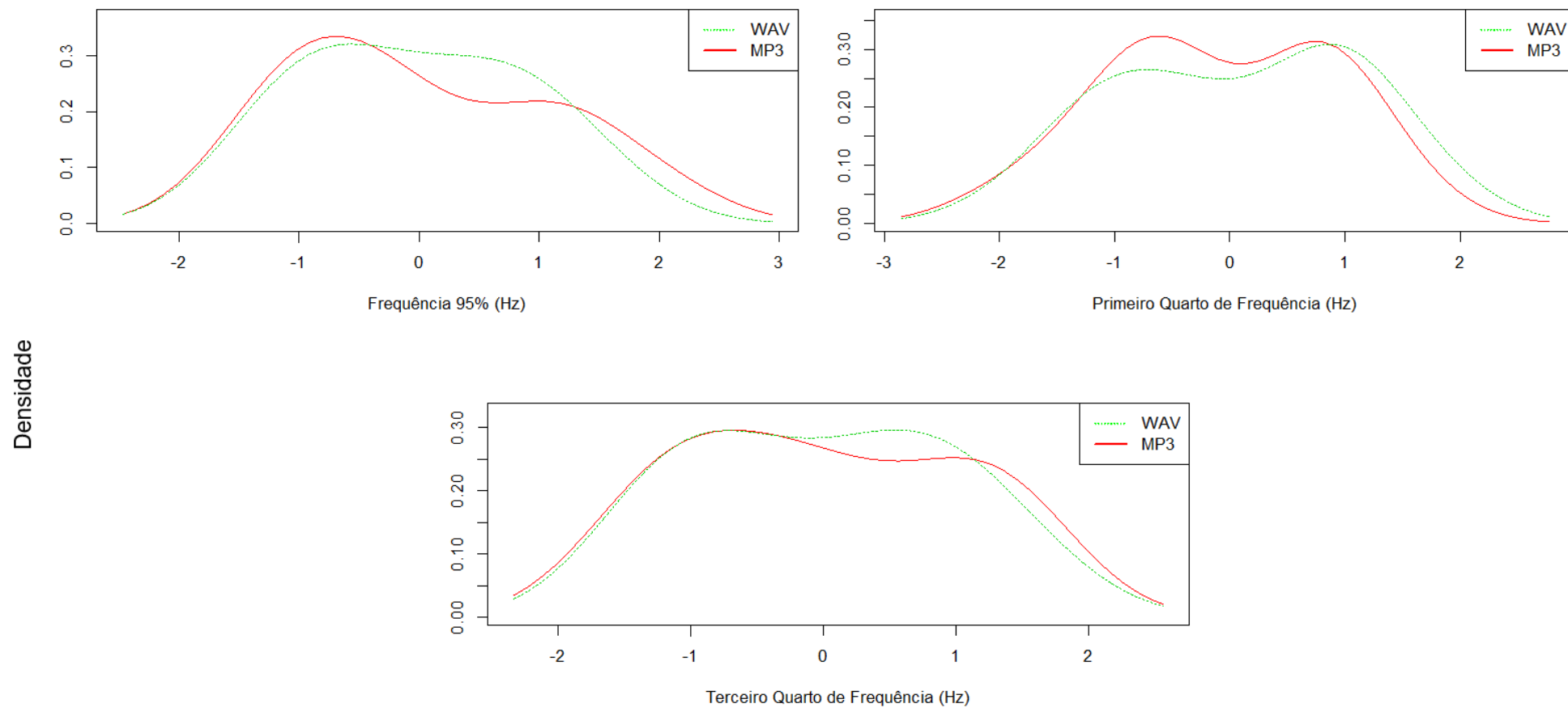
Fonte: O Autor (2016).

APÊNDICE D - HISTOGRAMAS DAS VARIÁVEIS DO GRUPO DE FREQUÊNCIA MOSTRANDO A DENSIDADE DOS DADOS PARA OS DOIS FORMATOS DE ÁUDIO TESTADOS (WAV E MP3), PARA AS TRÊS ESPÉCIES TESTADAS.



