

روش‌شناسی مطالعات فیلوژنی صوتی و مولکولی در پرندگان آوازخوان

مطالعه موردی: خانواده مگس‌گیرها Muscicapidae

- **زهره نصیری:** گروه محیط‌زیست، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، صندوق پستی: ۳۵۶-۴۶۴۱۴
- **سید محمود قاسمیپوری*:** گروه محیط‌زیست، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، صندوق پستی: ۳۵۶-۴۶۴۱۴
- **منصور علی‌آبادیان:** گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه فردوسی مشهد، صندوق پستی: ۹۱۷۷۵-۱۱۱۱

تاریخ دریافت: شهریور ۱۳۹۵ تاریخ پذیرش: آذر ۱۳۹۵

چکیده

پرندگان از جمله مهره‌دارانی می‌باشند که از اصوات متنوع برخوردارند و این ویژگی به خاطر وجود اندام تخصصی تولید صدا یا همان جعبه صوت (syrinx) می‌باشد. خانواده مگس‌گیرها (Muscicapidae) گروهی از پرندگان آوازخوان و خانواده‌ای از راسته گنجشک‌سانان می‌باشند که در زیستگاه‌های متنوع دیده می‌شوند و قادر به یادگیری و تقلید صدا هستند. هم‌چنین این خانواده در رده‌بندی در سطح جنس و گونه براساس مطالعات مولکولی از ابهامات بسیاری برخوردار می‌باشد که انجام مطالعات اصوات این گروه و ترسیم فیلوژنی صوتی و مقایسه آن با فیلوژنی مولکولی احتمالاً می‌تواند به بعضی از این مسائل پاسخ دهد. در این راستا آوازه‌های مربوط به تعدادی از گونه‌های جنس‌های مختلف این خانواده مورد تجزیه و تحلیل توسط نرم‌افزار Raven Pro version ۱,۵ قرار گرفت و هفت ویژگی آوایی کدگذاری گردید و در نهایت فیلوژنی صوتی با دو الگوریتم نزدیک‌ترین همسایه (NJ) و روش جفت گروه بدون وزن با میانگین حسابی (UPGMA) توسط نرم‌افزارهای Phylyp ۳,۶۰ و PAUP ۴,۰ ترسیم شد. نتایج حاکی از عدم انطباق نسبی بین درخت حاصل از فیلوژنی صوتی با آخرین فیلوژنی پذیرفته شده مولکولی این خانواده بود. موارد عدم انطباق می‌تواند به‌میزان یادگیری و تقلید صدا در این خانواده مربوط باشد. در مجموع درخت فیلوژنی ترسیم شده به روش NJ با ۶۲ درصد انطباق در مقابل درخت فیلوژنی به روش UPGMA با ۴۵ درصد انطباق با درخت مولکولی، از ارزش تاکسونومیکی بالاتری در فیلوژنی صوتی برخوردار می‌باشد.

کلمات کلیدی: اصوات، Muscicapidae، فیلوژنی صوتی، فیلوژنی مولکولی



مقدمه

از آنجایی که آواها شاخص‌هایی حساس از گونه‌زایی و واگرایی جمعیتی هستند، به‌طور معمول می‌توانند در رده‌بندی جدید در سطح گونه (Alstrom و همکاران، ۲۰۰۷؛ Athreya، ۲۰۰۶؛ Cuervo و همکاران، ۲۰۰۵) کشف گونه‌های جدید از دل گونه‌های پنهان (Marten و Eck، ۱۹۹۱)، ارزیابی رده‌بندی تاکسونومیک در سطح آرایه‌ها (Roselaar، ۱۹۹۴) و استنباط روابط خویشاوندی (Miller، ۱۹۹۶)، مورد استفاده قرار گیرند. آواها به‌خصوص آواهای ساده در گونه‌هایی که قابلیت یادگیری اصوات را ندارند، حاوی اطلاعات فیلوژنتیکی می‌باشند (McCracken و همکاران، ۱۹۹۷) هم‌چنین مطالعه اصوات در مورد گونه‌هایی که توانایی یادگیری دارند می‌توانند مفید واقع شود (Raposo و Hofling، ۲۰۰۳). معمولاً مطالعاتی که در مورد اصوات صورت گرفته است در زمینه ندها بوده است. نتایج James و همکاران (۱۹۸۶) نشان داده که استفاده از ندها در مرغ طوفان می‌تواند تاکسون‌های مرغ طوفان را به‌صورت معنی‌دار از بقیه جدا کند تا در مطالعات سیستماتیک به‌کار گرفته شود. Iddi (۲۰۰۸) به بررسی فیلوژنی خانواده Nectarinidae براساس آواها نموده که نتایج نشان‌دهنده تبعیت Flowerpeckers از طبقه‌بندی قدیمی و عدم جداسازی Sunbirds از Spiderhunters، اما همین تحقیقات موقعیت کلاذ منشأ در Sunbirds را مطابق با تحقیقات مولکولی یافت. با وجود این، تاکنون مطالعات کمی در مورد استفاده از آواها برای مطالعات فیلوژنی صورت گرفته است.

