



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA  
INSTITUTO DE BIOLOGIA

CURSO DE GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

VARIAÇÃO GEOGRÁFICA NO CANTO DE *THAMNOPHILUS*  
*CAPISTRATUS* (CHOCA-BARRADA-DO-NORDESTE)

por

ISABELLE OLIVEIRA LIMA LUZ

**Trabalho de Conclusão do Curso**  
apresentado ao Instituto de Biologia da Universidade  
Federal Bahia como exigência para obtenção do grau  
de Bacharel em Ciências Biológicas

Salvador, BA  
2022



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA  
INSTITUTO DE BIOLOGIA

CURSO DE GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

VARIAÇÃO GEOGRÁFICA NO CANTO DE *THAMNOPHILUS*  
*CAPISTRATUS* (CHOCA-BARRADA-DO-NORDESTE)

por

ISABELLE OLIVEIRA LIMA LUZ

**Trabalho de Conclusão do Curso**  
apresentado ao Instituto de Biologia da Universidade  
Federal Bahia como exigência para obtenção do grau  
de Bacharel em Ciências Biológicas

Orientador: Prof. Dr. Henrique Batalha  
Filho

Salvador, BA  
2022

(PÁGINA DE AVALIAÇÃO DA BANCA EXAMINADORA – não precisa ter as assinaturas dos membros)

Data da Defesa: 07/12/2022

## **Banca Examinadora**

---

**Nome do Orientador**

**Instituição**

---

**Nome do 1º. membro da banca**

**Instituição**

---

**Nome do 2º. membro da banca**

**Instituição**

## RESUMO

A comunicação animal é a base para as interações sociais entre indivíduos de uma mesma espécie, que podem utilizar de diferentes tipos de sinalizações elaboradas para transmitir mensagens através de sinais visuais, elétricos, químicos ou acústicos. Dentre estes, as comunicações acústicas e visuais estão entre as mais utilizadas no grupo das aves, sendo que a última recebe destaque pelo seu importante papel ecológico e social. Nas aves, os sinais acústicos podem ser divididos em canto e chamado. Os cantos são utilizados para defesa de território e atração de parceiros, enquanto os chamados são utilizados em contexto de forrageio e para alarmes. Os sinais acústicos são passíveis de sofrerem alterações em suas características, o que pode causar efeitos evolutivos passíveis de mensuração e são potencialmente úteis para testar a relação entre divergência geográfica de sinais, isolamento reprodutivo e especiação. Os processos envolvidos nas modificações desses sinais são divididos em determinísticos e estocásticos, sendo que o primeiro geralmente está associado às restrições morfológicas, estrutura do habitat e seleção sexual, enquanto os processos estocásticos dizem respeito à deriva genética, seleção social e barreiras geográficas. Aqui, analisamos a variação geográfica do canto da choca-barrada-do-nordeste (*Thamnophilus capistratus*), um suboscines endêmico da Caatinga. Testamos a influência da estrutura do habitat e a barreira do Rio São Francisco (RSF) na variação espacial das vocalizações. Nossos resultados revelaram que: 1) as variáveis climáticas precipitação e vapor d'água apresentaram influência significativa na variação de parâmetros espectrais do canto; 2) O RSF demonstrou ser uma barreira na diferenciação dos parâmetros vocais, embora haja sobreposição entre os grupos, sendo este um indicativo da influência da recente mudança no seu paleocurso; 3) A frequência 25% da nota central foi a única variável que apresentou relação significativa com a latitude. Desse modo, nossos resultados sugerem que existe variação geográfica no canto de *T. capistratus*, porém mais estudos são necessários para avaliar a efetividade da barreira do RSF e a influência destas variáveis climáticas nos parâmetros vocais da espécie.

## ABSTRACT

Animal communication is the basis for social interactions between individuals of the same species, which can use different types of signals designed to convey messages through visual, electrical, chemical or acoustic signals. Among these, acoustic and visual communications are the most used in the group of birds, the latter being highlighted for its important ecological and social role. In birds, acoustic signals can be divided into song and call. Songs are used for territory defense and mate attraction, while calls are used in foraging contexts and for alarms. Acoustic signals are susceptible to changes in their characteristics, which can cause measurable evolutionary effects and are potentially useful for testing the relationship between geographic divergence of signals, reproductive isolation, and speciation. The processes involved in the modifications of these signals are divided into deterministic and stochastic, with the former generally associated with morphological constraints, habitat structure, and sexual selection, while stochastic processes concern genetic drift, social selection, and geographic barriers. Here, we analyze the geographic variation in song of the northeastern woodcock (*Thamnophilus capistratus*), a subspecies endemic to the Caatinga. We tested the influence of habitat structure and the São Francisco River barrier (SFR) on the spatial variation of vocalizations. Our results revealed that: 1) the climatic variables precipitation and water vapor showed a significant influence on the variation of spectral parameters of the song; 2) the SRF proved to be a barrier in the differentiation of vocal parameters, although there is overlap between groups, this being an indication of the influence of the recent change in their paleocourse; 3) the 25% frequency of the central note was the only variable that showed a significant relationship with latitude. Thus, our results suggest that there is geographic variation in the song of *T. capistratus*, but further studies are needed to evaluate the effectiveness of the SFR barrier and the influence of these climatic variables on the vocal parameters of the species.

## AGRADECIMENTOS

Inicialmente, gostaria de agradecer a Universidade Federal da Bahia e ao Instituto de Biologia por ter proporcionado toda a estrutura necessária para que eu pudesse finalizar a minha graduação. Deixo o meu agradecimento também a todos os professores que contribuíram para a minha formação e que foram fundamentais na minha construção profissional e deixo aqui em destaque os professores Henrique Batalha, meu orientador, Marcelo Napoli, Priscila Camelier, Ângela Zanata e Sheila Resende, os quais tenho grande admiração e respeito.

Agradeço a o Núcleo de Etologia e Evolução (NuEVo), o primeiro laboratório que fiz parte e onde fiz bons amigos. Agradeço também ao Laboratório de Biogeografia e Evolução (LEBI), no qual concluí o meu trabalho de conclusão de curso e tive um enorme aprendizado. Obrigada a todos integrantes do LEBI que me ajudaram nessa reta final do curso seja com palavras de apoio, com críticas construtivas no trabalho ou simplesmente pelos momentos de conversas e boas risada que me ajudaram na reta final. A todos os integrantes do Laboratório de Ictiologia (LAIC) e do Laboratório de Sistemática e Biogeografia (SIBA), meus amigos da vida e colegas de profissão que sempre me acolheram e apoiaram desde o início. À minha família e amigos, que acreditaram nos meus sonhos e me ajudaram sempre que precisei de apoio.

Deixo aqui uma frase que de autor desconhecido, mas que diz muito sobre o que sinto com a biologia e o que sinto concluindo mais uma fase para um sonho ainda maior: "É verdade que existe um preço para tudo, mas este preço é relativo. Quando seguimos nossos sonhos, podemos dar a impressão aos outros de que somos miseráveis e infelizes. Mas o que os outros pensam não importa, o que importa é a alegria em nosso coração."

## ÍNDICE

RESUMO

ABSTRA

CT

AGRADECIMENTOS

ÍNDICE .....	7
1. INTRODUÇÃO .....	8
2. MATERIAL E MÉTODOS .....	12
3. RESULTADOS .....	15
4. DISCUSSÃO .....	20
5. CONCLUSÃO .....	23
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	23
7. ANEXOS .....	27

## INTRODUÇÃO

A comunicação animal é a base para as interações sociais entre indivíduos de uma mesma espécie, que podem utilizar de diferentes tipos de sinalizações elaboradas para transmitir mensagens através de sinais visuais, elétricos, químicos ou acústicos (Brumm, 2013). Dentre estes, a comunicação acústica se destaca por ser utilizada por diversos grupos animais como um meio de transmissão de mensagens, dentre eles os insetos, anuros, mamíferos e aves (Ey & Fischer, 2009). Os sinais acústicos são suscetíveis de sofrerem modificações em suas características, o que pode causar efeitos evolutivos passíveis de mensuração (Price e Lanyon, 2002; Koetz *et al*, 2007; Mason *et al*, 2017). Em especial, estudos sobre evolução de sinais acústicos são potencialmente úteis para testar a relação entre divergência geográfica de sinais, isolamento reprodutivo e especiação (Edwards et al., 2005).

Ao longo do espaço, os processos ecológicos e evolutivos divididos em determinísticos e estocásticos, desempenham papel fundamental na origem e manutenção de variações geográficas em sinais acústicos (Irwin, 2000; Podos e Warren, 2007). Os processos determinísticos geralmente incluem forças de seleção que moldam genótipos e fenótipos como respostas a pressões de seleção. Por exemplo, restrições morfológicas (Podos, 2004) relacionadas ao formato do bico e massa corpórea geralmente afetam o tipo de canto produzido pelas aves. Indivíduos de maior massa tendem a apresentar frequências mais graves, dadas correlações estreitas entre o tamanho do corpo e o tamanho da siringe, e a relação desta com a frequência vocal (Podos, 2007), e o tamanho do bico pode alterar características espectrais do canto como frequência e largura de banda (Demary *et al*, 2021). A estrutura do habitat é também um fator determinístico e importante causa de modificação e alteração nos sinais acústicos, podendo afetar a qualidade e eficácia na transmissão do sinal (Farina, 2013).

Segundo a Hipótese de Adaptação Acústica (HAA) designada por Morton (1975), a estrutura do habitat e as variações ambientais podem influenciar nos parâmetros espectrais e temporais do canto e na eficácia da transmissão do sinal acústico, de modo que, informações podem ser perdidas por atenuação ou degradação (Morton, 1975; Brumm e Naguib, 2009). A atenuação do sinal, ou perda de amplitude, em ambientes naturais é afetada pela absorção atmosférica, obstáculos no ambiente (e.g., vegetação) e por efeitos dependentes da frequência, uma vez que, frequências mais altas sofrem maior atenuação (Wiley e Richards 1978; Slabbekoorn, 2004). A degradação, por sua vez, pode acontecer devido aos reflexos do sinal em troncos de árvores e no dossel, levando a alterações nos aspectos espectrais, estruturais e temporais do canto (Morton, 1975; Wiley e Richards, 1982; Farina, 2013). Assim, espera-se que cantos de maior duração e menor frequência sejam



favorecidos em habitats mais densos, aumentando assim a eficiência na transmissão do sinal entre emissor e receptor (Morton, 1975; Brumm e Naguib, 2009). Portanto, se as características do habitat moldam os sinais acústicos, esperamos encontrar uma correspondência entre as variáveis ambientais e as variáveis temporais e espectrais do canto, de modo que, populações residentes em habitats semelhantes apresentarão cantos com maior similaridade.

Ainda, temos o processo da seleção sexual, em que as fêmeas selecionam os machos de acordo com características que indicam maior aptidão ou que aumentem sua atratividade, como cantos altamente elaborados (Catchpole, 1987; Price *et al.*, 1993). De acordo com Catchpole (1987), a seleção sexual pode moldar a evolução do canto dos pássaros a partir de duas vias principais. A primeira se dá por competição masculina e seleção intrasexual que produzem cantos mais curtos e simples, utilizados em contextos de defesa de território, e em segundo, a escolha da fêmea e seleção intersexual produzem cantos mais longos e complexos, utilizados na atração de parceiros. Assim, acredita-se que haja uma propriedade geral das fêmeas em responderem positivamente à complexidade do estímulo, sugerindo que o tamanho e complexidade do repertório vocal dos machos e a capacidade de resposta das fêmeas, evoluem juntos (Fisher, 1930).

