Roberto do Val Vilela

Roedores e biomas neotropicais:
estudos evolutivos e comparativos

*Neotropical rodents and biomes:
evolutionary and comparative studies*

São Paulo

2010

Roberto do Val Vilela

Roedores e biomas neotropicais:
estudos evolutivos e comparativos

*Neotropical rodents and biomes:
evolutionary and comparative studies*

Tese apresentada ao Instituto de
Biociências da Universidade de São
Paulo, para a obtenção de Título de
Doutor em Ciências, na Área de
Biologia (Genética).

Orientador(a): Yatiyo Yonenaga-
Yassuda

São Paulo

2010

Vilela, Roberto do Val
Roedores e biomas neotropicais:
estudos evolutivos e comparativos
113p.

Tese (Doutorado) - Instituto de
Biociências da Universidade de São Paulo.
Departamento de Genética e Biologia
Evolutiva.

1. Evolução 2. Rodentia I.
Universidade de São Paulo. Instituto de
Biociências. Departamento de Genética e
Biologia Evolutiva.

Comissão Julgadora:

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).
Orientador(a)

Ao Lucas

A satisfactory answer to the riddle 'Why are there so many species in the tropics?' remains elusive.

Mark B. Bush, *J. Biogeogr.*, 1994

Pensar nas biodiversidades que existiam e, sobretudo, naquelas que sobreviveram, é uma obrigação permanente daqueles que refletem sobre o futuro do planeta Terra, a diferentes níveis de profundidade de tempos.

Aziz Nacib Ab'Saber, *Estudos Avançados*, 1990

Understanding the evolutionary processes that generate and sustain diversity in tropical faunas has challenged biologists for over a century and should underpin conservation strategies.

C. Moritz, J. L. Patton, C. J. Schneider e T. B. Smith, *Ann. Rev. Ecol. Syst.*, 2000

Até hoje a sistemática evolutiva pouco tem dado, em troca, às ciências da Terra; ainda vai receber muito antes que possa começar a pagar sua dívida.

Paulo Emílio Vanzolini, *Estudos Avançados*, 1992

- Que século, meu Deus! diziam os ratos.

E começavam a roer o edifício.

Carlos Drummond de Andrade, *Edifício Esplendor*

Agradecimentos

Agradeço a todos que contribuíram e torceram pelo sucesso desta empreitada.

Agradeço ao Guincho pelo socorro na hora crítica.

Especialmente agradeço à Maíra pela paciência e suporte em todas as horas, a ela devo essa tese.

Índice

Introdução	08
Objetivos	35
Materiais e Métodos	
Materiais	36
Métodos	41
Resultados	46
Discussão	79
Conclusões	94
Resumo	95
<i>Abstract</i>	96
Referências Bibliográficas	97

Introdução

Teorias de Especiação em Florestas Tropicais

Os mecanismos evolutivos responsáveis por gerar a alta biodiversidade das florestas tropicais vêm sendo debatidos há décadas (ERWIN, 1991; MAYR, 1963; STEBBINS, 1974). Geralmente, os modelos de especiação de faunas tropicais têm enfatizado o contexto geográfico e focado em divergência alopátrica. A única exceção é o modelo de Endler de divergência parapatrica em resposta à seleção diversificadora ao longo de gradientes ecológicos (ENDLER, 1982a).

Dentre os modelos de diversificação alopátrica em florestas tropicais, destacamos os três principais: a Hipótese dos Refúgios (HAFFER, 1969; MAYR e O'HARA, 1986; VANZOLINI e WILLIAMS, 1970), a Hipótese dos Rios como Barreiras (WALLACE, 1852) e a Hipótese do Isolamento em Montanhas (MOREAU, 1966). Todos os três modelos invocam mecanismos vicariantes (i.e. separação de um grupo de organismos por uma barreira geográfica resultando em diferenciação do grupo original em formas ou espécies diferentes) – seja a contração de florestas tropicais em refúgios isolados durante o Máximo Glacial do Pleistoceno (Refúgios e Montanhas) ou a divisão de um habitat contínuo pela formação de grandes rios de maneira que as populações de ambos os lados fiquem isoladas. Em cada cenário, as populações geograficamente isoladas divergem por deriva genética e/ou seleção natural, porque estão isoladas dos efeitos homogeneizantes do fluxo gênico.

A Hipótese dos Refúgios, que tem sido o modelo mais influente de especiação alopátrica (HAFFER, 1969; VANZOLINI e WILLIAMS, 1970; WHITMORE e PRANCE, 1987), salienta o papel de grandes refúgios florestais isolados em gerar

novos táxons e alta diversidade de espécies (HAFFER, 1969; MAYR e O'HARA, 1986). A Hipótese dos Refúgios baseia-se na premissa de que mudanças climáticas causaram a retração das florestas tropicais, deixando refúgios separados por florestas xéricas ou cerrados (PRANCE, 1982). Desde a sua proposição, a Hipótese dos Refúgios tem sido controversa (CRACRAFT, 1994; ENDLER, 1982a, b; HAFFER, 1969; MAYR e O'HARA, 1986), isso reflete uma longa história de equiparar centros de biodiversidade com centros de origem das espécies (DARWIN, 1876; WILLIS, 1922). Críticas a este modelo incluem: (1) incerteza sobre se a Floresta Amazônica contraiu ou apenas mudou sua composição florística (COLINVAUX e DE OLIVEIRA, 2001; COLINVAUX *et al.*, 2000; COLINVAUX *et al.*, 1996); (2) vieses provocados por diferenças no esforço amostral (áreas bem estudadas tendem a ter mais espécies descritas e, portanto, ser identificadas como refúgios e/ou centros de endemismo, (NELSON *et al.*, 1990); (3) um raciocínio circular na localização de zonas de contato definidas por relações entre grupos-irmãos (ENDLER, 1982b; MAYR e O'HARA, 1986); (4) a falta de discussão de modelos alternativos que ofereçam explicações igualmente boas para os padrões biogeográficos (ENDLER, 1982A, B); (5) dificuldade em identificar, *a priori*, refúgios delimitados espacial e temporalmente.

Embora os primeiros debates tenham incidido sobre as consequências de eventos climáticos do Pleistoceno, principalmente os do último ciclo glacial ou dos dois últimos (p. ex.: DIAMOND e HAMILTON, 1980; HAFFER, 1969), a Hipótese dos Refúgios foi recentemente estendida para eventos do Terciário, pressupondo que oscilações no clima ao longo deste período também foram de amplitude e duração suficientes para promover a fragmentação de florestas tropicais e especiação (HAFFER, 1992). De maneira geral, a importância dos períodos glaciais para

especiação é uma área de debate bastante controversa (ARBOGAST *et al.*, 1998; AVISE e WALKER, 1998; KLIČKA e ZINK, 1997; MORITZ *et al.*, 2001; SCHNEIDER *et al.*, 1998; ZINK, 1997). Importantes, mas raramente discutidas, são as condições ecológicas dentro dos refúgios propostos e os processos de divergência associados (p. ex.: VANZOLINI e WILLIAMS, 1981). Se as condições ecológicas entre os refúgios diferem substancialmente, pode-se esperar que as populações diverjam em resposta à seleção natural divergente, enquanto que, se as condições ecológicas são semelhantes, as populações podem divergir apenas por deriva.

O segundo modelo alopátrico, a Hipótese de Isolamento em Montanhas, postula que o isolamento em remanescentes de floresta em montanhas durante períodos climáticos secos levou à divergência e especiação (com as novas espécies posteriormente expandindo sua distribuição para áreas mais baixas). Introduzida primeiramente por Moreau (1966), baseado na distribuição de aves estreitamente relacionadas em montanhas isoladas na África Ocidental, a Hipótese de Isolamento em Montanhas propõe a divergência de populações como um simples resultado do isolamento nas montanhas e não especifica se a divergência resulta principalmente de deriva ou seleção divergente.

O terceiro modelo alopátrico, a Hipótese de barreiras fluviais, postula que o isolamento geográfico produzido por sistemas fluviais provoca divergência e especiação (WALLACE, 1852). A observação comum de que os limites de espécies ou subespécies estreitamente relacionadas, muitas vezes coincidem com os principais rios da Amazônia, tem sido tomada como evidência da Hipótese dos Rios como Barreiras. Como exemplo, vários primatas (HERSHKOVITZ, 1977), algumas aves passeriformes (CRACRAFT e PRUM, 1988; HAFFER, 1969, 1974) e muitos lagartos da Amazônia (AVILA-PIRES, 1995) têm suas distribuições delimitadas por rios.

Entretanto, a congruência entre os padrões de diversidade fenotípica e distribuição dos rios é inconsistente (CAPPARELLA, 1991). Um problema compartilhado com a Hipótese dos Refúgios é que os dados de distribuição sozinhos são consistentes com hipóteses de especiações múltiplas. Dificuldades com a Hipótese dos Rios como Barreiras surgem do fato de que grandes rios, por inibir dispersão, podem ser pontos de encontro convenientes para espécies que divergiram em outros lugares (PATTON *et al.*, 1994) e, portanto, pouco ou nada têm a ver com o processo de especiação *in situ*. Além disso, a força da barreira para o fluxo gênico deve diminuir em direção à cabeceira de um rio (AYRES e CLUTTON-BROCK, 1992; PERES *et al.*, 1996) e padrões de drenagem são dinâmicos, mudando ao longo do tempo evolutivo. Como na situação de barreiras as condições ecológicas são esperadamente similares, espera-se que a seleção desempenhe um papel menor na diferenciação e que as populações diverjam preferencialmente por deriva.

Modelos não-alopátricos de divergência incluem divergência entre populações contíguas (divergência parapátrica) (MAYR, 1963). O principal modelo parapátrico é a Hipótese dos Gradientes Ecológicos. Este modelo postula que seleção divergente ao longo de fortes gradientes ambientais é suficiente para causar diferenciação e especiação, apesar da presença de fluxo gênico (ENDLER, 1977; ORR e SMITH, 1998; RICE e HOSTERT, 1993; SMITH *et al.*, 1997). A Hipótese dos Gradientes Ecológicos implica que os ambientes de transição (ecótonos ou gradientes altitudinais) sejam áreas em que seleção divergente e especiação ocorrem. Por conseguinte, a Hipótese dos Gradientes Ecológicos prevê que as transições de habitat, ao invés de rios ou fronteiras entre refúgios, são as áreas de contato entre táxons irmãos. Uma ênfase recente na heterogeneidade da estrutura vegetacional atual (TUOMISTO *et al.*, 1995) e, possivelmente, histórica (COLINVAUX *et al.*, 1996) da

Amazônia sugere que os ambientes de transição são um componente comum na paisagem da floresta tropical e podem proporcionar oportunidades para a Hipótese dos Gradientes Ecológicos operar dentro de florestas tropicais. A observação de que as zonas híbridas estão geralmente localizadas em ecótonos (ENDLER, 1982a, b), e a de que gradientes ecológicos abruptos ao longo das encostas inferiores das cadeias montanhosas são muitas vezes as áreas de maior diversidade de espécies (DUELLMAN, 1978; FJELDSA, 1994) é consistente com a Hipótese dos Gradientes Ecológicos, mas dados de distribuição apenas estão sujeitos a múltiplas interpretações (p. ex.: ENDLER, 1982b; MAYR e OHARA, 1986).

As hipóteses descritas anteriormente geram uma série de padrões previstos em ambos os níveis, interespecíficos (filogenéticos) e intraespecífico (filogeográficos). Em geral, os modelos alopátricos prevêm que espécies irmãs sejam encontradas em cada lado das barreiras atuais ou históricas à dispersão enquanto o modelo de gradientes ecológicos prediz que espécies irmãs, devam ocupar habitats adjacentes, porém diferentes (por exemplo, a substituição altitudinal por espécies irmãs). Se admitirmos que os processos geradores de espécies e os processos que resultam na divergência de populações são os mesmos, então análises dessas divergências podem ser particularmente esclarecedoras. Comparações simultâneas das populações que ocupam diferentes habitats em regiões geograficamente isoladas fornecem fortes evidências dos processos que influenciam na divergência. Amostragens de populações ao longo de habitats, dentro e entre regiões geograficamente isoladas fornecem uma prova direta da importância relativa do isolamento geográfico e dos gradientes ecológicos na divergência. Se, para um determinado nível de divergência genética, o isolamento reprodutivo ou a divergência morfológica é maior entre os habitats do que dentro de habitats, um papel maior para a divergência em resposta a

gradientes ecológicos é sugerido. Se a divergência reprodutiva ou morfológica entre populações isoladas em habitats semelhantes é tão grande quanto entre populações isoladas que ocupam habitats diferentes, um papel menor para a divergência adaptativa ao longo de gradientes ecológicos é sugerido (p. ex. COSTA, 2003; LARA *et al.*, 2005).

As faunas e floras mais ricas do planeta estão nas florestas tropicais (MYERS, 2003; MYERS *et al.*, 2000). Considera-se que nos trópicos novas espécies são geradas mais rapidamente (WRIGHT *et al.*, 2006) e as espécies encontram abrigo por mais tempo que em regiões temperadas (WIENS *et al.*, 2006), sendo dessa maneira vistas tanto como “berço” quanto como “museu” de espécies (MCKENNA e FARRELL, 2006). Uma interação histórica complexa de linhagens, climas, geografia e adaptação molda os padrões atuais de biodiversidade, e filogenias oferecem o principal registro de seus efeitos (BROOKS e MCLENNAN, 1991). Padrões filogenéticos de linhagens que têm capacidade de dispersão limitada e são diversificadas entre regiões de endemismo podem ser particularmente instrutivas na reconstrução de histórias regionais (NELSON e PLATNICK, 1981).

A compreensão sobre radiações complexas de organismos tropicais é aprimorada continuamente pela descoberta de novas espécies, aprofundamento do conhecimento das relações entre grupos e expansão das pesquisas genéticas. Uma melhor diagnose dos gêneros (EMMONS, 2005) e melhor compreensão filogenética da família Echimyidae (GALEWSKI *et al.*, 2005), convidam a reconstruções filogenéticas e biogeográficas destes roedores.

Fósseis, moléculas e escalas de tempo evolutivo

A utilização de seqüências de DNA para estimar tempos de divergência em árvores filogenéticas (datação molecular) vem ganhando crescente interesse no campo da biologia evolutiva na última década. A abundância de publicações sobre o assunto, os numerosos métodos alternativos propostos e as discussões freqüentemente acaloradas sobre diversos aspectos da disciplina demonstram o interesse que ela gera (BRITTON, 2005; BRITTON *et al.*, 2007; BRITTON *et al.*, 2002; CONROY e VAN TUINEN, 2003; DRUMMOND *et al.*, 2006; DRUMMOND e RAMBAUT, 2007; FOREST, 2009; HASEGAWA *et al.*, 2003; HEDGES *et al.*, 2006; HO *et al.*, 2005; JOBB, 2008; LINDER *et al.*, 2005; ROWE *et al.*, 2010; RUTSCHMANN, 2006; RUTSCHMANN *et al.*, 2007; SANDERSON, 1994, 1997, 1998, 2002, 2003; SANDERSON *et al.*, 2004; THORNE *et al.*, 1998). A hipótese do relógio molecular foi proposta primeiramente por Zuckerkandl e Pauling (1965), eles propuseram que as diferenças nas seqüências de DNA (ou de proteína) entre duas espécies são proporcionais ao tempo decorrido desde a divergência do seu ancestral comum mais recente.

A subsequente inclusão de uma estrutura temporal em muitos estudos evolutivos tem influenciado a forma como os resultados são interpretados e alteraram significativamente o modo pelo qual as conclusões são tiradas desses resultados. As associações entre a evolução de determinados caracteres morfológicos ou inovações ecológicas chave e eventos geológicos, climáticos ou bióticos tornam-se mais claras em função de uma escala de tempo evolutiva. O desenvolvimento de ferramentas moleculares de datação tornou-se particularmente útil para a disciplina de biogeografia histórica, adicionando um indicador temporal para a direção dos eventos demonstrados na topologia de árvores filogenéticas. Inferências sobre padrões de distribuição observados tornaram-se significativamente mais plausíveis num quadro

temporal, mesmo que apenas descritivo. Além disso, novos métodos de reconstrução biogeográfica foram desenvolvidos, como o Lagrange, que usa uma abordagem de verossimilhança para inferir a evolução de distribuições geográficas e incorpora tempos de divergência, bem como limita as ligações entre locais e tempos específicos (REE e SMITH, 2008).

A lógica por trás da hipótese do relógio molecular, que as taxas de evolução são constantes, mostrou-se incorreta em muitos casos analisados (AYALA, 1999; LEWIN, 1990; SCHWARTZ e MARESCA, 2006), o relógio não bate regularmente. A heterogeneidade das taxas de substituição entre diferentes linhagens de uma árvore filogenética explica essa irregularidade (BRITTEN, 1986) e é resultado de fatores espécie-específicos, tais como: tempo de geração, taxa metabólica, tamanho efetivo da população e taxas de mutação (RUTSCHMANN, 2006). A extensão da influência de alguns desses fatores, no entanto, continua controversa (p. ex.: WHITTLE e JOHNSTON, 2003).

Rutschmann (2006) classificou os métodos mais comumente utilizados para estimar tempos de divergência em três categorias, dependendo de como lidar com a heterogeneidade das taxas, a saber: adotar uma taxa de substituição global (relógio molecular padrão); corrigir para heterogeneidade da taxa (por exemplo, excluindo ramos ou incorporando várias categorias de taxas antes do procedimento de datação); ou incorporar a heterogeneidade taxa (ou seja, integrar a heterogeneidade das taxas ao processo de datação utilizando modelos de alteração de taxas – relógio molecular relaxado). Quatro dos métodos mais comumente usados na literatura caem na terceira categoria: suavização não-paramétrica das taxas (NPRS – *Non-Parametric Rate Smoothing*) (SANDERSON, 1997), verossimilhança penalizada (PL – *Penalized Likelihood*) (SANDERSON, 2002), o método bayesiano implementado no pacote

Multidivtime (THORNE *et al.*, 1998) e análise evolutiva bayesiana por amostragem de árvores (BEAST – *Bayesian Evolutionary Analysis by Sampling Trees*) (DRUMMOND e RAMBAUT, 2007). Os primeiros três destes métodos pressupõem que as variações das taxas entre as linhagens ancestrais e descendentes são autocorrelacionados, ou seja, que as taxas de substituição das linhagens descendentes são, de certa forma, herdadas das linhagens ancestrais. Esses métodos diferem na maneira com que a autocorrelação entre as taxas é tratada. O método implementado no programa BEAST não assume autocorrelação de taxas, em vez disso ele amostra as taxas a partir de uma distribuição. O BEAST proporciona flexibilidade adicional por poder opcionalmente incorporar incerteza filogenética, bem como a possibilidade de atribuir distribuições *a priori* ao processo de calibração. Mais detalhes sobre esses métodos e vários outros podem ser encontrados na revisão de Rutschmann (2006).

Dois grandes temas têm alimentado a controvérsia associada com relógios molecular: como lidar com a heterogeneidade das taxas e a calibração. No seu início, os estudos de datações moleculares concentraram-se nos desvios de heterogeneidade das taxas entre as linhagens. Entretanto, a calibração, processo pelo qual o tempo relativo é transformado em idade absoluta (por exemplo, milhões de anos), utilizando informação independente da árvore filogenética e seus dados subjacentes, foi um pouco banalizada. Esta situação mudou nos últimos anos e muitos estudos já abordaram as inúmeras dificuldades associadas à calibração. Forest (2009), por exemplo, discutiu a calibração do relógio molecular (em especial com base em dados paleontológicos), os problemas potenciais e fontes de erro associadas a ela, e os vários métodos propostos para integrar estas incertezas nas estimativas de tempos de divergência molecular.

Fontes de informação para calibração

As informações utilizadas para calibrar uma árvore filogenética são obtidas a partir de três fontes principais: eventos geológicos, estimativas a partir de estudos independentes de datação molecular e registro fóssil, sendo este último a fonte de informações mais comumente utilizada para calibrar árvores filogenéticas. Informações a partir de dados paleoclimáticos também têm sido utilizadas para calibrar as árvores (p. ex.: BALDWIN e SANDERSON, 1998).

Designação de pontos de calibração

Idealmente, pontos de calibração baseados em registro fóssil deveriam ser aplicados amplamente em toda a filogenia para reduzir a ampliação de erro associada com a extrapolação das taxas de evolução para nós cada vez mais distantes dos pontos de calibração (LINDER *et al.*, 2005; NEI *et al.*, 2001).

Fatores que influenciam estimativas de tempos de divergência

Certamente, métodos bayesianos são conhecidos por serem sensíveis à designação de probabilidades *a priori* (BELL e DONOGHUE, 2005; HO *et al.*, 2005; RENNER, 2005; SMITH *et al.*, 2006; WELCH e BROMHAM, 2005; WELCH *et al.*, 2005). Em particular, mostrou-se que a pressuposição *a priori* de uma distribuição log-normal de taxas, tem levado a uma tendência a subestimação de nós, particularmente para aqueles mais antigos que os pontos de calibração (HO *et al.*, 2005). Alternativamente, mostrou-se que o método conhecido como *non-parametric-rate-smoothing* (NPRS), tende a sobreparametrizar os dados, levando a rápidas flutuações nas taxas onde há internós curtos, e assim a superestimar idades próximas à raiz (BELL e DONOGHUE, 2005; RUTSCHMANN, 2006).

Armadilhas na amostragem taxonômica

É sabido que a detecção de taxas variáveis de evolução é sensível à amostragem taxonômica (BROMHAM *et al.*, 2000; SANDERSON, 1998) e, mais importante, um estudo empírico recente sugere que uma amostragem taxonômica fraca leva a estimativas incorretas de tempos de divergência mesmo quando métodos de relógio-relaxado são empregados (LINDER *et al.*, 2005). Parece haver uma relação logarítmica entre a proporção de subamostragem e o grau de subestimação de tempo, particularmente para a metodologia de NPRS (LINDER *et al.*, 2005). Nesse aspecto, amostragens que possuíam menos de 10% das espécies vivas resultaram em estimativas que tinham metade das idades daquelas obtidas sob uma amostragem taxonômica completa.

Amostragens taxonômicas esparsas podem, no entanto, explicar estimativas de idade mais recentes relatadas em estudos moleculares anteriores, particularmente em casos em que o método NPRS de relógio-relaxado foi adotado. No entanto essa está longe de ser uma explicação universal, dado que estimativas de idade igualmente recentes foram relatadas usando métodos bayesianos.

Efeitos combinados de subamostragem e distância de calibração

Tanto evidências simuladas quanto empíricas têm indicado que estimativas de tempos de divergência antigos usando pontos de calibração recentes estão sujeitas a erros cada vez maiores conforme aumentam as distâncias dos pontos de calibração (LINDER *et al.*, 2005; NEI *et al.*, 2001). Linder *et al.* (2005) relataram uma relação linear positiva entre o grau de subestimação de idade e distância do ponto de calibração, tanto para NPRS quanto para o método bayesiano. Em outras palavras, quanto maior a distância do nó de calibração, mais sensíveis aos efeitos de subamostragem as estimativas de tempo se tornam (levando à subestimação das

verdadeiras idades). Essa é uma relação importante, e encaixa-se na observação de estimativas de idade mais recentes sendo obtidas quando amostragens taxonômicas esparsas acompanhavam o uso de pontos de calibração distantes em estudos moleculares anteriores que empregavam métodos bayesianos (p. ex.: ADKINS *et al.*, 2003; HASEGAWA *et al.*, 2003; SPRINGER *et al.*, 2003).

Contexto taxonômico

A família neotropical de roedores Echimyidae é uma das 17 famílias pertencentes à infraordem Hystricognathi (WOODS e KILPATRICK, 2005). Exceto pela pan-americana Erethizontidae e pela paleotropical Histicidae, as famílias de hystricognatos restantes são endemismos continentais. Três pequenas famílias (Bathyergidae, Petromuridae e Thyronomyidae) são africanas, enquanto uma dúzia de outras são restritas aos neotrópicos. Exceto por alguns táxons fósseis, não há controvérsia na associação com a infra-ordem (MCKENNA e BELL, 1997). No entanto, as origens e a biogeografia dos seus membros separados têm sido longamente debatidas, porque os grupos do Hemisfério Sul são muito recentes para terem divergido com a separação de Gondwana. Os primeiros roedores que apareceram na América do Sul durante seu isolamento terciário, representados por táxons classificados como Echimyidae, Erethizontidae e Cuniculidae, são encontrados na formação Santa Rosa da Amazônia peruana, datada no final do Eoceno (FRAILEY e CAMPBELL JR., 2004).

Equimiídeos adicionais são conhecidos da formação de Salla do Deseadense (Oligoceno tardio) da Bolívia, produtos óbvios de uma radiação do Paleogêneo (PATTERSON e WOOD, 1982).