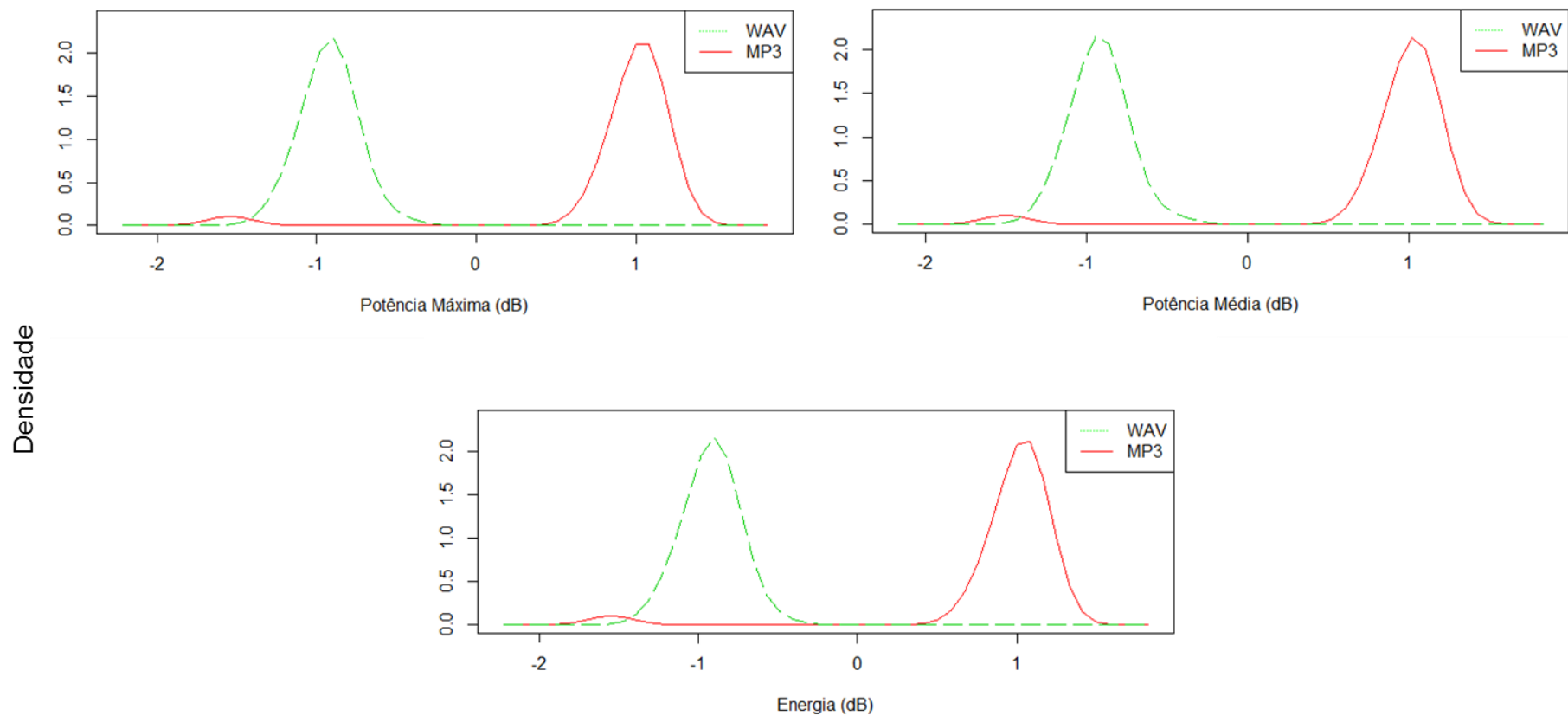
Fonte: O Autor (2016).

APÊNDICE D - HISTOGRAMAS DAS VARIÁVEIS DO GRUPO DE FREQUÊNCIA MOSTRANDO A DENSIDADE DOS DADOS PARA OS DOIS FORMATOS DE ÁUDIO TESTADOS (WAV E MP3), PARA AS TRÊS ESPÉCIES TESTADAS. (continuação)



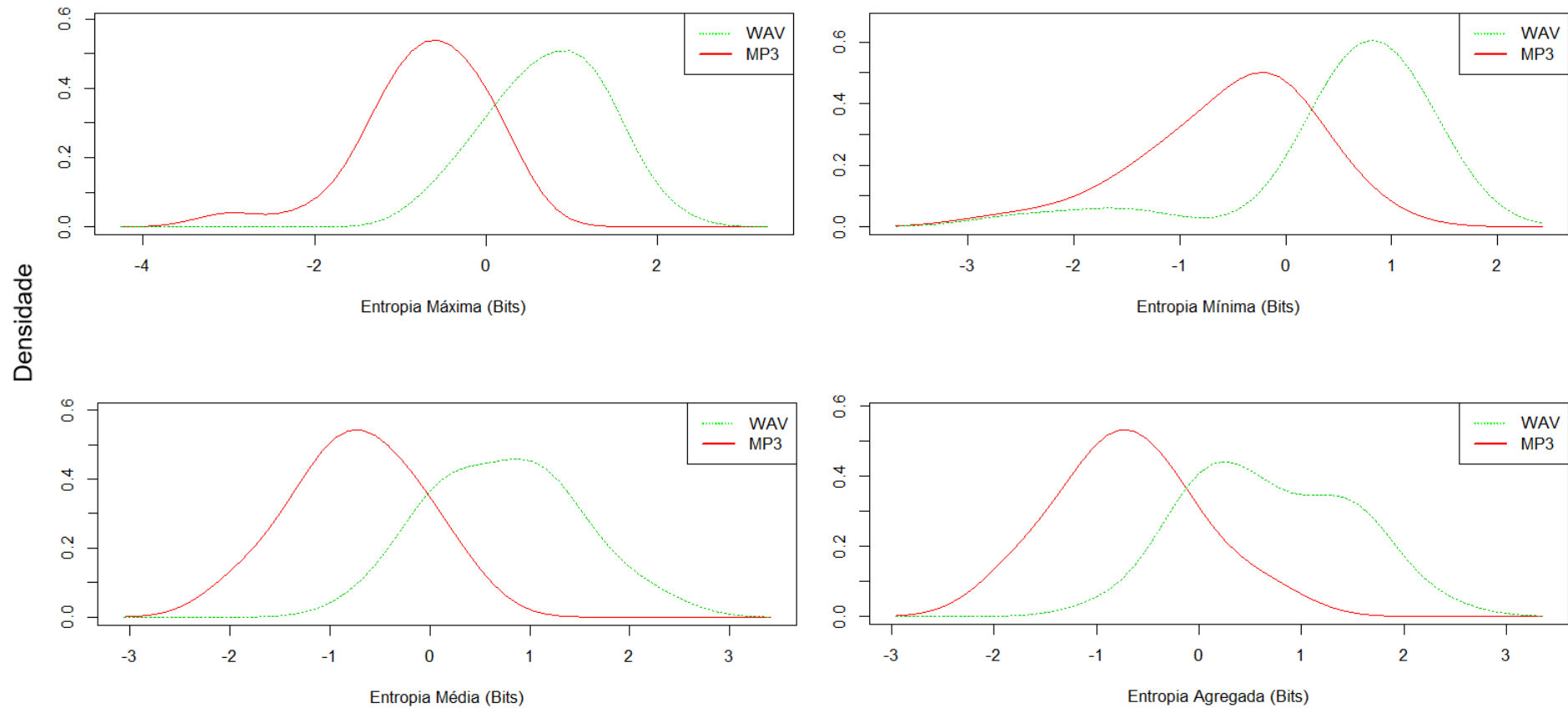
Fonte: O Autor (2016).