هدف از انجام این مطالعه ترسیم فیلوژنی صوتی برای خانواده Muscipidae براساس آواز این پرندگان می‌باشد و بررسی کارایی این نوع فیلوژنی برای این خانواده پیچیده و پاسخ به این سوال که آیا فیلوژنی صوتی مطابق با فیلوژنی مولکولی می‌باشد یا خیر؟ و آیا ممکن است این روش به برخی از ابهامات تاکسونومیک در این خانواده پیچیده پاسخ بدهد؟

مواد و روش‌ها

برای ترسیم فیلوژنی صوتی، اولین مرحله انتخاب گونه‌ها به‌طور یکنواخت از روی درخت فیلوژنی مولکولی ترسیم شده خانواده Muscipidae بود (Sangster و همکاران، ۲۰۱۰). آواز مربوط به دم سرخ‌ها از ارتفاعات البرز مرکزی شمالی حد فاصل کجور (حوضه نوشهر) تا کدیر (غرب حوضه شهرستان نور) ضبط شد. اصوات سایر گونه‌های این خانواده، از منابع چهار جلدی لوح فشرده صدای پرندگان اروپا (Jean-Claude Roche و پایگاه‌های آنلاین دریافت گردید. در مجموع

پرندگان بیشترین توانایی تولید صدا را در میان مهره‌داران دارا هستند و مجموعه اصوات آن‌ها در میان شاخه جانوران از غنا و تنوع بسیاری برخوردار است. اصوات در پرندگان می‌تواند به دو دسته اصلی آواز (Song) و ندا (Call) تقسیم شود (Catchpole و همکاران، ۲۰۰۸). اغلب ندها نسبت به آواها دارای نت‌های ساده‌تری می‌باشند. یک آواز از بخش‌هایی مانند هجا (syllable)، عبارت (phrase) و نت (note) تشکیل شده است (Baker، ۲۰۰۱؛ Spector، ۱۹۹۴). تنوع در آواها بسته به اندازه بدن و مورفولوژی منقار متفاوت است و این ویژگی‌ها قادرند سیگنال‌های صوتی را در پرند تکامل ببخشند. به‌عنوان مثال در پرندگان با جثه و منقار بزرگ، آواها با نرخ پایین از تکرار هجا و فرکانس، تکامل پیدا کرده است (Podos، ۲۰۰۱). اصوات پرندگان، در برخی از گونه‌ها حتی قابلیت بهتری نسبت به ریخت‌شناسی برای شناسایی دارا هستند (Gill، ۲۰۰۷). اندام ویژه تولید صدا یا همان سرینکس (Brackenbury، ۱۹۸۹) در پرندگان آوازخوان که گروه خاصی از راسته گنجشک‌سانان می‌باشند را به‌خاطر وجود ماهیچه‌های Syringeal متعدد و پیچیده از سایرین مجزا کرده است و به‌همین علت است که به این گروه از پرندگان آوازخوان، آوازخوان‌های حقیقی گفته می‌شود (Catchpole و همکاران، ۲۰۰۸). پرندگان آوازخوان این توانایی را دارند که صداهای اطراف خود را بیاموزند و تقلید نمایند (Marler، ۱۹۹۰؛ Kroodmsma و Baylis، ۱۹۸۲). خانواده Muscipidae یا همان Chats and flycatchers از پرندگان آوازخوانی محسوب می‌شوند که متنوع‌ترین تاکسون را دارا هستند. ارزیابی‌های متفاوتی در مورد طبقه‌بندی فیلوژنی جنس‌های موجود در خانواده Muscipidae براساس مطالعات مولکولی بر پایه ژن‌های میتوکندریایی و ریخت‌شناسی در آن‌ها صورت گرفته است. در بعضی از رده‌بندی‌ها این خانواده از ۴۸ جنس و ۲۷۵ گونه (Clements و همکاران، ۲۰۱۶؛ Dickinson، ۲۰۰۳) در بعضی دیگر ۱۸ جنس و ۱۱۶ گونه (del Hoyo و همکاران، ۲۰۰۶) و در جدیدترین طبقه‌بندی از ۵۷ جنس و ۳۰۳ گونه تشکیل شده است (Dickinson، ۲۰۱۴). اعضای این خانواده در زیستگاه‌های متنوعی از جنگل‌های بارانی، بیابان‌ها، کوه‌ها و تندراهای قطبی یافت می‌شوند (Cramp، ۱۹۸۸). فاکتورهای اکولوژیکی و شرایط زیستگاه‌ها یکی از فاکتورهایی است که می‌تواند نقش مهمی در شکل‌گیری آواهای گونه‌ها داشته باشد هرچند که گونه‌ها از نظر فیلوژنی ارتباط نزدیکی با یکدیگر داشته باشند (Hunter و Krebs، ۱۹۷۹؛ Nottebohm، ۱۹۷۵).