Por outro lado, os processos estocásticos moldam as características dos sinais acústicos através de eventos aleatórios como, por exemplo, a deriva gênica, que pode fixar mutações em loci gênicos ligados ao canto ou ligados a características fenotípicas que afetam o canto (e.g., tamanho do corpo ou tamanho do bico) levando a modificações no sinal acústico (Podos e Warren, 2007). Há também a seleção social que pode causar uma rápida divergência dos sinais devido à atratividade da novidade e potencial de mudança, mas sendo aleatória a chance de encontro entre parceiros no contexto social em que estão inseridos (Irwin, 2000). Além disso, podemos considerar o distanciamento geográfico postulado no modelo de isolamento por distância (Wright, 1943), que propõe que uma combinação de diferenciação populacional por deriva genética e uma maior taxa de migração entre populações vizinhas produz uma relação positiva entre distância geográfica e distância genética (ou vocal), e a existência de barreiras geográficas que atuam no isolamento entre populações restringindo o fluxo gênico, eventualmente, levando à diferenciação das populações (West-Eberhard 1983; Parker *et al.*, 2012; Coelho *et al.*, 2022).

Dentre os vertebrados, as aves têm recebido grande destaque em estudos de comunicação acústica (Wiley e Richards 1978; Marler e Slabberkoorn, 2004; Slabberkoorn, 2004; Catchpole e Slater, 2008; Brumm

e Naguib, 2009), uma vez que este tipo de comunicação exerce importante papel ecológico e social no grupo. Os sinais vocais das aves podem ser divididos em canto e chamado. Os cantos tendem a ser longos e complexos, desempenhando importantes funções ecológicas como, atração de parceiros, defesa territorial e identificação individual, enquanto os chamados são curtos e simples, utilizados em contextos específicos como alarmes de ameaça e forrageio, por exemplo (Catchpole e Slater, 2008). Dentre as Aves, a ordem dos Passeriformes constitui o grupo com maior número de espécies e inclui as subordens Tyranni e Passeri, ou comumente chamadas de suboscines e oscines, respectivamente (Cracraft *et al.*, 2009). Os suboscines possuem uma siringe com um menor conjunto de músculos que os oscines (Catchpole e Slater, 2008) e cantos menos complexos. Além disso, o aprendizado exerce pouca ou nenhuma influência na aquisição do canto de suboscines (Kroodsma, 1984), ao passo que, os oscines aprendem seus cantos no início do seu desenvolvimento e precisam do auxílio de um tutor para assim fazê-lo (Catchpole e Slater, 2008; Schmitt & Edwards, 2022).

Estudos que tratam sobre variação do canto em suboscines têm recebido menor atenção (principalmente as famílias *Thamnophilidae* e *Furnariidae*) quando comparado com espécies de oscines (Tobias *et al.*, 2012). Um menor número de espécies de suboscines presentes na região temperada, onde foram desenvolvidos a maioria das pesquisas, bem como a presença de sinais acústicos relativamente fixos, devido a influência mínima do aprendizado em seus cantos, podem estar relacionadas a sua utilização como modelos de estudo para evolução de sinais acústicos ser frequentemente ignorada (Seddon e Tobias, 2007; Lovell e Lein, 2013). Apesar disso, diferentes estudos têm mostrado a presença de variação no canto de espécies de suboscines das famílias *Thamnophilidae* (Capelli *et al.*, 2020; Sementili-Cardoso *et al.*, 2018; Sementili & José, 2016), *Tyrannidae* (Leger, 2003; Lovell e Lein, 2004; Lovell e Lein, 2013) e *Furnariidae* (Lindell, 1998; Ippi *et al.*, 2011). Dessa forma, os suboscines se constituem bons modelos para a compreensão do papel dos processos estocásticos e determinísticos na variação do canto, pois a ausência de influência do aprendizado em seu canto (Slabbekoorn e Smith 2002, Seddon 2005, Wilkins *et al.* 2012) permite separar de maneira mais eficiente o papel das diferentes forças evolutivas na variação espacial dos sinais acústicos.

Neste estudo analisamos a variação geográfica dos cantos do suboscine *Thamnophilus capistratus* (choca-barrada-do-nordeste), espécie da família *Thamnophilidae* que é endêmica da Caatinga, floresta tropical sazonalmente seca (Assis *et al.*, 2007). A espécie apresenta apenas um tipo de canto composto por uma nota realizada em série, seguida por uma única nota terminal distinta, de baixa frequência e dois chamados, nos quais seus contextos ainda não são bem compreendidos (Assis *et al.*, 2007; Catalano, 2015). Recentemente a

espécie de estudo foi separada da choca-barrada (*Thamnophilus doliatus*) e elevada ao nível de espécie por Assis e colaboradores (2007), que a validaram a partir da diagnose da plumagem, coloração da íris, morfometria e parâmetros vocais. As vocalizações diferiram no número de notas da frase inicial, sendo encontrado em *T. capistratus* o maior número de notas, bem como, uma nota final mais longa quando comparado a *T. doliatus* e dois tipos distintos de chamado entre as espécies (Assis *et al.*, 2007).

Para testar a influência dos processos estocásticos na variação do canto, utilizamos como hipótese de barreira geográfica o Rio São Francisco (RSF), que passou por duas alterações significativas em seu curso ao longo de sua história. O RSF é o quarto maior rio brasileiro, com aproximadamente 3.000 km de extensão, nascendo na região norte de Minas Gerais atravessando a Caatinga, antes de desaguar no oceano Atlântico Sul (Coelho *et al.*, 2022). Embora não exista consenso sobre o momento da mudança do seu paleocurso (e.g. Mabesoone, 1994; Potter, 1997; Karner e Driscoll, 1999; Ribeiro *et al.*, 2021), sabe-se que o rio passou por uma alteração significativa no seu curso que antes era reto seguindo de Minas Gerais e desaguardo no Atlântico Norte, próximo ao estado do Piauí. Então, o RSF passou para um curso leste-oriental há cerca de 450 mil anos atrás (kya), desaguardo no Atlântico Sul através de meandros abandonados localizados ao sul da foz atual na região dos rios Vaza-Barris e Itapicuru, podendo ter atuado como barreira de diversificação até o RSF mudar para o seu curso atual, dividindo a Caatinga, anteriormente contínua, em porções ao norte e ao sul (Werneck *et al.*, 2015). Um estudo recente mostrou por meio de análises coalescentes que o RSF atua como barreira vicariante na Caatinga para diferentes grupos de vertebrados como mamíferos, anfíbios, répteis e aves (Coelho *et al.*, 2022).

O presente estudo tem como objetivo principal avaliar a influência dos processos determinísticos e estocásticos na variação geográfica do canto da choca-barrada-do-nordeste. Para isso, testamos as seguintes hipóteses: 1) se HAA moldou a variação acústica na espécie esperamos que os parâmetros espectrais do canto apresentem relação negativa com a cobertura vegetal e os parâmetros temporais apresentem relação positiva; 2) também segundo a HAA, esperamos que variáveis climáticas como precipitação e temperatura estejam negativamente relacionadas com parâmetros de frequência do canto, devido a relação da precipitação com o aumento do ruído ambiente e que cantos de alta frequência sofrem maior absorção em regiões de temperaturas elevadas (Brumm e Naguib, 2009), bem como uma relação negativa com o vapor d'água; 3) e se o RSF atuou como barreira geográfica isolando as populações ao sul e ao norte de suas margens, esperamos que as populações nas diferentes regiões apresentem diferenciação vocal, sendo que populações ao sul apresentarão

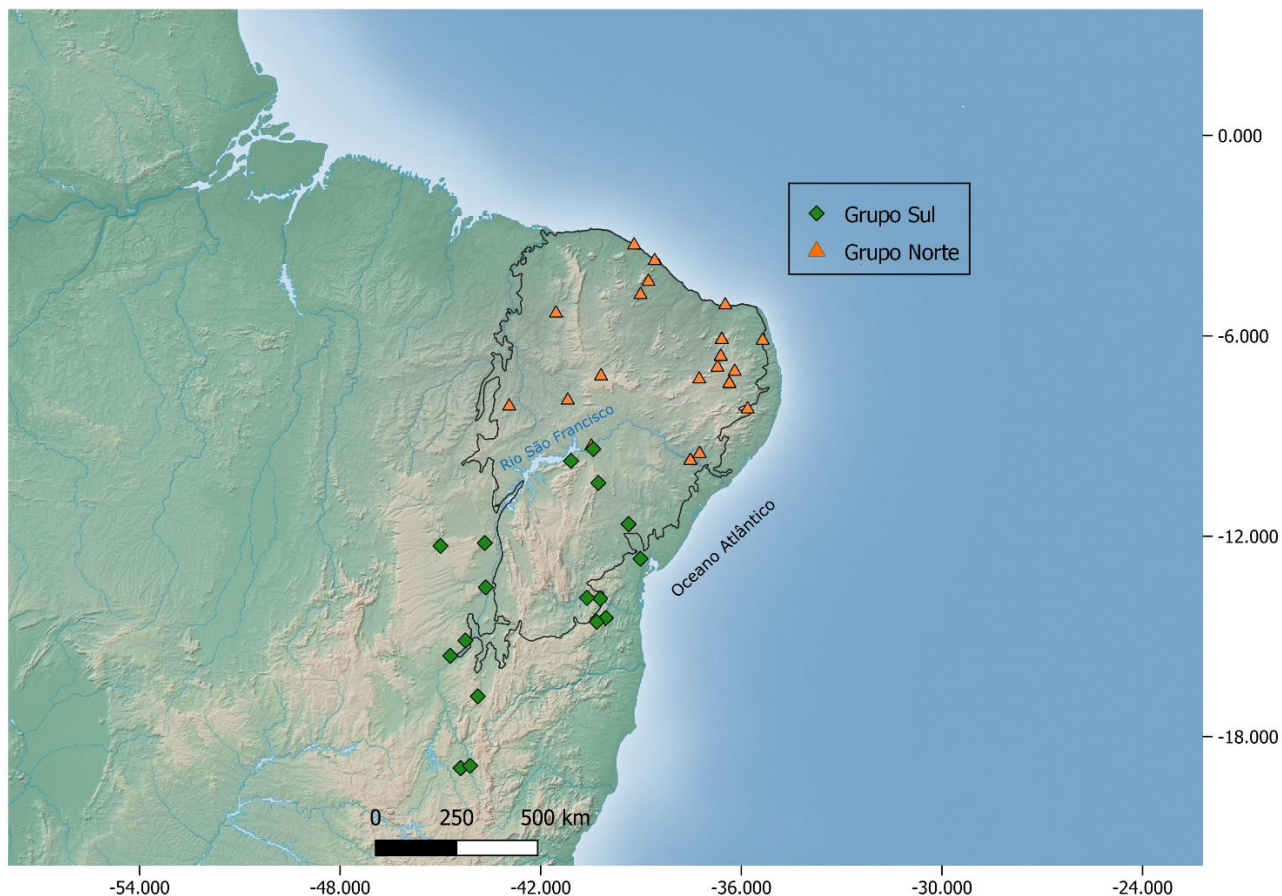
cantos mais similares entre si do que quando comparados com populações ao norte. Por fim, caso a distância geográfica esteja levando a diferença vocal das populações no espaço, esperamos uma relação positiva entre distância vocal e distância geográfica.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Obtenção de dados acústicos e ambientais**

Foram obtidas 51 gravações oriundas dos bancos de dados acústicos online WikiAves (<https://www.wikiaves.com.br>), com 48 gravações, e Xeno-canto (<https://www.xeno-canto.org>), com 3 gravações. As gravações são oriundas de 37 localidades que cobrem a maioria da distribuição da espécie (Figura 1 e Tabela S1 do anexo). Foram utilizadas apenas as gravações que possuíam as condições de qualidade necessárias para as análises acústicas e que não foram gravadas após emissão de *playback*, de modo a evitar possíveis alterações nos parâmetros do canto.