A família Echimyidae possui hoje cerca de 23 gêneros e aproximadamente 90 espécies vivas (EMMONS, 2005; IAK-XIMENES *et al.*, 2005; WOODS e KILPATRICK, 2005). Woods e Kilpatrick (2005) dividiram a família Echimyidae em quatro subfamílias: Dactylomyinae (gêneros *Dactylomys*, *Kannabateomys* e *Olallamys*); Echimyinae (gêneros *Callistomys*, *Diplomys*, *Echimys*, *Isothrix*, *Makalata* e *Phyllomys*); Eumysopinae (gêneros *Carterodon*, *Clyomys*, *Euryzygomatomys*, *Hoplomys*, *Lonchothrix*, *Mesomys*, *Proechimys*, *Thrichomys* e *Trinomys*) e a extinta Heteropsomyinae (gêneros *Boromys*, *Brotomys* e *Heteropsomys*). Porém essa divisão não é um consenso (p. ex.: GALEWSKI *et al.*, 2005; LARA *et al.*, 1996; LEITE e PATTON, 2002), além disso, trabalhos recentes descreveram novos gêneros como: *Pattonomys*, *Santamartamys* e *Toromys* (EMMONS, 2005; IAK-XIMENES *et al.*, 2005) ou sugeriram a inclusão de *Capromys* e *Myocastor* na família Echimyidae (GALEWSKI *et al.*, 2005; LEITE e PATTON, 2002).

Radiações sul-americanas de Echimyidae ocorreram muito antes da chegada, no final do Mioceno-início do Plioceno, de miomorfos (ratos e camundongos) e sciuromorfos (esquilos) como “arautos” do Grande Intercâmbio Biótico Americano que se seguiu à formação do istmo do Panamá (MCKENNA *et al.*, 1997; WOODS, 1982). A ausência de concorrentes pode explicar o impressionante conjunto de nichos ecológicos explorados por gêneros de equimiídeos (GALEWSKI *et al.*, 2005; MARES e OJEDA, 1982): além de gêneros terrestres (*Hoplomys*, *Proechimys*, *Trinomys* e *Thrichomys*), semi-fossoriais (*Clyomys*, *Carterodon* e *Euryzygomatomys*), escansoriais (*Capromys*) e semi-aquáticos (*Myocastor*), muitas formas são principalmente arbóreas, movendo-se como esquilos em troncos e ramos seja alimentando-se de folhas e frutos (*Callistomys*, *Diplomys*, *Echimys*, *Isothrix*,

Makalata, *Mesomys*, *Lonchothrix*, *Pattonomys*, *Phyllomys*, *Santamartamys* e *Toromys*) ou restritas ao bambu (*Dactylomys*, *Kannabateomys* e *Olallamys*). A maioria dos gêneros arbóreos mal é amostrada por métodos tradicionais de coleta, portanto muitos táxons permanecem insuficientemente conhecidos. A amostragem incompleta tem obscurecido o conhecimento da diversidade dos equimiídeos, delimitado artificialmente suas distribuições geográficas e restringido a amostragem taxonômica nas análises filogenéticas, mas a situação está melhorando. Na última década, quatro novos gêneros arbóreos (*Callistomys*, *Pattonomys*, *Santamartamys* e *Toromys*) foram descritos para refletir a nova compreensão das relações de grupo (EMMONS, 2005; EMMONS *et al.*, 2002; IAK-XIMENES *et al.*, 2005).

As primeiras análises filogenéticas de equimiídeos, usando seqüências do gene mitocondrial do citocromo-*b* (*cyt-b*), ressaltaram uma clara diferenciação de gêneros e sugeriram sua divergência quase simultânea. Lara *et al.* (1996), apropriadamente chamaram a estrutura de árvore resultante de "filogenia-em-estrela," composta por ramificações terminais longas e distintas (principalmente gêneros e grupos de espécies) e internós curtos e mal apoiados para relacionamentos de nível superior. Eles forneceram evidência de que ratos-de-espinho da Mata Atlântica, anteriormente classificados em *Proechimys*, mereciam distinção genérica de *Trinomys* e mostraram relações estreitas entre *Proechimys* (*stricto sensu*) e *Hoplomys*. Uma análise posterior, empregando mais táxons e três genes mitocondriais (*cyt-b*, 12S e 16S) ofereceu maior resolução e revelou que *Myocastor* e *Capromys* pertenciam a Echimyidae (LEITE e PATTON, 2002). Os ratos escaladores, *Lonchothrix* e *Mesomys* foram removidos de Eumysopinae, que, em seguida, formou um clado-irmão das formas arbóreas. No entanto, nem *Isothrix* nem

Lonchothrix + *Mesomys* agruparam com os gêneros arbóreos restantes agrupados em Dactylomyinae ou Echimyinae, reafirmando a filogenia-em-estrela.

Recentemente, Galewski *et al.* (2005) adicionaram o éxon 28 do gene nuclear do fator de von Willebrand (vWF) aos dados anteriores, gerando mais resolução para alguns membros terrestres. Eles descobriram três clados de equimiídeos: (*Myocastor*, *Thrichomys* (*Proechimys*, *Hoplomys*)); um segundo de ((*Euryzygomatomys*, *Clyomys*) *Trinomys*); e um terceiro dos gêneros arbóreos. No entanto, a posição de *Capromys* e as inter-relações dos gêneros arbóreos continuaram não-resolvidas. Usando um relógio molecular relaxado, eles estimaram que gêneros mais modernos datam do Mioceno médio (14,4 Ma); radiações das espécies dos gêneros arbóreos foram datadas no Plioceno (2,3 a 2,7 Ma).

A morfologia permite diagnóstico confiável para a maioria dos gêneros de equimiídeos, mas assim como o conjunto de dados moleculares oferece pouco apoio para a maioria dos agrupamentos de supragenéricos. Empregando 50 caracteres cranianos e dentários para 54 táxons (23 deles extintos), Carvalho e Salles (2004) mostraram que as formas semifossoriais *Carterodon*, *Clyomys* e *Euryzygomatomys* formam um clado com os fósseis *Pampamys* e *Theridomysops* na base de Echimyidae; eles também associaram *Trinomys* a *Proechimys* e *Hoplomys* (reformando assim Eumysopinae) e aliaram como clados-irmãos todos os gêneros arbóreos mais *Myocastor* em um clado mal resolvido. Analisando os gêneros arbóreos usando 47 caracteres externos, cranianos e dentários, (EMMONS, 2005) recuperaram *Echimys*, *Isothrix*, *Makalata*, *Pattonomys* e *Phyllomys* como gêneros monofilético, razoavelmente bem apoiados, mas encontraram apoio fraco ou duvidoso para agrupamentos genéricos, tribais e subfamiliaais.

Hipóteses de vicariância são sugeridas para explicar a divergência de alguns gêneros de equimiídeos (LEITE e PATTON, 2002). Esses mesmos dados, no entanto, apontam para uma diferenciação de aproximadamente 3,5 milhões de anos atrás para dois pares de gêneros, tendo cada par um gênero Amazônico e um da Floresta Atlântica: os ratos arborícolas *Echimys* (Amazônico) e *Phyllomys* (Floresta Atlântica) e os ratos do bambu *Dactylomys* (Amazônico) e *Kannabateomys* (Floresta Atlântica). Nessa data teria havido uma abrupta queda na temperatura e talvez um clima muito mais seco. Assim, a floresta úmida e contínua que se apresentava há cinco milhões de anos na América do Sul e abrigaria os ancestrais comuns dos pares de gêneros teria sofrido uma retração, passando a restringir-se à Costa Atlântica e à bacia Amazônica. Uma vez que os ratos das árvores e os ratos do bambu são típicos das áreas de florestas, eles constituiriam as formas vicariantes, agora restritas à Amazônia e à Floresta Atlântica (LEITE e PATTON, 2002). Galewski et al. (2005), no entanto, estimaram as divergências entre *Echimys* e *Phyllomys*, e entre *Dactylomys* e *Kannabateomys* como 10,3 e 9,5 milhões de anos, respectivamente, coincidindo com a época da queda do nível do mar mais significativa do final do Terciário, levando-os a postular que este evento de regressão marinha poderia estar ligado a mudanças climáticas na América do Sul, implicando a redução de florestas úmidas. Segundo esses autores, as variações paleoclimáticas e paleoambientais durante o Mioceno desempenharam um papel crucial na diversificação ecomorfológica dos equimiídeos.

Proechimys

O gênero *Proechimys* de ratos-de-espinho representa um dos mais diversos grupos de roedores neotropicais com 63 formas nomeadas (WOODS e KILPATRICK, 2005). Revisado em parte por Reig *et al.* (1980), Gardner e Emmons (1984) e Patton (1987), o gênero pode incluir *Hoplomys* (LARA *et al.*, 1996;

PATTON e REIG, 1989). O gênero, devido a sua alta diversidade e vasta distribuição geográfica, distribuindo-se das florestas de Honduras ao Paraguai, Amazônia e matas de galeria do Cerrado do Brasil central, é taxonomicamente um dos menos compreendidos entre todos os mamíferos neotropicais. O diagnóstico das espécies e, conseqüentemente, a definição de unidades naturais em *Proechimys* têm sido prejudicados pelo extraordinário nível de variabilidade intra e interpopulacional, havendo sobreposição de caracteres morfológicos entre as espécies. Mesmo os cariótipos, que têm sido úteis em diferenciar táxons de *Proechimys* em simpatria (PATTON e GARDNER, 1972), são muitas vezes altamente variáveis geograficamente (GARDNER e EMMONS, 1984; REIG *et al.*, 1980; REIG e USECHE, 1976).

Apesar da alta variabilidade intra e interpopulacional de caracteres, algum progresso vem sendo feito na definição de espécies e seus prováveis limites geográficos (GARDNER e EMMONS, 1984; PATTON, 1987). Usando vários caracteres qualitativos craniodentais e baculares, Patton (1987) definiu nove grupos de espécies de *Proechimys*: *decumanus*, *canicollis* e *simonsi* como grupos monotípicos e *semispinosus*, *longicaudatus*, *goeldii*, *guyannensis*, *cuvieri* e *trinitatus* como grupos politípicos. Patton *et al.* (2000), utilizando uma abordagem baseada em técnicas citogenéticas, moleculares, biogeográficas e morfológicas detectaram oito espécies de *Proechimys* apenas ao longo do rio Juruá em território brasileiro.

Dados cariológicos são muito úteis para a identificação dos táxons de *Proechimys*. As espécies desse gênero apresentam variação considerável no número diplóide, de $2n = 14$ (BARROS, 1978) a $2n = 62$ cromossomos (AGUILERA e CORTI, 1994; REIG e USECHE, 1976). Tal variação levou alguns autores a levantar a hipótese de que divergências cariotípicas seriam profundamente relevantes para a

especiação de *Proechimys* (AGUILERA e CORTI, 1994; PATTON e GARDNER, 1972). Reig e Useche (1976) identificaram cinco cariótipos diferentes em exemplares morfológicamente indistinguíveis do gênero *Proechimys* coletados no Peru: *P. brevicauda* ($2n = 24$), *P. longicaudatus* ($2n = 28$), *P. semispinosus* ($2n = 30$), *P. handeei* ($2n = 32$) e *P. guyannensis* ($2n = 40$). Fato similar foi detectado em exemplares coletados no Brasil. Barros (1978) descreveu três novas espécies de *Proechimys* em um complexo de animais morfológicamente idênticos, provenientes do Pará: *Proechimys* sp.1 com $2n = 30$; *Proechimys* sp.2 com $2n = 26$, 27 e 26/27 e *Proechimys* sp.3 com $2n = 14$, 15 e 16. No entanto, as diferenças cariotípicas não estão restritas apenas aos números diplóides; Machado *et al.* (2005) descreveram quatro cariomorfos com $2n = 30$, três com $2n = 28$, um com $2n = 15$ e um com $2n = 44$, encontrados em 42 espécimes coletados em 12 localidades de Floresta Amazônica, Cerrado e áreas transicionais, resultando em um total de nove citótipos de *Proechimys*. Esses diferentes citótipos foram alocados em cinco espécies distintas representando os grupos *goeldii*, *guyannensis* e *longicaudatus*.

Alguns autores realizaram estudos combinando citogenética e sistemática molecular. Da Silva (1998) encontrou quatro espécies novas através de caracterização morfológica e genética (cariótipos e citocromo *b*): *P. echinothrix* ($2n = 32$, NF = 60); *P. kulinae* ($2n = 34$, NF = 52); *P. gardneri* ($2n = 40$, NF = 56); *P. handeei* ($2n = 40$, NF = 56). Weksler *et al.* (2001) analisaram dados cariológicos, morfométricos, morfológicos e moleculares entre populações e examinaram o atual arranjo taxonômico de *P. roberti* e *P. oris*. Seus resultados, juntamente com uma análise filogenética de seqüências do citocromo *b* levaram os autores a concluir que *P. roberti*, conhecido anteriormente por sua distribuição isolada, é uma espécie do grupo

guyannensis e que *P. oris*, que representa as espécies que ocorrem no leste da Amazônia, é provavelmente um sinônimo júnior de *P. roberti*.

Vilela (2005) examinou parte dos grupos de espécies de *Proechimys* com base em uma análise conjunta do gene mitocondrial do citocromo *b*, de cariótipos e de distribuição geográfica, encontrando suporte para o monofiletismo do gênero *Proechimys*. *P. cuvieri*, geralmente considerado em um grupo à parte, o grupo *cuvieri*, apresentou estreito relacionamento com espécies do grupo *longicaudatus*. Este grupo, segundo esse estudo é um grupo natural apenas se acrescido de *P. cuvieri*, juntamente com *P. longicaudatus*, *P. brevicauda* e uma espécie nova morfologicamente assemelhada a *P. longicaudatus*, mas geneticamente distinta. O grupo *goeldii* não foi refutado, nem corroborado e incluiu: *P. goeldii*, *P. quadruplicatus*, *P. steerei* e uma espécie nova morfologicamente assemelhada a *P. goeldii*, porém geneticamente distinta. O grupo *guyannensis* incluiu *P. arabupu*, *P. guyannensis* e uma espécie ainda sem nome, *P. sp. A*, mas não incluiu *P. roberti* que formou um grupo separado das outras espécies. *P. gardneri* também não agrupou com espécies do grupo *guyannensis* e, quando agrupado, formou um grupo à parte com *P. kulinae*. O grupo *simonsi* confirmou-se como um grupo monotípico. *P. echinothrix* também formou um grupo monotípico. As relações filogenéticas supra-específicas em *Proechimys* encontradas através do citocromo *b* foram particularmente pouco resolvidas, sugerindo uma diversificação explosiva de muitas espécies do gênero.

O gênero vem despertando interesse desde que estudos recentes demonstraram que *Proechimys* poderia ter mecanismos naturais endógenos que fazem com que este animal seja resistente a epileptogênese como observado quando estes animais são submetidos a diferentes protocolos de epilepsia experimental (ARIDA *et al.*, 2005). A

resistência aos tratamentos epileptogênico foi inicialmente caracterizada por Racine (1972), com base nessas observações passou-se a investigar vários mecanismos neurais potencialmente importantes que poderiam estar por trás da resistência de *Proechimys* à epilepsia (ANDRIOLI *et al.*, 2009; ARIDA *et al.*, 2005; CARVALHO *et al.*, 2003; FABENE *et al.*, 2001; ROCHA *et al.*, 2006).

Thrichomys

Os punarés ou rabudos, como são conhecidos popularmente os roedores do gênero *Thrichomys* habitam ambientes xéricos e rochosos nos biomas da Caatinga e Cerrado brasileiros e do Chaco paraguaio e boliviano (ALHO *et al.*, 1986; ANDERSON, 1997; CABRERA, 1961; MARES *et al.*, 1985; MOOJEN, 1952; STREILEIN, 1982). Essa ampla distribuição está intimamente associada com o cinturão diagonal de formações abertas que se estende ao longo de um eixo nordeste-sudoeste separando a Floresta Amazônica e a Mata Atlântica (ALHO, 1982; ALHO *et al.*, 1986; MARES *et al.*, 1986; MARES e OJEDA, 1982; MARES *et al.*, 1985).

O gênero *Thrichomys*, anteriormente denominado *Cercomys* (Cuvier, 1829) (nome este cujo holótipo é um composto constituído por elementos dos quais nenhum representa *Thrichomys*), foi, durante muito tempo, considerado monotípico e *Thrichomys apereoides* sua única espécie (CABRERA, 1961; EISENBERG e REDFORD, 1999; HONACKI *et al.*, 1982; NOWAK, 1991; PETTER, 1973; WOODS, 1993).

Com base nas áreas de ocorrência e padrões de coloração reconhecia-se cinco subespécies de *Thrichomys apereoides*: *T. a. apereoides* (Lund, 1839), no oeste de Minas Gerais a Goiás; *T. a. inermis* (Pictet, 1843), em Jacobina na Bahia; *T. a. pachyurus* (Wagner, 1845), em Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, e Norte de São Paulo; *T. a. fosteri* Thomas, 1903, no Paraguai e na Bolívia; e *T. a. laurentius*

Thomas, 1904, do Ceará a Pernambuco (ANDERSON, 1997; CABRERA, 1961; MOOJEN, 1952).

Apesar de sua ampla distribuição, a maioria dos estudos sobre variação morfológica e citogenética em *Thrichomys* tem abordado principalmente amostras de populações do Nordeste brasileiro. Dos estudos de variação morfológica, podemos citar aqueles com análise de variação craniométrica em populações da região Nordeste (BANDOUK e REIS, 1995; BANDOUK *et al.*, 1996; DUARTE *et al.*, 1998), e de morfometria geométrica de mandíbula (DUARTE *et al.*, 2000) e de crânio (REIS *et al.*, 2002a, b) em populações da região Nordeste e estados de Minas Gerais e Goiás. Os estudos de morfometria geométrica de crânio detectaram duas unidades geográficas morfometricamente diferenciadas: a primeira incluía populações dos estados de Ceará, Paraíba, Pernambuco e Alagoas enquanto a segunda era representada por amostras dos estados de Bahia, Minas Gerais e Goiás.

O gênero *Thrichomys* tem despertado interesse nos últimos anos pela variedade de cariótipos que têm sido descritos em diferentes localidades. Souza e Yonenaga-Yassuda (1982) fizeram a primeira descrição de cariótipos de *Thrichomys* em uma amostra de 22 exemplares de cinco localidades no estado de Pernambuco que apresentaram $2n = 30$, $NF = 54$. A não ser por um único exemplar de Exú, todos os machos apresentaram o cromossomo Y submetacêntrico. Além disso, um espécime de São Caetano apresentou heteromorfismo no par 1 e uma fêmea de Floresta do Navio possuía o par X heteromórfico.

Svartman (1989) descreveu uma variação do cariótipo com $2n = 30$, em que o NF foi igual a 56, proveniente de um exemplar macho coletado no Distrito Federal. Esse mesmo cariótipo foi encontrado no estado do Tocantins por Lima (2000).

Leal-Mesquita (1991) e Leal-Mesquita *et al.* (1993) encontraram dois cariótipos bastante distintos em localidades próximas na região do médio Rio São Francisco na Bahia: $2n = 30$, $NF = 54$, na margem oeste (esquerda); e $2n = 26$, $NF = 48$, na margem leste (direita); sugerindo que os cariótipos encontrados representavam espécies distintas. Já Bonvicino *et al.* (2002) descreveram novos cariótipos e associaram estes e os cariótipos já descritos aos nomes disponíveis, de acordo com suas localidades-tipo e ocorrência dos diferentes cariomorfos: *Thrichomys apereoides apereoides* para $2n = 28$, $NF = 50$; *T. a. laurentius* para $2n = 30$, $NF = 54$; *T. inermis* para $2n = 26$, $NF = 48$ e *T. pachyurus* para $2n = 34$, $NF = 64$. Dois cariótipos ($2n = 28$, $NF = 52$ e $2n = 30$, $NF = 56$) não puderam ser atribuídos a nenhum nome existente. Os autores propuseram modelos alopátricos e/ou parapátricos para diversificação cariotípica em *Thrichomys* sem, no entanto, fazer uma revisão taxonômica.

Basile (2003) propôs uma revisão taxonômica para o grupo, baseada em uma análise conjunta de dados morfológicos, morfométricos, variação geográfica e cariotípica. A autora reconhece quatro espécies distintas do gênero *Thrichomys*: *T. apereoides*, com distribuição pelo Norte do estado de Minas Gerais até o Sudoeste do estado de Goiás; *T. inermis* que ocorre na porção leste do estado de Bahia, delimitada a norte e a oeste pelo Rio São Francisco; *T. laurentius* que apresenta uma distribuição restrita à região leste dos estados de Alagoas e Pernambuco, associada às Florestas Estacional Decidual e Ombrófila; e *T. fosteri* distribuído nos estados de Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e no Paraguai. Embora se tenha conseguido distinguir esses táxons, há uma grande área de ocorrência do gênero onde todos os prováveis táxons são novas espécies, não possuindo nomes disponíveis. Essa área corresponde ao interior dos estados de Alagoas, Bahia, Ceará, Goiás, Mato Grosso, Minas Gerais,

Paraíba, Pernambuco, Piauí e Tocantins. Os espécimes dessas amostras são muito semelhantes entre si, sendo indistinguíveis, e apresentam quatro cariomorfotipos diferentes ($2n = 30$, $NF = 54$; $2n = 30$, $NF = 56$; $2n = 28$, $NF = 52$; $2n = 26$, $NF = 48$).

Um estudo da variação cariotípica e morfométrica de *Thrichomys*, comparando exemplares de Lagoa Santa (localidade-tipo de *T. apereoides*), em Minas Gerais, com $2n = 28$, $NF = 50$ e do norte do Pantanal, em Mato Grosso, com $2n = 34$, $NF = 64$, confirmou tratarem-se de espécies distintas e atribuiu o nome *T. pachyurus* para a amostra de Mato Grosso, por estar próxima a Cuiabá, a localidade-tipo da espécie (PESSÔA *et al.*, 2004).

Braggio e Bonvicino (2004), com base em cerca de 1100 pares de bases do citocromo *b*, reconstruíram filogenias (por agrupamento de vizinhos, máxima parcimônia e máxima verossimilhança) e sugeriram o seguinte arranjo: *T. pachyurus* ($2n = 34$), *T. inermis* ($2n = 26$), *T. sp. n.* ($2n = 30$, $NF = 56$) e *T. apereoides* ($2n = 28$, $NF = 50$ ou 52 ; $2n = 30$, $NF = 54$). Os autores explicaram este último como uma diferenciação cariotípica recente e/ou extinção casual de linhagens de uma população ancestral, na qual o polimorfismo do DNA mitocondrial estava presente.

Há, porém, alguns equívocos nas citações feitas por Bonvicino *et al.* (2002) e repetidos por Braggio e Bonvicino (2004) quanto à localização de alguns cariótipos. O exemplar de $2n = 30$, $NF = 56$ do Tocantins foi descrito por Lima (2000) como sendo proveniente da Fazenda Maracujá, no município Pequizeiro, e não na Fazenda Osara, no município de São Sebastião, conforme foi apresentado nos estudos mencionados.

Além disso, Bonvicino *et al.* (2002) e Braggio e Bonvicino (2004) supuseram que a localidade de Queimada, na Bahia, apontada por Leal-Mesquita (1991) como uma das localidades de origem de exemplares com $2n = 30$ e $NF = 54$, tratava-se do

município de Queimadas, no Nordeste Baiano, na região de Euclides da Cunha, enquanto as coordenadas fornecidas por Leal-Mesquita *et al.* (1993) localizam Queimadas na região dos Mares de Dunas na margem oeste do Médio Rio São Francisco, Bahia. Isso levou Bonvicino *et al.* (2002) e Braggio e Bonvicino (2004) a deduzirem, erroneamente, que em toda a porção leste da Bahia é encontrado o cariótipo de $2n = 30$, $NF = 54$, e que o cariótipo de $2n = 26$, $NF = 48$ limita-se apenas à porção central do mesmo estado.

Em uma análise combinada de dados moleculares, citogenéticos e biogeográficos, Vilela (2005) sugeriu que o gênero *Thrichomys* é composto por pelo menos cinco espécies: *T. inermis* ($2n = 26$, $NF = 48$) no centro e leste da Bahia; *T. pachyurus* ($2n = 30$, $NF = 56$) em Goiás, norte de Mato Grosso e oeste do Tocantins; *T. fosteri* ($2n = 34$, $NF = 64$) em Mato Grosso do Sul, sul de Mato Grosso e no Paraguai; *T. sp. n.* ($2n = 26$, $NF = 48$) no sudeste do Tocantins; e *T. apereoides* que, ao contrário de estudos anteriores, naquele trabalho teve pouco suporte como grupo monofilético e apareceu dividido em, ao menos, três clados: (1) populações do norte e centro de Minas Gerais ($2n = 28$, $NF = 50$ ou 52); (2) populações do Ceará, Paraíba, Piauí, Sergipe e oeste de Alagoas e Pernambuco ($2n = 30$, $NF = 54$); e (3) populações do sul da Bahia ($2n = 28$, $NF = 52$; ou $2n = 30$, $NF = 54$ ou 56). Apesar de geralmente apresentarem suporte apenas moderado e valores de distâncias genéticas entre eles variando de pouco a considerável, esses três clados apresentaram composições de cariótipos distintas e aparentemente representam casos de especiação recente com pouco fluxo gênico. Uma espécie adicional, *T. laurentius*, foi reconhecida em estudo anterior (BASILE, 2003) baseando-se em dados morfológicos e morfométricos, com distribuição pelo leste de Alagoas e Pernambuco, cujo cariótipo ($2n = 30$, $NF = 54$) é semelhante ao encontrado nas populações do clado '2' de *T. apereoides*.