جدول ۱: ویژگی‌های اندازه‌گیری شده از اسپکتروگرام‌های حاصل از Raven Pro ۱.۵

F	E	D	C	AB	B	A	Sicencific Name
۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۵۴	۰/۴۱	۱/۹۲	۲/۳۳	<i>Alethedia demata</i>
۰/۰۰	۱/۸۱	۰/۶۹	۰/۸۵	۰/۹۷	۴/۴۸	۵/۴۵	<i>Aletheptio cephalo</i>
۰/۵۲	۰/۲۱	۰/۲۷	۰/۳۲	۳/۰۰	۲/۹۲	۵/۹۲	<i>Brachypteryx montana</i>
۰/۰۷	۰/۲۸	۰/۲۵	۰/۲۷	۳/۸۵	۱/۸۸	۵/۷۳	<i>Campicoloides bifasciatus</i>
۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۴۴	۰/۴۴	۱/۳۵	۲/۹۱	۴/۲۶	<i>Catharus fuscater</i>
۱/۷۱	۰/۳۳	۰/۳۲	۰/۳۵	۰/۶۳	۳/۹۳	۴/۵۶	<i>Cercomela familiaris</i>
۰/۰۵	۰/۰۶	۰/۱۰	۰/۱۵	۱/۰۹	۳/۰۳	۴/۱۳	<i>Cercotrichas galactotes</i>
۳/۶۴	۲/۰۶	۰/۲۸	۰/۹۲	۱/۴۰	۱/۳۵	۲/۷۰	<i>Copsychus oniensis</i>
۰/۲۹	۰/۲۰	۰/۲۶	۰/۲۷	۱/۴۵	۲/۵۴	۳/۹۹	<i>Cossypha heuglini</i>
۰/۴۴	۰/۲۴	۰/۲۹	۰/۲۶	۰/۶۸	۳/۹۱	۴/۵۹	<i>Cyanoptilacya nomelaena</i>
۰/۴۱	۰/۴۰	۰/۱۸	۰/۳۱	۳/۹۹	۳/۲۲	۷/۲۱	<i>Cyornis poliogenys</i>
۱/۸۸	۱/۱۴	۰/۲۶	۰/۲۸	۱/۶۵	۵/۳۷	۷/۰۲	<i>Enicurus ruficapillus</i>
۱/۲۵	۰/۵۱	۰/۵۸	۰/۵۸	۴/۴۸	۴/۳۹	۸/۸۴	<i>Eritacus rubacula</i>
۲/۲۰	۰/۳۷	۰/۳۹	۰/۳۵	۱/۸۵	۳/۹۱	۵/۷۶	<i>Eumyias indigo</i>
۰/۱۷	۰/۲۵	۲/۵۱	۳/۴۹	۲/۰۴	۶/۰۱	۸/۰۶	<i>Ficedula hyperythra</i>
۰/۰۰	۰/۲۶	۰/۰۵	۰/۵۶	۰/۸۰	۴/۴۶	۵/۲۶	<i>Ficedula strophciata</i>
۳/۱۸	۲/۹۰	۲/۶۹	۲/۴۸	۱/۰۲	۸/۰۰	۹/۰۲	<i>Fraseria cinerascens</i>
۱/۵۷	۰/۹۷	۰/۵۱	۰/۵۶	۱/۸۸	۵/۱۸	۷/۰۷	<i>Fraseria ocreata</i>
۱/۲۵	۱/۵۴	۲/۱۹	۱/۶۳	۱/۱۷	۲/۲۳	۳/۴۰	<i>Heinrichia calligyna</i>