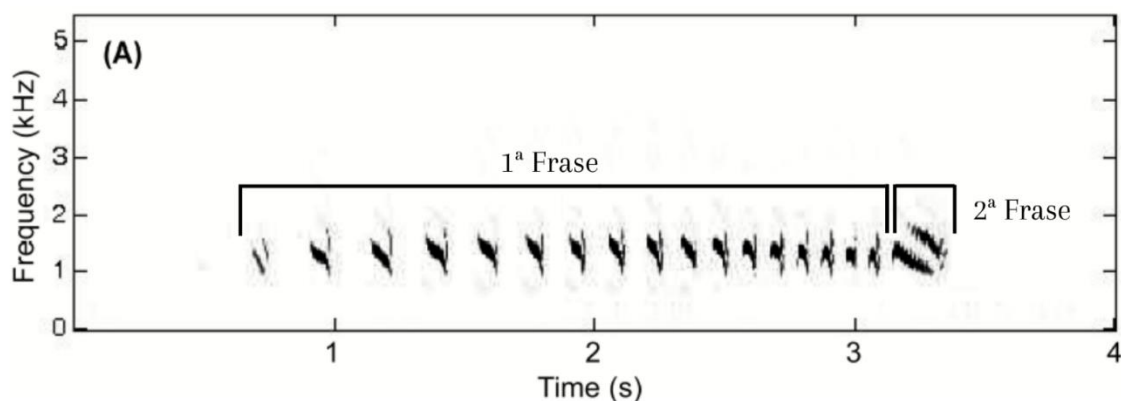
Para avaliação do efeito do ambiente nos parâmetros acústicos de *T. capistratus* nós utilizamos as seguintes variáveis ambientais do WorldClim v2.1 (<https://www.worldclim.org/data/index.html>) com resolução de ~ 1 km: precipitação, vapor d'água, temperatura média anual. Também foram obtidos dados de heterogeneidade ambiental, por meio do coeficiente de variação do Índice de Vegetação Aprimorado (EVI) na resolução de ~ 1km, disponível na base do EarthEnv (<https://www.earthenv.org/texture>).



**Figura 1.** Mapa com a distribuição das gravações de *T. capistratus* obtidas para o estudo. Símbolos indicam os pontos amostrais e suas cores são conforme legenda. A linha preta delimita os limites do bioma Caatinga.

### Análises acústicas

As gravações foram inicialmente analisadas no software Ocenaudio (v 3.11.11) para que os áudios fossem normalizados e para remover ruídos de baixa e alta frequência. Os parâmetros acústicos foram medidos no software Raven PRO 1.6.3 (Cornell Laboratory of Ornithology, NY, USA) seguindo as configurações de janela de espectrograma do tipo Hanning, grade de tempo com sobreposição de 50% e tamanho de 512 amostras, tamanho FFT de 512 e espaçamento de grade de 86,1 Hz. Observações prévias mostraram que o canto é composto por duas frases, considerando que uma frase é formada por uma sequência de notas similares que podem ser repetidas ao longo do canto e que não são interrompidas por no mínimo 3ms (Assis *et al.*, 2020), portanto, *T. capistratus* apresenta uma primeira frase formada por uma série de notas repetidas, enquanto a segunda frase consiste em uma única nota terminal (Figura 2).



**Figura 2.** Sonograma do canto de *Thamnophilus capistratus* com a primeira frase formada por uma única nota emitida em série e a segunda frase sendo composta por uma única nota diferente (Adaptado de Assis *et al.*, 2007).

Com base em estudos anteriores sobre variação geográfica vocal em suboscines (Assis *et al.*, 2007; Koloff e Menill, 2012; Catalano, 2015; Acero-Murcia *et al.*, 2021) foram analisados os seguintes parâmetros acústicos da primeira (N1), central (NC) e última nota (NF) da primeira frase e a nota terminal (NT) da segunda frase: frequência alta (High\_freq), frequência máxima (Max\_freq), central (Center\_freq), frequência 25% (Freq\_25), frequência 75% (Freq\_75), frequência 5% (Freq\_5) e frequência 95% (Freq\_95), largura de banda a 90% e 50% (BW\_90 ; BW\_50), número de notas (n\_notas), duração do canto, *pace* (número de notas por segundo), duração de cada frase, intervalo entre frases, intervalo entre a primeira e segunda nota da primeira frase, intervalo entre a nota central e a nota seguinte da primeira frase, intervalo entre a penúltima e última nota da primeira frase e o intervalo entre a última nota da primeira frase e a nota terminal.

### Análises estatísticas

As 45 variáveis do canto obtidas a partir da análise de todos os parâmetros supracitados para cada nota foram submetidas a medida de adequação amostral de Kayser-Meyer-Olkin (KMO) no software Jamovi v. 2.3 (<https://www.jamovi.org/>). Esse teste é indicado para determinar o número de fatores inerentes aos dados, reduzindo assim o número de variáveis que podem gerar ruído nos resultados das análises seguintes. Segundo Budaev (2010), este teste deve ser realizado antes de análises como a Análise de Componentes Principais (PCA) para obter melhores resultados, além disso, recomenda-se a utilização de variáveis que possuam ponto de corte maior ou igual a 0,5.

A partir das variáveis selecionadas pelo KMO, realizamos a PCA no ambiente R (R Cores Team 2022) utilizando o pacote *FactoMineR* (Sebastien Le, Julie Josse, Francois Husson, 2008), e definimos grupos à priori

referente às margens norte e sul do RSF, no intuito de avaliar se há diferenciação vocal associada a esta barreira. Para a PCA usamos uma matriz de correlação, de modo a eliminar problemas de colinearidade entre as variáveis. Adicionalmente, implementamos duas análises para verificar se há diferença estatística nas vocalizações das populações de *T. capistratus* ao norte e sul do RSF: Análise de Variância Multivariada Permutacional (PERMANOVA) pelo pacote *vegan* (Oksanen *et al.*, 2022), e Análise Linear Discriminante (LDA) pelo pacote *MASS* (Venables e Ripley, 2002). Para ambas as análises as variáveis acústicas foram padronizadas transformando os valores da média em 0 e o desvio padrão em 1 (z-score). Por fim, foi implementado o teste de diferenciação Mann-Whitney com o as variáveis do canto para verificar se há diferenças significativas entre os grupos norte e sul do RSF, com o programa JASP v. 0.16.4 (<https://jasp-stats.org/>).

Para avaliar o efeito de variáveis ambientais no canto de *T. capistratus*, e então testar a HAA, utilizamos Modelos Lineares Generalizados (GLM) com o software R (R Core Team 2022), utilizando o pacote *rcompanion* (Salvatore Mangiafico, 2022). Como variáveis preditoras do modelo utilizamos as variáveis climáticas (precipitação, vapor d'água e temperatura média anual), heterogeneidade ambiental (coeficiente de variação do EVI) e latitude (como métrica linear de distância geográfica). Como variáveis resposta, utilizamos os três primeiros PCs que representavam os eixos com maior variação espectral e temporal do canto, além de usar isoladamente os parâmetros temporais de duração da frase 2, duração do canto e intervalo entre frases e os parâmetros espectrais da nota central e da frase 2 (`high_freq_NC`, `freq_95%_NC`, `freq_75%_NC`, `center_freq_NC`, `freq_25%_NC`, `freq_75%_NT`, `freq_25%_NT`, `freq_95%_NT`, `Max_freq_NT`). Todas as variáveis foram transformadas em log para linearizar o relacionamento e normalizar o conjunto de dados. O modelo geral dos nossos dados foi o seguinte: variável resposta ~ latitude + precipitação + vapor d'água + temperatura + EVI, family= gaussian. A fim de avaliar a relação da latitude com variáveis do canto, geramos gráficos de dispersão e modelos regressão linear pelo R (R Core Team, 2022).

## **RESULTADOS**

### **Descrição do canto e variação**

Nossas análises revelaram que o canto de *T. capistratus* apresenta duas frases, em que a primeira é composta por uma única nota emitida em série e a segunda frase composta por uma única nota terminal distinta.

Na tabela A2 estão todos os parâmetros gerais da variação acústica da espécie e entre os grupos. Podemos inferir a partir dos dados do canto que o grupo ao sul tem cantos mais longos ( $2,055 \pm 2,880$ ,  $cv = 0,083$ ) que as populações ao norte ( $2,645 \pm 1,748$ ,  $cv = 0,114$ ), maior duração da primeira frase do grupo ao sul ( $2,700 \pm 1,845$ ,  $cv = 0,091$ ) que o grupo ao norte ( $2,497 \pm 1,628$ ,  $cv = 0,120$ ) e maior duração da segunda frase no grupo ao sul ( $0,186 \pm 0,103$ ,  $cv = 0,130$ ) que ao norte ( $0,179 \pm 0,055$ ,  $cv = 0,215$ ). Além disso, observamos frequências relativamente mais altas no grupo norte, ver Tabela A2 do anexo.

### Determinantes da variação espacial dos cantos de *Thamnophilus capistratus*

Os nossos modelos lineares generalizados (GLMs) indicaram que latitude, precipitação e vapor d'água apresentaram relação significativa com parâmetros espectrais da variação vocal de *T. capistratus* (Tabela 2). A precipitação exibiu relação negativa e significativa com frequência 75% N1 (estimate = -0.0702;  $p = 0.0429$ ), frequência central da NC (estimate = -0.048807 e  $p = 0.0434$ ), frequência 75% da NC para (estimate = -0.049714 e  $p = 0.0465$ ) e frequência 95% da NC (estimate = -0.045577 e  $p = 0.0439$ ). Vapor d'água apresentou relação positiva e significativa apenas com a frequência 75% da NC (estimate = 0.252727 e  $p = 0.0317$ ) e a variável resposta frequência 25% da NC (estimate = -0.04747 e  $p = 0,0478$ ) apresentou uma relação negativa e significativa com a latitude no modelo (Tabela 1). Esta relação fica evidente a partir do gráfico de dispersão gerado entre a latitude e o parâmetro vocal analisado (Figura 3).

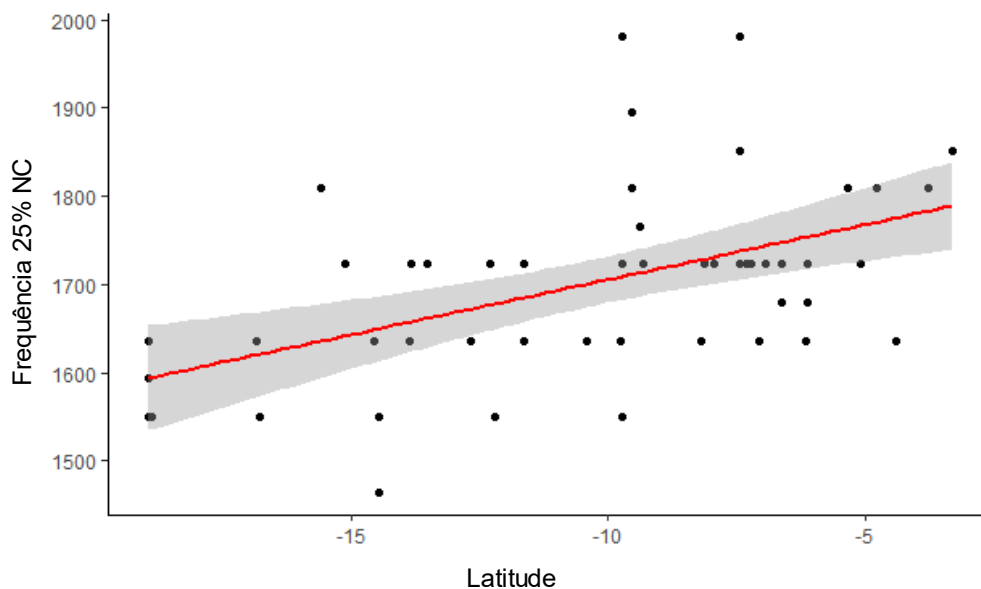
**Tabela 1.** Resultados dos modelos GLM. Pseudo-R<sup>2</sup> obtido com Cox e Snell.