Trinomys

Os ratos-de-espinho terrestres do gênero *Trinomys*, têm uma ampla distribuição, com onze espécies e oito subespécies reconhecidas (WOODS E KILPATRICK, 2005), em seis estados brasileiros (LARA *et al.*, 2002). Essas espécies são encontradas principalmente em áreas de Mata Atlântica do leste do Brasil, em altitudes que variam do nível do mar a 1,3 mil metros (BONVICINO *et al.*, 1997; EISENBERG e REDFORD, 1999; GEISE *et al.*, 2004; LARA e PATTON, 2000; LARA *et al.*, 2002; MOOJEN, 1948; PESSÔA *et al.*, 1996). Aspectos de sua distribuição, limites de espécies e taxonomia ainda são pouco resolvidos, com vários táxons conhecidos apenas por suas localidades-tipo e adjacências: *Trinomys graciosus bonafidei* (MOOJEN, 1948), *Trinomys yonenagae* (DA ROCHA, 1995), *Trinomys moojeni* (PESSÔA *et al.*, 1992), *Trinomys eliasi* (PESSÔA e REIS, 1993) e *Trinomys mirapitanga* (LARA *et al.*, 2002).

Thomas (1921) dividiu o gênero *Proechimys* em dois subgêneros (*Proechimys sensu stricto* e *Trinomys*). Porém, Lara *et al.* (1996), com base em seqüências do gene mitocondrial do citocromo *b*, mostraram que *Trinomys* não está filogeneticamente relacionados com *Proechimys* e deve, portanto, ser considerado um gênero separado. Esses autores também mostraram que o gênero é composto por três clados distintos cujas divergências de seqüências são iguais ou maiores que as encontradas entre outros gêneros de equimiídeos. A filogenia de seqüências completas do citocromo *b* de Lara *et al.* (1996) não resolveu as relações de grupos-irmãos entre a maioria dos gêneros da família Echimyidae, incluindo os dois gêneros *Trinomys* e *Proechimys*, nem entre os clados de *Trinomys*. No entanto, Lara *et al.* (1996) mantiveram uma visão conservadora e trataram *Trinomys* como uma unidade monofilética. Este grupo possui caracteres morfológicos e citogenéticos únicos que podem ser sinapomórficos,

mas porque a polaridade é difícil determinar, para equimídeos em geral, o monofiletismo de *Trinomys* só pôde ser adotado como uma hipótese de trabalho.

Cada uma das espécies descritas de *Trinomys* tem uma distribuição restrita, e muitos táxons formais (espécies ou subespécies reconhecidas atualmente) são conhecidos apenas em suas localidades-tipo. Uma extensa variação dentro e entre populações torna a identificação taxonômica e classificação das populações locais uma tarefa desafiadora, contribuindo para uma sistemática confusa. Embora alguns estudos tenham sido publicados sobre a sistemática, ecologia e história natural de *Proechimys*, pouco há sobre *Trinomys*. O trabalho mais abrangente sobre a sistemática deste táxon foi produzido por Moojen (1948). Apenas recentemente estudos taxonômicos mais detalhados foram iniciados, com os trabalhos de Pessôa (1992), Pessôa e Reis (1991, 1992a, b, 1993, 1994) e Pessôa e Reis (1996). Estudos citogenéticos também têm sido úteis na caracterização e diagnóstico de espécies de *Trinomys* (CORRÊA *et al.*, 2005; LEAL-MESQUITA *et al.*, 1992; PESSÔA *et al.*, 2005; YONENAGA-YASSUDA *et al.*, 1985). Esses estudos, com base em cariótipos, morfologia e morfometria, foram úteis na criação de caracteres diagnósticos para as unidades taxonômicas reconhecidas, embora não tenham tentado colocar a nova informação em um contexto filogenético. No entanto, as informações apresentadas na revisão taxonômica de Pessôa (1992), forneceram a base para uma análise filogenética, que testasse os arranjos taxonômicos (e sua filogenia implícita).

Essa base serviu para que Lara e Patton (2000) analisassem as relações filogenéticas e filogeográficas entre e dentro das espécies de *Trinomys* usando dados de sequência do citocromo *b*. Os níveis de divergência das sequências entre as espécies de *Trinomys* foram tão elevados quanto os encontrados entre os táxons de equimídeos reconhecidos como gêneros diferentes, resultados similares aos

encontrados por Lara, *et al.* (1996). *Trinomys* engloba três clados distintos monofiléticos que mostraram uma concordância notável com a distribuição da vegetação. Os haplótipos do clado 1 estão distribuídos ao longo da costa do sudeste brasileiro, seguindo a floresta tropical úmida. Os membros do clado 2 são encontrados nas florestas semidecíduas. *T. albispinus* representa o clado 3 e é encontrado em uma vegetação mais xérica. Estimativas de tempos de divergência separando os três clados forneceram um intervalo de 1,6 a 7,4 milhões de anos, anterior às flutuações climáticas do Pleistoceno. Portanto, a hipótese de refúgios do Pleistoceno tardio na Mata Atlântica não pode explicar a divergência dos clados de *Trinomys*, mas provavelmente as oscilações climáticas do Pleistoceno moldaram a distribuição atual das espécies. Lara e Patton (2000) sugeriram então uma ampla revisão taxonômica, refletindo as relações filogenéticas das entidades monofiléticas dentro do gênero *Trinomys*, o grau de diferenciação molecular e a diagnosticabilidade morfológica.

No presente estudo procurou-se datar os principais eventos de cladogênese envolvendo unidades taxonômicas dos gêneros de equimiídeos *Proechimys*, *Thrichomys* e *Trinomys*, relacionando-os com mudanças climático-vegetacionais que tenham ocorrido na região neotropical, mais especificamente nas regiões da Floresta Amazônica, da Mata Atlântica e das formações abertas que as separam.

Objetivos

Este projeto teve como principal objetivo investigar como as mudanças climático-vegetacionais ocorridas durante o Cenozóico podem ter influenciado a fauna sul-americana, mais especificamente de pequenos mamíferos terrestres. Foram utilizadas ferramentas de filogenia e datação moleculares, para testar e propor hipóteses que resultaram em contribuições para a compreensão da história evolutiva da região neotropical e caracterização de espécies de roedores da família Echimyidae, aumentando o conhecimento da distribuição e taxonomia desses táxons. Para tanto pretendeu-se datar os principais eventos de cladogênese envolvendo unidades taxonômicas dos gêneros de equimiídeos terrestres *Proechimys*, *Thrichomys* e *Trinomys*, da Amazônia, do Cerrado e da Mata Atlântica, respectivamente, relacionando-os com mudanças climático-vegetacionais que teriam ocorrido na região neotropical, principalmente a partir do Oligoceno.

Materiais e Métodos

Materiais

Para estimar as datas dos eventos de cladogênese envolvendo unidades taxonômicas de cada gênero construímos matrizes com seqüências de até 801 pares de bases do gene mitocondrial do citocromo *b*, sendo 42 seqüências de *Proechimys* (Tabela 1), 31 de *Thrichomys* (Tabela 2) e 21 de *Trinomys* (Tabela 3).

Tabela 1. Exemplares do gênero *Proechimys* utilizados em nossas análises, suas respectivas localidades, coordenadas, espécies, números de acesso no GenBank (quando disponíveis), tamanhos dos fragmentos em pares de bases e referências.

Exemplar ¹	Localidade ²	Lat.	Lon.	Referido como	GenBank / Procedência
ALG14040	San Carlos de Rio Negro, VEN	1,9	-67,1	<i>P. amphichoricus</i>	U35413
INPA3445	Sobral, AC	-8,4	-72,8	<i>P. brevicauda</i>	MVZ-UC, Berkeley
MVZ157878	La Poza, PER	-5,9	-78,7	<i>P. brevicauda</i>	MVZ-UC, Berkeley
V-939	Nouragues, GUF	4,1	-52,7	<i>P. cayennensis</i>	AJ2513978
PCA2477	Pic Matecho, GUF	3,8	-53,0	<i>P. cayennensis</i>	AY206606
INPA3461	Igarapé Porongaba, AC	-8,7	-72,8	<i>P. cuvieri</i>	MVZ-UC, Berkeley
INPA3476	Seringal Condor, AM	-6,8	-70,9	<i>P. cuvieri</i>	MVZ-UC, Berkeley
MVZ160091	Bolivar, VEN	6,5	-61,7	<i>P. cuvieri</i>	MVZ-UC, Berkeley
PCU2336	Baramita, GUF	7,4	-60,5	<i>P. cuvieri</i>	AY206626
PCU2475	Pic Matecho, GUF	3,8	-53,0	<i>P. cuvieri</i>	AY206627
INPA3482	Lago Vai-Quem-Quer, AM	-3,3	-66,0	<i>P. echinothrix</i>	MVZ-UC, Berkeley
MVZ187209	Altamira, AM	-6,6	-68,9	<i>P. gardneri</i>	MVZ-UC, Berkeley
USNM549572	Altamira, PA	-3,7	-52,4	<i>P. goeldii</i>	MVZ-UC, Berkeley
CIT1950	UHE Guaporé, MT	-15,3	-59,2	<i>P. gr. goeldii</i>	este estudo
CIT588	Gaúcha do Norte, MT	-13,2	-53,3	<i>P. gr. goeldii</i>	este estudo
CIT648	Juruena, MT	-10,3	-58,5	<i>P. gr. goeldii</i>	este estudo
ALG14242	Río Mawarinuma, VEN	0,8	-66,2	<i>P. guyannensis</i>	MVZ-UC, Berkeley
MNRJ42831	São João da Baliza, RR	1,0	-59,9	<i>P. guyannensis</i>	MVZ-UC, Berkeley

MUSM13340	Nuevo San Juan, PER	-5,3 -73,2	<i>P. kulinae</i>	MVZ-UC, Berkeley
MVZ187193	Barro Vermelho, AM	-6,5 -68,8	<i>P. kulinae</i>	MVZ-UC, Berkeley
CIT1124	PN Emas, GO	-18,3 -52,9	<i>P. longicaudatus</i>	este estudo
CIT1949	UHE Guaporé, MT	-15,3 -59,2	<i>P. longicaudatus</i>	este estudo
CIT375	Aripuanã, MT	-10,2 -59,5	<i>P. longicaudatus</i>	este estudo
CIT441	Apiacás, MT	-9,6 -57,4	<i>P. longicaudatus</i>	este estudo
CIT622	Juruena, MT	-10,3 -58,5	<i>P. longicaudatus</i>	este estudo
TTS119	El Refugio, BOL	-14,8 -61,0	<i>P. longicaudatus</i>	MVZ-UC, Berkeley
CIT1359	Uruçuí-Uma, PI	-8,9 -45,0	<i>P. oris</i>	este estudo
CIT1402	Paraná, TO	-12,5 -47,9	<i>P. oris</i>	este estudo
CIT1488	Peixe, TO	-12,0 -48,5	<i>P. oris</i>	este estudo
CJ5	FLONA Carajás, PA	-6,4 -50,0	<i>P. oris</i>	MVZ-UC, Berkeley
LPC714	Rio Santa Teresa, TO	-11,8 -48,6	<i>P. oris</i>	MVZ-UC, Berkeley
MVZ157871	La Poza, PER	-5,9 -78,7	<i>P. quadruplicatus</i>	MVZ-UC, Berkeley
CIT458	Cláudia, MT	-11,6 -55,1	<i>P. roberti</i>	este estudo
CIT589	Gaúcha do Norte, MT	-13,2 -53,3	<i>P. roberti</i>	este estudo
MVZ197580	RESEC Cristalino, MT	-9,6 -55,9	<i>P. roberti</i>	MVZ-UC, Berkeley
CIT714	Vila Rica, MT	-9,9 -51,2	<i>P. roberti</i>	EU544666
MVZ190710	Penedo, AM	-6,8 -70,8	<i>P. simonsi</i>	MVZ-UC, Berkeley
JLP11051	Madre de Dios, PER	-12,7 -71,3	<i>P. simonsi</i>	U35414
IM3575	UHE Samuel, RO	-8,9 -63,3	<i>P. sp.</i>	MVZ-UC, Berkeley
JLP16737	Macaco, AM	-2,1 -62,1	<i>P. steerei</i>	MVZ-UC, Berkeley
MVZ160036	Reserva Cusco Amazônico, PER	-12,6 -69,1	<i>P. steerei</i>	MVZ-UC, Berkeley

¹ Exemplares estão depositados nas coleções do: Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus (INPA), Museu Nacional, Rio de Janeiro (MNRJ), Museum of Vertebrate Zoology, University of California, Berkeley (MVZ), United States National Museum, Washington (USNM). Outros prefixos correspondem aos números de campo de espécimes coletados por: A. L. Gardner (ALG); F. Catzefflis (V); J. L. Patton (JLP), Laboratório de Citogenética de Vertebrados, IB-USP (CIT).

² AC = Acre; AM = Amazonas; GO = Goiás; MT = Mato Grosso; PA = Pará; PI = Piauí; RO = Rondônia; RR = Roraima; TO = Tocantins. BOL = Bolívia; GUF = Guiana Francesa; PER = Peru; VEN = Venezuela.

Tabela 2. Exemplos do gênero *Thrichomys* utilizados em nossas análises com o gene do citocromo b, suas respectivas localidades, coordenadas, espécies, números de acesso no GenBank, tamanhos dos fragmentos em pares de bases e referências.

<i>Exemplar</i> ¹	<i>Localidade</i> ²	<i>Lat.</i>	<i>Lon.</i>	<i>Referido como</i>	<i>GenBank / Procedência</i>
LBCE 1257	João Costa, PI	-8,5	-42,4	<i>T. apereoides</i>	AY083332
LBCE 862	Coronel José Dias, PI	-8,8	-42,5	<i>T. apereoides</i>	AY083334
LV-XI 02	Delmiro Gouveia, AL	-9,4	-38	<i>T. apereoides</i>	AY083338
CRB 1848	Jaborandi, BA	-14,6	-45,8	<i>T. apereoides</i>	AY083339
FC 107	Juramento, MG	-16,9	-43,6	<i>T. apereoides</i>	AY083341
CRB 1595	Jaborandi, BA	-14,6	-45,8	<i>T. apereoides</i>	AY083342
LBCE 1505	Caetité, BA	-14,1	-42,5	<i>T. apereoides</i>	AY083344
CIT 1225	Milagres, BA	-12,9	-39,9	<i>T. apereoides</i>	este estudo
CIT 1531	PN Serra das Confusões, PI	-9,1	-43,5	<i>T. apereoides</i>	este estudo
CIT 1546	EE Uruçuí-Una, PI	-8,9	-45,2	<i>T. apereoides</i>	este estudo
CIT 2056	Januária, MG	-15,5	-44,4	<i>T. apereoides</i>	este estudo
LGA 461	PN Gr. Sertão Veredas, MG	-15,4	-46,1	<i>T. apereoides</i>	este estudo
MA 01	S. Francisco do Brejão, MA	-5,1	-47,4	<i>T. apereoides</i>	este estudo
MA 13	Porto Franco, MA	-6,4	-47,4	<i>T. apereoides</i>	este estudo
MAS 179	Araruna, PB	-6,5	-35,7	<i>T. apereoides</i>	este estudo
LBCE 1920	Corumbá, MS	-19,3	-57	<i>T. fosteri</i>	AY083329
MS 11i	Ribas do Rio Pardo, MS	-20,5	-53,8	<i>T. fosteri</i>	MVZ-UC, Berkeley
LBCE 1302	Sento Sé, BA	-9,7	-41,9	<i>T. inermis</i>	AY083343
BIO 872	Santo Inácio, BA	-11,1	-42,7	<i>T. inermis</i>	U34854
XI 012i	Delmiro Gouveia, AL	-9,4	-38	<i>T. inermis</i>	U34855
CIT 1224	Morro do Chapéu, BA	-11,6	-41,2	<i>T. inermis</i>	este estudo
YL 46	Canudos, BA	-10	-39	<i>T. inermis</i>	MVZ-UC, Berkeley
CRB 1815	Teresina de Goiás, GO	-13,8	-47,3	<i>T. pachyurus</i>	AY083330
CRB 899	Cavalcante, GO	-14,1	-47,8	<i>T. pachyurus</i>	AY083331
CIT 1221	PN Araguaia, TO	-10,5	-50,2	<i>T. pachyurus</i>	este estudo
CIT 1544	Chapada dos Guimarães, MT	-15,9	-55,4	<i>T. pachyurus</i>	este estudo
MA 35	Figueirópolis, TO	-12,1	-49,1	<i>T. pachyurus</i>	este estudo
CIT 1409	Paraná, TO	-12,6	-47,9	<i>T. sp. n.</i>	este estudo
LGA 891	PE Jalapão, TO	-10,4	-46,3	<i>T. sp. n.</i>	este estudo
LGA 895	PE Jalapão, TO	-10,4	-46,3	<i>T. sp. n.</i>	este estudo
MTR 3926	Paraná, TO	-12,6	-47,9	<i>T. sp. n.</i>	este estudo

¹ Prefixos correspondem aos números de campo de espécimes coletados por: C. R. Bonvicino (CRB); Laboratório de Biologia e Controle da Esquistosomose, FIOCRUZ (LBCE); Laboratório de Citogenética de Vertebrados, IB-USP (APM, BIO, CIT); Laboratório de Genética Animal, UFES (LGA); Laboratório de Vertebrados, UFRJ (LV); M. A. N. de Souza (MAS); M. Lapenta e A. Bueno (MA); M. T. Rodrigues (MTR); R. Cerqueira (MS, XI); Y. Leite (YL).

² AL = Alagoas; BA = Bahia; GO = Goiás; MA = Maranhão; MG = Minas Gerais; MS = Mato Grosso do Sul; MT = Mato Grosso; PB = Paraíba; PI = Piauí; TO = Tocantins.

Tabela 3. Exemplos do gênero *Trinomys* utilizados em nossas análises com o gene do citocromo b, suas respectivas localidades, coordenadas, espécies, números de acesso no GenBank, tamanhos dos fragmentos em pares de bases e referências.

<i>Exemplar</i> ¹	<i>Localidade</i> ²	<i>Lat.</i>	<i>Lon.</i>	<i>Referido como</i>	<i>GenBank</i>
AL 3054	Cristinápolis, SE	-11,5	-37,8	<i>T. albispinus</i>	EU313251
AP 36	Bocaiúva, MG	-17,4	-43,9	<i>T. albispinus</i>	MVZ-UC, Berkeley
LG 3	Nova Friburgo, RJ	-22,3	-42,5	<i>T. dimidiatus</i>	U35167
MNR J31413	Sta. Maria Magdalena, RJ	-22,0	-42,0	<i>T. dimidiatus</i>	U35168
MAM 10	Angra dos Reis, RJ	-23,0	-44,5	<i>T. dimidiatus</i>	U35169
JDM 3	Petrópolis, RJ	-22,5	-43,2	<i>T. dimidiatus</i>	U35170
ML 141	Restinga de Maricá, RJ	-22,9	-42,8	<i>T. eliasi</i>	U35166
MNRJ 31370	Serra do Paqueta, RJ	-22,2	-42,7	<i>T. graciosus bonafidei</i>	AF194281
MNRJ 31426	Santa Tereza, ES	-19,8	-40,4	<i>T. graciosus graciosus</i>	AF194277
PH 10337	PN Caparaó, ES	-20,5	-41,8	<i>T. graciosus graciosus</i>	AF194278
PH 10340	PN Caparaó, ES	-20,5	-41,8	<i>T. graciosus graciosus</i>	AF194279
YL 3	Sta. Rita do Jacutinga, MG	-22,1	-44,1	<i>T. graciosus graciosus</i>	AF194280
CIT 1616	EB Boracéia, SP	-22,2	-48,8	<i>T. iheringi</i>	EU544664
NSV 15	Ubatuba, SP	-23,4	-45,1	<i>T. iheringi</i>	MVZ-UC, Berkeley
MVZ 193411	Ilha de São Sebastião, SP	-23,8	-45,3	<i>T. iheringi</i>	U35171
MNRJ 31459	Porto Seguro, BA	-16,4	-39,1	<i>T. mirapitanga</i>	U35173
YL 34	Grota da Aracruz Florestal, ES	-19,8	-40,2	<i>T. paratus</i>	U35165
MNRJ 31441	Conceição do Mato Dentro, MG	-19,0	-43,4	<i>T. setosus denigratus</i>	AF422923
MNRJ 31448	Rio Casca, MG	-20,2	-42,7	<i>T. setosus elegans</i>	AF422924
AL 3072	Cristinápolis, SE	-11,5	-37,8	<i>T. setosus setosus</i>	U34856

¹ Exemplares estão depositados nas coleções do: Museu Nacional, Rio de Janeiro (MNRJ); Museum of Vertebrate Zoology, University of California, Berkeley (MVZ). Outros prefixos correspondem aos números de campo de espécimes coletados por: A. Langguth (AL); L. Geise (LG); Laboratório de Citogenética de Vertebrados, IB-USP (CIT); M. Lara (ML); P. Hershkovitz (PH); P. L. B. da Rocha (PEU); R. Cerqueira (JDM, MAM); Y. Leite (YL).

² BA = Bahia; ES = Espírito Santo; MG = Minas Gerais; RJ = Rio de Janeiro; SE = Sergipe; SP = São Paulo.

Visando evitar os efeitos combinados de amostragens taxonômicas esparsas e distância dos pontos de calibração, procuramos utilizar o maior número possível de táxons e pontos de calibração, com boa proximidade entre os pontos de calibração e os nós a serem estimados. Assim nossas estimativas de tempos de divergência seriam menos suscetíveis ao aumento no grau de imprecisão causado por subamostragem somada ao uso de pontos de calibração distantes.

Com este objetivo, incluímos em nossas análises com cada matriz, seqüências obtidas no GenBank de 32 exemplares pertencentes a nove famílias de Hystricomorpha: Ctenodactylidae (*Ctenodactylus vali*, AJ389532 e *Massoutiera mzabi*, AJ389533), Bathyergidae (*Bathyergus suillus*, AY425913; *Cryptomys hottentotus nimrodi*, AY425885 e *Heliophobius argenteocinereus*, AY425940), Hystricidae (*Atherurus macrourus*, FJ931121 e *Hystrix africaeaustralis*, X70674), Erethizontidae (*Chaetomys subspinosus*, EU544660; *Coendou bicolor*, U34851; *Coendou prehensilis*, AF411581; *Erethizon dorsatum*, FJ357428; *Sphiggurus villosus*, EU544661 e EU544662), Dasyproctidae (*Dasyprocta leporina*, AF437791 e *Myoprocta acouchy*, AF437781), Caviidae (*Cavia aperea*, EU544669; *Dolichotis*

patagonun centricola, GU136724; *Hydrochoeris hydrochaeris*, GU136721 e *Kerodon rupestris*, GU136722), Octodontidae (*Octodontomys gliroides*, AF370706; *Spalacopus cyanus*, AF007061 e *Tympanoctomys barrerae*, AF007060), Ctenomyidae (*Ctenomys frater*, AF007045 e *Ctenomys latro*, AF370705) e Echimyidae, representada pelas subfamílias: Capromyinae (*Capromys pilorides*, AF422915), Dactylomyinae (*Dactylomys boliviensis*, L23339 e *Kannabateomys amblyonyx*, EU544665), Echimyinae (*Echimys macrurus*, EU302703), Myocastorinae (*Myocastor coypus*, EU544663) e Eumysopinae (*Clyomys laticeps*, AF422918; *Euryzygomatomys spinosus*, EU544667). Como grupo externo utilizamos uma sequência de *Mus musculus* (AB042809), também do GenBank.

Métodos

Isolamento do DNA, Amplificação e Seqüenciamento do Gene do Citocromo *b*

As amostras de DNA foram isoladas de fragmentos de fígado, músculo ou orelha, preservados em etanol absoluto ou congelados, seguindo os procedimentos descritos em Fetzner (1999) ou kits de extração. Dois fragmentos de DNA do citocromo *b* foram amplificados em reações em cadeia da polimerase (PCR) de 25 µl usando os pares de oligonucleotídeos MVZ 05–MVZ 16 e MVZ 127–MVZ 108 e o seguinte regime de temperaturas: desnaturação inicial 94°C/5 min; 40 ciclos de 94°C/30 s, 48°C/45 s, 72°C/1min; e extensão final a 72°C/10 min.

Após uma verificação em gel de agarose, os produtos de PCR, após serem purificados, passaram pela reação de seqüenciamento empregando o kit Big Dye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems) por 25 ciclos de

95°C/30 s, 50°C/15 s, 60°C/4 min com os mesmos oligonucleotídeos citados acima. Após lavagens com isopropanol a 75% e depois com etanol a 70%, os produtos da reação de sequenciamento foram precipitados e então ressuspensos em tampão TSR (Applied Biosystems) e então corridos em sequenciadores automáticos ABI PRISM Genetic Analyzer (modelos 3100 ou 3700). Os fragmentos foram reunidos e as seqüências montadas foram alinhadas manualmente no editor CodonCode Aligner v3.5.7 (CodonCode Corporation, 2009) e automaticamente no aplicativo ClustalW (THOMPSON *et al.*, 1994) implementado no programa BioEdit v7.0.9.0 (HALL, 1999) com penalidades 30 para abertura de deleções e 10 para extensão tanto nos alinhamentos par-a-par quanto nos múltiplos. As seqüências de aminoácidos resultantes das seqüências de nucleotídeos foram obtidas usando o programa Mesquite v2.72 (MADDISON e MADDISON, 2009), estimativas das freqüências de bases e substituições e do uso dos códons foram obtidos no programa MEGA 4 (TAMURA *et al.*, 2007) e a ocorrência de saturação foi verificada através do programa DAMBE v5.2.18 (XIA e XIE, 2001).