۰/۱۸	۰/۱۴	۰/۲۱	۰/۲۴	۲/۷۶	۵/۱۶	۷/۹۳	<i>Hodgsonius phaenicuriodes</i>
۰/۹۵	۰/۶۸	۱/۰۱	۱/۴۳	۵/۹۹	۲/۳۲	۸/۳۱	<i>Luscinia luscinia</i>
۳/۵۵	۴/۵۵	۴/۷۱	۳/۸۱	۱/۲۶	۵/۷۲	۶/۹۸	<i>Melaenornis microrhynchus</i>
۰/۱۴	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۸	۲/۱۳	۲/۸۱	۴/۸۸	<i>Monticola solitaries</i>
۰/۱۲	۰/۰۸	۰/۰۷	۰/۰۶	۰/۶۷	۸/۸۳	۹/۵۱	<i>Muscicapa sibirica</i>
۰/۱۸	۰/۲۳	۰/۲۰	۰/۴۱	۱/۷۹	۳/۸۹	۵/۶۸	<i>Myiomela leucura</i>
۰/۰۸	۱/۴۹	۱/۴۶	۳/۰۱	۱/۱۱	۲/۹۸	۴/۰۹	<i>Myrmecocichla aethiops</i>
۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۶۴	۰/۰۰	۴/۵۰	۴/۵۰	<i>Neocossyphus poensis</i>
۰/۳۲	۰/۱۱	۰/۲۷	۰/۷۱	۱/۶۳	۴/۱۸	۵/۸۱	<i>Niltava vivida</i>
۰/۲۱	۰/۰۸	۰/۱۳	۰/۱۵	۲/۴۱	۳/۲۸	۵/۶۹	<i>Oenanthe oenanthe</i>
۰/۲۱	۰/۱۷	۰/۱۴	۰/۱۸	۲/۷۸	۳/۵۹	۶/۳۸	<i>Oenanthe pleschanka</i>
۰/۲۶	۰/۲۷	۰/۲۹	۰/۱۴	۱/۲۸	۴/۸۴	۶/۱۲	<i>Phoenicurus ochruros</i>
۰/۴۹	۰/۲۶	۰/۷۵	۰/۹۶	۳/۰۹	۳/۵۸	۶/۶۷	<i>Phoenicurus phoenicurus</i>
۰/۱۸	۰/۲۴	۰/۴۶	۰/۳۲	۰/۵۸	۳/۱۷	۳/۷۵	<i>Pogonocichla stellate</i>
۰/۳۲	۰/۵۳	۰/۳۰	۰/۸۶	۴/۳۴	۳/۴۷	۷/۸۱	<i>Rhinomyias olivaceus</i>
۰/۰۰	۰/۷۲	۱/۲۱	۲/۵۲	۰/۲۷	۱/۷۴	۲/۰۱	<i>Stizorhina finschi</i>
۰/۵۴	۰/۲۴	۰/۲۷	۰/۲۱	۰/۸۳	۳/۴۱	۴/۲۴	<i>Stiphornis erythrothorax</i>
۵/۰۰	۰/۶۴	۰/۶۴	۱/۶۴	۲/۹۳	۲/۸۳	۵/۷۶	<i>Saxicola caprata</i>
۰/۳۵	۰/۳۳	۱/۲۴	۰/۳۱	۲/۷۷	۲/۲۷	۵/۰۵	<i>Turdus merula</i>
۰/۰۹	۰/۰۴	۰/۰۴	۰/۰۸	۰/۲۳	۱/۷۲	۱/۹۵	<i>Sheppardia aequatorialis</i>
۰/۰۰	۰/۶۳	۰/۳۸	۰/۸۱	۰/۲۶	۳/۹۳	۴/۱۹	<i>Swynnertonis wynnertoni</i>