Variáveis resposta	Variáveis predictoras	Estimate	P value	Pseudo-R <sup>2</sup>
PC1	Temperatura	-2,5454	0,272	0,10
	Precipitação	-1,1371	0,737	
	Vapor d'água	-0,1270	0,983	
	EVI	0,7723	0,173	
	Latitude	1,4987	0,272	
PC2	Temperatura	3,3084	0,512	0,06
	Precipitação	0,3394	0,690	
	Vapor d'água	1,2469	0,755	
	EVI	-0,4585	0,222	
	Latitude	0,9287	0,305	
PC3	Temperatura	-3,2725	0,510	0,13
	Precipitação	-1,0961	0,188	
	Vapor d'água	-3,8367	0,328	
	EVI	0,5410	0,137	
	Latitude	-0,2934	0,406	



Duração do canto	Temperatura	-0,0995396	0,6980	0,12
	Precipitação	0,0793488	0,0723	
	Vapor d'água	-0,1795152	0,3799	
	EVI	-0,0028277	0,8815	
	Latitude	0,0005472	0,9905	
Duração da frase 2	Temperatura	-0,16788	0,7406	0,20
	Precipitação	0,15575	0,0743	
	Vapor d'água	-0,08498	0,8328	
	EVI	0,06725	0,0779	
	Latitude	0,08280	0,3633	
Intervalo entre frases	Temperatura	0,15121	0,7429	0,08
	Precipitação	-0,08879	0,2580	
	Vapor d'água	0,50860	0,1691	
	EVI	0,02885	0,3992	
	Latitude	0,09517	0,2517	
High Frequency NC	Temperatura	0,32401	0,0914	0,25
	Precipitação	-0,02180	0,4961	
	Vapor d'água	0,09360	0,5335	
	EVI	-0,01728	0,2200	
	Latitude	-0,02062	0,5426	
Frequência 95% NC	Temperatura	0,124586	0,3429	0,33
	Precipitação	-0,045577	0,0439	
	Vapor d'água	0,091699	0,3790	
	EVI	-0,007517	0,4383	
	Latitude	-0,033186	0,1603	
Frequência 75% NC	Temperatura	-0,021758	0,8802	0,24
	Precipitação	-0,049714	0,0465	
	Vapor d'água	0,252727	0,0317	
	EVI	-0,008668	0,4186	
	Latitude	0,004289	0,8681	
Frequência Central NC	Temperatura	0,134712	0,3371	0,30
	Precipitação	-0,048807	0,0434	
	Vapor d'água	0,137381	0,2192	
	EVI	-0,006989	0,4996	
	Latitude	-0,020378	0,4162	
Frequência 25% NC	Temperatura	0,19360	0,1448	0,34
	Precipitação	-0,03658	0,1043	
	Vapor d'água	-0,01227	0,9062	
	EVI	-0,01030	0,2913	
	Latitude	-0,04747	0,0478	
Frequência 75% N1	Temperatura	0,04349	0,8282	0,31
	Precipitação	-0,07022	0,0429	
	Vapor d'água	0,22924	0,1543	
	EVI	0,01308	0,3795	

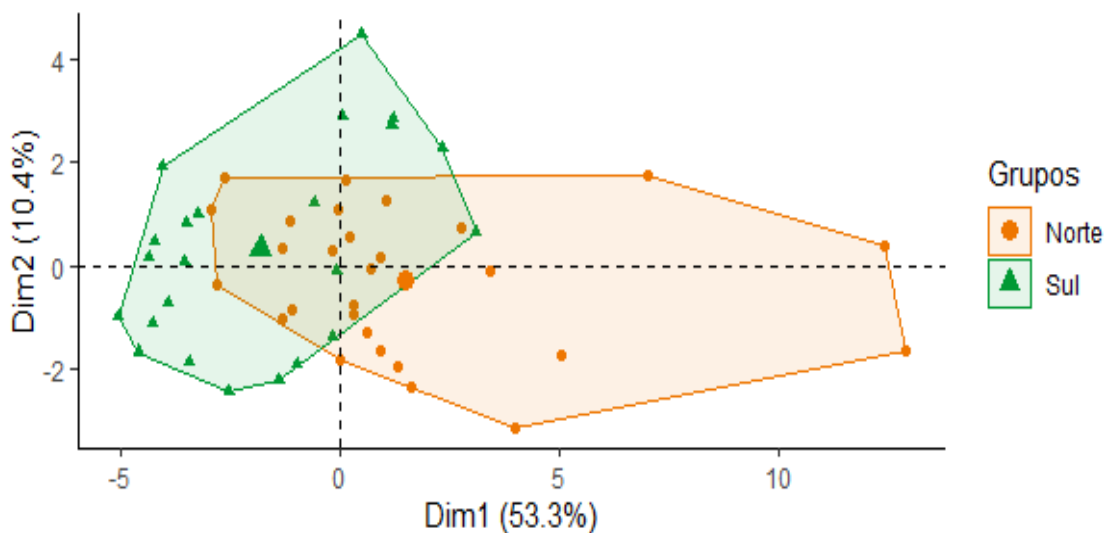
	Latitude	-0,04844	0,1809	
Frequência 95% NT	Temperatura	0,163103	0,475	0,13
	Precipitação	-0,026127	0,499	
	Vapor d'água	0,177342	0,329	
	EVI	-0,018343	0,279	
	Latitude	-0,004105	0,920	
Frequência 75% NT	Temperatura	0,019060	0,9233	0,15
	Precipitação	-0,061270	0,0724	
	Vapor d'água	0,088774	0,5731	
	EVI	-0,008709	0,5529	
	Latitude	-0,029395	0,4084	
Frequência 25% NT	Temperatura	0,053739	0,8029	0,17
	Precipitação	-0,052635	0,1528	
	Vapor d'água	0,312208	0,0728	
	EVI	0,001690	0,9155	
	Latitude	0,008306	0,8292	
Frequência Máxima NT	Temperatura	0,126291	0,618	0,11
	Precipitação	-0,047854	0,266	
	Vapor d'água	0,168414	0,403	
	EVI	-0,004789	0,798	
	Latitude	-0,010840	0,810	



**Figura 3.** Gráfico de dispersão mostrando a relação entre a latitude e a frequência 25% da nota central é possível observar uma tendência em que as populações de latitudes menores (grupo norte) apresentam frequências mais altas que as populações situadas em latitudes maiores (grupo sul).

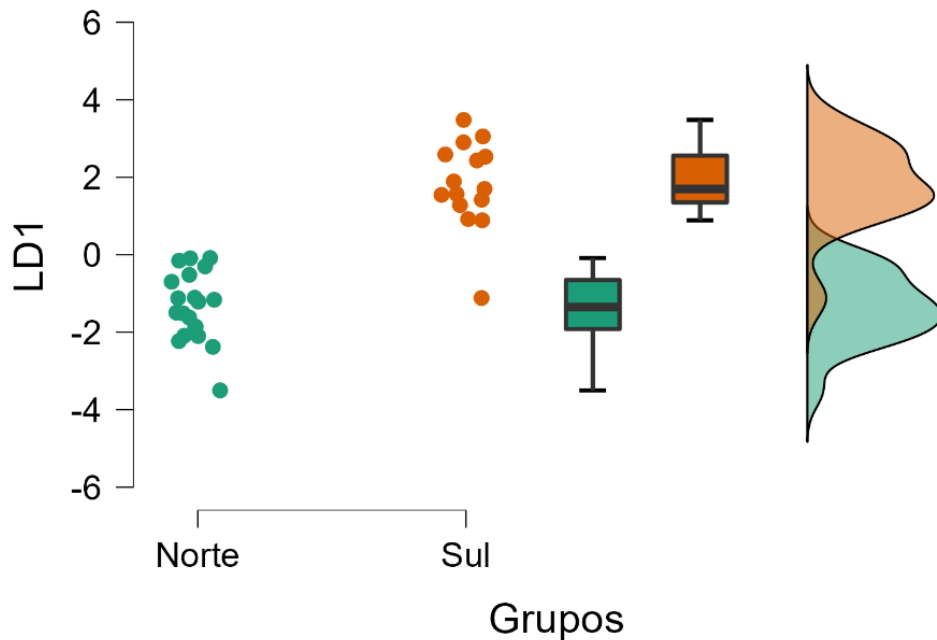
## Diferenciação acústica de grupos em margens distintas do Rio São Francisco

O teste KMO indicou 26 variáveis acústicas com valor  $\geq 0,5$  dentre as 45 mensuradas (Tabela 4 do anexo). A análise de componentes principais revelou que os três primeiros PCs explicaram 69,6% da variância total dos cantos de *Thamnophilus capistratus*. O PC1 correspondeu a 53,3% da variância total (Figura 4), estando relacionado positivamente aos parâmetros espectrais, que são: Frequência máxima, Central, 25%, 75% e 95% de todas as notas. O PC2 explicou 10,4% da variância total e está relacionado à duração da NT e parâmetros como frequência 95% da NT, alta frequência, e negativamente relacionada com a frequência central, 25% e 95% da NF. O PC3 explicou 5,9% da variância total estando positivamente relacionado com o intervalo entre as frases, frequência 5% da N1 e NC, e negativamente relacionado com alta frequência da N1 e NC, frequência 95% da NC e frequências máxima e central da NF. A partir do gráfico de dispersão dos PCs, é possível observar uma área de sobreposição entre a variação vocal dos grupos, indicando que apesar de existirem populações separadas acusticamente, ainda há similaridade em seus parâmetros acústicos. Os gráficos de dispersão dos Componentes 1x3 e 2x3, podem ser encontrados no anexo (Figuras S1 e S2).



**Figura 4.** Gráfico de dispersão dos componentes principais 1 e 2 oriundos dos parâmetros vocais de *Thamnophilus capistratus*. Os grupos conforme legenda indicam populações ao norte e ao sul do Rio São Francisco. O triângulo e círculo maior, indicam os centróides.

Os testes multivariados de diferenciação revelaram que os grupos referentes a barreira do Rio São Francisco exibem diferenças estatisticamente significativas tanto pela PERMANOVA ( $F = 4,9763$ ;  $p = 0,006$ ), quanto pela LDA que classificou corretamente 57% os cantos do grupo norte e 43% do grupo sul (Figura 5) com acurácia do modelo de 69%, indicando uma discriminação parcial, mas significativa dos grupos. Os resultados do teste de Mann-Whitney revelaram diferença significativa entre os grupos norte e sul do RSF em 1 parâmetro temporal e 16 parâmetros espectrais do canto de *T. capistratus* (Tabela S1 e Figura S3).



**Figura 5.** Gráfico *raincloud* da função discriminante 1 resultante da LDA com base nos parâmetros acústicos de *Thamnophilus capistratus* e testando a diferenciação dos grupos ao norte (verde) e ao sul (laranja) do Rio São Francisco.