Análises Filogenéticas

Análises filogenéticas foram executadas utilizando o programa Treefinder versão de outubro de 2008 (JOB, 2008) para análise de máxima verossimilhança e utilizando o programa BEAST v1.5.4 (DRUMMOND e RAMBAUT, 2007) para análise bayesiana. Os modelos para máxima verossimilhança foram determinados com base no Critério de Informação de Akaike com correção (AICc) utilizando o programa Treefinder versão de outubro de 2008 (JOB, 2008); enquanto os modelos para análise bayesiana foram definidos por AIC com a ajuda do programa MrModeltest 2.3 (NYLANDER, 2004). Tendo em conta os diferentes processos

evolutivos que ocorrem em cada uma das três posições do códon, foram estimados e incorporados modelos específicos para cada posição do códon, com frequências de bases, substituições, e parâmetros desvinculados entre si.

Os suportes dos ramos na máxima verossimilhança foram dados pelo método de Strimmer e Rambaut (2002) de pesos de verossimilhança esperada em rearranjos locais (*Local Rearrangements Expected-Likelihood Weights* – LR-ELW) e por *bootstrap* (FELSENSTEIN, 1985) com mil pseudo-réplicas; ambos utilizando o programa Treefinder versão de outubro de 2008 (JOBB, 2008).

Na análise bayesiana, as cadeias markovianas foram amostradas a cada mil em dez milhões de gerações com quatro cadeias simultâneas. As probabilidades posteriores bayesianas foram calculadas combinando-se árvores amostradas por modelos de relógio estrito e relaxado após a remoção das primeiras gerações (*burnin*) das amostragens feitas a partir de cada modelo.

Datações Moleculares

Para verificar se um relógio molecular global poderia ser aplicado aos nossos dados, implementamos através do software PAUP* v4.0b10 (SWOFFORD, 2003) um teste de razão de verossimilhança entre os escores de verossimilhança de uma análise produzida pressupondo taxas de substituição homogêneas entre os ramos (relógio forçado) e de uma análise sem este pressuposto (relógio relaxado). O modelo de substituição utilizado foi o mesmo em ambas as análises, TVM+I+G, determinado por AICc no programa jModeltest v0.1.1 (POSADA, 2008). As estimativas de tempos de divergência foram calculadas usando métodos baseados em análises bayesianas (DRUMMOND *et al.*, 2002) e métodos não-bayesianos. Na análise bayesiana, as datas foram estimadas tanto por meio de relógio estrito quanto por relógio relaxado,

este último usando taxas não-correlacionadas com distribuição log-normal, conforme descrito por Drummond *et al.* (2006). Ambos os modelos foram implementados utilizando o programa BEAST v1.5.4 (DRUMMOND e RAMBAUT, 2007). Como métodos não-bayesianos foram utilizados: o método de deformação mínima da taxa global (*global rate minimum deformation* – GRMD); e uma variante do método de suavização não-paramétrica das taxas (*nonparametric rate smoothing* – NPRS) (SANDERSON, 1997) que compara as taxas em escala logarítmica (NPRS-LOG). Ambos os métodos foram implementados no programa Treefinder, versão de Junho de 2008 (JOB, 2008). Os limites de confiança para as datações por métodos não-bayesianos foram obtidos por reamostragem por *bootstrap* com cem pseudo-réplicas.

Os métodos utilizados para estimar os tempos de divergência permitiram a incorporação de múltiplos pontos de calibração com base no registro paleontológico. Assim, fósseis foram selecionados para abarcar a abrangência e profundidade filogenética dos roedores hystriognatos. Objetivando minimizar erros imprevistos associados com heterogeneidade de taxas de substituição entre linhagens, escolhemos pontos de calibração de maneira a incorporar a gama potencial de classes de taxas evolutivas através da inclusão de representantes fósseis que englobam vários atributos de história natural (DOBSON e OLI, 2007; RAMBAUT e BROMHAM, 1998; ROWE e HONEYCUTT, 2002; WILSON e REEDER, 2005). Com efeito, empregamos apenas pontos de calibração que se adequaram ao critério de cair dentro do grupo de interesse (ou seja, Hystriognathi), abrangendo a gama de nós dos mais recentes aos mais basais.

O primeiro ponto de calibração utilizado foi a radiação de Caviomorpha no Eoceno Superior-Oligoceno Inferior, aproximadamente 34 milhões de anos atrás, na

idade Mustersense de Mamíferos Terrestres Sul-americanos (*South American Land Mammal Age* - SALMA) conforme geocronologia de Kay *et al.* (1999), baseado na fauna da formação Santa Rosa na Amazônia peruana (FRAILEY e CAMPBELL JR., 2004). Como um segundo ponto de calibração utilizou-se a separação entre Caviidae e Dasyproctidae no Oligoceno inferior, a cerca de 31,5 Ma, com base na presença de um possível dasiproctídeo na fauna de Tinguiririca, no Chile (FLYNN *et al.*, 2003). Como um terceiro ponto de calibração utilizou-se a separação entre as linhagens de Echimyidae de Octodontidae e Ctenomyidae no Oligoceno Superior, a cerca de 27 milhões de anos (idade Deseadense, SALMA) (VUCETICH *et al.*, 1999). Como quarto ponto de calibração, posicionou-se o ancestral comum mais recente de Echimyidae no Mioceno inferior, a cerca de 20 milhões de anos (idade Colhuehuapiense, SALMA) (CARVALHO e SALLES, 2004). Finalmente, como quinto ponto de calibração, consideramos o ancestral comum mais recente de *Hydrochoerus*, *Kerodon* e *Dolichotis* como tendo 16 Ma (CROFT, 2007).

Resultados

Proechimys

Composição de bases e variação das seqüências

A matriz resultante apresentou 76 táxons e 801 caracteres, sendo destes: 363 constantes, 52 variáveis não-informativos para parcimônia e 386 informativos. O sinal filogenético foi significativo conforme indicado pelo teste G1 (média = 6807,092623; desvio-padrão = 77,648995; $g1 = -0,376504$; $g2 = 0,221365$). A razão de substituições entre as posições do códon foi de 4:1:16, contrastando com a razão observada por Lara *et al.* (1996), 2:1:15 para o mesmo gene.

As freqüências de G variaram muito entre as posições: 22,4% na primeira, 12,9% na segunda e 2,9% na terceira. A base mais freqüente na terceira posição do códon foi A (39,6%), seguida de C (31,9%) e T (25,7%), enquanto na segunda posição a base mais freqüente foi T (38,9%), e na primeira, A (29,5%). Essas freqüências refletem uma forte tendência para o uso preferencial de códons terminando com A, depois com C, T e G e diferem das freqüências médias obtidas, onde T (30,7%) é a mais usada, seguida por A (30,1%), C (26,5%) e G (12,7%). A composição de bases do gene do citocromo *b* em nossa matriz foi muito similar aos padrões encontrados para este gene em mamíferos em geral (IRWIN *et al.*, 1991; MA *et al.*, 1993) e equimiídeos em particular (LARA *et al.*, 1996).

As transições do tipo T $\leftrightarrow$ C na terceira posição foram as substituições mais comuns, totalizando 56; as próximas substituições mais comuns foram transversões do tipo C $\leftrightarrow$ A e do tipo T $\leftrightarrow$ A na terceira posição e transições do tipo T $\leftrightarrow$ C na primeira posição e A $\leftrightarrow$ G na terceira posição, perfazendo 21, 20, 12 e 9 substituições,

respectivamente. No total das três posições, as transições do tipo $A \leftrightarrow G$ ocorreram com uma frequência bem menor que $T \leftrightarrow C$ (16 contra 73 substituições), possivelmente devido às baixas frequências de G tipicamente encontradas no DNA mitocondrial. As transversões também apresentaram a mesma tendência, com $C \leftrightarrow A$ e $T \leftrightarrow A$ representando respectivamente 25 e 24 substituições, contra $C \leftrightarrow G$ e $T \leftrightarrow G$ representando três substituições cada.

Os dados das curvas de saturação foram consistentes com aqueles esperados para seqüências codificadoras e já descritos para o citocromo *b* de Echimyidae por Lara *et al.* (1996) e de Rodentia por Montgelard *et al.* (2002). Observou-se uma forte saturação para as transições nas terceiras posições, mas as transições nas primeiras e segundas posições e transversões em todas as posições estavam fracamente saturadas (Figura 1). A saturação observada nas terceiras posições deveu-se às transições do tipo $T \leftrightarrow C$, muito mais frequentes que as do tipo $A \leftrightarrow G$.

Figura 1: Relações entre as transições (s) e transversões (v) e as distâncias par-a-par de Jukes e Cantor (1969) para cada posição do códon em nossos dados. As linhas de tendência foram construídas por regressão linear e apresentam seus respectivos R-quadrados.

Análises filogenéticas

Em nossas análises de máxima verossimilhança, o modelo mais adequado aos nossos dados foi o HKY+G para as três posições do códon. O modelo HKY (HASEGAWA *et al.*, 1985) assume frequências distintas para cada base e duas taxas de substituições distintas, uma para as transversões e outra para as transições; a ele adicionou-se o pressuposto de que há heterogeneidade nas taxas de substituição entre os sítios, sendo que os valores dessas taxas apresentam uma distribuição gama. Cada posição teve seus parâmetros de frequências de bases, taxas de substituição e alfa otimizados independentemente. Nas análises bayesianas o modelo mais adequado foi o GTR+I+G para as três posições do códon. O modelo GTR (*General Time Reversible*), ou Modelo Geral Reversível, (TAVARÉ, 1986), assume frequências distintas para cada base e taxas distintas para cada tipo de substituição; a ele adicionou-se o pressuposto de que há uma proporção de sítios invariáveis e que há heterogeneidade nas taxas de substituição entre os sítios, sendo que os valores dessas taxas apresentam uma distribuição gama. Os valores de suporte para os principais nós de *Proechimys* estão resumidos na Tabela 4. O filograma da árvore de máxima verossimilhança ($\ln L = -15545,24$) e a árvore-consenso de *bootstrap* são apresentados na Figura 2.

Tabela 4: Suportes dos principais nós obtidos nas reconstruções filogenéticas feitas com base no gene mitocondrial do citocromo *b*.

Clados	Suportes		
	LR-ELW	BP	BPP
(<i>Proechimys</i> , <i>Myocastor</i>)	89	57	94

<i>Proechimys</i>	93	93	100
(<i>P. kulinae</i> , <i>P. gardneri</i>)	89	86	100
<i>P. kulinae</i>	64	69	79
((<i>P. ech.</i> , <i>P. rob.</i>), (gr. <i>goe.</i> , gr. <i>guy.</i> , <i>P. sim.</i> , gr. <i>lon.</i> , <i>P. cuv.</i>))	55	*	41
(<i>P. echinothrix.</i> , <i>P. roberti</i>)	65	*	81
<i>P. roberti</i> ((sudoeste, (leste, norte))	98	100	100
<i>P. roberti</i> (sudoeste)	100	100	100
<i>P. roberti</i> (leste, norte)	80	89	100
<i>P. roberti</i> (leste)	95	98	100
<i>P. roberti</i> (norte)	92	100	100
(gr. <i>goe.</i> , gr. <i>guy.</i> , <i>P. sim.</i> , gr. <i>lon.</i> , <i>P. cuv.</i>)	63	*	44
grupo <i>goeldii</i> (<i>P. goe.</i> , <i>P. sp.</i> , <i>P. ste.</i> , <i>P. qua.</i> , <i>P. amp.</i>)	73	*	93
<i>P. sp. gr. goeldii</i>	100	100	100
(<i>P. goe.</i> , <i>P. ste.</i> , <i>P. qua.</i> , <i>P. amp.</i>)	49	*	*
(<i>P. goe.</i> , <i>P. sp.</i>)	*	*	35
(<i>P. steerei</i> , (<i>P. quadruplicatus</i> , <i>P. amphichoricus</i>))	71	62	84
<i>P. steerei</i>	91	93	100
(<i>P. quadruplicatus</i> , <i>P. amphichoricus</i>)	100	100	100
<i>P. simonsi</i>	100	100	100
grupo <i>guyannensis</i> (<i>P. cherriei</i> , <i>P. arabupu</i> , <i>P. guyannensis</i>)	100	97	100
(<i>P. arabupu</i> , <i>P. guyannensis</i>)	75	93	97
<i>P. guyannensis</i>	98	100	100
(gr. <i>longicaudatus</i> , <i>P. cuvieri</i>)	87	81	100
grupo <i>longicaudatus</i> (<i>P. bre.</i> , <i>P. lon.</i> , <i>P. sp.</i>)	48	*	53
<i>P. brevicauda</i>	100	100	100
(<i>P. longicaudatus</i> , <i>P. sp.</i>)	79	56	97
<i>P. longicaudatus</i>	100	100	100
<i>P. sp. gr. longicaudatus</i>	99	99	100
<i>P. cuvieri</i> (norte, sul)	87	78	100
<i>P. cuvieri</i> (norte)	100	100	100
<i>P. cuvieri</i> (sul)	100	100	100

Os suportes dos ramos na máxima verossimilhança foram calculados pelo método de pesos de verossimilhança esperada em rearranjos locais (LR-ELW) e por *bootstrap* (BP) com mil pseudo-réplicas. As porcentagens de BP foram obtidas de árvores de consenso pela regra da maioria (50%). A partir das análises bayesianas foram estimadas as probabilidades posteriores bayesianas (BPP). *: indica que o nó não foi recuperado na respectiva análise.

Figura 2: Filograma de máxima verossimilhança (esquerda) e árvore-consenso de *bootstrap* com mil pseudoréplicas (direita). Valores de suporte estão representados nos ramos.

Taxas de evolução e datação molecular

O teste da razão de verossimilhança, comparando os escores de verossimilhança de reconstruções sem restrições e com o relógio estrito, não foi significativo ao nível de alfa 0,01 ($\ln L = -16027,61696$ com relógio forçado contra $\ln L = -15980,90571$ com relógio relaxado; razão de verossimilhança = 93,423828 com 74 graus de liberdade; $P = 0,063158$), sugerindo que não há variação significativa nas taxas de substituição entre os ramos, ou seja, a hipótese de um relógio molecular global foi aceita para esses dados.

A distribuição posterior do desvio padrão do relógio relaxado usando taxas não-correlacionadas com distribuição log-normal aproximou-se de zero na análise bayesiana, indicando que o modelo de relógio estrito é adequado a esses dados.

As estimativas de tempos de divergência, calculadas usando métodos não-bayesianos adotando um relógio global (GRMD) ou suavização de taxas (NPRS-LOG), são apresentadas na Tabela 5 e em dois cronogramas na Figura 3. As datações estimadas por métodos bayesianos são apresentadas na Tabela 6 e em dois cronogramas na Figura 4.

Tabela 5. Estimativas das médias dos tempos de divergência, e seus respectivos limites de confiança de 95%, dados pelas análises não-bayesianas das seqüências de citocromo *b*.

Clados	GRMD		NPRS-LOG		Época
	Média	95% LC	Média	95% LC	geológica
<i>(Proechimys, Myocastor)</i>	13,5	8,2-18,0	13,6	7,8-17,7	Mio. Méd. (L/ S)
<i>Proechimys</i>	8,5	6,3-11,1	8,5	6,2-12,1	Mio. Sup. (T)
<i>(P. kulinae, P. gardneri)</i>	5,4	3,5-8,5	5,7	3,1-9,2	Mio./ Pli.
<i>P. kulinae</i>	4,4	2,6-7,7	4,7	2,3-8,1	Pli. Inf.
<i>((P. ech., P. rob.), (gr. goe., gr.guy., P. sim., gr. lon., P. cuv.))</i>	7,9	5,6-10,4	7,8	5,5-10,8	Mio. Sup. (T/ M)
<i>(P. echinothrix., P. roberti)</i>	6,8	4,4-9,5	6,7	4,5-9,7	Mio./ Pli.
<i>P. roberti</i> ((sudoeste, (leste, norte))	2,7	1,7-3,9	3,1	1,3-5,1	Pli./ Ple.
<i>P. roberti</i> (sudoeste)	0,121	0,034-0,293	0,085	0,010-0,302	Ple. Sup.
<i>P. roberti</i> (leste, norte)	1,4	0,7-2,4	1,7	0,5-3,2	Ple. Inf. (G/ C)
<i>P. roberti</i> (leste)	0,100	0,016-0,251	0,142	0,002-0,472	Ple. Sup.
<i>P. roberti</i> (norte)	0,129	0,011-0,323	0,210	0,010-0,791	Ple. Sup.
<i>(gr. goe., (gr.guy., P. sim., gr. lon., P. cuv.))</i>	7,3	5,4-9,7	7,2	5,1-9,9	Mio. Sup. (T/ M)
<i>(gr.guy., (P. sim., gr. lon., P. cuv.))</i>	7,1	5,3-9,4	7,0	4,8-9,7	Mio. Sup. (T/ M)
<i>(P. sim., (gr. lon., P. cuv.))</i>	6,7	4,7-9,0	6,6	4,2-9,4	Mio. Sup. (M)
grupo <i>goeldii</i> (<i>P. sp.</i> , (<i>P. goe.</i> , <i>P. ste.</i> , <i>P. qua.</i> , <i>P. amp.</i>))	6,3	4,3-8,3	6,1	3,9-8,8	Mio. Sup. (M)
<i>P.sp. gr. goeldii</i>	0,234	0,056-0,462	0,305	0,079-0,672	Ple. Méd./ Sup.
<i>(P. goe., (P. ste., P. qua., P. amp.))</i>	5,8	4,0-8,0	5,6	3,8-8,1	Mio. Sup. (M)
<i>(P. ste., (P. qua., P. amp.))</i>	4,4	3,1-5,8	4,3	2,6-6,4	Pli. Inf.
<i>P.steerei</i>	2,7	1,6-4,1	2,8	1,4-4,5	Pli./ Ple.
<i>(P. quadruplicatus, P. amphichoricus)</i>	1,0	0,3-1,6	0,8	0,2-1,4	Ple. Inf./ Méd.
<i>(P. sim., (gr. lon., P. cuv.))</i>	6,7	4,7-9,0	6,6	4,2-9,4	Mio. Sup. (M)
<i>P. simonsi</i>	0,361	0,052-0,842	0,237	0,031-0,548	Ple. Méd./ Sup.
grupo <i>guyannensis</i> (<i>P. che.</i> (<i>P. ara.</i> , <i>P. guy.</i>))	2,1	1,4-2,9	2,3	1,3-3,7	Pli./ Ple.
<i>(P. arabupu, P. guyannensis)</i>	1,4	0,9-2,1	1,5	0,7-2,5	Ple. Inf. (G/ C)
<i>P. guyannensis</i>	0,149	0,028-0,393	0,179	0,037-0,570	Ple. Méd./ Sup.
<i>(gr. longicaudatus, P. cuvieri)</i>	5,2	3,5-7,3	5,0	3,4-7,9	Mio./ Pli.
grupo <i>longicaudatus</i> (<i>P. bre.</i> , <i>P. lon.</i> , <i>P. sp.</i>)	4,8	3,4-6,5	4,5	2,9-7,0	Pli. Inf.
<i>P. brevicauda</i>	1,3	0,8-1,8	1,1	0,5-2,0	Ple. Inf. (C)
<i>(P. longicaudatus, P. sp.)</i>	3,8	2,5-5,2	3,5	2,2-5,3	Pli. Inf./ Sup.

<i>P. longicaudatus</i>	0,4	0,1-0,7	0,4	0,1-0,8	Ple. Méd./ Sup.
<i>P. sp. gr. longicaudatus</i>	1,5	0,9-2,0	1,2	0,7-2,0	Ple. Inf. (G/ C)
<i>P. cuvieri</i> (norte, sul)	3,8	2,5-5,4	3,5	2,0-5,7	Pli. Inf./ Sup.
<i>P. cuvieri</i> (norte)	1,0	0,3-1,6	0,9	0,3-1,7	Ple. Inf./ Méd.
<i>P. cuvieri</i> (sul)	0,324	0,049-0,642	0,316	0,034-0,816	Ple. Méd. / Sup.

As estimativas de tempo são dadas em milhões de anos. GRMD: método de deformação mínima da taxa global. NPRS-LOG: método de suavização não-paramétrica das taxas, comparadas em escala logarítmica. LC: limites de confiança. As épocas geológicas correspondem à Escala de Tempo Geológico de 2009 da Sociedade Geológica Americana. Mio.: Mioceno; Pli.: Plioceno; Ple.: Pleistoceno; Inf.: Inferior; Méd.: Médio; Sup.: Superior. Subdivisões: (L) Langhiense e (S) Serravallense (Mioceno Médio); (T) Tortoniense e (M) Messiniense (Mioceno Superior); (G) Gelasense e (C) Calabriense (Pleistoceno Inferior).

Figura 3: Cronogramas com datações obtidas por métodos não-bayesianos: GRMD (esquerda) e NPRS-LOG (direita). Números à esquerda correspondem às médias das idades (em milhões de anos) estimadas para os ramos e números entre colchetes correspondem aos limites de confiança de 95%.

Tabela 6. Estimativas das médias dos tempos de divergência, e seus respectivos intervalos de 95% de HPD, dados pelas análises bayesianas das seqüências de citocromo *b*.

Clados	CLOC		UCLN		Época
	Média	95% HPD	Média	95% HPD	geológica
(<i>Proechimys</i> , <i>Myocastor</i>)	17,4	14,4-20,4	16,5	13,2-19,6	Mio. Inf. (B)
<i>Proechimys</i>	10,6	8,8-12,5	10,8	8,9-12,7	Mio. Méd./ Sup.
(<i>P. kulinae</i> , <i>P. gardneri</i>)	6,0	4,5-7,6	6,3	4,5-8,3	Mio. Sup. (M)
<i>P. kulinae</i>	5,0	3,7-6,5	5,1	3,4-6,9	Mio./ Pli.
((<i>P. ech.</i> , <i>P. rob.</i>), (<i>P. sim.</i> , gr.guy., gr. goe., gr. lon., <i>P. cuv.</i>))	9,8	-	10,1	8,4-11,8	Mio. Sup. (T)
(<i>P. echinothrix</i> , <i>P. roberti</i>)	8,0	6,1-10,0	8,2	6,2-10,6	Mio. Sup. (T/ M)
<i>P. roberti</i> ((sudoeste, (leste, norte))	3,9	2,8-5,0	3,9	2,6-5,4	Pli. Inf./ Sup.
<i>P. roberti</i> (sudoeste)	0,3	0,1-0,5	0,292	0,1-0,5	Ple. Méd./ Sup.
<i>P. roberti</i> (leste, norte)	1,8	1,1-2,4	1,8-	1,0-2,7	Ple. Inf. (G/ C)
<i>P. roberti</i> (leste)	0,3	0,1-0,5	0,264	0,1-0,5	Ple. Méd./ Sup.
<i>P. roberti</i> (norte)	0,3	0,1-0,5	0,267	0,1-0,5	Ple. Méd./ Sup.
(<i>P. sim.</i> , (gr.guy., gr. goe., gr. lon., <i>P. cuv.</i>))	9,3	-	*	*	Mio. Sup. (T)
((gr.guy., gr. goe.), (gr. lon., <i>P. cuv.</i>))	9,0	-	*	*	Mio. Sup. (T)
(gr. guyannensis, gr. goeldii)	8,5	-	*	*	Mio. Sup. (T)
((<i>P. sim.</i> , gr.guy., gr. goe.), (gr. lon., <i>P. cuv.</i>))	*	*	9,5	8,0-11,2	Mio. Sup. (T)
((<i>P. sim.</i> , gr.guy.), gr. goe.)	*	*	9,1	-	Mio. Sup. (T)
(<i>P. simonsi</i> , gr. guyannensis)	*	*	8,2	-	Mio. Sup. (T)
<i>P. simonsi</i>	0,6	0,3-1,0	0,7	0,3-1,0	Ple. Inf./ Méd.
grupo guyannensis (<i>P. che.</i> (<i>P. ara.</i> , <i>P. guy.</i>))	2,7	1,9-3,5	2,8	1,8-3,9	Pli./ Ple.
(<i>P. arabupu</i> , <i>P. guyannensis</i>)	1,9	1,2-2,5	1,9	1,1-2,7	Ple. Inf. (G/ C)
<i>P. guyannensis</i>	0,4	0,1-0,6	0,4	0,1-0,7	Ple. Méd.
grupo goeldii ((<i>P. goe.</i> , <i>P. sp.</i>), (<i>P. ste.</i> , <i>P. qua.</i> , <i>P. amp.</i>))	7,2	5,8-8,7	*	*	Mio. Sup. (T/ M)
(<i>P. goe.</i> , <i>P. sp.</i>)	6,2	-	*	*	Mio. Sup. (M)
grupo goeldii ((<i>P. sp.</i> , (<i>P. goe.</i> , <i>P. ste.</i> , <i>P. qua.</i> , <i>P. amp.</i>))	*	*	7,5	5,8-9,2	Mio. Sup. (T/ M)

(<i>P. goe.</i> , (<i>P. ste.</i> , <i>P. qua.</i> , <i>P. amp.</i>))	*	*	6,9	-	Mio. Sup. (M)
<i>P.sp. gr. goeldii</i>	0,5	0,2-0,7	0,5	0,2-0,8	Ple. Méd.
(<i>P. ste.</i> , (<i>P. qua.</i> , <i>P. amp.</i>))	5,6	4,3-6,9	5,6	4,0-7,1	Mio./ Pli.
<i>P.steerei</i>	2,9	2,0-4,0	3,1	1,9-4,4	Pli. Sup.
(<i>P. quadruplicatus</i> , <i>P. amphichoricus</i>)	1,4	0,9-2,0	1,4	0,8-2,1	Ple. Inf. (C)
(<i>gr. longicaudatus</i> , <i>P. cuvieri</i>)	7,1	5,7-8,4	7,1	5,7-8,7	Mio. Sup. (T/ M)
grupo <i>longicaudatus</i> (<i>P. bre.</i> , <i>P. lon.</i> , <i>P. sp.</i>)	6,5	5,3-7,8	6,5	5,0-7,9	Mio. Sup. (M)
<i>P. brevicauda</i>	1,7	1,1-2,4	1,7	0,9-2,6	Ple. Inf. (G/ C)
(<i>P. longicaudatus</i> , <i>P. sp.</i>)	5,4	4,1-6,6	5,4	4,0-6,8	Mio./ Pli.
<i>P. longicaudatus</i>	0,7	0,4-1,1	0,7	0,4-1,1	Ple. Inf./ Méd.
<i>P. sp. gr. longicaudatus</i>	2,0	1,5-2,6	2,1	1,4-2,8	Ple. Inf. (G)
<i>P. cuvieri</i> (norte, sul)	4,9	3,7-6,2	4,9	3,5-6,5	Mio./ Pli.
<i>P. cuvieri</i> (norte)	1,4	0,8-1,9	1,4	0,8-2,1	Ple. Inf. (C)
<i>P. cuvieri</i> (sul)	0,5	0,2-0,9	0,5	0,2-0,9	Ple. Méd.