نتایج

آن است کم و بیش پرندگانی در این خانواده وجود دارند که با نداشتن حداقل یکی از ویژگی‌های چهارگانه دوم (C، D، E، F) بر حسب تائیه تفاوت بارزی در الگوی صوتی با سایر خویشاوندان خود دارند.

جدول ۲: آماره‌های توصیفی اسپکتروگرام اصوات گونه‌های مطالعه شده در خانواده Muscicapidae

فرکانس‌های سه‌گانه							فاصله زمانه، ویژگی‌های صوتی، چهارگانه (تائیه)
F	E	D	C	AB	B	A	
۰/۷۹	۰/۶۳	۰/۶۸	۰/۸۶	۱/۸۲	۳/۷۴	۵/۵۶	میانگین
۱/۱۹	۰/۸۹	۰/۹۴	۰/۹۷	۱/۳۵	۱/۵۸	۱/۹۱	انحراف استاندارد
۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۱/۳۵	۱/۹۵	حداقل
۵/۰۰	۴/۵۵	۴/۷۱	۳/۸۱	۵/۹۹	۸/۸۳	۹/۵۱	حداکثر

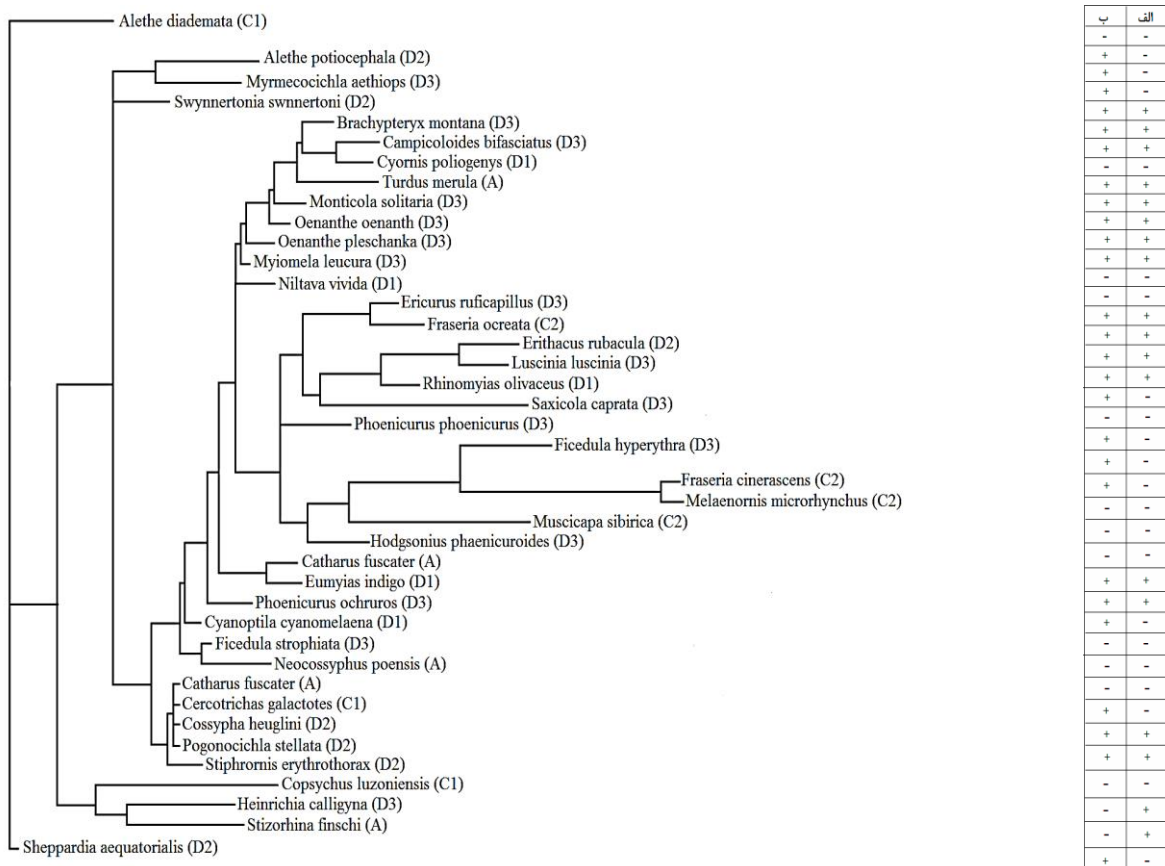
اندازه‌گیری‌های مربوط به ۴۰ گونه پرنده از خانواده Muscicapidae که در هفت ویژگی برجسته صوتی خود مورد مطالعه قرار گرفتند در جدول ۱ آمده است. سه ستون اول یعنی A، B و AB به ترتیب حد وسط فرکانس شروع، حد وسط فرکانس پایانی و اختلاف فرکانس بین صدای شروع و پایانی پرنده بر حسب kHz می‌باشد. چهار ستون D، C، E و F نیز مربوط به طول ویژگی‌های چهارگانه اصوات می‌باشد. آماره‌های مربوط به ویژگی‌های هفت‌گانه در جدول ۲ نشان داده شده است. حد میانی فرکانس شروع با میانگین ۵/۶۵، انحراف استاندارد ۱/۹۱، حداقل ۱/۹۵ و حداکثر ۹/۵۱ کیلو هرتز نسبت به بقیه عوامل مورد مطالعه رقم بالاتری را نشان داده است. هم‌چنین، نتایج حاکی از