APÊNDICE E - HISTOGRAMAS DAS VARIÁVEIS DO GRUPO DE POTÊNCIA MOSTRANDO A DENSIDADE DOS DADOS PARA OS DOIS FORMATOS DE ÁUDIO TESTADOS (WAV E MP3), PARA AS TRÊS ESPÉCIES TESTADAS.



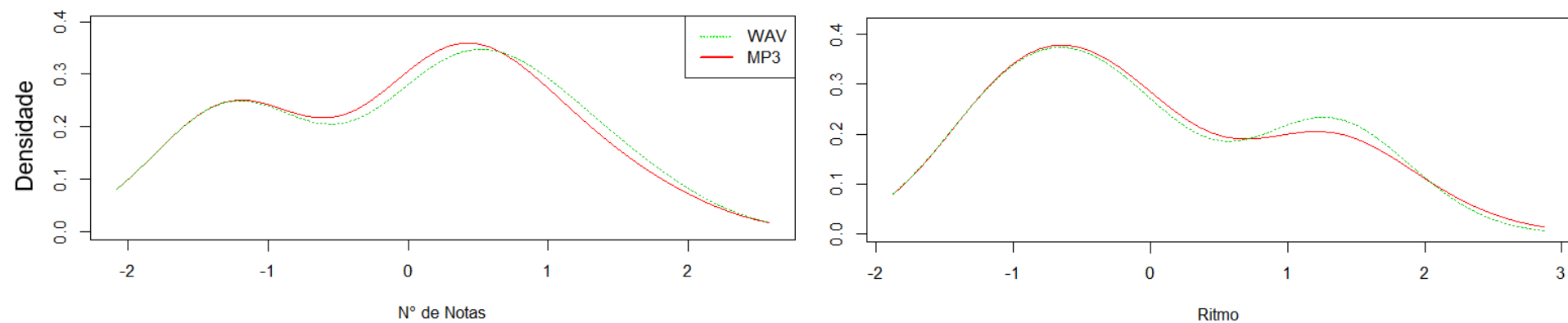
Fonte: O Autor (2016).

APÊNDICE F - HISTOGRAMAS DAS VARIÁVEIS DO GRUPO DE ENTROPIA MOSTRANDO A DENSIDADE DOS DADOS PARA OS DOIS FORMATOS DE ÁUDIO TESTADOS (WAV E MP3), PARA AS TRÊS ESPÉCIES TESTADAS.