## DISCUSSÃO

Compreender os efeitos de variáveis bióticas e abióticas na variação espacial dos sinais acústicos é de extrema relevância em estudos ecológicos e evolutivos (Podós e Warren, 2007; Price 2007), especialmente porque a variação nos sinais acústicos compreende um dos principais mecanismos que promovem diversificação e especiação nas aves (Price, 2007). Analisar a variação geográfica do canto do suboscine *Thamnophilus capistratus* nos ajuda a entender como a história geológica do RSF é refletida nos padrões vocais encontrados, bem como, entender a influência ambiental nos parâmetros acústicos da espécie. Nossos resultados mostraram que: 1) Há diferença vocal significativa entre as populações de *T. capistratus* entre as margens norte e sul do Rio São Francisco; 2) Alguns parâmetros espectrais dos cantos exibiram relação significativa com a latitude, precipitação e vapor d'água 3) Os grupos ao norte e sul do RSF apresentam uma

região de sobreposição em suas características vocais, sugerindo uma concordância com a última mudança no paleocurso do rio, em que as populações que antes se encontravam na margem norte do RSF, passaram a se localizar ao sul do São Francisco, possibilitando o encontro de populações antes separadas. Discutiremos abaixo os principais resultados a luz dos mecanismos evolutivos e ecológicos na divergência vocal.

### **Hipótese de Adaptação Acústica**

Nossos resultados revelaram que as variáveis climáticas precipitação e vapor d'água exibem influência nos parâmetros acústicos de *T. capistratus* (Tabela 1). Encontramos uma relação negativa entre os parâmetros de frequência e a precipitação, indicando que frequências mais graves estão negativamente relacionadas com maiores índices de precipitação. Assim, podemos levantar duas hipóteses principais: a) apesar de não encontramos influência da cobertura vegetal nos parâmetros acústicos, segundo Jing e colaboradores (2011), a precipitação é considerada fator dominante que restringe o crescimento da vegetação, compreendendo-se que maiores índices de precipitação podem levar ao aumento da densidade da vegetação, dando suporte a HAA; b) uma vez que o ruído ambiental exerce influência direta na eficácia da transmissão do som (Brumm e Naguib, 2009; Farina, 2013), o ruído de fundo da chuva pode mascarar acusticamente o canto, uma vez que é um som de baixa frequência, fazendo com que indivíduos residentes em áreas com maior precipitação vocalizem em frequências que evitem sobreposição com o som da chuva.

Apenas a frequência 75% da nota central apresentou relação significativa com o vapor d'água. O vapor d'água está relacionado à umidade e interfere na absorção das ondas sonoras pelo ambiente, podendo gerar maior ou menor atenuação dos sinais acústicos (Brum e Naguib, 2009). De acordo com Griffin (1971), a atenuação do sinal aumenta linearmente com a diminuição da umidade atmosférica, entretanto, o grau e a direção do efeito da umidade sobre o sinal acústico podem ser de difícil previsão, uma vez que é complexa a interação entre umidade, temperatura e frequência (Snell-Rood, 2012). Ao passo que Wiley e Richards (1982) observaram que frequências mais altas podem sofrer maior atenuação do sinal em ambientes mais úmidos, o estudo realizado por Snell-Rood (2012), não indicou alteração na frequência do canto em função da umidade. Desse modo, esta variável ambiental pode apresentar ou não influência na frequência do canto, bem como estar relacionada ou não com o aumento da frequência em detrimento do aumento da umidade. Desse modo, de acordo com os nossos resultados, a umidade possui uma relação positiva com este parâmetro do canto, contudo, se faz necessário maior investigação de como a umidade afeta diferentes parâmetros acústicos.

## **Barreira geográfica**

Diversos estudos têm demonstrado a efetividade do RSF como barreira para o fluxo gênico em diferentes táxons (Faria *et al.*, 2013; Nascimento *et al.*, 2013; Werneck *et al.*, 2015; Bruschi *et al.*, 2020; Thomé *et al.*, 2020; Coelho *et al.*, 2022). Nossos resultados também demonstraram a eficiência do RSF como barreira para promover a diferenciação vocal em *T. capistratus*. Padrão vocal similar foi reportado para outra espécie de Thamnophilidae com distribuição geográfica similar, o *Sakesphoroides cristatus*, em que tanto a efetividade do RSF como barreira e a variação acústica clinal foram suportadas (Cappeli *et al.*, 2020).

Entretanto, nossas análises de PCA e LDA revelaram sobreposição vocal entre os grupos norte e sul do RSF (Figuras 1 e 2). Esta sobreposição vocal pode ser explicada a partir da história geológica do RSF, que embora escassa, têm mostrado que as alterações do paleocurso do rio influenciaram diretamente na distribuição e diversificação de diferentes táxons (Werneck *et al.*, 2015; Bruschi *et al.*, 2020; Thomé *et al.*, 2020). O RSF passou por mudanças significativas em seu curso ao longo da história. Apesar da datação de cada alteração do curso do RSF ser controversa, o que se sabe atualmente é que o RSF originalmente fluía para o norte passando próximo ao curso atual Rio Parnaíba e desaguando no Atlântico Norte; entretanto, depois de erosões na bacia sedimentar do RSF em função das transgressões marinhas, o seu curso se deslocou para o leste desaguando no Atlântico Sul possivelmente pelas fozes atuais dos rios Vaza-Barris e Itapicuru (Grabert, 1968) e, por fim, uma nova mudança no paleocurso do RSF (~ 450kya) o deslocou para o seu curso atual (Mabesoone, 1994). Essa última mudança, do deslocamento da foz do RSF onde hoje desagua os rios Vaza-Barris/Itapicuru para o curso atual causou possivelmente uma mudança na localização da barreira, que se moveu para o norte, deixando possivelmente uma mistura de linhagens que se diferenciaram em sua margem sul (Werneck *et al.*, 2015; Thomé *et al.*, 2020), e possivelmente contribuindo para a sobreposição de parâmetros vocais encontrados em nossos resultados, e também para *Sakesphoroides cristatus* (Capelli *et al.*, 2020). De acordo com as evidências supracitadas, é possível afirmar que o RSF atua como uma barreira isolando populações de *T. capistratus* em suas margens opostas, e que mudanças recentes em paleocurso resultaram na mistura de parâmetros vocais entre grupos vocais observados. Todavia, estudos que investiguem o papel do RSF como barreira geográfica e de que modo as mudanças no seu curso ao longo dos anos moldaram os parâmetros acústicos da espécie.

## **Isolamento por distância**

Diferenças acústicas entre as vocalizações podem ocorrer devido ao aumento na distância geográfica. Somente a frequência 25% da nota central revelou resultado significativo com relação à latitude, indicando que, para este parâmetro, as populações ao norte possuem frequência mais alta que as populações mais distantes ao sul.

Nossos resultados revelaram uma tendência das populações setentrionais de *T. capistratus* exibirem cantos com frequência mais alta do que as populações austrais (Figura 3). Outros estudos também mostraram relação significativa entre distância geográfica (ou latitude) e diferenças vocais no canto de suboscines como em *Empidonax traillii* (Sedgwick, 2001), *Taraba major* (Sementilli-Cardoso *et al.*, 2018), *Dryophila ferruginea* (Cardoso e Donatelli, 2016) e *Sakesphoroides cristatus* (Capelli *et al.*, 2020). Além disso, tem sido observado concordância entre divergências vocais e genéticas em aves (e.g. Isler *et al.*, 2005; Irwin *et al.*, 2008; Chaves *et al.*, 2010), porém faz-se necessário estudos que investiguem a estruturação genética das populações de *T. capistratus*, a fim de avaliar se as divergências vocais observadas são correspondentes a divergências genéticas.

## CONCLUSÃO

Nosso trabalho revelou significativa variação nos parâmetros do canto de *T. capistratus*, sendo estes influenciados pela precipitação, vapor d'água, e pela barreira fluvial. Podemos observar que tanto processos determinísticos, como a seleção de características do canto de acordo com variáveis ambientais, e processos estocásticos, como a barreira física do RSF e distância geográfica, estão atuando no surgimento de variações entre as populações. Apesar de não existir uma separação vocal completa entre os grupos do norte e sul do São Francisco, é preciso analisar se estes são grupos geneticamente distintos e se os dados vocais apresentam concordância com os dados genéticos. Por fim, são necessários mais estudos que investiguem os mecanismos pelos quais os cantos de suboscines estão sofrendo variações, uma vez que estes não exibem influência da deriva cultural, por apresentarem vocalizações que sofrem pouca ou nenhuma influência do aprendizado no seu desenvolvimento.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Acero-Murcia, A. C., Raposo do Amaral, F., De Barros, F. C., da Silva Ribeiro, T., Miyaki, C. Y., & Maldonado-Coelho, M. (2021). Ecological and evolutionary drivers of geographic variation in songs of a Neotropical suboscine bird: The Drab-breasted Bamboo Tyrant (*Hemitriccus diops*, Rhynchocyclidae). *The Auk*, 138(2), ukab003.

Assis, C. P., Raposo, M. A., Stopiglia, R., & Parrini, R. (2007). Validation of *Thamnophilus capistratus* Lesson, 1840 (Passeriformes: Thamnophilidae). *The Auk*, *124*(2), 665-676.

Brumm, H., & Naguib, M. (2009). Environmental acoustics and the evolution of bird song. *Advances in the Study of Behavior*, *40*, 1-33.

Bruschi, D. P., Peres, E. A., Lourenço, L. B., Bartoletti, L. F. D. M., Sobral-Souza, T., & Recco-Pimentel, S. M. (2019). Signature of the paleo-course changes in the São Francisco River as source of genetic structure in Neotropical *Pithecopus nordestinus* (Phyllomedusinae, Anura) treefrog. *Frontiers in genetics*, *10*, 728.

Capelli, D., Batalha-Filho, H., & Japyassú, H. F. (2020). Song variation in the Caatinga suboscine Silvery-cheeked Antshrike (*Sakesphorus cristatus*) suggests latitude and São Francisco River as drivers of geographic variation. *Journal of Ornithology*, *161*(3), 873-884.

Catalano, Ana Luiza Camargo. Variação no canto de *Thamnophilus doliatus* (Linnaeus, 1764) (Aves: Thamnophilidae) em diferentes regiões da América Latina. 2015. 56f. Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Instituto de Biociências de Botucatu, 2015. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/126504>>.

Catchpole, C. K., & PB, J. Slater (2008). Bird song: Biological themes and variations.

Coelho, F. E. A., Guillory, W. X., & Gehara, M. (2022). Coalescent simulations indicate that the São Francisco River is a biogeographic barrier for six vertebrates in a seasonally dry South American forest. *Frontiers in Ecology and Evolution*, *10*, 983134.

Cracraft, J., Barker, F. K., Hedges, S. B., & Kumar, S. (2009). Passerine birds (Passeriformes). In *The timetree of life* (pp. 423-431). New York: Oxford University Press.

Demery, A. J. C., Burns, K. J., & Mason, N. A. (2021). Bill size, bill shape, and body size constrain bird song evolution on a macroevolutionary scale. *The Auk*, *138*(2), ukab011.

Ey, E., & Fischer, J. (2009). The “acoustic adaptation hypothesis” —a review of the evidence from birds, anurans and mammals. *Bioacoustics*, *19*(1-2), 21-48.

Faria MB, Nascimento FF, de Oliveira JA, Bonvicino CR (2013) Biogeographic determinants of genetic diversification in the mouse opossum *Gracilinanus agilis* (Didelphimorphia: Didelphidae). *J Hered* 104:613–626

Farina, A. (2013). *Soundscape ecology: principles, patterns, methods and applications*. Springer Science & Business Media.

Fitzsimmons, L. P., Barker, N. K., & Mennill, D. J. (2008). Individual variation and lek-based vocal distinctiveness in songs of the Screaming Piha (*Lipaugus vociferans*), a suboscine songbird. *The Auk*, *125*(4), 908-914.

Gehara, M., Garda, A. A., Werneck, F. P., Oliveira, E. F., da Fonseca, E. M., Camurugi, F., ... & Burbrink, F. T. (2017). Estimating synchronous demographic changes across populations using hABC and its application for a herpetological community from northeastern Brazil. *Molecular Ecology*, *26*(18), 4756-4771.