As estimativas de tempo são dadas em milhões de anos. CLOC: taxas conforme um relógio molecular.

UCLN: taxas não-correlacionadas, independentemente extraídas de uma distribuição log-normal. HPD:

densidades posteriores mais altas (*highest posterior densities*). As épocas geológicas correspondem à

Escala de Tempo Geológico de 2009 da Sociedade Geológica Americana. * indica que o nó não foi

recuperado na respectiva análise. Mio.: Mioceno; Pli.: Plioceno; Ple.: Pleistoceno; Inf.: Inferior; Méd.:

Médio; Sup.: Superior. Subdivisões: (B) Burdigaliense (Mioceno Inferior); (T) Tortoniense e (M)

Messiniense (Mioceno Superior); (G) Gelasiense e (C) Calabriense (Pleistoceno Inferior).

Figura 4: Cronogramas com datações obtidas por análises bayesianas utilizando relógio estrito (esquerda) e relógio relaxado com taxas não-correlacionadas extraídas de uma distribuição log-normal (direita). Os tempos de divergência correspondem às

médias posteriores em milhões de anos e estão apresentados nos ramos. As barras azuis correspondem aos intervalos de 95% das densidades posteriores mais altas.

Thrichomys

Composição de bases e variação das seqüências

A matriz resultante apresentou 65 táxons e 801 caracteres, sendo destes: 371 constantes, 48 variáveis não-informativos para parcimônia e 382 informativos. O sinal filogenético foi significativo conforme indicado pelo teste G1 (média = 5690,212662; desvio-padrão = 108,268102; $g1 = -0,271899$; $g2 = 0,081718$). A razão de substituições entre as posições do códon foi de 4:1:15, contrastando com a razão observada por Lara *et al.* (1996), 2:1:15 para o mesmo gene.

As freqüências de G variaram muito entre as posições: 22,1% na primeira, 13,0% na segunda e 3,4% na terceira. As bases mais freqüentes na terceira posição do códon foram A (38,6%) e C (35,9%), seguidas de T (22,1%), enquanto na segunda posição a base mais freqüente foi T (38,5%), e na primeira, A (29,0%). Essas freqüências contrastam com as freqüências médias dessas bases (A = 29,7%; C = 28,3%; T = 29,2% e G = 12,8%) e refletem uma forte tendência para o uso preferencial de códons terminando com A, depois com C, T e, em menor número, G. A composição de bases do gene do citocromo *b* de *Thrichomys* não diferiu dos padrões encontrados para este gene em mamíferos em geral (IRWIN *et al.*, 1991; MA *et al.*, 1993) e equimiídeos em particular (LARA *et al.*, 1996).

As transições do tipo T $\leftrightarrow$ C na terceira posição foram as substituições mais comuns, totalizando 49; as próximas substituições mais comuns foram transversões do tipo C $\leftrightarrow$ A e do tipo T $\leftrightarrow$ A na terceira posição e transições do tipo T $\leftrightarrow$ C na

primeira posição e $A \leftrightarrow G$ na terceira posição, perfazendo 24, 18, 13 e 10 substituições, respectivamente. No total das três posições, as transições do tipo $A \leftrightarrow G$ ocorreram com uma frequência bem menor que $T \leftrightarrow C$ (18 contra 67 substituições), possivelmente devido às baixas frequências de G tipicamente encontradas no DNA mitocondrial. As transversões também apresentaram a mesma tendência, com $C \leftrightarrow A$ e $T \leftrightarrow A$ representando respectivamente 29 e 22 substituições, contra $C \leftrightarrow G$ e $T \leftrightarrow G$ representando 3 substituições cada.

Os dados das curvas de saturação foram consistentes com aqueles esperados para seqüências codificadoras e já descritos para o citocromo *b* de Echimyidae por Lara *et al.* (1996) e de Rodentia por Montgelard *et al.* (2002). Observou-se uma forte saturação para as transições nas terceiras posições, mas as transições nas primeiras e segundas posições e transversões em todas as posições estavam fracamente saturadas (Figura 5). A saturação observada nas terceiras posições deveu-se às transições do tipo $T \leftrightarrow C$, muito mais frequentes que as do tipo $A \leftrightarrow G$.

Figura 5: Relações entre as transições (s) e transversões (v) e as distâncias par-a-par de Jukes e Cantor (1969) para cada posição do códon em nossos dados. As linhas de tendência foram construídas por regressão linear e apresentam seus respectivos R-quadrados.

Análises filogenéticas

Em nossas análises de máxima verossimilhança, os modelos mais adequados aos nossos dados foram o J2+G para a primeira posição e o HKY+G para a segunda e terceira posições do códon. O modelo J2 assume frequências distintas para cada base e quatro taxas de substituições distintas, uma para cada transição, uma para as transversões $T \leftrightarrow A$ e $C \leftrightarrow A$ outra para as transversões $T \leftrightarrow G$ e $C \leftrightarrow G$; a ele adicionou-se o pressuposto de que há heterogeneidade nas taxas de substituição entre os sítios, sendo que os valores dessas taxas apresentam uma distribuição gama. O modelo HKY (HASEGAWA *et al.*, 1985) assume frequências distintas para cada base e duas taxas de substituições distintas, uma para as transversões e outra para as transições; a ele adicionou-se o pressuposto de que há heterogeneidade nas taxas de substituição entre os sítios, sendo que os valores dessas taxas apresentam uma distribuição gama. Cada posição teve seus parâmetros de frequências de bases, taxas de substituição e alfa otimizados independentemente. Nas análises bayesianas o modelo mais adequado foi o GTR+I+G para as três posições do códon. O modelo GTR (*General Time Reversible*), ou Modelo Geral Reversível, (TAVARÉ, 1986), assume frequências distintas para cada base e uma taxa distinta para cada tipo de substituição; a ele adicionou-se o pressuposto de que há uma proporção de sítios invariáveis e que há heterogeneidade nas taxas de substituição entre os sítios, sendo que os valores dessas taxas apresentam uma distribuição gama. Os valores de suporte para os principais nós de *Thrichomys* estão resumidos na Tabela 7. O filograma da árvore de máxima verossimilhança ($\ln L = -12702,49$) e a árvore-consenso de *bootstrap* são apresentados na Figura 6.

Tabela 7: Suportes dos principais nós obtidos nas reconstruções filogenéticas feitas com base no gene mitocondrial do citocromo *b*.

Clados	Suportes		
	LR-ELW	BP	BPP
(<i>Thrichomys</i> , <i>Trinomys</i>)	44	*	52
<i>Thrichomys</i>	100	100	100
(<i>T. inermis</i> , <i>T. sp. n.</i>)	40	*	44
<i>T. sp. n.</i>	100	100	100
<i>T. inermis</i>	92	63	100
<i>T. inermis</i> (norte)	100	100	100
<i>T. inermis</i> (sul)	99	98	100
(<i>T. fosteri</i> , <i>T. pachyurus</i> , <i>T. apereoides</i>)	75	73	100
<i>T. fosteri</i>	100	100	100
(<i>T. pachyurus</i> , <i>T. apereoides</i>)	80	58	95
<i>T. pachyurus</i> (MT, GO, TO)	100	100	100
<i>T. pachyurus</i> (GO, TO)	33	*	44
<i>T. pachyurus</i> (GO)	99	100	100
<i>T. pachyurus</i> (TO)	67	53	94
<i>T. apereoides</i> (BA, MG, NE)	93	77	100
<i>T. apereoides</i> (BA, MG)	*	*	62
<i>T. apereoides</i> (MG, NE)	41	*	*
<i>T. apereoides</i> BA (SO/BA, SE/BA)	94	82	100
<i>T. apereoides</i> (SO/BA)	100	100	100
<i>T. apereoides</i> (SE/BA)	96	99	100
<i>T. apereoides</i> MG (S/MG, N/MG)	90	81	100
<i>T. apereoides</i> (N/MG)	91	97	100
<i>T. apereoides</i> NE ((AL, PB), (PI, MA))	97	91	100
<i>T. apereoides</i> (AL, PB)	79	89	100
<i>T. apereoides</i> (AL)	88	100	100
<i>T. apereoides</i> (PI, MA)	100	100	100

Os suportes dos ramos na máxima verossimilhança foram calculados pelo método de pesos de verossimilhança esperada em rearranjos locais (LR-ELW) e por *bootstrap* (BP) com mil pseudo-réplicas. As porcentagens de BP foram obtidas de árvores de consenso pela regra da maioria (50%). A

partir das análises bayesianas foram estimadas as probabilidades posteriores bayesianas (BPP). *: indica que o nó não foi recuperado na respectiva análise.

Figura 6: Filograma de máxima verossimilhança (esquerda) e árvore-consenso de *bootstrap* com mil pseudoréplicas (direita). Valores de suporte estão representados nos ramos.

Taxas de evolução e datação molecular

O teste da razão de verossimilhança, comparando os escores de verossimilhança de reconstruções sem restrições e com o relógio estrito, foi significativo ao nível de alfa 0,01 ($\ln L = -13171,83527$ com relógio forçado contra $\ln L = -13125,35987$ com relógio relaxado; razão de verossimilhança = 92,949219 com 63 graus de liberdade; $P = 0,008394$), sugerindo que há uma variação importante nas taxas de evolução molecular entre os ramos, rejeitando portanto a hipótese de um relógio molecular global para esses dados.

A distribuição posterior do desvio padrão do relógio relaxado usando taxas não-correlacionadas com distribuição log-normal aproximou-se de zero na análise bayesiana, indicando que o modelo de relógio estrito é adequado a esses dados.

As estimativas de tempos de divergência, calculadas usando métodos não-bayesianos adotando um relógio global (GRMD) ou suavização de taxas (NPRS-LOG), são apresentadas na Tabela 8 e em dois cronogramas na Figura 7. As datações estimadas por métodos bayesianos são apresentadas na Tabela 9 e em dois cronogramas na Figura 8.

Tabela 8. Estimativas das médias dos tempos de divergência, e seus respectivos limites de confiança de 95%, dados pelas análises não-bayesianas das seqüências de citocromo *b*.

Clados	GRMD		NPRS-LOG		Época
	Média	95% LC	Média	95% LC	geológica
(<i>Thrichomys</i> , <i>Trinomys</i>)	15,6	10,5-19,3	15,4	11,2-19,1	Mio. Méd. (L)
<i>Thrichomys</i>	3,6	2,5-5,2	3,8	2,3-7,4	Pli. Inf./ Sup.
(<i>T. inermis</i> , <i>T. sp. n.</i>)	3,4	2,4-4,7	3,6	2,1-6,6	Pli. Inf./ Sup.
<i>T. sp. n.</i>	0,124	0,035-0,372	0,194	0,004-0,744	Ple. Méd./ Sup.
<i>T. inermis</i>	2,1	1,4-3,0	2,2	1,2-5,2	Ple. Inf. (G)
<i>T. inermis</i> (norte)	0,260	0,038-0,550	0,207	0,034-0,528	Ple. Méd./ Sup.
<i>T. inermis</i> (sul)	0,260	0,046-0,654	0,337	0,041-1,190	Ple. Méd.
(<i>T.fosteri</i> , <i>T.pachyurus</i> , <i>T. apereoides</i>)	2,9	1,9-4,1	3,1	1,7-5,7	Pli. Sup.
<i>T.fosteri</i>	0,4	0,1-0,7	0,5	0,1-1,0	Ple. Méd.
(<i>T.pachyurus</i> , <i>T. apereoides</i>)	2,1	1,4-3,1	2,2	1,2-3,7	Ple. Inf. (G)
<i>T.pachyurus</i> (MT, GO, TO)	0,7	0,4-1,1	0,7	0,3-1,2	Ple. Inf./ Méd.
<i>T.pachyurus</i> (GO, TO)	0,7	0,4-1,1	0,7	0,3-1,2	Ple. Inf./ Méd.
<i>T.pachyurus</i> (GO)	0,218	0,037-0,410	0,195	0,03-0,476	Ple. Méd./ Sup.
<i>T.pachyurus</i> (TO)	0,6	0,4-1,0	0,6	0,3-1,1	Ple. Inf./ Méd.
<i>T. apereoides</i> (BA, (MG, NE))	1,2	0,9-1,7	1,3	0,6-2,3	Ple. Inf. (C)
<i>T. apereoides</i> (MG, NE)	1,2	9,8-1,6	1,3	0,6-2,2	Ple. Inf. (C)
<i>T. apereoides</i> BA (SO/BA, SE/BA)	0,9	0,4-1,4	0,9	0,5-1,6	Ple. Inf./ Méd.
<i>T. apereoides</i> (SO/BA)	0,006	0,005-0,007	0,007	0,003-0,016	Hol.
<i>T. apereoides</i> (SE/BA)	0,177	0,032-0,448	0,236	0,040,645	Ple. Méd./ Sup.
<i>T. apereoides</i> MG (S/MG, N/MG)	0,6	0,1-1,2	0,7	0,2-1,4	Ple. Inf./ Méd.
<i>T. apereoides</i> (N/MG)	0,034	0,005-0,060	0,085	0,010-0,290	Ple. Sup.
<i>T. apereoides</i> NE ((AL, PB), (PI, MA))	0,6	0,4-1,0	0,7	0,2-1,4	Ple. Inf./ Méd.
<i>T. apereoides</i> (AL, PB)	0,4	0,1-0,6	0,4	0,1-1,1	Ple. Méd.
<i>T. apereoides</i> (AL)	0,052	0,023-0,102	0,091	0,022-0,280	Ple. Sup.
<i>T. apereoides</i> (PI, MA)	0,070	0,035-0,166	0,128	0,0120,350	Ple. Sup.

As estimativas de tempo são dadas em milhões de anos. GRMD: método de deformação mínima da taxa global. NPRS-LOG: método de suavização não-paramétrica das taxas, comparadas em escala logarítmica. LC: limites de confiança. As épocas geológicas correspondem à Escala de Tempo Geológico de 2009 da Sociedade Geológica Americana. Mio.: Mioceno; Pli.: Plioceno; Ple.: Pleistoceno; Hol.: Holoceno; Inf.: Inferior; Méd.: Médio; Sup.: Superior. Subdivisões: (L) Langhiense (Mioceno Médio); (G) Gelasiense e (C) Calabriense (Pleistoceno Inferior).

Figura 7: Cronogramas com datações obtidas por métodos não-bayesianos: GRMD (esquerda) e NPRS-LOG (direita). Números à esquerda correspondem às médias das idades (em milhões de anos) estimadas para os ramos e números entre colchetes correspondem aos limites de confiança de 95%.

Tabela 9. Estimativas das médias dos tempos de divergência, e seus respectivos intervalos de 95% de HPD, dados pelas análises bayesianas das seqüências de citocromo *b*.

Clados	CLOC		UCLN		Época
	Média	95% HPD	Média	95% HPD	geológica
(<i>Thrichomys</i> , <i>Trinomys</i>)	19,0	15,9-21,9	17,4	14,2-20,9	Mio. Inf. (B)
<i>Thrichomys</i>	4,9	3,9-6,0	5,1	3,8-6,5	Mio./ Pli.
(<i>T. inermis</i> , <i>T. sp. n.</i>)	4,5	-	4,5	-	Pli. Inf.
<i>T. sp. n.</i>	0,6	0,3-0,9	0,6	0,3-1,0	Ple. Inf./ Méd.
<i>T. inermis</i>	2,8	2,0-3,7	2,9	1,8-4,1	Pli./ Ple.
<i>T. inermis</i> (norte)	0,4	0,1-0,7	0,4	0,1-0,7	Ple. Méd.
<i>T. inermis</i> (sul)	0,4	0,2-0,7	0,4	0,1-0,8	Ple. Méd.
(<i>T.fosteri</i> , <i>T.pachyurus</i> , <i>T. apereoides</i>)	3,7	2,9-4,6	3,7	2,7-4,9	Pli. Inf./ Sup.
<i>T.fosteri</i>	0,6	0,3-1,0	0,6	0,2-1,1	Ple. Inf./ Méd.
(<i>T.pachyurus</i> , <i>T. apereoides</i>)	2,9	2,2-3,7	2,9	2,1-3,9	Pli. Sup.
<i>T.pachyurus</i> (MT, GO, TO)	1,0	0,7-1,3	1,0	0,6-1,4	Ple. Inf. (C)
<i>T.pachyurus</i> (GO, TO)	0,9	-	0,9	-	Ple. Inf. (C)
<i>T.pachyurus</i> (GO)	0,4	0,2-0,6	0,4	0,1-0,7	Ple. Méd.
<i>T.pachyurus</i> (TO)	0,7	0,4-1,0	0,7	0,4-1,1	Ple. Inf./ Méd.
<i>T. apereoides</i> ((BA, MG), NE)	1,8	1,3-2,3	1,8	1,2-2,4	Ple. Inf. (G/ C)
<i>T. apereoides</i> (BA, MG)	1,5	1,1-2,0	1,5	1,0-2,1	Ple. Inf. (G/ C)
<i>T. apereoides</i> BA (SO/BA, SE/BA)	1,1	0,7-1,5	1,1	0,6-1,6	Ple. Inf. (C)
<i>T. apereoides</i> (SO/BA)	0,044	1E-5-0,131	0,044	2E-5-0,133	Ple./ Hol.
<i>T. apereoides</i> (SE/BA)	0,4	0,2-0,6	0,4	0,1-0,7	Ple. Méd.
<i>T. apereoides</i> MG (S/MG, N/MG)	0,8	0,4-1,2	0,8	0,4-1,2	Ple. Inf./ Méd.
<i>T. apereoides</i> (N/MG)	0,206	0,033-0,404	0,208	0,032-0,429	Ple. Méd./ Sup.
<i>T. apereoides</i> NE ((AL, PB), (PI, MA))	1,1	0,7-1,5	1,1	0,7-1,5	Ple. Inf. (C)
<i>T. apereoides</i> (AL, PB)	0,7	0,4-1,0	0,7	0,4-1,0	Ple. Inf./ Méd.
<i>T. apereoides</i> (AL)	0,3	0,1-0,5	0,3	0,1-0,6	Ple. Méd.
<i>T. apereoides</i> (PI, MA)	0,3	0,1-0,5	0,3	0,1-0,5	Ple. Méd.

As estimativas de tempo são dadas em milhões de anos. CLOC: taxas conforme um relógio molecular.

UCLN: taxas não-correlacionadas, independentemente extraídas de uma distribuição lognormal. HPD:

densidades posteriores mais altas (*highest posterior densities*). As épocas geológicas correspondem à

Escala de Tempo Geológico de 2009 da Sociedade Geológica Americana. Mio.: Mioceno; Pli.:

Plioceno; Ple.: Pleistoceno; Inf.: Inferior; Méd.: Médio; Sup.: Superior. Subdivisões: (B) Burdigaliense (Mioceno Inferior); (G) Gelasiense e (C) Calabriense (Pleistoceno Inferior).

Figura 8: Cronogramas com datações obtidas por análises bayesianas utilizando relógio estrito (esquerda) e relógio relaxado com taxas não-correlacionadas extraídas de uma distribuição log-normal (direita). Os tempos de divergência correspondem às médias posteriores em milhões de anos e estão apresentados nos ramos. As barras azuis correspondem aos intervalos de 95% das densidades posteriores mais altas.

Trinomys

Composição de bases e variação das seqüências

A matriz resultante apresentou 55 táxons e 801 caracteres, sendo destes: 371 constantes, 44 variáveis não-informativos para parcimônia e 386 informativos. O sinal filogenético foi significativo conforme indicado pelo teste G1 (média = 5408,010230; desvio-padrão = 64,900376; $g1 = -0,500921$; $g2 = 0,416013$). A razão de substituições entre as posições do códon foi de 4:1:13, contrastando com a razão observada por Lara *et al.* (1996), 2:1:15 para este gene.

As freqüências de G variaram muito entre as posições: 20,2% na primeira, 13,1% na segunda e 3,6% na terceira. As bases mais freqüentes na terceira posição do códon foram A (39,1%) e C (34,3%), seguidas de T (23,0%), enquanto na segunda posição a base mais freqüente foi T (39,0%), e na primeira, A (29,5%). Essas freqüências contrastam com as freqüências médias dessas bases (A = 30,0%; C = 27,4%; T = 29,7% e G = 12,9%) e refletem uma forte tendência para o uso preferencial de códons terminando com A, depois com C, T e, em menor número, G. A composição de bases do gene do citocromo *b* em nossa matriz não diferiu dos padrões encontrados para este gene em mamíferos em geral (IRWIN *et al.*, 1991; MA *et al.*, 1993) e equimiídeos em particular (LARA *et al.*, 1996).

As transições do tipo $T \leftrightarrow C$ na terceira posição foram as substituições mais comuns, totalizando 53; as próximas substituições mais comuns foram transversões do tipo $C \leftrightarrow A$ e do tipo $T \leftrightarrow A$ na terceira posição e transições do tipo $T \leftrightarrow C$ na primeira posição e $A \leftrightarrow G$ na terceira posição, perfazendo 25, 21, 13 e 11 substituições, respectivamente. No total das três posições, as transições do tipo $A \leftrightarrow G$ ocorreram com uma frequência bem menor que $T \leftrightarrow C$ (18 contra 73 substituições), possivelmente devido às baixas frequências de G tipicamente encontradas no DNA mitocondrial. As transversões também apresentaram a mesma tendência, com $C \leftrightarrow A$ e $T \leftrightarrow A$ representando respectivamente 30 e 26 substituições, contra $C \leftrightarrow G$ e $T \leftrightarrow G$ representando 4 e 3 substituições, respectivamente.

Os dados das curvas de saturação foram consistentes com aqueles esperados para seqüências codificadoras e já descritos para o citocromo *b* de Echimyidae por Lara *et al.* (1996) e de Rodentia por Montgelard *et al.* (2002). Observou-se uma forte saturação para as transições nas terceiras posições, mas as transições nas primeiras e segundas posições e transversões em todas as posições estavam fracamente saturadas (Figura 9). A saturação observada nas terceiras posições deveu-se às transições do tipo $T \leftrightarrow C$, muito mais frequentes que as do tipo $A \leftrightarrow G$.

Figura 9: Relações entre as transições (s) e transversões (v) e as distâncias par-a-par de Jukes e Cantor (1969) para cada posição do códon em nossos dados. As linhas de

tendência foram construídas por regressão linear e apresentam seus respectivos R-quadrados.