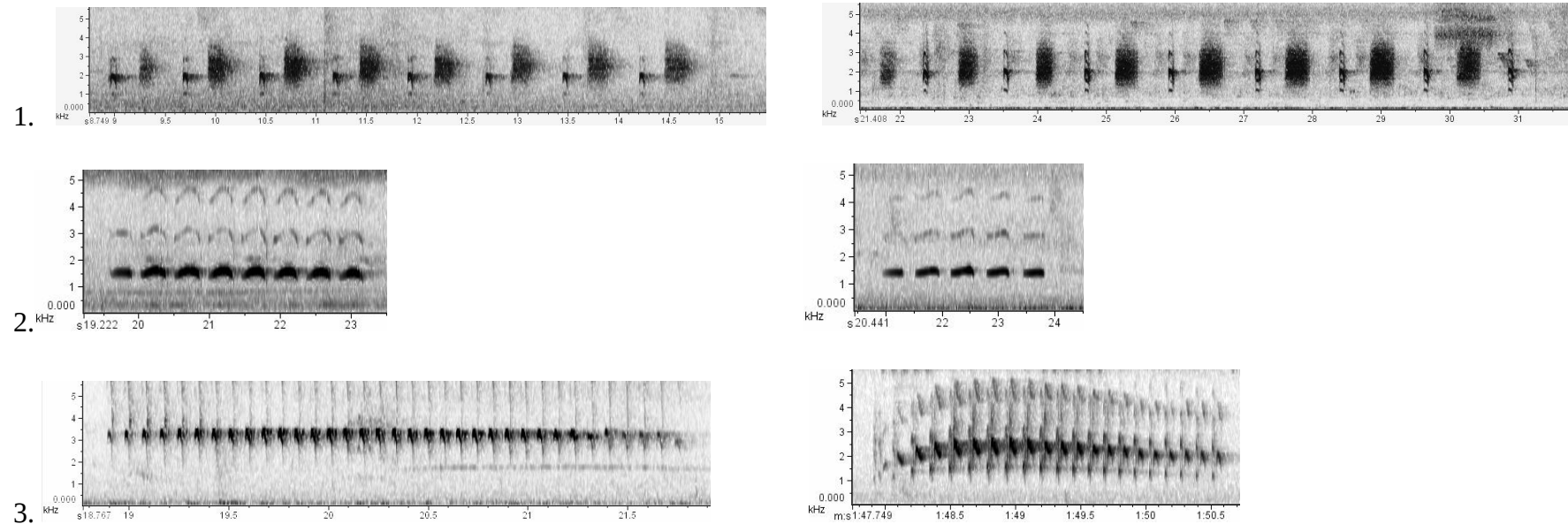
Fonte: O Autor (2016).

APÊNDICE G - HISTOGRAMAS DAS VARIÁVEIS N° DE NOTAS E RITMO MOSTRANDO A DENSIDADE DOS DADOS PARA OS DOIS FORMATOS DE ÁUDIO TESTADOS (WAV E MP3), PARA AS TRÊS ESPÉCIES TESTADAS.

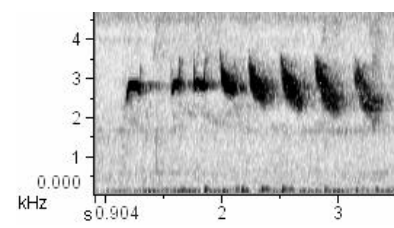
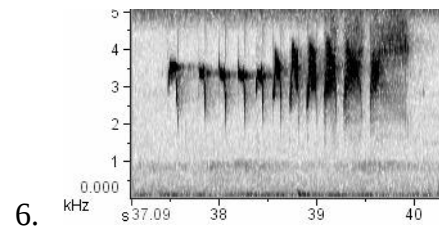
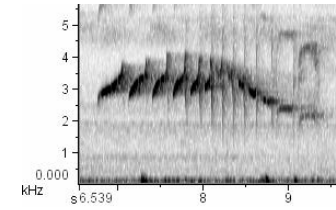
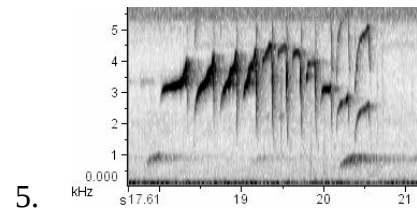
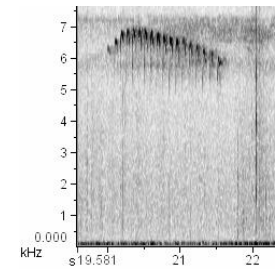
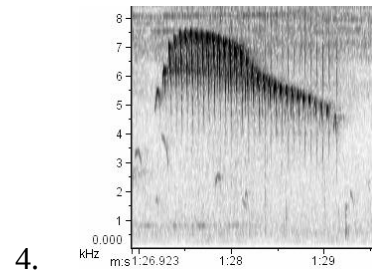


Fonte: O Autor (2016).