Grabert, H. (1968). Postmesozoische entwässerung und oszillation am ostrand des Brasilianischen schildes. *Geologische Rundschau*, 58(1), 166– 190.

Irwin, D. E. (2000). Song variation in an avian ring species. *Evolution*, 54(3), 998-1010.

Jari Oksanen, Gavin L. Simpson, F. Guillaume Blanchet, Roeland Kindt, Pierre Legendre, Peter R. Minchin, R.B. O'Hara, Peter Solymos, M. Henry H. Stevens, Eduard Szoecs, Helene Wagner, Matt Barbour, Michael Bedward, Ben Bolker, Daniel Borcard, Gustavo Carvalho, Michael Chirico, Miquel De Caceres, Sebastien Durand, Heloisa Beatriz Antoniazi Evangelista, Rich FitzJohn, Michael Friendly, Brendan Furneaux, Geoffrey Hannigan, Mark O. Hill, Leo Lahti, Dan McGlenn, Marie-Helene Ouellette, Eduardo Ribeiro Cunha, Tyler Smith, Adrian Stier, Cajo J.F. Ter Braak and James Weedon (2022). *vegan*: Community Ecology Package. R package version 2.6-4. <https://CRAN.R-project.org/package=vegan>

Jing, X., Yao, WQ, Wang, JH e Song, XY (2011). Um estudo sobre a relação entre a mudança dinâmica da cobertura vegetal e a precipitação nas áreas montanhosas de Pequim durante os últimos 20 anos. *Mathematical and Computer Modeling* , 54 (3-4), 1079-1085.

Koetz, A. H., Westcott, D. A., & Congdon, B. C. (2007). Geographical variation in song frequency and structure: the effects of vicariant isolation, habitat type and body size. *Animal Behaviour*, 74(5), 1573-1583.

Kroodsma, D. E. (1984). Songs of the Alder Flycatcher (*Empidonax alnorum*) and Willow Flycatcher (*Empidonax traillii*) are innate. *The Auk*, 101(1), 13-24.

Leger, D. W., & Mountjoy, D. J. (2003). Geographic variation in song of the Bright-rumped Attila (Tyrannidae: *Attila spadiceus*): implications for species status. *The Auk*, 120(1), 69-74.

Lovell, S. F., & Lein, M. R. (2013). Geographical variation in songs of a suboscine passerine, the Alder Flycatcher (*Empidonax alnorum*). *The Wilson Journal of Ornithology*, 125(1), 15-23.

Mabesoone, J. M. (1994). *Sedimentary basins of northeast Brazil*. Departamento de Geología, Centro de Tecnología, Universidade Federal de Goiás.

Morton, E. S. (1975). Ecological sources of selection on avian sounds. *The American Naturalist*, 109(965), 17-34.

Nascimento, F. F., Lazar, A., Menezes, A. N., Durans, A. D. M., Moreira, J. C., Salazar-Bravo, J., ... & Bonvicino, C. R. (2013). The role of historical barriers in the diversification processes in open vegetation formations during the Miocene/Pliocene using an ancient rodent lineage as a model. *PLoS One*, 8(4), e61924.

Parker, K. A., Anderson, M. J., Jenkins, P. F., & Brunton, D. H. (2012). The effects of translocation-induced isolation and fragmentation on the cultural evolution of bird song. *Ecology Letters*, 15(8), 778-785.

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

- Podos, J., & Warren, P. S. (2007). The evolution of geographic variation in birdsong. *Advances in the Study of Behavior*, 37, 403-458.
- Prado DE (2003) As Caatingas da América do Sul. In: Leal IR, Tabarelli M, Silva JMC (eds) *Ecologia e Conservação da Caatinga*. Editora Universitária UFPE, Recife, pp 3–73.
- Price JJ, Lanyon SM (2002) Reconstructing the evolution of complex bird song in the oropendolas. *Evolution* 56:1514–1529.
- Price T (2007) *Speciation in Birds*. Roberts and Company Publishers, Greenwood Village, Colorado.
- R Core Team (2022). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Roach, S. P., & Phillmore, L. S. (2017). Geographic variation in song structure in the Hermit Thrush (*Catharus guttatus*). *The Auk: Ornithological Advances*, 134(3), 612-626.
- Salvatore Mangiafico (2022). *rcompanion: Functions to Support Extension Education Program Evaluation*. R package version 2.4.18. <https://CRAN.R-project.org/package=rcompanion>.
- Sebastien Le, Julie Josse, Francois Husson (2008). *FactoMineR: An R Package for Multivariate Analysis*. *Journal of Statistical Software*, 25(1), 1-18. 0.18637/jss.v025.i01
- Seddon, N., & Tobias, J. A. (2007). Song divergence at the edge of Amazonia: an empirical test of the peripatric speciation model. *Biological Journal of the Linnean Society*, 90(1), 173-188.
- Seddon, N. (2005). Ecological adaptation and species recognition drives vocal evolution in Neotropical suboscine birds. *Evolution* 59:200–215.
- Sementili-Cardoso, G., Rodrigues, F. G., Martins, R. M., Gerotti, R. W., Vianna, R. M., & Donatelli, R. J. (2018). Variation among vocalizations of Taraba major (Aves: *Thamnophilidae*) subspecies. *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, 53(2), 120-131.
- Sementili, C., & José, D. (2016). Vocal variation of Ferruginous Antbird (*Drymophila ferruginea*) is related to geographic distances. *Matters*, 2(6).
- Slabbekoorn, H., & Smith, T. B. (2002). Habitat-dependent song divergence in the little greenbul: An analysis of environmental selection pressures on acoustic signals. *Evolution*, 56(9), 1849-1858.
- Slabbekoorn, H. (2004). Singing in the wild: the ecology of birdsong. In *Nature's music* (pp. 178-205). Academic Press.
- Snell-Rood, E. C. (2012). The effect of climate on acoustic signals: does atmospheric sound absorption matter for bird song and bat echolocation?. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 131(2), 1650-1658.

Tobias, J. A., Brawn, J. D., Brumfield, R. T., Derryberry, E. P., Kirschel, A. N., & Seddon, N. (2012). The importance of suboscine birds as study systems in ecology and evolution. *Ornitologia Neotropical*, 23, 261-274.

Thome, M. T. C., Carstens, B. C., Rodrigues, M. T., Alexandrino, J., & Haddad, C. F. (2021). Genomic data from the Brazilian sibilator frog reveal contrasting pleistocene dynamics and regionalism in two South American dry biomes. *Journal of Biogeography*, 48(5), 1112-1123.

Venables, W. N. & Ripley, B. D. (2002) Modern Applied Statistics with S. Fourth Edition. Springer, New York. ISBN 0-387-95457-0.

Werneck FP (2015) The diversification of eastern South American open vegetation biomes: historical biogeography and perspectives. *Quat Sci Rev* 30:1630–1648

West-Eberhard, M. J. (1983). Sexual selection, social competition, and speciation. *The Quarterly Review of Biology*, 58(2), 155-183.

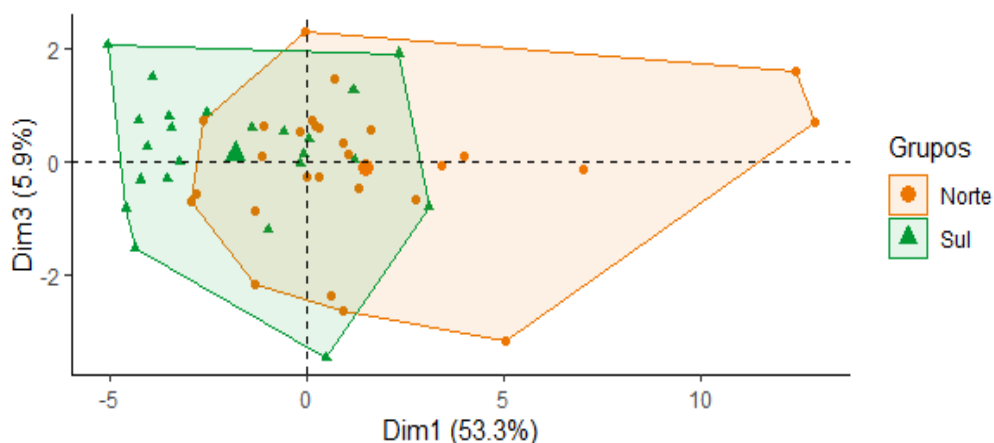
Wiley, R., & Richards, D. G. (1978). Physical constraints on acoustic communication in the atmosphere: implications for the evolution of animal vocalizations. *Behavioral ecology and sociobiology*, 3(1), 69-94.

Wiley, R. H., & Richards, D. G. (1982). Adaptations for acoustic communication in birds: sound transmission and signal detection. *Acoustic communication in birds*, 1, 131-181.

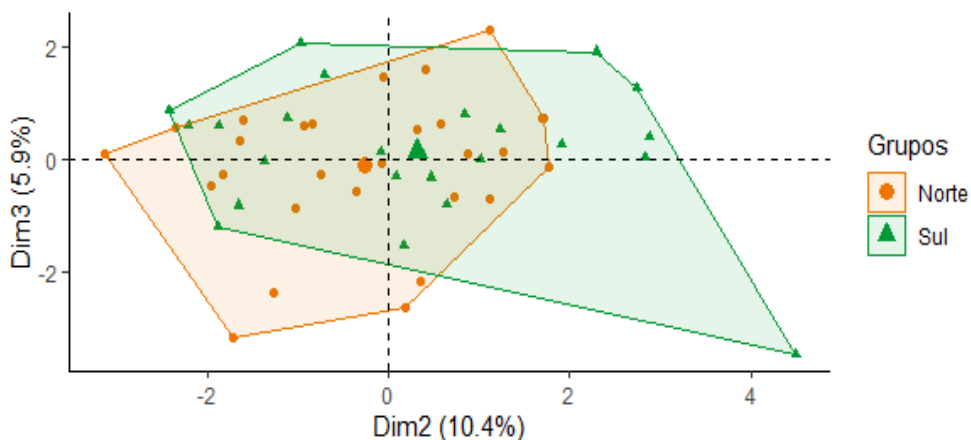
Wilkins, M. R., Seddon, N., & Safran, R. J. (2013). Evolutionary divergence in acoustic signals: causes and consequences. *Trends in ecology & evolution*, 28(3), 156-166.

Wright, S. (1943). Isolation by distance. *Genetics*, 28(2), 114.

## ANEXOS



**Figura S1.** Gráfico de dispersão dos componentes principais 1 e 3 oriundos dos parâmetros vocais de *Thamnophilus capistratus*. O triângulo e círculo maior, indicam os centróides.



**Figura S2.** Gráfico de dispersão dos componentes principais 2 e 3 oriundos dos parâmetros vocais de *Thamnophilus capistratus*. O triângulo e círculo maior, indicam os centróides.

**Tabela S1.** Dados descritivos do canto de *Thamnophilus capistratus* por grupo. Os parâmetros de frequência estão em Hertz (HZ) e os temporais em segundos (s).