بحث

کمی از اصول تاکسونومیک صوتی پیروی می کنند و گروه های اصلی (گروه D شامل زیر خانواده های Erithacinae, Niltavinae, Saxicolinae, Muscipapinae و گروه C شامل زیر خانواده Muscipapinae) و گروه های درونی (کلاد C3 زیر خانواده Saxicolinae و کلاد C2 تبار Muscipapini) در درخت NJ شباهت بیش تری به فیلوژنی مولکولی نسبت به درخت UPGMA را از خود نشان می دهد و این احتمالاً به خاطر شباهت های زیستگاهی برخی از آنان باشد. می توان گفت یکی از دلایل عدم تطبیق برخی از جنس ها به دلیل تاثیرپذیری اصوات پرنده گان از یکدیگر نیز می باشد که باعث ابهام در فیلوژنی صوتی گشته است.

خانواده Muscipapidae عضو گروهی از پرنده گان آوازخوانی می باشد که در بعضی از جنس ها میزان تقلید صدا و یادگیری بالاست (Kurashkina, 2012). دو نوع درخت به دست آمده با Sangster و همکاران (2010) مقایسه شد و موارد هم خوانی جایگاه گونه در الگوریتم مذکور با علامت "+" و عدم هم خوانی با علامت "-" در مقابل هر گونه مشخص شد (شکل ۳). از آن جایی صوت پرنده می تواند حالت اکتسابی پیدا کند قادر خواهد بود که جایگاه گونه را در فیلوژنی صوتی تغییر دهد. فیلوژنی صوتی این گروه، با دشواری بالا در فیلوژنی مولکولی،



شکل ۳: نمودار درختی NJ و صحت آن برای تاکسون ها (الف) در مقایسه با همان گونه ها بر اساس UPGMA (ب) ۲۵ مورد آرایه بندی صحیح در برابر ۱۸ مورد. علامت ها + تابعیت درخت ها را از درخت مولکولی نشان می دهد (درخت مولکولی از Sangster و همکاران در ۲۰۱۰ اقتباس شده است).