Análises filogenéticas

Em nossas análises de máxima verossimilhança, os modelos mais adequados aos nossos dados foram o J2+G para a primeira posição e o J1+G para a segunda e terceira posições do códon. O modelo J2 assume frequências distintas para cada base e quatro taxas de substituições distintas, uma para cada transição, uma para as transversões $T \leftrightarrow A$ e $C \leftrightarrow A$ outra para as transversões $T \leftrightarrow G$ e $C \leftrightarrow G$; a ele adicionou-se o pressuposto de que há heterogeneidade nas taxas de substituição entre os sítios, sendo que os valores dessas taxas apresentam uma distribuição gama. O modelo J1 assume frequências distintas para cada base e quatro taxas de substituições distintas, uma para cada transição, uma para as transversões $T \leftrightarrow A$ e $T \leftrightarrow G$ outra para as transversões $C \leftrightarrow A$ e $C \leftrightarrow G$; a ele adicionou-se o pressuposto de que há heterogeneidade nas taxas de substituição entre os sítios, sendo que os valores dessas taxas apresentam uma distribuição gama. Cada posição teve seus parâmetros de frequências de bases, taxas de substituição e alfa otimizados independentemente. Nas análises bayesianas o modelo mais adequado foi o GTR+I+G para as três posições do códon. O modelo GTR (*General Time Reversible*), ou Modelo Geral Reversível, (TAVARÉ, 1986), assume frequências distintas para cada base e uma taxa distintas para cada tipo de substituição; a ele adicionou-se o pressuposto de que há uma proporção de sítios invariáveis e que há heterogeneidade nas taxas de substituição entre os sítios, sendo que os valores dessas taxas apresentam uma distribuição gama. Os valores de suporte para os principais nós de *Trinomys* estão resumidos na Tabela

10. O filograma da árvore de máxima verossimilhança ($\ln L = -13622,01$) e a árvore-consenso de *bootstrap* são apresentados na Figura 10.

Tabela 10: Suportes dos principais nós obtidos nas reconstruções filogenéticas feitas com base no gene mitocondrial do citocromo *b*.

Clados	Suportes		
	LR-ELW	BP	BPP
(<i>Trinomys</i> , <i>Thrichomys</i>)	47	*	46
<i>Trinomys</i>	93	53	100
(<i>T. alb.</i> , (<i>T. gra.</i> , (<i>T. mir.</i> , (<i>T. ihe.</i> , <i>T. dim.</i>))))	44	*	43
Clado 1: (<i>T. gra.</i> , (<i>T. mir.</i> , (<i>T. ihe.</i> , <i>T. dim.</i>)))	91	93	100
<i>T. graciosus</i>	96	97	100
(<i>T. mirapitnaga</i> , (<i>T. iheringi</i> , <i>T. dimidiatus</i>))	89	93	84
(<i>T. iheringi</i> , <i>T. dimidiatus</i>)	84	84	99
<i>T. iheringi</i>	100	100	100
<i>T. dimidiatus</i>	100	100	100
Clado 2: ((<i>T. yon.</i> , <i>T. set.</i>), (<i>T. eli.</i> , <i>T. par.</i>))	93	67	100
(<i>T. yonenagae</i> , <i>T. setosus</i>)	40	*	78
<i>T. s.</i> ((<i>setosus</i> , (<i>denigratus</i> , <i>elegans</i>))	100	96	100
<i>T. s.</i> (<i>denigratus</i> , <i>elegans</i>)	94	96	100
(<i>T. eliasi</i> , <i>T. paratus</i>)	100	100	100
Clado 3: <i>T. albispinus</i>	100	100	100

Os suportes dos ramos na máxima verossimilhança foram calculados pelo método de pesos de verossimilhança esperada em rearranjos locais (LR-ELW) e por *bootstrap* (BP) com mil pseudo-réplicas. As porcentagens de BP foram obtidas de árvores de consenso pela regra da maioria (50%). A partir das análises bayesianas foram estimadas as probabilidades posteriores bayesianas (BPP). *: indica que o nó não foi recuperado na respectiva análise.

Figura 10: Filograma de máxima verossimilhança (esquerda) e árvore-consenso de *bootstrap* com mil pseudoréplicas (direita). Valores de suporte estão representados nos ramos.

Taxas de evolução e datação molecular

O teste da razão de verossimilhança, comparando os escores de verossimilhança de reconstruções sem restrições e com o relógio estrito, foi significativo ao nível de alfa 0,01 ($\ln L = -14127,70610$ com relógio forçado contra $\ln L = -14071,15414$ com relógio relaxado; razão de verossimilhança = 113,103516 com 53 graus de liberdade; $P = 0,000003$), sugerindo que há uma variação importante nas taxas de evolução molecular entre os ramos, rejeitando portanto a hipótese de um relógio molecular global para esses dados.

A distribuição posterior do desvio padrão do relógio relaxado usando taxas não-correlacionadas com distribuição log-normal não aproximou-se de zero na análise bayesiana, indicando que o modelo de relógio estrito não é adequado a esses dados.

As estimativas de tempos de divergência, calculadas usando métodos não-bayesianos adotando um relógio global (GRMD) ou suavização de taxas (NPRS-LOG), são apresentadas na Tabela 11 e em dois cronogramas na Figura 11. As datações estimadas por métodos bayesianos são apresentadas na Tabela 12 e em dois cronogramas na Figura 12.

Tabela 11. Estimativas das médias dos tempos de divergência, e seus respectivos limites de confiança de 95%, dados pelas análises não-bayesianas das seqüências de citocromo *b*.

Clados	GRMD		NPRS-LOG		Época
	Média	95% LC	Média	95% LC	geológica
(<i>Trinomys</i> , <i>Thrichomys</i>)	15,5	12,2-19,1	15,5	11,6-19,0	Mio. Méd. (L)
<i>Trinomys</i>	12,5	9,6-15,0	12,3	7,4-16,0	Mio. Méd. (S)

(<i>T. alb.</i> , (<i>T. gra.</i> , (<i>T. mir.</i> , (<i>T. ihe.</i> , <i>T. dim.</i>))))	11,6	8,5-14,5	11,3	6,1-14,8	Mio. Méd./ Sup.
Clado 1: (<i>T. gra.</i> , (<i>T. mir.</i> , (<i>T. ihe.</i> , <i>T. dim.</i>)))	8,7	6,2-11,3	7,5	3,7-11,5	Mio. Sup. (T/ M)
<i>T. gratiosus</i>	1,3	0,6-2,5	1,2	0,1-3,0	Ple. Inf. (C)
(<i>T. mirapitnaga</i> , (<i>T. iheringi</i> , <i>T. dimidiatus</i>))	6,8	4,8-8,8	5,2	2,0-8,4	Mio. Sup. (M)
(<i>T. iheringi</i> , <i>T. dimidiatus</i>)	5,2	3,7-6,9	3,8	1,4-6,4	Pli. Inf. (C)
<i>T. iheringi</i>	0,310	0,097-0,662	0,158	0,017-0,376	Ple. Méd.
<i>T. dimidiatus</i>	1,5	0,8-2,1	0,7	0,3-1,5	Ple. Inf. (C)
Clado 2: ((<i>T. yon.</i> , <i>T. set.</i>), (<i>T. eli.</i> , <i>T. par.</i>))	8,8	4,7-12,8	9,1	4,7-13,7	Mio. Sup. (T)
(<i>T. yonenagae</i> , <i>T. setosus</i>)	7,8	4,7-11,1	8,0	4,7-11,4	Mio. Sup. (T/ M)
<i>T. s.</i> ((<i>setosus</i> , (<i>denigratus</i> , <i>elegans</i>))	3,3	2,0-4,5	3,1	1,5-5,5	Pli. Sup.
<i>T. s.</i> (<i>denigratus</i> , <i>elegans</i>)	1,5	1,0-2,1	1,3	0,6-2,5	Ple. Inf. (C)
(<i>T. eliasi</i> , <i>T. paratus</i>)	2,2	0,6-3,3	1,9	0,4-3,3	Ple. Inf. (G/ C)
Clado 3: <i>T. albispinus</i>	1,5	0,1-3,1	1,2	0,1-2,9	Ple. Inf. (C)

As estimativas de tempo são dadas em milhões de anos. GRMD: método de deformação mínima da taxa global. NPRS-LOG: método de suavização não-paramétrica das taxas, comparadas em escala logarítmica. LC: limites de confiança. As épocas geológicas correspondem à Escala de Tempo Geológico de 2009 da Sociedade Geológica Americana. Mio.: Mioceno; Pli.: Plioceno; Ple.: Pleistoceno; Inf.: Inferior; Méd.: Médio; Sup.: Superior. Subdivisões: (L) Langhiense e (S) Serravalliense (Mioceno Médio); (T) Tortoniense e (M) Messiniense (Mioceno Superior); (G) Gelasiense e (C) Calabriense (Pleistoceno Inferior).

Figura 11: Cronogramas com datações obtidas por métodos não-bayesianos: GRMD (esquerda) e NPRS-LOG (direita). Números à esquerda correspondem às médias das idades (em milhões de anos) estimadas para os ramos e números entre colchetes correspondem aos limites de confiança de 95%.

Tabela 12. Estimativas das médias dos tempos de divergência, e seus respectivos intervalos de 95% de HPD, dados pelas análises bayesianas das seqüências de citocromo *b*.

Clados	CLOC		UCLN		Época geológica
	Média	95% HPD	Média	95% HPD	

(<i>Trinomys</i> , <i>Thrichomys</i>)	17,6	-	17,2	-	Mio. Inf. (B)
<i>Trinomys</i>	14,3	12,0-16,6	14,4	11,5-17,4	Mio. Méd. (L)
(<i>T. alb.</i> , (<i>T. gra.</i> , (<i>T. mir.</i> , (<i>T. ihe.</i> , <i>T. dim.</i>))))	13,2	-	13,2	-	Mio. Méd. (S)
Clado 1: (<i>T. gra.</i> , (<i>T. mir.</i> , (<i>T. ihe.</i> , <i>T. dim.</i>)))	9,2	7,4-11,2	9,9	7,2-12,7	Mio. Sup. (T)
<i>T. graciosus</i>	1,9	1,3-2,6	2,2	1,2-3,2	Ple. Inf. (G)
(<i>T. mirapitnaga</i> , (<i>T. iheringi</i> , <i>T. dimidiatus</i>))	7,9	6,3-9,6	8,1	5,7-10,7	Mio. Sup. (T/ M)
(<i>T. iheringi</i> , <i>T. dimidiatus</i>)	6,6	5,0-8,3	6,2	4,2-8,4	Mio. Sup. (M)
<i>T. iheringi</i>	0,4	0,2-0,6	0,4	0,2-0,7	Ple. Méd.
<i>T. dimidiatus</i>	1,8	1,2-2,4	1,9	1,1-2,7	Ple. Inf. (G/ C)
Clado 2: ((<i>T. yon.</i> , <i>T. set.</i>), (<i>T. eli.</i> , <i>T. par.</i>))	10,1	7,9-12,3	10,1	7,4-13,1	Mio. Méd./ Sup.
(<i>T. yonenagae</i> , <i>T. setosus</i>)	7,9	6,1-10,1	8,6	5,8-11,5	Mio. Sup. (T/ M)
<i>T. s.</i> ((<i>setosus</i> , (<i>denigratus</i> , <i>elegans</i>))	3,4	2,4-4,5	3,8	2,3-5,5	Pli. Sup.
<i>T. s.</i> (<i>denigratus</i> , <i>elegans</i>)	1,6	1,0-2,3	1,7	0,8-2,7	Ple. Inf. (G/ C)
(<i>T. eliasi</i> , <i>T. paratus</i>)	2,5	1,7-3,3	2,5	1,3-4,0	Pli./ Ple.
Clado 3: <i>T. albispinus</i>	2,5	1,6-3,5	2,6	1,4-4,1	Pli./ Ple.

As estimativas de tempo são dadas em milhões de anos. CLOC: taxas conforme um relógio molecular.

UCLN: taxas não-correlacionadas, independentemente extraídas de uma distribuição lognormal. HPD:

densidades posteriores mais altas (*highest posterior densities*). As épocas geológicas correspondem à

Escala de Tempo Geológico de 2009 da Sociedade Geológica Americana. Mio.: Mioceno; Pli.: Plioceno;

Ple.: Pleistoceno; Inf.: Inferior; Méd.: Médio; Sup.: Superior. Subdivisões: (B) Burdigaliense

(Mioceno Inferior); (L) Langhiense e (S) Serravalliense (Mioceno Médio); (T) Tortoniense e (M)

Messiniense (Mioceno Superior); (G) Gelasienne e (C) Calabriense (Pleistoceno Inferior).

Figura 12: Cronogramas com datações obtidas por análises bayesianas utilizando relógio estrito (esquerda) e relógio relaxado com taxas não-correlacionadas extraídas de uma distribuição log-normal (direita). Os tempos de divergência correspondem às médias posteriores em milhões de anos e estão apresentados nos ramos. As barras azuis correspondem aos intervalos de 95% das densidades posteriores mais altas.

Discussão

Em geral, as datações feitas com máxima verossimilhança apresentaram maior variância que as datações feitas com análise bayesiana, já as estimativas de tempo feitas com análise bayesiana foram em geral mais antigas que aquelas feitas com máxima verossimilhança, porém houve pouca discrepância. Comparando os métodos sob um mesmo tipo de análise, os métodos utilizando relógio relaxado apresentaram maior variância em comparação com métodos utilizando relógio global, este resultado é consistente com as premissas adotadas por cada metodologia. As datações foram em geral similares, geralmente incidindo sobre as mesmas épocas geológicas.

A natureza estocástica dos dados derivados de nosso conjunto de dados usando o método de NPRS pode ser atribuída a inadequações conhecidas desse método em termos de sobreparametrização dos dados (BELL e DONOGHUE, 2005), ou mesmo ao número reduzido de réplicas, 100, usadas no cálculo dos limites de confiança das datações de máxima verossimilhança. Superestimativas e subestimativas com NPRS têm se mostrado particularmente severas quando apenas um único nó superficial, recente, é usado como ponto de calibração. Nesses casos, estimativas de idade da raiz são igualmente passíveis de mover-se para infinito ou de reter valores mais realísticos (SANDERSON *et al.*, 2004). A esse propósito, é encorajador ver uma congruência em geral entre nossas estimativas bayesianas e de NPRS, particularmente nos nós da raiz.

Com relação a problemas de subamostragem, é improvável que nossas inferências tenham sido amplamente subestimadas (p. ex. na faixa de metade da

idade verdadeira), já que incorporamos boa parte das linhagens vivas de histricognatos. Adicionalmente, métodos bayesianos têm se mostrado menos suscetíveis aos efeitos de subamostragem, e obtivemos idades similares ao NPRS usando este método.

Nossas estimativas de tempos de divergência foram também, provavelmente, menos suscetíveis a efeitos combinados de sub-amostragem e distância de calibração, dados nossa ampla amostragem e o uso de múltiplos pontos de calibração com boa proximidade dos nós que estavam sendo estimados.

Outro aspecto relevante é que, quando se estima tempos de especiação com base em genealogias, é preciso ter em conta que, como haplótipos divergem de uma população ancestral comum antes da especiação, as espécies são mais jovens que as idades estimadas para a coalescência de seus haplótipos. Em certos casos, haplótipos de DNA mitocondrial podem diferir por várias centenas de milhares de anos (EDWARDS, 1997).

De maneira geral houve pouca sobreposição nos eventos de cladogênese quando confrontamos os três gêneros (Figura 13). Como se poderia esperar *Thrichomys* exibiu o padrão de diversificação mais diverso, apresentando momentos de maior diversificação durante o Plioceno e da idade Calabriense do Pleistoceno Inferior ao Pleistoceno Médio.

Proechimys apresentou um padrão quase inverso ao padrão de *Thrichomys*, apesar de ter tido o padrão mais constante de diversificação entre os três gêneros, destacaram-se o intervalo entre a idade Tortoniense do Mioceno Superior e a transição do Mio-Plioceno, a transição Gelasi-Calabriense do Pleistoceno inferior e a transição do Pleistoceno Médio ao Inferior.

O padrão de especiação de *Trinomys* mostrou-se intermediário aos dos outros gêneros, mas com maior sobreposição com *Proechimys*, nele os períodos mais significativos foram a idade Tortoniense do Mioceno Superior e a idade Calabriense do Pleistoceno Inferior.

Figura 13: Distribuição das frequências de novas linhagens segundo as épocas e idades Geológicas.

Com relação às SALMAS destacamos a importância da idade Montehermosense para diversificação de *Proechimys*, da idade Uquiense, para *Trinomye* e da idade Lujaniense para *Thrichomys* (Figura 14).

Figura 14: Distribuição das frequências de novas linhagens segundo as idades de Mamíferos Terrestres Sul-americanos (SALMA).

Esses padrões de diversificação, excluindo possíveis vieses amostrais, sugerem que as oscilações climáticas do passado afetaram de maneira diversa cada bioma, produzindo padrões distintos de especiação em suas respectivas biotas.

A seguir detalhamos a cronologia dos eventos de cladogênese para cada gênero.

Proechimys

Como a variância das datações feitas com máxima verossimilhança foi maior e as datações bayesianas geralmente estavam incluídas dentro do intervalo dos limites de confiança das datações de máxima verossimilhança, optou-se por discutir os dados com base nas datações feitas por análise bayesiana, usando o modelo de relógio

estrito, uma vez que, a distribuição posterior do desvio padrão do relógio relaxado aproximou-se de zero.

Mioceno Inferior

Os dados indicam que *Proechimys* divergiu dos outros equimiídeos no Mioceno Inferior, na transição entre as idades Colhuehuapiense a Santacruciense de Mamíferos Terrestres Sul-americanos (SALMA).

Mioceno Médio a Superior

O Ancestral comum mais recente das espécies de *Proechimys* da amostra foi datado no Mioceno Médio. Nesta época, na idade Mayoense (SALMA), o clado formado por *P. kulinae* e *P. gardneri* divergiu das outras espécies de *Proechimys*.

Cabe lembrar que no final do Mioceno Médio, há cerca de 11,8 milhões de anos atrás (no Serravaliense), houve um pico regressivo e pouco depois, no início do Mioceno Superior, há cerca de 10,6 milhões de anos atrás (no Tortoniense), houve um pico transgressivo (HARDENBOL *et al.*, 1998; LUNDBERG *et al.*, 1998; OGG *et al.*, 2008). Esses dois eventos ocorreram na idade Mayoense (SALMA) e podem ter influenciado sobre os eventos subsequentes de cladogênese.

Mioceno Superior

No Mioceno Superior encontramos grande parte dos eventos de cladogênese profunda entre as espécies de *Proechimys*. Uma extensiva transgressão marinha no final do Mioceno pode ter levado a formação de paleolagos, ou mesmo um mar interior, no que é hoje a bacia amazônica (LUNDBERG *et al.*, 1998; RÄSÄNEN *et al.*, 1995). Esses sistemas de lagos podem ter provocado a fragmentação das florestas tropicais, isolando linhagens de *Proechimys*, que teriam divergido em alopatria.

Nessa época, no Tortonense, houve divergências sucessivas, ou quase simultâneas, entre clados agrupando diferentes grupos de espécies propostos por Patton (1987). Um reflexo desta rápida diversificação é a pouca resolução encontrada nas relações entre esses clados, com topologias conflitantes e índices de suporte baixos. Um clado formado por *P. echinothrix* e *P. roberti* divergiu de outro formado pelos grupos *simonsi*, *guyannensis*, *goeldii*, *cuvieri* e *longicaudatus*, indicando que as características morfológicas que levaram Patton (1987) e Weksler *et al.* (2001) a incluir *P. roberti* no grupo *guyannensis* possam ser, de fato, plesiomórficas. Em seguida, os grupos *simonsi*, *guyannensis* e *goeldii* separaram-se entre si e de *cuvieri* e *longicaudatus*, no entanto, não está clara a ordem em que essa seqüência de eventos de cladogênese ocorreu. As topologias, nesse ponto, são conflitantes, possivelmente porque os tempos entre os eventos foram curtos demais, impedindo uma segregação completa das linhagens. Esses eventos teriam ocorrido na Idade Chasicoense (SALMA) até o início da idade Huayqueriense (SALMA) e sugerem que nessa época teria havido uma diversificação quase simultânea dos grupos de espécies de *Proechimys*.

Na transição entre as idades Tortonense e Messiniense, já na idade Huayqueriense (SALMA), houve a divergência entre as espécies do grupo *goeldii* e a separação entre os grupos *cuvieri* e *longicaudatus*, sugerindo que esses dois últimos estão intimamente relacionados, podendo pertencer ao mesmo grupo de espécies. As relações dentro do grupo *goeldii* são pouco resolvidas, provavelmente refletindo uma rápida diversificação dentro desse grupo.

No Messiniense, já na idade Montehermosense (SALMA), *P. brevicauda* divergiu de *P. longicaudatus* e *P. gr. longicaudatus* sp. n., os três táxons formaram o grupo *longicaudatus* apesar de este ser pouco apoiado. O haplótipo identificado como

P. goeldii divergiu dos haplótipos de *P. gr. goeldii* sp. n., numa relação também pouco apoiada. O haplótipo de *P. gardneri* divergiu dos haplótipos de *P. kulinae*.

Pouco depois, já no final do Mioceno houve um pico regressivo, cerca de 5,8 milhões de anos atrás (HARDENBOL *et al.*, 1998; OGG *et al.*, 2008). Esta regressão marinha poderia estar associada com mudanças climáticas na América do Sul, implicando em uma expansão das formações abertas e, conseqüente fragmentação das florestas úmidas, com as novas linhagens, surgidas entre o final do Mioceno e início do Plioceno, constituindo formas vicariantes.

Mio-Plioceno

Ainda na idade Montehermosense (SALMA), na transição do Mioceno para o Plioceno, *P. steerei* divergiu de *P. quadruplicatus* e *P. amphichoricus*; *P. longicaudatus* divergiu de *P. gr longicaudatus* sp. n.. O haplótipo de *P. kulinae* do estado do Amazonas divergiu do haplótipo de *P. kulinae* de Nuevo San Juan, no Peru, sugerindo, pelo tempo de divergência entre as duas linhagens, que possam ser espécies distintas. Os haplótipos de *P. cuvieri* da porção norte de sua distribuição (Venezuela e Guiana Francesa) divergiram dos haplótipos de *P. cuvieri* da porção sul de sua distribuição (Acre e Amazonas), sugerindo, pelo tempo de divergência entre as duas linhagens, que possam pertencer a espécies distintas.

Plioceno

Durante o Plioceno, os haplótipos de *P. roberti* da porção sudoeste de sua distribuição (Mato Grosso, a oeste do rio Xingu), divergiram dos haplótipos de *P. roberti* das porções norte (Mato Grosso e Pará, a leste do rio Xingu) e leste (Piauí e Tocantins) de sua distribuição. Este evento deu-se na transição entre as idades Montehermosense e Chapadmalense (SALMA). Nessa mesma época, o haplótipo de

P. steerei do estado do Amazonas divergiu do haplótipo de *P. steerei* da Reserva Cusco Amazônico, no Peru. Este evento deu-se na transição entre as idades Chapadmalense e Uquiense (SALMA). Em ambos os casos o tempo de divergência entre as linhagens envolvidas sugere que possam tratar-se de espécies distintas.

Plio-Pleistoceno

Na transição do Plio-Pleistoceno, *P. guyannensis* do rio Mawarinuma, na Venezuela, divergiu de *P. guyannensis* de São João da Baliza, no estado de Roraima, no Brasil e *P. guyannensis* da Guiana Francesa (*P. cayennensis* é sinônimo júnior de *P. guyannensis*), na idade Uquiense (SALMA). O tempo de divergência sugere que aquela primeira linhagem possa tratar-se de uma espécie distinta, que tentativamente chamaremos de *P. cherriei* por ser um nome disponível para o grupo *guyannensis* na Venezuela. Patton (1987) incluiu *cherriei*, *roberti*, *vacillator*, *oris*, *warreni*, *boimensis*, *arescens*, *riparum*, e *arabupu* em *guyannensis*, mas sugeriu que os táxons do sul da Amazônia são provavelmente uma espécie diferente dos do norte.

Pleistoceno

Ainda na idade Uquiense (SALMA), vários eventos de cladogênese ocorreram na transição entre as idades Gelasense e Calabriense, no Pleistoceno Inferior. Haplótipos de *P. gr longicaudatus* sp. n. divergiram em duas linhagens. O haplótipo de *P. guyannensis* de São João da Baliza, Roraima divergiu do haplótipo de *P. guyannensis* da Guiana Francesa, este exemplar de Roraima foi identificado como *P. arabupu* por Bonvicino *et al.* (2005), baseado em dados morfológicos, cariológicos e moleculares. Apesar do tempo de divergência recente entre este haplótipo e os haplótipos da Guiana Francesa, o suporte reduzido para a associação entre *P. guyannensis* e *P. arabupu* sugere tratem-se de linhagens independentes,

corroborando as análises de Bonvicino *et al.* (2005). Os haplótipos de *P. roberti* da porção norte de sua distribuição divergiram dos haplótipos de *P. roberti* da porção leste de sua distribuição. As linhagens de *P. brevicauda* de Sobral, no estado do Acre e de La Poza, no Peru, divergiram.

Já na idade Calabriense do Pleistoceno Inferior, o haplótipo de *P. quadruplicatus* divergiu do haplótipo de *P. amphichoricus*. O tempo de divergência entre as linhagens sugere que este último seja sinônimo júnior de *P. quadruplicatus*, conforme já foi proposto por outros estudos (PATTON, J. L. *et al.*, 2000; VILELA, 2005). Os haplótipos de *P. cuvieri* da porção norte de sua distribuição tiveram sua divergência mais antiga. Ambos os eventos ocorreram na idade Ensedense (SALMA).