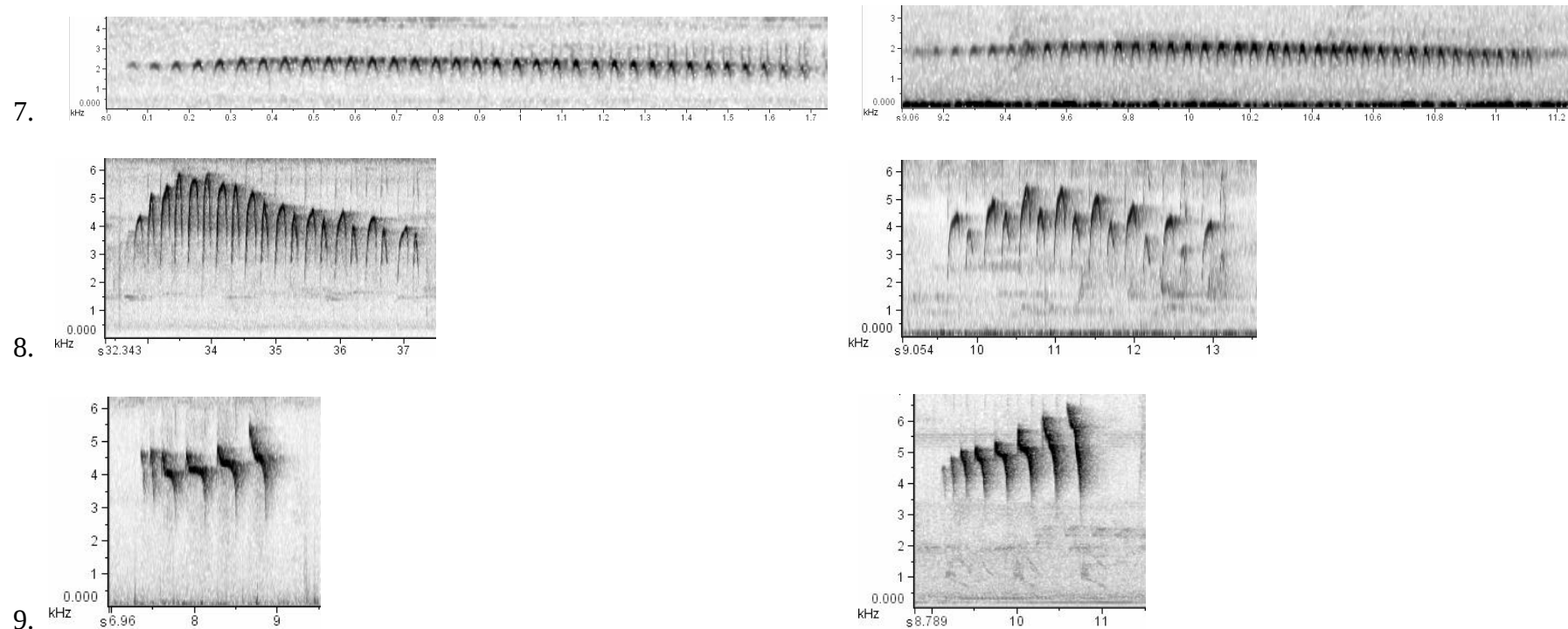
ANEXO A - SONOGRAMAS DOS PARES DE TAXA DA FAMÍLIA THAMNOPHILIDAE (EXEMPLARES DO E E W, RESPECTIVAMENTE) NO ESCUDO DAS GUIANAS, AMAZÔNIA. a) *Cercomacra cinerascens* (E: ML72421, W: PNJAUA315), b) *Cymbilaimus lineatus* (E: ML106350, W: ML88253), c) *Cercomacra tyrannina* (E: XC98553, W: ML113214), d) *Epinecrophylla gutturalis* (ML73056) e *E. haematonota* (PNJAUA274), e) *Gymnopithys leucaspis* (ML516254) e *G. rufigula* (ML195626), f) *Hypocnemis cantator* (PAUJIA37) e *H. flavescens* (XC303170), g) *Herpsilochmus dorsimaculatus* (E: ML46977, W: A265), h) *Hylophilax naevius* (E: XC90280, W: JUFARI34), i) *Myrmophylax atrothorax* (E: 2002_18B, W: XC139199), j) *Myrmotherula axillaris* (E: ML72302, W: 2002_18B), k) *Myrmotherula brachyura* (E: JUFARI-15, W: ML88214), l) *Myrmotherula menetriesii* (E: ML48768, W: PNJAUA25), m) *Myrmoborus myotherinus* (E: ML46905, W: PNJAUA24), n) *Percnostola rufifrons* (E: ML205515, W: 2002_21A), o) *Thamnophilus amazonicus* (E: ML41075, W: PNJAUA298), p) *Thamnomanes caesi* (E: ML39414, W: XC202004), q) *Thamnophilus murinus* (E: ML90691, W: ML53370), r) *Thamnophilus punctatus* (E: ML144418, W: MARACA_15-4_1) e s) *Willisornis poecilinotus* (E: ML205501, W: PNJAUA122).