D2 و D3 در بین شاخه ها دیده می شود و نشان دهنده این است که درخت NJ حاصل از اصوات ارزش تاکسونومی بالاتری نسبت به درخت UPGMA دارد. نتایج ترسیم درخت فیلوژنی با الگوریتم UPGMA

در درخت NJ پیشگام ترین شاخه ها مربوط به گروه C است که با یک چرخش ۱۸۰ درجه به قسمت گروه بیرونی در پایین می رسد. در دو گروه بالا در شاخه های تبارشناسی NJ منظم بیش تری در حضور گروه های



۹. Dickinson, E.C., 2003. The Howard and Moore Complete Checklist of the Birds of the World (3rd ed.). Christopher Helm, London.
۱۰. Dickinson, E.C. and Chistdis, E., 2014. The Howard & Moore Coluplete checklist of the birds of the World. Vol. 2, Passerines. Aves Press, Eastbourne.
۱۱. del Hoyo, J.; Elliott, A. and Christie, D.A., 2006. Handbook of the Birds of the world. Vol. 11, Old world warbler. Lynx Edicions, Barcelona.
۱۲. Felsenstein, J., 1989. PHYLIP-Phylogeny Inference Package (Version 3.2). Cladistics. Vol. 5, pp: 163-166.
۱۳. Förschler, M.I.; Khoury, F.; Bairlein, F. and Aliabadian, M., 2010. Phylogeny of the mourning wheatear *Oenanthe lugens* complex. Molecular Phylogenetics and Evolution. Vol. 56, pp: 758-767.
۱۴. Gill, F.B., 2007. Ornithology. 766 p.
۱۵. Hunter, M.L. and Krebs, J.R., 1979. Geographical variation in the song of the great tit (*Parus major*) in relation to ecological factors. The Journal of Animal Ecology. Vol. 48, pp: 759-785.
۱۶. Iddi, K.N., 2008. Phylogenies of the sunbirds, spider hunters and flower peckers (Nectariniidae) based on analyses of vocalizations (Doctoral dissertation, University of Greenwich).
۱۷. James, P.C. and Robertson, H.A., 1986. How Useful Are Vocalizations in Petrel Systematics? Emu. Vol. 86, pp: 186-189.
۱۸. Kroodsma, D.E. and Baylis, J.R., 1982. A world survey of evidence for vocal learning in birds. In D. E. Kroodsma and E. H. Miller (eds). Acoustic communication in birds. Vol. 2, pp: 311-337.
۱۹. Kurashkina, N.A., 2012. The formation and motivation of onomatopoeic ornithonyms as a result of ecological and communicative interactions of man and birds. European Online Journal of Natural and Social Sciences. Vol. 1, pp: 5.
۲۰. Martens, J. and Eck, S., 1991. Pnoepyga Immaculata N. speine Neue Bodenbewohnende Timalie Aus Dem Nepal-Himalaya. Journal für Ornithologie. Vol. 132, pp: 179-98.
۲۱. Marler, P., 1990. Song learning: The interface between behavior and neuroethology. Philosophical Transactions of the Royal Society of London B. Biological Sciences. Vol. 329, pp: 109-114.
۲۲. McCracken, K.G. and Sheldon, F.H., 1997. Avian vocalizations and phylogenetic signal. Proceedings of the National Academy of Sciences. Vol. 94, pp: 3833-3836.
۲۳. Nottebohm, F., 1975. Continental patterns of song variability in *Zonotrichia capensis*: some possible ecological correlates. The American Naturalist. Vol. 109, pp: 605-624.
۲۴. Podos, J., 2001. Correlated Evolution of Morphology and Vocal Signal Structure in Darwin's Finches. Nature. Vol. 409, pp: 185-188.
۲۵. Roselaar, C.S., 1994. Systematic notes on Megapodiidae (Aves, Galliformes), including the description of five new subspecies. Bulletin Zoologisch Museum. Vol. 14, pp: 9-36.
۲۶. Sangster, G.; Alström, P.; Forsmark, E. and Olsson, U., ۲۰۱۰. Multi-locus phylogenetic analysis of Old World chats and flycatchers reveals extensive paraphyly at family, subfamily and genus level (Aves: Muscicapidae). Molecular Phylogenetics and Evolution. Vol. 57, pp: 380-392.
۲۷. Spector, D.A., 1994. Definition in Biology: The Case of 'Bird Song'. Journal of Theoretical Biology. Vol. 168, pp: 373-381.
۲۸. Swofford, David L., 1996. Phylogenetic analysis using parsimony. Options. Vol. 42, pp: 294-307.
۲۹. Raposo, M.A. and Höfling, E., 2003. Overestimation of vocal characters in Suboscine taxonomy (Aves: Passeriformes: Tyranni): causes and implications. Lundiana. Vol. 4, pp: 35-42.