Na transição do Pleistoceno Inferior a Médio, o haplótipo de *P. longicaudatus* de El Refugio, na Bolívia, divergiu dos haplótipos de *P. longicaudatus* de Goiás e Mato Grosso; e o haplótipo de *P. simonsi* de Madre de Dios, no Peru, divergiu do haplótipo de *P. simonsi* de Penedo, no estado do Amazonas. No Pleistoceno Médio, as linhagens de *P. cuvieri* dos estados do Acre e Amazonas divergiram, as linhagens de *P. gr. goeldii* sp. n. divergiram e as duas linhagens de *P. guyannensis* da Guiana Francesa divergiram. Na transição do Pleistoceno Médio a Superior, os haplótipos de *P. roberti* de cada porção de sua distribuição divergiram entre si. Todos esses eventos deram-se na Idade Lujaniense (SALMA).

Thrichomys

Como a variância das datações feitas com máxima verossimilhança foi maior e as datações bayesianas geralmente estavam incluídas dentro do intervalo dos limites

de confiança das datações de máxima verossimilhança, optou-se por discutir os dados com base nas datações feitas por análise bayesiana, usando o modelo de relógio estrito, já que a distribuição posterior do desvio padrão do relógio relaxado aproximou-se de zero.

Mioceno Inferior

Os dados indicam que *Thrichomys* divergiu dos outros equimiídeos no Mioceno Inferior, na idade Colhuehuapiense de Mamíferos Terrestres Sul-americanos (SALMA). Apesar de ter divergido dos outros gêneros de equimiídeos nessa época, apenas no Plioceno inferior, cerca de 10 milhões de anos depois, encontramos a primeira radiação de *Thrichomys*, sugerindo que o gênero pode ter passado por um (ou mais) severo gargalo, que pode ter eliminado quase todas as linhagens, deixando uma única remanescente. Esta extinção de linhagens pode estar relacionada com o Grande Intercâmbio Biótico do Plioceno, quando diversos táxons, em sua maioria típicos de formações abertas, invadiram a América do Sul, vindos da América do Norte, através da recém formada América Central, acarretando o desaparecimento de inúmeros táxons sul-americanos (MARSHALL, 1988; WEBB, 1978).

Plioceno

No Plioceno Inferior, na idade Montehermosense (SALMA), as primeiras linhagens de *Thrichomys* divergiram. Um clado formado por *T. inermis* e *T. sp. n.* divergiu de outro, formado por *T. apereoides*, *T. fosteri* e *T. pachyurus*. Pouco depois, também na idade Montehermosense (SALMA), divergiram *T. inermis* e *T. sp.*, sugerindo uma rápida diversificação dessas linhagens.

Na transição do Plioceno Inferior ao Superior, na idade Chapadmalense (SALMA), *T. fosteri* divergiu de *T. apereoides* e *T. pachyurus*.

No Plioceno Superior, na transição das idades Chapadmalense e Uquiense (SALMA), *T. apereoides* e *T. pachyurus* divergiram; e na idade Uquiense (SALMA), linhagens do norte e do sul da distribuição de *T. inermis* divergiram. No final do Plioceno, cerca de 2,9 milhões de anos atrás, ocorreu um pico transgressivo (HARDENBOL *et al.*, 1998; OGG *et al.*, 2008). Esta transgressão marinha poderia estar associada com mudanças climáticas na América do Sul, implicando numa expansão das florestas úmidas e, conseqüente fragmentação das formações secas, isolando aquelas linhagens.

Pleistoceno

Também na idade Uquiense (SALMA), mas já no Pleistoceno Inferior, linhagens de *T. apereoides* do Nordeste divergiram das linhagens dos estados da Bahia e Minas Gerais.

Ainda no Pleistoceno Inferior, na transição das idades Enseadense e Lujaniense (SALMA), ocorreu uma sucessão de eventos de cladogênese: linhagens dos estados de Alagoas e Paraíba de *T. apereoides* do Nordeste divergiram de linhagens dos estados do Piauí e Maranhão; linhagens do sudoeste da Bahia de *T. apereoides* divergiram de linhagens do sudeste da Bahia; linhagens de *T. pachyurus* do estado de Mato Grosso divergiram de linhagens dos estados de Goiás e Tocantins; e linhagens de *T. pachyurus* de Goiás e Tocantins divergiram entre si.

Na transição do Pleistoceno Inferior a Médio, as linhagens do norte e do sul da distribuição de *T. apereoides* de Minas Gerais divergiram; as linhagens de *T. apereoides* de Alagoas e da Paraíba divergiram; os haplótipos de *T. pachyurus* de

Tocantins divergiram; os haplótipos de *T. fosteri* divergiram; e os haplótipos de *T. sp. n.* divergiram. No Pleistoceno Médio, os haplótipos da parte sul da distribuição de *T. inermis* divergiram; os haplótipos da parte norte da distribuição de *T. inermis* divergiram; os haplótipos de *T. pachyurus* de Goiás divergiram; os haplótipos de *T. apereoides* do sudeste da Bahia divergiram; os haplótipos de *T. apereoides* de Alagoas divergiram; os haplótipos de *T. apereoides* do Piauí e do Maranhão divergiram. Na transição do Pleistoceno Médio a Superior, os haplótipos de *T. apereoides* do norte de Minas Gerais divergiram. Todos esses eventos deram-se na Idade Lujaniense (SALMA).

Pleisto-Holoceno

Na transição pleisto-holocenênica, ainda na idade Lujaniense (SALMA), os haplótipos de *T. apereoides* do sudoeste da Bahia divergiram.

Trinomys

Como a variância das datações feitas com máxima verossimilhança foi maior e as datações bayesianas geralmente estavam incluídas dentro do intervalo dos limites de confiança das datações de máxima verossimilhança, optou-se por discutir os dados com base nas datações feitas por análise bayesiana, usando o modelo de relógio relaxado, já que a distribuição posterior do desvio padrão do relógio relaxado não se aproximou de zero.

Mioceno Inferior

Os dados indicam que *Trinomys* divergiu dos outros equimiídeos no Mioceno Inferior, na transição entre as idades Colhuehuapiense a Santacruciense de Mamíferos Terrestres Sul-americanos (SALMA).

Mioceno Médio

O ancestral comum mais recente das espécies de *Trinomys* da amostra encontra-se no Mioceno Médio. Nesta época, na idade Colloncurense (SALMA), um clado formado por *T. eliasi*, *T. paratus*, *T. setosus* e *T. yonenagae* divergiu das outras espécies de *Trinomys*. Este clado foi chamado de clado 2 por Lara e Patton (2000). Pouco depois, já na idade Laventense (SALMA), *T. albispinus* divergiu de um clado formado por *T. dimidiatus*, *T. graciosus*, *T. iheringi* e *T. mirapitanga*, dando origem aos clados 3 e 1, respectivamente, como definidos por Lara e Patton (2000). No início do Mioceno Médio, há cerca de 15,8 milhões de anos atrás (no Langhiense), houve um pico transgressivo, na idade Friasiense (SALMA), que pode ter influenciado os eventos de cladogênese que o sucederam. No final do Mioceno Médio, há cerca de 11,8 milhões de anos atrás (no Serravaliense), houve um pico regressivo; e pouco depois, no início do Mioceno Superior, há cerca de 10,6 milhões de anos atrás (no Tortoniense), houve um pico transgressivo (HARDENBOL *et al.*, 1998; LUNDBERG *et al.*, 1998; OGG *et al.*, 2008) essa sequência de eventos ocorreu na idade Mayoense (SALMA) e pode ter influenciado os eventos de cladogênese que se seguiram.

Nossa estimativa para a divergência dos clados de *Trinomys*, entre 13,2 e 14,3 milhões de anos, é muito mais antiga que a estimativa de Lara e Patton (2000), de 1,6 a 7,4 milhões de anos.

Mioceno Superior

No Mioceno Superior, na transição entre as idades Mayoense e Chasicense (SALMA), o clado formado por *T. eliasi*, *T. paratus* divergiu de outro clado formado por *T. setosus* e *T. yonenagae*, este último pouco apoiado; e *T. graciosus* divergiu de um clado formado por *T. dimidiatus*, *T. iheringi* e *T. mirapitanga*; na idade

Huayqueriense (SALMA), *T. yonenagae* divergiu de *T. setosus* e *T. mirapitanga* divergiu de um clado formado por *T. dimidiatus*, *T. iheringi*; e na idade Montehermosense (SALMA), *T. dimidiatus* divergiu de *T. iheringi*.

Plioceno

Na transição do Plioceno Inferior ao Superior, na idade Chapadmalense (SALMA), *T. setosus setosus* divergiu de um clado formado por *T. s. denigratus* e *T. s. elegans*. O tempo de divergência entre as linhagens sugere que sejam espécies distintas.

Plio-Pleistoceno

Na transição do Plio-Pleistoceno, na idade Uquiense (SALMA), os haplótipos de *T. albispinus* divergiram, sugerindo que pertençam a espécies distintas, sendo o exemplar de Cristinápolis, no estado de Sergipe, pertencente à subespécie *sertonius*, sugerimos sua elevação à categoria de espécie, ficando assim *Trinomys sertonius* (Thomas, 1921). Nessa mesma época os haplótipos de *T. eliasi* e *T. paratus* divergiram.

No final do Plioceno, cerca de 2,9 milhões de anos atrás, ocorreu um pico transgressivo (HARDENBOL *et al.*, 1998; OGG *et al.*, 2008). Esta transgressão marinha poderia estar associada com mudanças climáticas na América do Sul, implicando em um aumento nas florestas úmidas e, conseqüente fragmentação de formações mais secas. Note-se que as linhagens de *Trinomys* originadas por volta dessa época pertencem ao clado 3, de formações xerofíticas, e ao clado 2 de florestas semidecíduas.

Pleistoceno

Ainda na idade Uquiense (SALMA), mas já no Pleistoceno Inferior, ocorreu a primeira divergência entre os haplótipos amostrados de *T. gratiosus*; duas linhagens de *T. dimidiatus* do estado do Rio de Janeiro divergiram, uma do norte e outra do sul da distribuição da amostra; e os haplótipos de *T. s. denigratus* e *T. s. elegans* divergiram, o tempo de divergência entre essas duas linhagens mitocondriais apoiando seu status subespecífico, baseado na definição de subespécie de Avise e Ball (1990) e O'Brien e Mayr (1991).

Na transição do Pleistoceno Inferior para o Médio, no início da idade Lujaniense (SALMA), *T. gratiosus bonafidei* divergiu de um clado formado por duas das linhagens de *T. g. gratiosus* amostradas, apoiando o status subespecífico atribuído a *T. gratiosus bonafidei*; e os haplótipos de *T. dimidiatus* do norte da distribuição da amostra divergiram.

Ainda na idade Lujaniense (SALMA), mas já no Pleistoceno Médio, ocorreu a primeira divergência entre os haplótipos amostrados de *T. iheringi*; e os haplótipos de *T. dimidiatus* do sul da distribuição da amostra divergiram.

Conclusões

1. De maneira geral houve pouca sobreposição nos eventos de cladogênese, comparativamente entre os três gêneros, sugerindo que as variações climáticas do passado afetaram de maneira diversa cada bioma e suas respectivas biotas.
2. *Proechimys* e *Trinomys* apresentam diversas linhagens antigas, que divergiram desde o Mioceno Médio.
3. *Thrichomys* sofreu uma severa extinção de linhagens entre o final do Mioceno e o início do Plioceno, possivelmente associada com o Grande Intercâmbio Biótico Americano.
4. A hipótese de refúgios do Pleistoceno não pode explicar a diversidade de espécies dos gêneros analisados, mas possivelmente as oscilações climáticas do Pleistoceno desempenharam um papel decisivo sobre a distribuição atual das espécies.
5. Apenas um modelo de diversificação não pode explicar nossos dados, que sugerem a ocorrência tanto de vicariância quanto de dispersão, demonstrando a necessidade de modelos mais complexos para abordar a diversidade na região Neotropical.
6. Este estudo mostra a importância de analisar filogenias sobre uma estrutura temporal, produzindo inferências dentro de uma perspectiva histórica e não apenas sistemática.

Resumo

Uma análise comparativa dos tempos de divergência dos eventos de cladogênese dentro dos gêneros *Proechimys*, *Thrychomys* e *Trinomys* de equimiídeos, baseada em seqüências do gene mitocondrial citocromo *b*, revelou distintos padrões de diversificação para esses três gêneros. Em geral houve pouca sobreposição entre os eventos de diversificação dos três gêneros comparados. Tanto *Proechimys* quanto *Trinomys* comportam diversas linhagens antigas, que vêm se diferenciando desde o Mioceno Médio. *Thrychomys* apresentou indício de uma perda de linhagens entre o final do Mioceno e o início do Plioceno, que pode estar associada ao Grande Intercâmbio Biótico Americano. Esses dados sugerem que as oscilações climáticas podem ter afetado de maneira diversa, com distintas respostas, os diferentes biomas ocupados por esses três gêneros. Nossos dados sugerem que apenas um modelo de diversificação não pode explicar a diversidade neotropical, enfatizando a necessidade de abordagens com modelos mais complexos. Este estudo demonstra a importância de associar uma estrutura temporal às análises filogenéticas. Associar tempo a eventos de cladogênese permite inferir modelos de especiação e extinção, comparar taxas de evolução entre táxons e correlacionar esses eventos com processos geológicos, paleoclimáticos e biogeográficos.

Abstract

Comparative analysis of divergence times for cladogenic events within the echimyid genera Proechimys, Thrychomys, and Trinomys, based on sequences of the mitochondrial cytochrome-b gene, revealed distinct patterns of diversification for these three genera. In general there was little overlap between the events of diversification of the three genera, when compared. Both Proechimys and Trinomys consist of several lineages which have become differentiated since the Middle Miocene. Thrichomys seems to have undergone a severe bottleneck, with the survival of a single lineage, which may be associated with the Great American Biotic Interchange. These data suggest that fluctuations in past climate may have affected differently, the different biomes occupied by these three genera. Our data suggest that a single speciation mode fails to explain Neotropical biodiversity, emphasizing the need for approaches using complex models. This study demonstrates the importance of associating a temporal framework to phylogenetic analyses. Relating cladogenesis and time allows testing of hypotheses about the mode of speciation and extinction, comparison of rates of evolution across taxa, and correlation of such events with important geological, paleoclimatic, and biogeographic processes.

Referências Bibliográficas

- ADKINS, R. M. *et al.* Higher-level systematics of rodents and divergence time estimates based on two congruent nuclear genes. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 26, n. 3, p. 409-20, Mar 2003.
- AGUILERA, M.; CORTI, M. Craniometric differentiation and chromosomal speciation of the genus *Proechimys* (Rodentia, Echimyidae). **Zeitschrift fur Saugetierkunde-International Journal of Mammalian Biology**, v. 59, n. 6, p. 366-377, DEC 1994.
- ALHO, C. J. R. Brazilian rodents: their habitats and habits. In: MARES, M. A. e GENOWAYS, H. H. (Ed.). **Mammalian biology in South America: a symposium held at the Pymatuning Laboratory of Ecology, May 10-14, 1981**. Linesville: Pymatuning Laboratory of Ecology, University of Pittsburgh, v.6, 1982. p.143-166.
- ALHO, C. J. R. *et al.* Patterns of habitat utilization by small mammal populations in Cerrado Biome of Central Brazil. **Mammalia**, v. 50, n. 4, p. 447-460, 1986.
- ANDERSON, S. Mammals of Bolivia, taxonomy and distribution. **Bulletin of the American Museum of Natural History**, n. 231, p. 1-652, 1997.
- ANDRIOLI, A. *et al.* Different patterns of neuronal activation and neurodegeneration in the thalamus and cortex of epilepsy-resistant *Proechimys* rats versus Wistar rats after pilocarpine-induced protracted seizures. **Epilepsia**, v. 50, n. 4, p. 832-48, Apr 2009.
- ARBOGAST, B. S. *et al.* Pleistocene Speciation and the Mitochondrial DNA Clock. **Science**, v. 282, n. 5396, p. 1955a, December 11 1998.
- ARIDA, R. M. *et al.* *Proechimys guyannensis*: an animal model of resistance to epilepsy. **Epilepsia**, v. 46 Suppl 5, p. 189-97, 2005.
- AVILA-PIRES, T. C. S. Lizards of Brazilian Amazonia (Reptilia: Squamata). **Zoologische Verhandelingen (Leiden)**, v. 299, p. 1-706, 1995.
- AVISE, J. C.; BALL, R. M., JR. Principles of genealogical concordance in species concepts and biological taxonomy. **Oxford Surveys in Evolutionary Biology**, v. 7, p. 45-67, 1990.
- AVISE, J. C.; WALKER, D. Pleistocene phylogeographic effects on avian populations and the speciation process. **Proc Biol Sci**, v. 265, n. 1395, p. 457-63, Mar 22 1998.
- AYALA, F. J. Molecular clock mirages. **Bioessays**, v. 21, n. 1, p. 71-75, Jan 1999.

AYRES, J. M.; CLUTTON-BROCK, T. H. River boundaries and species range size in Amazonian Primates. **American Naturalist**, v. 140, n. 3, p. 531-537, 1992.

BALDWIN, B. G.; SANDERSON, M. J. Age and rate of diversification of the Hawaiian silversword alliance (Compositae). **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 95, n. 16, p. 9402-9406, Aug 4 1998.

BANDOUK, A. C.; REIS, S. F. Craniometric variation and subspecific differentiation in *Thrichomys apereoides* in Northeastern Brazil (Rodentia, Echimyidae). **Zeitschrift fur Säugetierkunde-International Journal of Mammalian Biology**, v. 60, n. 3, p. 176-185, JUN 1995.

BANDOUK, A. C. *et al.* Cranial differentiation and evolution in *Thrichomys apereoides* (Rodentia: Echimyidae). **Journal of Zoology**, v. 239, p. 65-71, MAY 1996.

BARROS, R. S. M. **Variabilidade cromossômica em *Proechimys* e *Oryzomys* (Rodentia) da Amazônia**. 1978. 184 p. Tese (Doutorado). Departamento de Biologia, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.

BASILE, P. A. **Taxonomia de *Thrichomys* Trouessart, 1880 (Rodentia, Echimyidae)**. 2003. 158 p. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, SP, Brasil.

BELL, C. D.; DONOGHUE, M. J. Dating the dipsacales: Comparing models, genes, and evolutionary implications. **American Journal of Botany**, v. 92, n. 2, p. 284-296, Feb 2005.

BONVICINO, C. R. *et al.* An elevational gradient study of small mammals at Caparaó National Park, south eastern Brazil. **Mammalia**, v. 61, n. 4, p. 547-560, 1997.

_____. Karyologic evidence of diversification of the genus *Thrichomys* (Rodentia, Echimyidae). **Cytogenetic and Genome Research**, v. 97, n. 3-4, p. 200-204, 2002.

_____. Karyologic and molecular analysis of *Proechimys* Allen, 1899 (Rodentia, Echimyidae) from the Amazonian Region. **Arquivos do Museu Nacional (Rio de Janeiro)**, v. 63, n. 1, p. 191-200, 2005.

BRAGGIO, E.; BONVICINO, C. R. Molecular divergence in the genus *Thrichomys* (Rodentia, Echimyidae). **Journal of Mammalogy**, v. 85, n. 2, p. 316-320, APR 2004.

BRITTEN, R. J. Rates of DNA-Sequence Evolution Differ between Taxonomic Groups. **Science**, v. 231, n. 4744, p. 1393-1398, Mar 21 1986.

BRITTON, T. Estimating divergence times in phylogenetic trees without a molecular clock. **Systematic Biology**, v. 54, n. 3, p. 500-7, Jun 2005.

BRITTON, T. *et al.* Estimating divergence times in large phylogenetic trees. **Systematic Biology**, v. 56, n. 5, p. 741-752, Oct 2007.

_____. Phylogenetic dating with confidence intervals using mean path lengths. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 24, n. 1, p. 58-65, Jul 2002.

BROMHAM, L. *et al.* The power of relative rates tests depends on the data. **Journal of Molecular Evolution**, v. 50, n. 3, p. 296-301, Mar 2000.

BROOKS, D. R.; MCLENNAN, D. A. **Phylogeny, ecology, and behaviour: a research program in comparative biology**. University of Chicago Press, Chicago, 1991. i-xii, 1-434.

CABRERA, A. L. **Catálogo de los mamíferos de América del Sur**. Buenos Aires: Impr. y Casa Editora "Coni", 1961. 2 v. (xxii, 732 p.).

CAPPARELLA, A. P. Neotropical avian diversity and riverine barriers. In: BELL, B. D. *et al.* (Ed.). **Acta 20th Congressus Internationalis Ornithologici. Christchurch, New Zealand 2-9 December 1990. Volume 1**. Wellington: New Zealand Ornithological Congress Trust Board, 1991. p.307-316.

CARVALHO, G. A. S.; SALLES, L. O. Relationships among extant and fossil echimyids (Rodentia: Hystricognathi). **Zoological Journal of the Linnean Society**, v. 142, n. 4, p. 445-477, 2004.

CARVALHO, R. A. *et al.* Amygdala kindling in *Proechimys guyannensis* rat: an animal model of resistance to epilepsy. **Epilepsia**, v. 44, n. 2, p. 165-70, Feb 2003.

COLINVAUX, P. A.; DE OLIVEIRA, P. E. Amazon plant diversity and climate through the Cenozoic. **Palaeogeography Palaeoclimatology Palaeoecology**, v. 166, n. 1-2, p. 51-63, Feb 1 2001.

COLINVAUX, P. A. *et al.* Amazonian and neotropical plant communities on glacial time-scales: The failure of the aridity and refuge hypotheses. **Quaternary Science Reviews**, v. 19, n. 1-5, p. 141-169, Jan 2000.

_____. A long pollen record from lowland Amazonia: Forest and cooling in glacial times. **Science**, v. 274, n. 5284, p. 85-88, Oct 4 1996.

CONROY, C. J.; VAN TUINEN, M. Extracting time from phylogenies: Positive interplay between fossil and genetic data. **Journal of Mammalogy**, v. 84, n. 2, p. 444-455, May 2003.

CORRÊA, M. M. D. O. *et al.* The karyotypes of *Trinomys moojeni* (Pessoa, Oliveira & Reis, 1992) and *Trinomys setosus elegans* (Lund, 1841) (Rodentia, Echimyidae) from Minas Gerais, Eastern Brazil. **Arquivos do Museu Nacional (Rio de Janeiro)**, v. 63, n. 1, p. 169-174, 2005.

COSTA, L. P. The historical bridge between the Amazon and the Atlantic Forest of Brazil: A study of molecular phylogeography with small mammals. **Journal of Biogeography**, v. 30, n. 1, p. 71-86, 2003.

CRACRAFT, J. Species-Diversity, Biogeography, and the Evolution of Biotas. **American Zoologist**, v. 34, n. 1, p. 33-47, 1994.

CRACRAFT, J.; PRUM, R. O. Patterns and processes of diversification: speciation and historical congruence in some Neotropical birds. **Evolution**, v. 42, n. 3, p. 603-620, 1988.

CROFT, D. A. The middle Miocene (Laventan) Quebrada Honda Fauna, southern Bolivia and a description of its notoungulates. **Palaeontology (Oxford)**, v. 50, n. 1, p. 277-303, 2007.

DA ROCHA, P. L. B. *Proechimys yonenagae*, a new species of spiny rat (Rodentia: Echimyidae) from fossil sand dunes in the Brazilian Caatinga. **Mammalia**, v. 59, n. 4, p. 537-549, 1995.

DA SILVA, M. N. F. Four new species of spiny rats of the genus *Proechimys* (Rodentia: Echimyidae) from the western Amazon of Brazil. **Proc. Biol. Soc. Wash.**, v. 111, n. 2, p. 436-471, 1998.

DARWIN, C. **The Origin of Species by means of natural selection, or the preservation of favoured races in the struggle for life**. 6th ed., with additions and corrections. London: John Murray, 1876. pp. 458.

DIAMOND, A. W.; HAMILTON, A. C. The distribution of forest passerine birds and Quaternary climatic change in tropical Africa. **Journal of Zoology (London)**, v. 191, n. 3, p. 379-402, 1980.

DOBSON, F. S.; OLI, M. K. Fast and slow life histories of mammals. **Ecoscience**, v. 14, n. 3, p. 292-299, 2007.

DRUMMOND, A. J. *et al.* Relaxed phylogenetics and dating with confidence. **PLoS Biol**, v. 4, n. 5, p. e88, May 2006.

_____. Estimating mutation parameters, population history and genealogy simultaneously from temporally spaced sequence data. **Genetics**, v. 161, n. 3, p. 1307-20, Jul 2002.

DRUMMOND, A. J.; RAMBAUT, A. BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. **BMC Evol Biol**, v. 7, p. 214, 2007.

DUARTE, L. C. *et al.* Variation in mandible shape in *Thrichomys apereoides* (Mammalia: Rodentia): geometric analysis of a complex morphological structure. **Systematic Biology**, v. 49, n. 3, p. 563-578, Sep 2000.