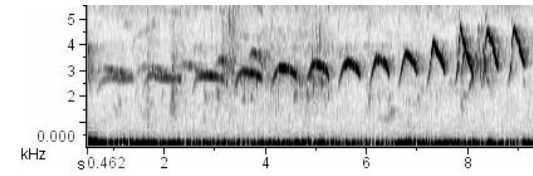
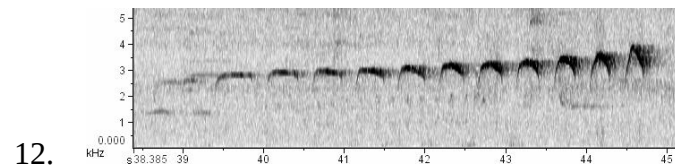
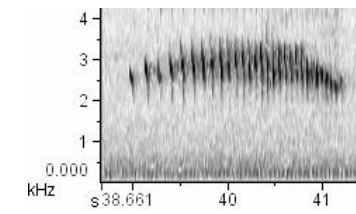
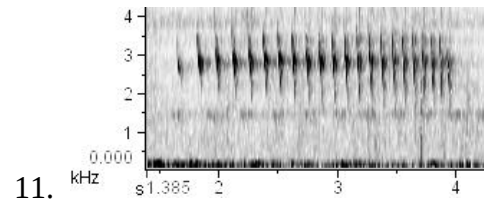
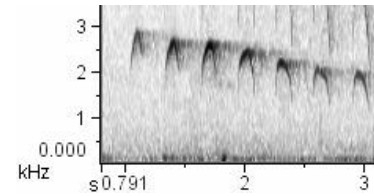
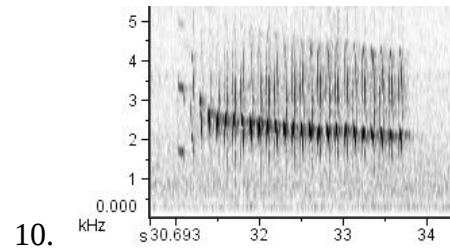
ANEXO A - SONOGRAMAS DOS PARES DE TAXA DA FAMÍLIA THAMNOPHILIDAE (EXEMPLARES DO E E W, RESPECTIVAMENTE) NO ESCUDO DAS GUIANAS, AMAZÔNIA. a) *Cercomacra cinerascens* (E: ML72421, W: PNJUA315), b) *Cymbilaimus lineatus* (E: ML106350, W: ML88253), c) *Cercomacra tyrannina* (E: XC98553, W: ML113214), d) *Epinecrophylla gutturalis* (ML73056) e *E. haematonota* (PNJUA274), e) *Gymnopithys leucaspis* (ML516254) e *G. rufigula* (ML195626), f) *Hypocnemis cantator* (PAUJIA37) e *H. flavescens* (XC303170), g) *Herpsilochmus dorsimaculatus* (E: ML46977, W: A265), h) *Hylophilax naevius* (E: XC90280, W: JUFARI34), i) *Myrmophylax atrothorax* (E: 2002_18B, W: XC139199), j) *Myrmotherula axillaris* (E: ML72302, W: 2002_18B), k) *Myrmotherula brachyura* (E: JUFARI-15, W: ML88214), l) *Myrmotherula menetriesii* (E: ML48768, W: PNJUA25), m) *Myrmoborus myotherinus* (E: ML46905, W: PNJUA24), n) *Percnostola rufifrons* (E: ML205515, W: 2002_21A), o) *Thamnophilus amazonicus* (E: ML41075, W: PNJUA298), p) *Thamnomanes caesius* (E: ML39414, W: XC202004), q) *Thamnophilus murinus* (E: ML90691, W: ML53370), r) *Thamnophilus punctatus* (E: ML144418, W: MARACA_15-4_1) e s) *Willisornis poecilinotus* (E: ML205501, W: PNJUA122) (continuação).



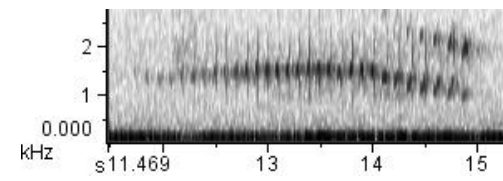
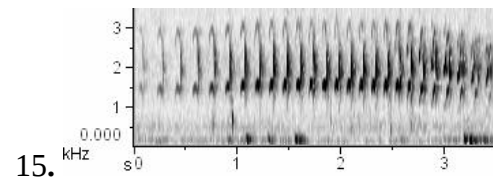
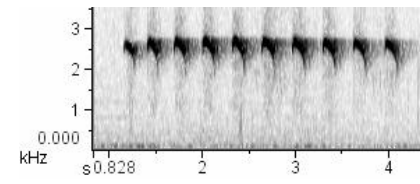
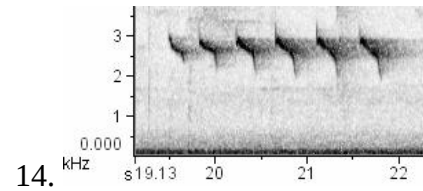
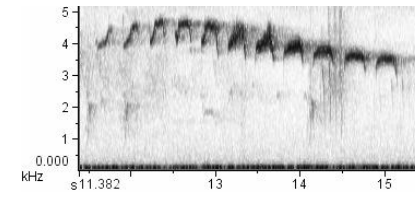
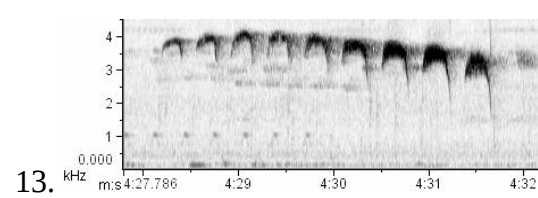
ANEXO A - SONOGRAMAS DOS PARES DE TAXA DA FAMÍLIA THAMNOPHILIDAE (EXEMPLARES DO E E W, RESPECTIVAMENTE) NO ESCUDO DAS GUIANAS, AMAZÔNIA. a) *Cercomacra cinerascens* (E: ML72421, W: PNJUAUA315), b) *Cymbilaimus lineatus* (E: ML106350, W: ML88253), c) *Cercomacra tyrannina* (E: XC98553, W: ML113214), d) *Epinecropphylla gutturalis* (ML73056) e *E. haematonota* (PNJUAUA274), e) *Gymnophithys leucaspis* (ML516254) e *G. rufigula* (ML195626), f) *Hypocnemis cantator* (PAUJIA37) e *H. flavescens* (XC303170), g) *Herpsilochmus dorsimaculatus* (E: ML46977, W: A265), h) *Hylophilax naevius* (E: XC90280, W: JUFARI34), i) *Myrmophylax atrothorax* (E: 2002_18B, W: XC139199), j) *Myrmotherula axillaris* (E: ML72302, W: 2002_18B), k) *Myrmotherula brachyura* (E: JUFARI-15, W: ML88214), l) *Myrmotherula menetriesii* (E: ML48768, W: PNJUAUA25), m) *Myrmoborus myotherinus* (E: ML46905, W: PNJUAUA24), n) *Percnostola rufifrons* (E: ML205515, W: 2002_21A), o) *Thamnophilus amazonicus* (E: ML41075, W: PNJUAUA298), p) *Thamnomanes caesius* (E: ML39414, W: XC202004), q) *Thamnophilus murinus* (E: ML90691, W: ML53370), r) *Thamnophilus punctatus* (E: ML144418, W: MARACA_15-4_1) e s) *Willisornis poecilinotus* (E: ML205501, W: PNJUAUA122) (continuação).