	Duração do canto		Duração NT		Intervalo
	Norte	Sul	Norte	Sul	Norte
<b>Média</b>	2,261	2,385	0,128	0,148	0,036
<b>Desvio padrão</b>	0,257	0,198	0,028	0,019	0,009
<b>Coef. de variação</b>	0,114	0,083	0,215	0,130	0,239
<b>Range</b>	0,897	0,825	0,123	0,083	0,044
<b>Máximo</b>	2,645	2,880	0,179	0,186	0,070
<b>Mínimo</b>	1,748	2,055	0,055	0,103	0,026

	Duração F1		Pace		High_freq_N1		Max_freq_N1		Center_freq_N1		Freq_75N1		Freq_
	Norte	Sul	Norte	Sul	Norte	Sul	Norte	Sul	Norte	Sul	Norte	Sul	Norte
0,034	2,095	2,202	0,129	0,137	<b>1924,5</b>	1873,3	1459,9	1309,9	1444,7	1315,1	1545,7	1405,7	1118,9
0,006	0,251	0,199	0,014	0,015	<b>191,5</b>	272,7	181,0	96,7	138,4	88,7	153,07	95,7	278,5
0,175	0,120	0,091	0,107	0,111	<b>0,100</b>	0,146	0,124	0,074	0,096	0,068	0,099	0,068	0,249
0,027	0,869	0,855	0,056	0,060	<b>781,8</b>	1061,2	861,3	344,5	689,06	287,1	645,9	404,8	1571,9
0,053	2,497	2,700	0,162	0,173	<b>2453,3</b>	2597,9	1981,05	1464,2	1937,9	1464,2	2024,1	1653,7	1658,0
0,026	1,628	1,845	0,106	0,113	<b>1671,5</b>	1536,7	1119,7	1119,7	1248,9	1177,1	1378,1	1248,9	86,1

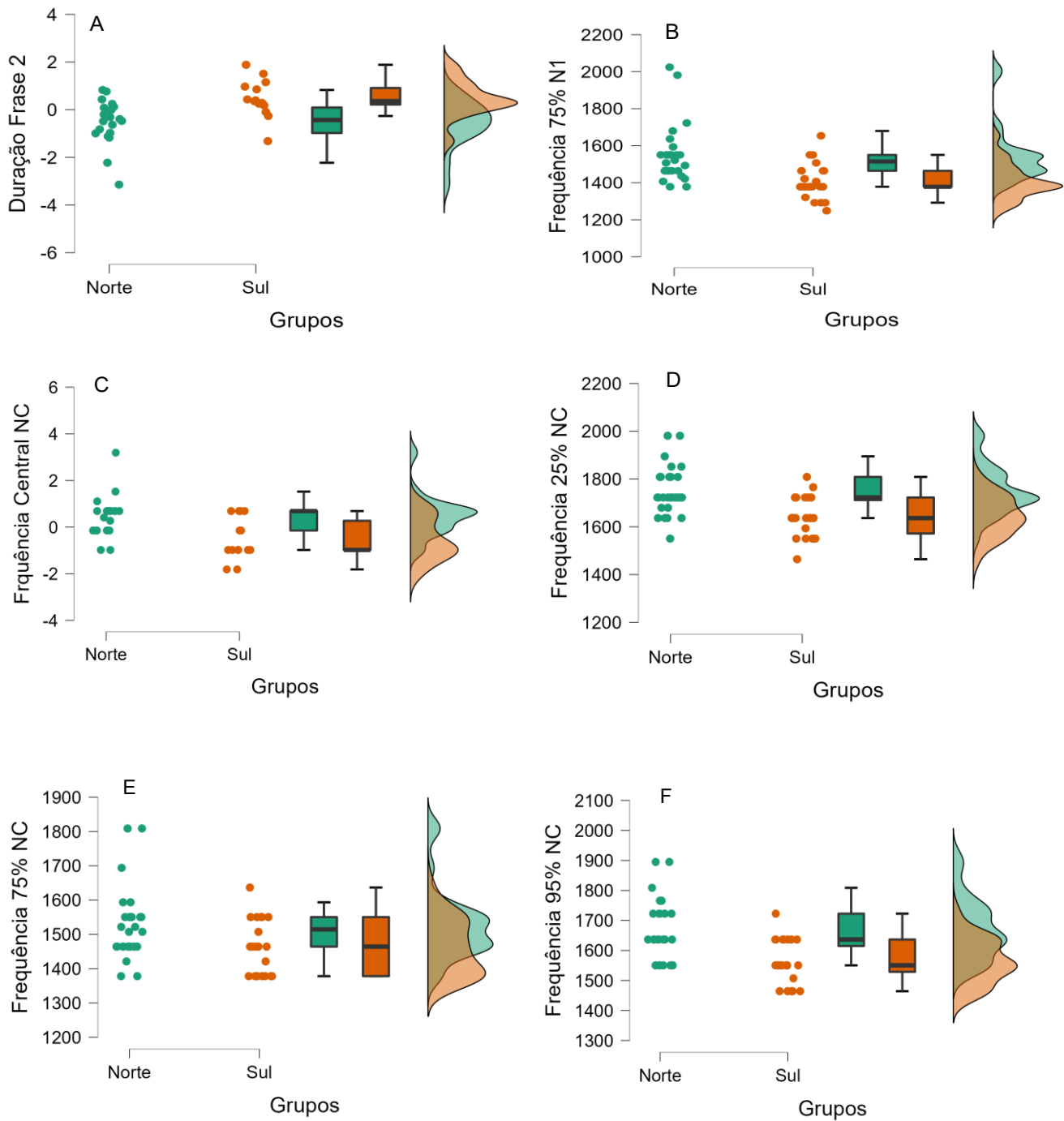
		Freq_95NI		High_freq_NC		Center_freq_NC		Freq_25NC		Freq_75NC		Freq_5N
Sul	Norte	Sul	Norte	Sul	Norte	Sul	Norte	Sul	Norte	Sul	Norte	Norte
1069,2	1707,5	1622,0	1921,02	1852,3	1607,8	1514,0	1527,3	1406,5	1667,2	1563,4	1322,2	
234,5	162,4	202,1	107,5	220,3	99,4	83,7	103,8	287,6	99,3	72,8	182,5	
0,219	0,095	0,125	0,056	0,119	0,062	0,055	0,068	0,204	0,060	0,047	0,138	
1184,3	624,4	689,0	423,3	997,4	430,6	258,3	430,6	1498,7	344,5	258,3	861,3	
1291,9	2174,8	2067,1	2181,2	2613,2	1894,9	1636,5	1808,7	1636,5	1894,9	1722,6	1722,6	
107,6	1550,3	1378,1	1757,9	1615,8	1464,2	1378,1	1378,1	1378,1	1550,3	1464,2	861,3	

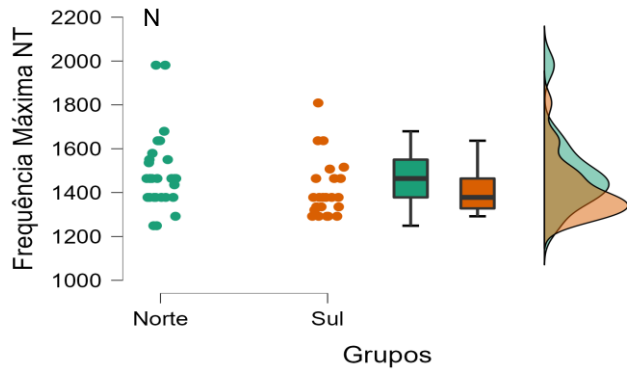
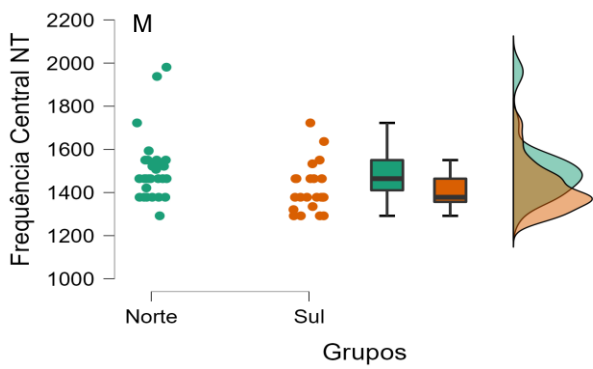
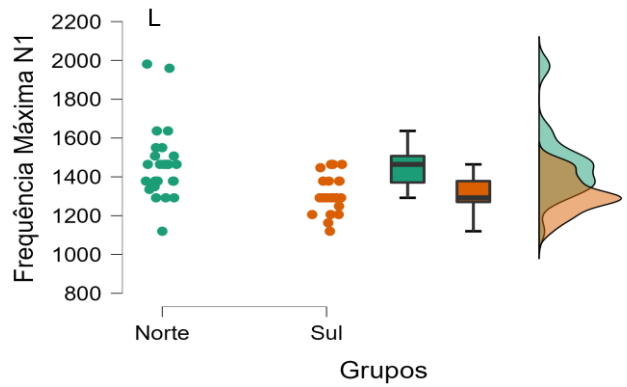
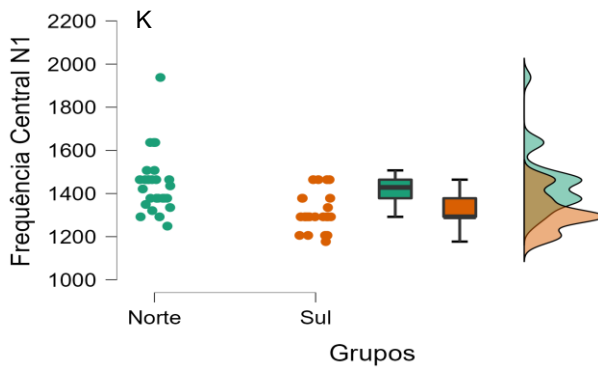
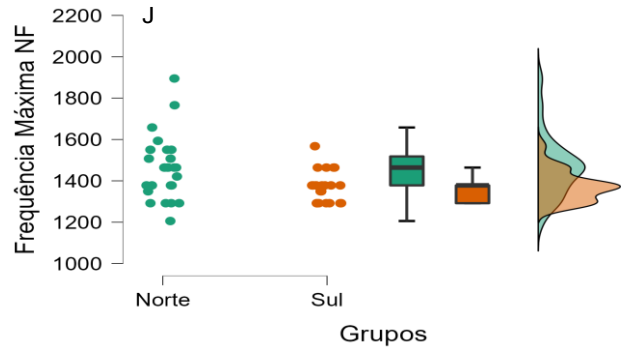
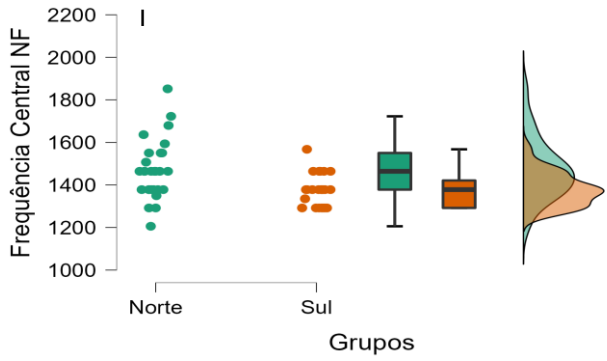
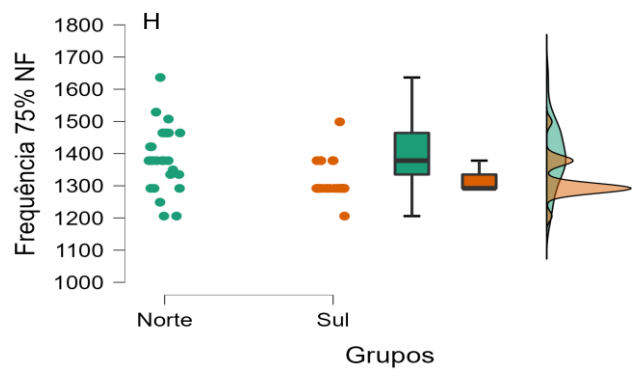
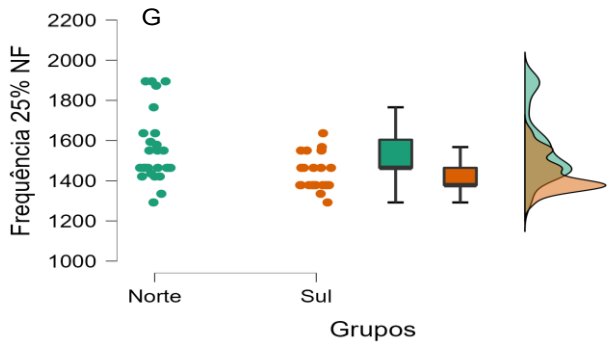
		Freq_95NC		High_freq_NF		Max_freq_NF		Center_freq_NF		Max_freq_NT		Center_freq_NT	
	Sul	Norte	Sul	Norte	Sul	Norte	Sul	Norte	Sul	Norte	Sul	Norte	Sul
1258,9		1750,3	1644,01	1900,5	1807,9	1462,4	1372,6	1469,3	1377,0	1489,8	1415,3	1507,8	1417,9
161,6		100,9	84,8	165,5	217,8	147,4	73,3	139,3	75,9	175,3	133,3	154,0	111,7
0,128		0,058	0,052	0,087	0,120	0,101	0,053	0,095	0,055	0,118	0,094	0,102	0,079
689,06		430,665	344,5	693,2	674,1	689,06	275,6	645,9	275,6	732,1	516,7	689,0	430,6
1464,2		1981,05	1808,7	2101,0	2147,5	1894,9	1567,6	1851,8	1567,6	1981,0	1808,7	1981,0	1722,6
775,195		1550,3	1464,2	1607,8	1473,4	1205,8	1291,9	1205,8	1291,9	1248,9	1291,9	1291,9	1248,9