که براساس شباهت‌های ظاهری عمل می‌کند، بیانگر عدم تطابق جایگاه بعضی از گونه‌ها با رده بندی تاکسونومی است. به عنوان تنها نتیجه از نمودار درختی UPGMA می‌توان گفت علی‌رغم این که در گروه‌های اصلی در مقایسه با گروه بندی مولکولی در هم آمیختگی و بی نظمی وجود دارد اما آرایه Muscicapini هم چنان به عنوان یک گروه بیرونی از جایگاه خود برخوردار است. از آنجایی که این گروه یعنی خانواده Muscicapidae هنوز هم در دل خود گونه‌های جدیدی را از یک گروه کمپلکس گونه‌ای نشان می‌دهد (Förschler و همکاران، ۲۰۱۰). می‌توان این پیشنهاد را ارائه کرد که به کمک روش‌های مولکولی و با پشتیبانی تحلیلی‌های صوتی می‌توان به وضوح بهتری در سیستماتیک آن‌ها نائل آمد. هرچند که به صورت نتیجه‌گیری کلی مشخص شد، درخت NJ بهتری‌های مشخصی به درخت UPGMA در تحلیل‌های خوشباندی تکاملی پرندگان دارد اما باید برای جلوگیری از قرارگیری نادرست برخی از گونه‌ها در دارنگار صوتی و آرایه‌های پرت، یعنی جنس‌هایی که با حروف D۱، C۲ و A (گروه بیرونی) مشخص شده‌اند، پیشنهاد می‌گردد که انتخاب گونه‌ها از هر جنس و بررسی اصوات آن‌ها به یک منطقه مشخص محدود گردد و شرایط زیستگاه نیز در نظر گرفته شود.

منابع

۱. Alström, P.; Olsson, U.; Rasmussen, P.C.; Yao, C.T.; Ericson, P.G.P. and Sundberg, P., 2007. Morphological, vocal and genetic divergence in the *Cettia acanthizoides* complex (Aves: Cettiidae). Zoological Journal of the Linnean Society. Vol. 149, pp: 437-452.
۲. Athreya, R., 2006. A new species of *Liocichla* (Aves: Timaliidae) from Eaglenest Wildlife Sanctuary, Arunachal Pradesh, India. Indian Birds. Vol. 2, pp: 82-94.
۳. Brackenbury, J.H., 1989. Functions of the syrinx and the control of sound production. In: Form and Function in Birds (ed. A.S. King & J. McLelland), pp. 193-220. San Diego, CA: Academic Press.
۴. Baker, M.C., 2001. Bird Song Research: The Past 100 Years. Bird Behavior. Vol. 14, pp: 3-50.
۵. Clements, J.F.; Schulenberg, T.S.; Iliff, M.J.; Roberson, D.; Fredericks, T.A.; Sullivan, B.L. and Wood, C.L., 2016. The eBird/Clements checklist of birds of the world: v2016. <http://www.birds.cornell.edu/clementschecklist/download/>.
۶. Cramp, S., 1988. The Birds of the Western Palearctic. Vol. 5, Oxford UP, Oxford.
۷. Catchpole, C. K. and Slaters, P. J. B., 2008. Bird Song: Biological Themes and Variations. Retrieved (www.cambridge.org/9780521872423).
۸. Cuervo, A.M.; Cadena, C.D. and Krabbe, N., 2005. *Scytalopus stilesi*, a new species of tapaculo (Rhinocryptidae) from the Cordillera Central of Colombia. Auk. Vol. 122, pp: ۴۴۵-۴۶۳.