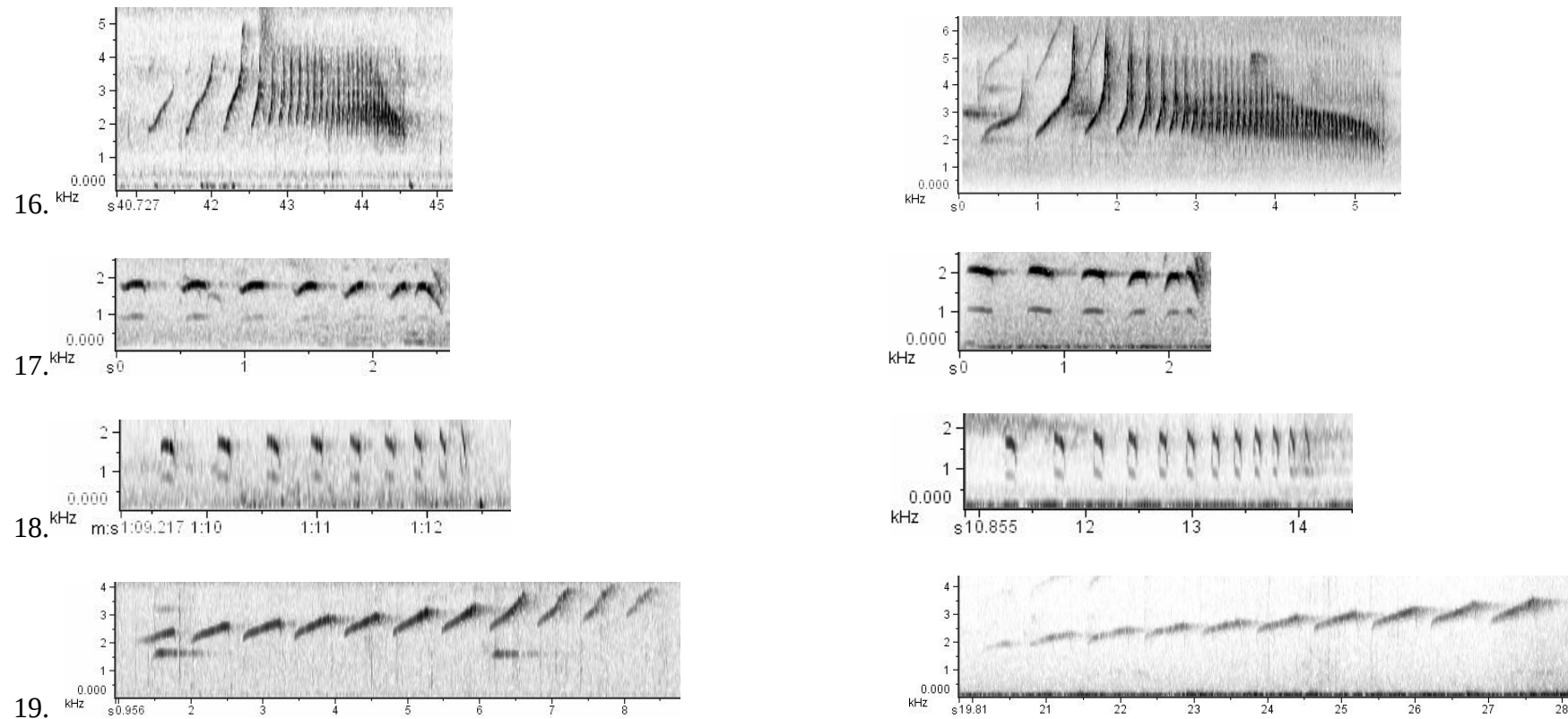
ANEXO A - SONOGRAMAS DOS PARES DE TAXA DA FAMÍLIA THAMNOPHILIDAE (EXEMPLARES DO E E W, RESPECTIVAMENTE) NO ESCUDO DAS GUIANAS, AMAZÔNIA. a) *Cercomacra cinerascens* (E: ML72421, W: PNJUAUA315), b) *Cymbilaimus lineatus* (E: ML106350, W: ML88253), c) *Cercomacra tyrannina* (E: XC98553, W: ML113214), d) *Epinecrophylla gutturalis* (ML73056) e *E. haematonota* (PNJUAUA274), e) *Gymnopathys leucaspis* (ML516254) e *G. rufigula* (ML195626), f) *Hypocnemis cantator* (PAUJIA37) e *H. flavescens* (XC303170), g) *Herpsilochmus dorsimaculatus* (E: ML46977, W: A265), h) *Hylophilax naevius* (E: XC90280, W: JUFARI34), i) *Myrmophylax atrothorax* (E: 2002_18B, W: XC139199), j) *Myrmotherula axillaris* (E: ML72302, W:2002_18B), k) *Myrmotherula brachyura* (E: JUFARI-15, W: ML88214), l) *Myrmotherula menetriesii* (E: ML48768, W: PNJUAUA25), m) *Myrmoborus myotherinus* (E: ML46905, W: PNJUAUA24), n) *Percnostola rufifrons* (E: ML205515, W: 2002_21A), o) *Thamnophilus amazonicus* (E: ML41075, W: PNJUAUA298), p) *Thamnomanes caesius* (E: ML39414, W: XC202004), q) *Thamnophilus murinus* (E: ML90691, W: ML53370), r) *Thamnophilus punctatus* (E: ML144418, W: MARACA_15-4_1) e s) *Willisornis poecilinotus* (E:ML205501, W: PNJUAUA122) (continuação).