Freq_25_NT		Freq_75NT		Freq_95NT	
Norte	Sul	Norte	Sul	Norte	Sul
1400,1	1312,4	1587,2	1514,8	1743,1	1712,4
131,3	87,2	160,1	126,3	348,5	157,8
0,094	0,066	0,101	0,083	0,200	0,092
559,8	344,5	645,9	430,6	1937,9	516,7
1808,7	1550,3	2024,1	1808,7	2110,2	1981,0
<b>1248,9</b>	<b>1205,8</b>	<b>1378,1</b>	<b>1378,1</b>	<b>172,2</b>	<b>1464,2</b>



**Figura S3.** Gráficos *raincloud* dos parâmetros acústicos significativos entre os grupos norte e sul, gerados pelo teste de diferenciação Mann-Whitney.





**Tabela S2.** Teste de diferenciação Mann-Whitney de parâmetros acústicos de *Thamnophilus capistratus* entre populações das margens norte e sul do Rio São Francisco. Os valores significativos são indicados em negrito.

	<b>W</b>	<b>p</b>
duracao_nt	163.500	<b>0.003</b>
duracao_canto	245.500	0.150
intervalo_frases	349.000	0.616
high_freq_N1	386.000	0.232
max_freq_N1	514.000	< <b>.001</b>
center_freq_N1	517.000	< <b>.001</b>
freq_75_N1	529.000	< <b>.001</b>
freq_5_N1	378.000	0.290
freq_95_N1	441.000	<b>0.024</b>
high_freq_NC	454.500	<b>0.012</b>
center_freq_NC	490.000	<b>0.001</b>
freq_75_NC	440.000	<b>0.023</b>
freq_95_NC	505.000	< <b>.001</b>
freq_5_NC	412.500	0.083
freq_25_NC	500.500	< <b>.001</b>
high_freq_NF	396.000	0.166
max_freq_NF	456.000	<b>0.010</b>
center_freq_NF	461.500	<b>0.007</b>
freq_75_NF	473.000	<b>0.003</b>
freq_25_NF	478.000	<b>0.003</b>
max_freq_NT	423.500	<b>0.052</b>
center_freq_NT	456.500	<b>0.010</b>
freq_75_NT	473.500	<b>0.004</b>
freq_25_NT	413.500	0.080
freq_95_NT	407.500	0.106

Nota. Mann-Whitney U test.

**Tabela S3.** Medida de adequação amostral (MAA) do teste KMO. Estão marcados em negrito os parâmetros adequados para as análises subsequentes.

<b>Parâmetro acústico</b>	<b>MAA</b>
Global	0.512
Número de notas	0.324
Pace	0.355
<b>Duração_canto</b>	<b>0.582</b>
Duracao F1	0.321
<b>Duracao F2</b>	<b>0.777</b>
intervalo 1	0.204
intervalo 2	0.158
intervalo 3	0.186
<b>Intervalo_frases</b>	<b>0.547</b>

<b>Parâmetro acústico</b>	<b>MAA</b>
<b>High freq. N1</b>	<b>0.837</b>
<b>Max.N1</b>	<b>0.819</b>
<b>Center Freq. N1</b>	<b>0.833</b>
Freq 25N1	0.495
<b>Freq 75N1</b>	<b>0.874</b>
<b>Freq 5N1</b>	<b>0.751</b>
<b>Freq 95N1</b>	<b>0.691</b>
BW 90N1	0.237
BW 50N1	0.303
<b>High freq. NC</b>	<b>0.537</b>
<b>Max.NC</b>	<b>0.885</b>
<b>Center Freq. NC</b>	<b>0.902</b>
<b>Freq 25NC</b>	<b>0.777</b>
<b>Freq 75NC</b>	<b>0.829</b>
<b>Freq 5NC</b>	<b>0.897</b>
<b>Freq 95NC</b>	<b>0.702</b>
BW 90NC	0.214
BW 50NC	0.075
<b>High freq. NF</b>	<b>0.544</b>
<b>Max.NF</b>	<b>0.599</b>
<b>Center Freq. NF</b>	<b>0.678</b>
<b>Freq 25NF</b>	<b>0.555</b>
<b>Freq 75NF</b>	<b>0.611</b>
Freq 5NF	0.362
Freq 95NF	0.478
BW 90NF	0.251
BW 50NF	0.149
High freq. NT	0.486
<b>Max.NT</b>	<b>0.833</b>
<b>Center Freq. NT</b>	<b>0.857</b>
<b>Freq 25NT</b>	<b>0.691</b>
<b>Freq 75NT</b>	<b>0.863</b>
Freq 5NT	0.481
<b>Freq 95NT</b>	<b>0.890</b>
BW 90NT	0.358
BW 50NT	0.333

**Tabela S4.** Tabela com os resultados dos loadings dos três primeiros PCs.

<b>Variáveis acústicas</b>	<b>PC1</b>	<b>PC2</b>	<b>PC3</b>
Duração do canto	-0,0899966	0,093248345	-0,009530957
Duração da nota terminal	-0,1093928	0,303211528	0,083537454
Intervalo entre frases	0,1039833	-0,019926713	0,230260362
Frequência alta N1	0,1696252	0,354162528	-0,274320019
Frequência máxima N1	0,2232144	-0,080914968	0,115403673
Frequência central N1	-0,006930167	-0,006930167	0,078738079
Frequência 75% N1	0,2404663	0,004266148	-0,007433560
Frequência 5% N1	0,1140019	0,021679252	0,397840911
Frequência 95% N1	0,2090763	0,320347373	-0,176799752
Frequência alta NC	0,1599838	0,265590426	-0,342452006
Frequência central NC	0,2374253	-0,171066404	-0,046796931
Frequência 25% NC	0,2239348	-0,152479598	0,199649261
Frequência 75% NC	0,2390994	-0,139132405	-0,119917759
Frequência 5% NC	0,1525216	0,048407240	0,448095918
Frequência 95% NC	0,2294169	-0,095377930	-0,208700641
Frequência alta NF	0,1335234	0,441887698	-0,032810125
Frequência máxima NF	0,1972466	-0,292612081	-0,263747574
Frequência central NF	0,2198622	-0,221631325	-0,210754639
Frequência 25% NF	0,2194880	-0,212911542	-0,177188285
Frequência 75% NF	0,2133507	0,018435108	0,017077473
Frequência máxima NT	0,2273092	0,034274246	0,175545271
Frequência central NT	0,2488220	0,051256870	0,152390500
Frequência 25% NT	0,2442571	-0,065924360	0,126455255
Frequência 75% NT	0,2286079	0,178079670	0,137722090
Frequência 95% NT	0,1881965	0,307318782	0,041953226
<b>Eigenvalue</b>	13,321	2,592	1,477
<b>Percentual de variância</b>	53,285	10,370	5,970
<b>Percentual de variância cumulativa</b>	53,285	63,655	69,563

**Tabela S5.** Gravações de *Thamnophilus capistratus* utilizadas no presente estudo: localidades, coordenadas e identificador das gravações.

<b>Estados</b>	<b>Município</b>	<b>Latitude</b>	<b>Longitude</b>	<b>Identificador</b>
	Pão de açúcar	-9,737110931	-37,52809338	WA1030792
				WA842496
				WA721213
Alagoas	Olho d'água das flores	-9,527995459	-37,25092063	WA3459697
				WA3455423
	Barreiras	-12,28940081	-45,00051789	WA3661550
	Boa nova	-14,44606369	-40,05565478	WA3550985

				WA2468004
	Campo formoso	-10,40540467	-40,28038998	WA2444211
				WA2766720
	Conceição do coité	-11,63647812	-39,37581222	WA1565077
				WA3722995
	Jequié	-13,86773039	-40,22697939	WA2116092
	Juazeiro	-9,390483615	-40,43005412	WA97200
Bahia	Maracás	-13,84392128	-40,61981868	WA1026243
	Muquém do São Francisco	-12,20219134	-43,675251	WA1275519
	Poções	-14,5642	-40,3291	XC378759
	São Félix do Coribe	-12,6736469	-39,02043815	WA2626403
	Sento Sé	-9.746	-41.096	XC82746
	Serra do Ramalho	-13,53188522	-43,64619997	WA2624402
	Aracoiaba	-4,37609715	-38,78057749	WA165410
	Araripe	-7,204183273	-40,20010456	WA2488498
Ceará	Fortaleza	-3,75325902	-38,59558909	WA3489725
	Trairi	-3,284784263	-39,20944187	WA2320775
	Quixadá	-4,769824372	-39,0175712	WA2405485
				WA2382972
Minas Gerais	Araçuaí	-16,8486	-42,0659	WA402707
				WA3610569
	Curvelo	-18,94360652	-44,39750037	WA3456304
				WA3257546
	Januária	-15,57898253	-44,70817816	WA1797424
		-15,1218	-44,2548	XC514674
	Montes Claros	-16,79368829	-16,79368829	WA4759962
	Presidente Juscelino	-18,87290351	-44,11339351	WA2546151
	Cabaceiras	-7,430620514	-36,36099637	WA4536065
				WA4403017
				WA4294751

Paraíba	Pocinhos	-7,068562	-36,20137075	WA2773016
Pernambuco	Bezerros	-8,194210346	-35,81322998	WA4264603
	Itapetim	-7,297426112	-37,26114031	WA3451132
	Petrolina	-9,304870022	-40,48818108	WA1587691
	Canto do Buriti	-8,10823192	-42,94402102	WA2880592
Piauí	Castelo do Piauí	-5,321543871	-41,54731624	WA3792017
	Jacobina do Piauí	-7,929775493	-41,1935882	WA3235982
Rio Grande do Norte	Equador	-6,945842749	-36,71641243	WA2929881
	Lagoa Nova	-6,112822566	-36,58823791	WA3811132
				WA3147546
	Macau	-5,080765129	-36,48432672	WA3744255
	Monte Alegre	-6,137748647	-35,3666885	WA2273092
	Parelhas	-6,621528946	-36,61861293	WA3611305
				WA3991653

\*WA = Cantos retirados do WikiAves; XC = Cantos retirados do XenoCanto.