ANEXO A - SONOGRAMAS DOS PARES DE TAXA DA FAMÍLIA THAMNOPHILIDAE (EXEMPLARES DO E E W, RESPECTIVAMENTE) NO ESCUDO DAS GUIANAS, AMAZÔNIA. a) *Cercomacra cinerascens* (E: ML72421, W: PNJAUA315), b) *Cymbilaimus lineatus* (E: ML106350, W: ML88253), c) *Cercomacra tyrannina* (E: XC98553, W: ML113214), d) *Epinecrophylla gutturalis* (ML73056) e *E. haematonota* (PNJAUA274), e) *Gymnopithys leucaspis* (ML516254) e *G. rufigula* (ML195626), f) *Hypocnemis cantator* (PAUJIA37) e *H. flavescens* (XC303170), g) *Herpsilochmus dorsimaculatus* (E: ML46977, W: A265), h) *Hylophilax naevius* (E: XC90280, W: JUFARI34), i) *Myrmophylax atrothorax* (E: 2002_18B, W: XC139199), j) *Myrmotherula axillaris* (E: ML72302, W: 2002_18B), k) *Myrmotherula brachyura* (E: JUFARI-15, W: ML88214), l) *Myrmotherula menetriesii* (E: ML48768, W: PNJAUA25), m) *Myrmoborus myotherinus* (E: ML46905, W: PNJAUA24), n) *Percnostola rufifrons* (E: ML205515, W: 2002_21A), o) *Thamnophilus amazonicus* (E: ML41075, W: PNJAUA298), p) *Thamnomanes caesius* (E: ML39414, W: XC202004), q) *Thamnophilus murinus* (E: ML90691, W: ML53370), r) *Thamnophilus punctatus* (E: ML144418, W: MARACA_15-4_1) e s) *Willisornis poecilinotus* (E: ML205501, W: PNJAUA122) (continuação).



ANEXO A - SONOGRAMAS DOS PARES DE TAXA DA FAMÍLIA THAMNOPHILIDAE (EXEMPLARES DO E E W, RESPECTIVAMENTE) NO ESCUDO DAS GUIANAS, AMAZÔNIA. a) *Cercomacra cinerascens* (E: ML72421, W: PNJAUA315), b) *Cymbilaimus lineatus* (E: ML106350, W: ML88253), c) *Cercomacra tyrannina* (E: XC98553, W: ML113214), d) *Epinecrophylla gutturalis* (ML73056) e *E. haematonota* (PNJAUA274), e) *Gymnophithys leucaspis* (ML516254) e *G. rufigula* (ML195626), f) *Hypocnemis cantator* (PAUJIA37) e *H. flavescens* (XC303170), g) *Herpsilochmus dorsimaculatus* (E: ML46977, W: A265), h) *Hylophilax naevius* (E: XC90280, W: JUFARI34), i) *Myrmophylax atrothorax* (E: 2002_18B, W: XC139199), j) *Myrmotherula axillaris* (E: ML72302, W: 2002_18B), k) *Myrmotherula brachyura* (E: JUFARI-15, W: ML88214), l) *Myrmotherula menetriesii* (E: ML48768, W: PNJAUA25), m) *Myrmoborus myotherinus* (E: ML46905, W: PNJAUA24), n) *Percnostola rufifrons* (E: ML205515, W: 2002_21A), o) *Thamnophilus amazonicus* (E: ML41075, W: PNJAUA298), p) *Thamnomanes caesi*us (E: ML39414, W: XC202004), q) *Thamnophilus murinus* (E: ML90691, W: ML53370), r) *Thamnophilus punctatus* (E: ML144418, W: MARACA_15-4_1) e s) *Willisornis poecilinotus* (E: ML205501, W: PNJAUA122) (continuação).



Fonte: Macaulay Library of Natural Sounds, Xeno-canto e acervo pessoal do Luciano N. Naka (2016).