_____. Orthogonal projections and bootstrap resampling procedures in the study of infraspecific variation. **Genetics and Molecular Biology**, v. 21, n. 4, p. 479-486, Dec 1998.

DUELLMAN, W. E. The biology of an equatorial herpetofauna in Amazonian Ecuador. **University of Kansas Natural History Museum Miscellaneous Publication**, p. 1-352, 1978.

EDWARDS, S. V. Relevance of microevolutionary processes to higher level molecular systematics. In: MINDELL, D. P. (Ed.). **Avian molecular evolution and systematics**. San Diego, London etc.: Academic Press, 1997. p.251-278.

EISENBERG, J. F.; REDFORD, K. H. **Mammals of the Neotropics**. Chicago: University of Chicago Press, 1999. 609 p.

EMMONS, L. H. A revision of the genera of arboreal Echimyidae (Rodentia: Echimyidae, Echimyinae), with descriptions of two new genera. **University of California Publications in Zoology**, v. 133, p. 247-309, 2005.

EMMONS, L. H. *et al.* A review of the named forms of Phyllomys (Rodentia, Echimyidae), with the description of a new species from coastal Brazil. **American Museum Novitates**, n. 3380, p. 1-40, 2002.

ENDLER, J. A. Geographic variation, speciation and clines. **Monographs in Population Biology**, p. i-ix, 1-246, 1977.

_____. Pleistocene forest refuges: fact or fancy? In: PRANCE, G. T. (Ed.). **Biological diversification in the tropics**.: Columbia University Press, New York, 1982a. p.641-657.

_____. Problems in distinguishing historical from ecological factors in biogeography. **American Zoologist**, v. 22, n. 2, p. 441-452, 1982b.

FABENE, P. F. *et al.* The spiny rat *Proechimys guyannensis* as model of resistance to epilepsy: chemical characterization of hippocampal cell populations and pilocarpine-induced changes. **Neuroscience**, v. 104, n. 4, p. 979-1002, 2001.

FELSENSTEIN, J. Confidence-Limits on Phylogenies - an Approach Using the Bootstrap. **Evolution**, v. 39, n. 4, p. 783-791, 1985.

FETZNER, J. W., JR. Extracting high-quality DNA from shed reptile skins: a simplified method. **Biotechniques**, v. 26, n. 6, p. 1052-1054, Jun 1999.

FJELDSA, J. Geographical patterns for relict and young species of birds in Africa and South America and implications for conservation priorities. **Biodiversity and Conservation**, v. 3, n. 3, p. 207-226, 1994.

FLYNN, J. J. *et al.* The Tinguiririca fauna, Chile: biochronology, paleoecology, biogeography, and a new earliest Oligocene South American Land Mammal 'Age'. **Palaeogeography Palaeoclimatology Palaeoecology**, v. 195, n. 3-4, p. 229-259, 2003.

FOREST, F. Calibrating the Tree of Life: fossils, molecules and evolutionary timescales. **Annals of Botany**, v. 104, n. 5, p. 789-794, Oct 2009.

FRAILEY, C. D.; CAMPBELL JR., K. E. The Rodents of the Santa Rosa Local Fauna. In: CAMPBELL JR., K. E. (Ed.). **The Paleogene Mammalian Fauna of Santa Rosa, Amazonian Peru**. Los Angeles: Natural History Museum of Los Angeles County, Science Series, v.40, 2004. p.71-130. (Science Series).

GALEWSKI, T. *et al.* Ecomorphological diversification among South American spiny rats (Rodentia; Echimyidae): a phylogenetic and chronological approach. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 34, n. 3, p. 601-615, Mar 2005.

GARDNER, A. L.; EMMONS, L. Species group in *Proechimys* (Rodentia: Echimyidae) as indicated by karyology and bullar morphology. **Journal of Mammalogy**, v. 65, n. 1, p. 10-25, 1984.

GEISE, L. *et al.* Pattern of elevational distribution and richness of non volant mammals in Itatiaia National Park and its surroundings, in southeastern Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 64, n. 3B, p. 599-612, 2004.

HAFFER, J. Speciation in Amazonian forest birds. **Science, N.Y.**, v. 165, p. 131-137, 1969.

_____. Avian speciation in tropical South America with a systematic survey of the toucan (Ramphastidae) and jacamars (Galbulidae). **Publications Nuttall Orn. Club**, v. No.,14, p. 1-390, 1974.

_____. On the "river effect" in some forest birds of southern Amazonia. **Boletim do Museu Paraense Emilio Goeldi Serie Zoologia**, v. 8, n. 1, p. 217-245, 1992.

HALL, T. A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. **Nucleic Acids Symposium Series**, v. 41, p. 95-98, 1999.

HARDENBOL, J. *et al.* Mesozoic and Cenozoic sequence Chronostratigraphic framework of European basins. In: DE GRACIANSKY, P.-C. *et al.* (Ed.). **Mesozoic-Cenozoic Sequence Stratigraphy of European Basins**. Tulsa: SEPM Special Publication, v.60, 1998. p.3-13.

HASEGAWA, M. *et al.* Dating of the human-ape splitting by a molecular clock of mitochondrial DNA. **Journal of Molecular Evolution**, v. 22, n. 2, p. 160-74, 1985.

_____. Time scale of eutherian evolution estimated without assuming a constant rate of molecular evolution. **Genes Genet Syst**, v. 78, n. 4, p. 267-83, Aug 2003.

HEDGES, S. B. *et al.* Constraining fossil calibrations for molecular clocks. **Bioessays**, v. 28, n. 7, p. 770-771, Jul 2006.

HERSHKOVITZ, P. **Living New World monkeys (Platyrrhini). With an introduction to Primates. Volume 1.** University of Chicago Press, Chicago & London, 1977. 1-1117, illust.

HO, S. Y. W. *et al.* Accuracy of rate estimation using relaxed-clock models with a critical focus on the early metazoan radiation. **Molecular Biology and Evolution**, v. 22, n. 5, p. 1355-1363, May 2005.

HONACKI, J. H. *et al.* **Mammal species of the world: A taxonomic and geographic reference.** 5th. Lawrence: Allen Press and the Association of Systematics Collections, 1982. 694p.

IAK-XIMENES, G. E. *et al.* A new genus for *Loncheres grandis* Wagner, 1845, with taxonomic comments on other arboreal echimyids (Rodentia, Echimyidae). **Arquivos do Museu Nacional, Rio de Janeiro**, v. 63, n. 1, p. 89-112, 2005.

IRWIN, D. M. *et al.* Evolution of the cytochrome *b* gene of mammals. **Journal of Molecular Evolution**, v. 32, n. 2, p. 128-144, Feb 1991.

JOB, G. TREEFINDER version of October 2008. Munich, Germany, 2008.
Disponível em: <<http://www.treefinder.de/>>.

JUKES, T. H.; CANTOR, C. R. Evolution of protein molecules. In: MUNRO, H. N. (Ed.). **Mammalian Protein Metabolism.** New York: Academic Press, 1969. p.21-132.

KAY, R. F. *et al.* Revised geochronology of the casamayoran south american land mammal age: climatic and biotic implications. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 96, n. 23, p. 13235-40, Nov 9 1999.

KLICKA, J.; ZINK, R. M. The importance of recent ice ages in speciation: A failed paradigm. **Science**, v. 277, n. 5332, p. 1666-1669, Sep 12 1997.

LARA, M. C. *et al.* Diversification of small mammals in the Atlantic forest of Brazil: testing the alternatives. **University of California Publications in Zoology**, v. 133, p. 311-333, 2005.

LARA, M. C.; PATTON, J. L. Evolutionary diversification of spiny rats (genus *Trinomys*, Rodentia: Echimyidae) in the Atlantic Forest of Brazil. **Zoological Journal of the Linnean Society**, v. 130, n. 4, p. 661-686, 2000.

LARA, M. C. *et al.* The simultaneous diversification of South American echimyid rodents (Hystricognathi) based on complete cytochrome *b* sequences. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 5, n. 2, p. 403-413, Apr 1996.

_____. *Trinomys mirapitanga*, a new species of spiny rat (Rodentia: Echimyidae) from the Brazilian Atlantic Forest. **Mammalian Biology**, v. 67, n. 4, p. 233-242, 2002.

LEAL-MESQUITA, E. R. **Estudos citogenéticos em dez espécies de roedores brasileiros da família Echimyidae**. 1991. 167 p. Dissertação (Mestrado). Departamento de Biologia, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.

LEAL-MESQUITA, E. R. *et al.* Comparative cytogenetic studies of two karyomorphs of *Trichomys apereoides* (Rodentia, Echimidæ). **Rev. Bras. Genet.**, v. 16, n. 3, p. 639-651, 1993.

_____. Chromosomal characterization and comparative cytogenetic analysis of two species of *Proechimys* (Echimidæ Rodentia) from the Caatinga domain of the state of Bahia Brazil. **Caryologia**, v. 45, n. 2, p. 197-212, 1992.

LEITE, Y. L.; PATTON, J. L. Evolution of South American spiny rats (Rodentia, Echimyidae): the star-phylogeny hypothesis revisited. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 25, n. 3, p. 455-464, Dec 2002.

LEWIN, R. Molecular Clocks Run out of Time. **New Scientist**, v. 125, n. 1703, p. 38-41, Feb 10 1990.

LIMA, J. F. S. **Diversidade cariológica de roedores de pequeno porte do estado do Tocantins, Brasil**. 2000. 183 p. Tese (Doutorado). Campus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Rio Claro, SP.

LINDER, H. P. *et al.* Taxon sampling effects in molecular clock dating: An example from the African Restionaceae. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 35, n. 3, p. 569-582, Jun 2005.

LUNDBERG, J. G. *et al.* The stage for Neotropical fish diversification: a history of tropical South American rivers. In: MALABARBA, L. R. *et al.* (Ed.). **Phylogeny and classification of neotropical fishes**. Porto Alegre: Edipucrs, 1998. p.13-48.

MA, D. P. *et al.* Structure and evolution of opossum, guinea pig, and porcupine cytochrome *b* genes. **Journal of Molecular Evolution**, v. 36, n. 4, p. 327-334, Apr 1993.

MACHADO, T. *et al.* Nine karyomorphs for spiny rats of the genus *Proechimys* (Echimyidae, Rodentia) from North and Central Brazil. **Genetics and Molecular Biology**, v. 28, n. 4, p. 682-692, 2005.

MADDISON, W. P.; MADDISON, D. R. Mesquite: a modular system for evolutionary analysis. Version 2.72. 2009. Disponível em: <<http://mesquiteproject.org/mesquite/mesquite.html>>.

MARES, M. A. *et al.* Small mammals community structure and composition in the cerrado province of central Brazil. **Journal of Tropical Ecology**, v. 2, p. 301-325, 1986.

MARES, M. A.; OJEDA, R. A. Patterns of diversity and adaptation in South American hystricognath rodents. In: MARES, M. A. e GENOWAYS, H. H. (Ed.). **Mammalian biology in South America: a symposium held at the Pymatuning Laboratory of Ecology, May 10-14, 1981**. Linesville: Pymatuning Laboratory of Ecology, University of Pittsburgh, v.6, 1982. p.393-432.

MARES, M. A. *et al.* The Brazilian Caatinga in South American zoogeography: tropical mammals in a dry region. **Journal of Biogeography**, v. 12, p. 57-69, 1985.

MARSHALL, L. G. Land Mammals and the Great American Interchange. **American Scientist**, v. 76, n. 4, p. 380-388, Jul-Aug 1988.

MAYR, E. **Animal species and evolution**. London: (Oxford University Press), 1963. pp. xiv 797.

MAYR, E.; O'HARA, R. J. The biogeographic evidence supporting the Pleistocene forest refuge hypothesis. **Evolution**, v. 40, n. 1, p. 55-67, 1986.

MAYR, E.; OHARA, R. J. The Biogeographic Evidence Supporting the Pleistocene Forest Refuge Hypothesis. **Evolution**, v. 40, n. 1, p. 55-67, Jan 1986.

MCKENNA, D. D.; FARRELL, B. D. Tropical forests are both evolutionary cradles and museums of leaf beetle diversity. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 103, n. 29, p. 10947-10951, 2006.

MCKENNA, M. C.; BELL, S. K. **Classification of mammals: above the species level**. New York, & Chichester, West Sussex: Columbia University Press, 1997. i-xiii, 1-631.

MCKENNA, M. C. *et al.* **Classification of mammals above the species level**. New York: Columbia University Press, 1997. xii, 631 p. (one folded).

MONTGELARD, C. *et al.* Molecular systematics of Sciurognathi (Rodentia): the mitochondrial cytochrome *b* and 12S rRNA genes support the Anomaluroidea (Pedetidae and Anomaluridae). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 22, n. 2, p. 220-233, Feb 2002.

MOOJEN, J. **Speciation in the Brazilian spiny rats (genus *Proechimys*, family Echimyidae)**. Lawrence: University of Kansas, 1948. 301-406.

_____. **Os roedores do Brasil**. Rio de Janeiro: Instituto Nacional do Livro, 1952. 214 p.

MOREAU, R. E. **The bird faunas of Africa and its islands**. New York, London: Academic Press, 1966. 1-424.

MORITZ, C. *et al.* Biogeographical concordance and efficiency of taxon indicators for establishing conservation priority in a tropical rainforest biota. **Proc Biol Sci**, v. 268, n. 1479, p. 1875-81, Sep 22 2001.

MYERS, N. Biodiversity hotspots revisited. **Bioscience**, v. 53, n. 10, p. 916-917, Oct 2003.

MYERS, N. *et al.* Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature (London)**, v. 403, n. 6772, p. 853-858, 2000.

NEI, M. *et al.* Estimation of divergence times from multiprotein sequences for a few mammalian species and several distantly related organisms. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 98, n. 5, p. 2497-2502, Feb 27 2001.

NELSON, B. W. *et al.* Endemism Centers, Refugia and Botanical Collection Density in Brazilian Amazonia. **Nature**, v. 345, n. 6277, p. 714-716, Jun 21 1990.

NELSON, G.; PLATNICK, N. **Systematics and biogeography: cladistics and vicariance**. Columbia University Press, New York, 1981. 1-567.

NOWAK, R. M. **Walker's mammals of the world. Volume 2**. Johns Hopkins University Press, Baltimore, Maryland, 1991. i-x, 643-1629.

NYLANDER, J. A. A. MrModeltest. 2, Evolutionary Biology Centre, Uppsala University, 2004.

O'BRIEN, S. J.; MAYR, E. Bureaucratic mischief: recognizing endangered species and subspecies. **Science (Washington D C)**, v. 251, p. 1187-1189, 1991.

OGG, J. G. *et al.* **The Concise Geologic Time Scale**. New York: Cambridge University Press, 2008.

ORR, M. R.; SMITH, T. B. Ecology and speciation. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 13, n. 12, p. 502-506, 1998.

PATTERSON, B.; WOOD, A. E. **Rodents from the Deseadan Oligocene of Bolivia and the relationships of the Caviomorpha**. Cambridge: The Museum of Comparative Zoology at Harvard College, 1982. 371-543.

PATTON, J. L. Species group of spiny rats, genus *Proechimys* (Rodentia, Echimyidae). **Fieldiana: Zoology (New Series)**, v. 39, p. 305-345, 1987.

PATTON, J. L. *et al.* Gene Genealogy and Differentiation among Arboreal Spiny Rats (Rodentia, Echimyidae) of the Amazon Basin - a Test of the Riverine Barrier Hypothesis. **Evolution**, v. 48, n. 4, p. 1314-1323, Aug 1994.

_____. Mammals of the Rio Jurua and the evolutionary and ecological diversification of Amazonia. **Bulletin of the American Museum of Natural History**, v. 244, p. 1-306, 2000.

_____. Mammals of the Rio Jurua and the evolutionary and ecological diversification of Amazonia. **Bulletin of the American Museum of Natural History**, n. 244, p. 1-+, 2000.

PATTON, J. L.; GARDNER, A. L. Notes on systematics of *Proechimys* (Rodentia: Echimyidae), with emphasis on Peruvian forms. **Occasional Papers of the Museum of Zoology, Louisiana State University**, v. 44, p. 1-30, 1972.

PATTON, J. L.; REIG, O. A. Genetic differentiation among echimyid rodents with emphasis on spiny-rats genus *Proechimys*. In: EISENBERG, J. F. e REDFORD, K. (Ed.). **Advances in Neotropical Mammalogy**. Gainesville: Sandhill Crane Press Inc., 1989. p.75-96.

PERES, C. A. *et al.* Riverine barriers and gene flow in Amazonian saddle-back tamarins. **Folia Primatologica**, v. 67, n. 3, p. 113-124, 1996.

PESSÔA, L. M. **Variação morfológica, taxonomia e sistemática do subgênero *Trinomys*, gênero *Proechimys* (Rodentia: Echimyidae)**. 1992. Tese (Doutorado). Campus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, SP, Brasil.

PESSÔA, L. M. *et al.* Chromosomal characterization of taxa of the genus *Trinomys* Thomas, 1921, (Rodentia: Echimyidae) in the states of Rio De Janeiro and Sao Paulo. **Arquivos do Museu Nacional (Rio de Janeiro)**, v. 63, n. 1, p. 161-168, 2005.

_____. Karyological and morphometric variation in the genus *Thrichomys* (Rodentia: Echimyidae). **Mammalian Biology**, v. 69, n. 4, p. 258-269, 2004.

_____. A new species of spiny rat genus *Proechimys*, subgenus *Trinomys* (Rodentia: Echimyidae). **Zeitschrift fuer Saeugetierkunde**, v. 57, n. 1, p. 39-46, 1992.

PESSÔA, L. M.; REIS, S. F. D. The contribution of cranial intermediate growth to non-geographic variation in adult *Proechimys albispinus* (Is. Geoffroy) (Rodentia: Echimyidae). **Zeitschrift fuer Saeugetierkunde**, v. 56, n. 4, p. 219-224, 1991.

_____. An Analysis of Morphological Discrimination between *Proechimys dimidiatus* and *Proechimys iheringi* (Rodentia, Echimyidae). **Zoologischer Anzeiger**, v. 228, n. 5-6, p. 189-200, Jul 1992a.

- _____. Bacular variation within the subgenus *Trinomys*, genus *Proechimys* (Rodentia: Echimyidae). **Zeitschrift fuer Saeugetierkunde**, v. 57, n. 2, p. 100-102, 1992b.
- _____. A new subspecies of *Proechimys iheringi* Thomas from Rio de Janeiro (Rodentia: Echimyidae). **Zeitschrift für Säugetierkunde, Jena**, v. 58, p. 181-190, 1993.
- _____. Systematic implications of craniometric variation in *Proechimys iheringi* Thomas (Rodentia: Echimyidae). **Zool. Anz.**, v. 232, p. 181-200, 1994.
- _____. *Proechimys iheringi*. **Mammalian Species**, v. 536, p. 1-4, 1996.
- PESSÔA, L. M. *et al.* Bacular variation in subspecies taxonomy of the Brazilian spiny rat *Proechimys (Trinomys) iheringi*. **Studies on Neotropical Fauna and Environment**, v. 31, n. 3-4, p. 129-132, 1996.
- PETTER, F. Les noms de genre *Cercomys*, *Nelomys*, *Trichomys* et *Proechimys* (Rongeurs, Echimyides). **Mammalia**, v. 37, n. 3, p. 422-426, 1973.
- POSADA, D. jModelTest: Phylogenetic model averaging. **Molecular Biology and Evolution**, v. 25, n. 7, p. 1253-1256, Jul 2008.
- PRANCE, G. T. **Biological diversification in the tropics**. Columbia University Press, New York, 1982. i-xvi, 1-714.
- RACINE, R. J. Modification of seizure activity by electrical stimulation. I. After-discharge threshold. **Electroencephalogr Clin Neurophysiol**, v. 32, n. 3, p. 269-79, Mar 1972.
- RAMBAUT, A.; BROMHAM, L. Estimating divergence dates from molecular sequences. **Molecular Biology and Evolution**, v. 15, n. 4, p. 442-448, Apr 1998.
- RÄSÄNEN, M. E. *et al.* Late Miocene Tidal Deposits in the Amazonian Foreland Basin. **Science**, v. 269, n. 5222, p. 386-390, Jul 21 1995.
- REE, R. H.; SMITH, S. A. Maximum likelihood inference of geographic range evolution by dispersal, local extinction, and cladogenesis. **Systematic Biology**, v. 57, n. 1, p. 4-14, Feb 2008.
- REIG, O. A. *et al.* Chromosomal speciation in a Rassenkreis of Venezuelan spiny rats (genus *Proechimys*, Rodentia, Echimyidae). **Genetica**, v. 52/53, p. 291-312, 1980.
- REIG, O. A.; USECHE, M. [Karyotype diversity and systematics in Venezuelan populations of *Proechimys* (Rodentia, Echimyidae) with additional information of Peruvian and Colombian populations]. **Acta Cient Venez**, v. 27, n. 3, p. 132-140, 1976.

REIS, S. F. *et al.* Geographic variation in cranial morphology in *Thrichomys apereoides*: I. Geometric descriptors and patterns of variation in shape. **Journal of Mammalogy**, v. 83, n. 2, p. 333-344, 2002a.

_____. Geographic variation in cranial morphology in *Thrichomys apereoides*: II. Geographic units, morphological discontinuities, and sampling gaps. **Journal of Mammalogy**, v. 83, n. 2, p. 345-353, 2002b.

RENNER, S. S. Relaxed molecular clocks for dating historical plant dispersal events. **Trends in Plant Science**, v. 10, n. 11, p. 550-558, Nov 2005.

RICE, W. R.; HOSTERT, E. E. Laboratory experiments on speciation: what have we learned in 40 years? **Evolution**, v. 47, n. 6, p. 1637-1653, 1993.

ROCHA, L. *et al.* GABA and opioid binding distribution in the brain of the seizure-resistant *Proechimys guyannensis*: an autoradiography study. **Synapse**, v. 60, n. 5, p. 392-8, Oct 2006.

ROWE, D. L. *et al.* Molecular clocks keep dispersal hypotheses afloat: evidence for trans-Atlantic rafting by rodents. **Journal of Biogeography**, v. 37, n. 2, p. 305-324, Feb 2010.

ROWE, D. L.; HONEYCUTT, R. L. Phylogenetic relationships, ecological correlates, and molecular evolution within the caviioidea (mammalia, rodentia). **Mol Biol Evol**, v. 19, n. 3, p. 263-277, Mar 2002.

RUTSCHMANN, F. Molecular dating of phylogenetic trees: A brief review of current methods that estimate divergence times. **Diversity and Distributions**, v. 12, n. 1, p. 35-48, Jan 2006.

RUTSCHMANN, F. *et al.* Assessing calibration uncertainty in molecular dating: The assignment of fossils to alternative calibration points. **Systematic Biology**, v. 56, n. 4, p. 591-608, 2007.

SANDERSON, M. J. Reconstructing the history of evolutionary processes using maximum likelihood. **Soc Gen Physiol Ser**, v. 49, p. 13-26, 1994.

_____. A Nonparametric Approach to Estimating Divergence Times in the Absence of Rate Constancy. **Molecular Biology and Evolution**, v. 14, n. 12, p. 1218-1231, 1997.

_____. Estimating rate and time in molecular phylogenies: beyond the molecular clock? In: SOLTIS, D. E. *et al.* (Ed.). **Molecular systematics of plants II: DNA sequencing**. Norwell, MA: Kluwer Academic, 1998. p.242-264.

_____. Estimating absolute rates of molecular evolution and divergence times: a penalized likelihood approach. **Mol Biol Evol**, v. 19, n. 1, p. 101-9, Jan 2002.

_____. r8s: inferring absolute rates of molecular evolution and divergence times in the absence of a molecular clock. **Bioinformatics**, v. 19, n. 2, p. 301-2, Jan 22 2003.

SANDERSON, M. J. *et al.* Molecular evidence on plant divergence times. **American Journal of Botany**, v. 91, n. 10, p. 1656-1665, Oct 2004.

SCHNEIDER, C. J. *et al.* Comparative phylogeography and the history of endemic vertebrates in the Wet Tropics rainforests of Australia. **Molecular Ecology**, v. 7, n. 4, p. 487-498, 1998.

SCHWARTZ, J. H.; MARESCA, B. Do Molecular Clocks Run at All? A Critique of Molecular Systematics. **Biological Theory**, v. 1, n. 4, p. 357-371, 2006.

SMITH, M. E. *et al.* High-resolution calibration of Eocene strata: Ar-40/Ar-39 geochronology of biotite in the Green River Formation. **Geology**, v. 34, n. 5, p. 393-396, May 2006.

SMITH, T. B. *et al.* A role for ecotones in generating rainforest biodiversity. **Science (Washington D C)**, v. 276, n. 5320, p. 1855-1857, 1997.

SOUZA, M. J.; YONENAGA-YASSUDA, Y. Chromosomal variability of sex chromosomes and NOR's in *Trichomys apereoides* (Rodentia, Echimyidae). **Cytogenet Cell Genet**, v. 33, n. 3, p. 197-203, 1982.

SPRINGER, M. S. *et al.* Placental mammal diversification and the Cretaceous-Tertiary boundary. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 100, n. 3, p. 1056-1061, Feb 4 2003.

STREILEIN, K. E. Ecology of small mammals in the semiarid Brazilian Caatinga. IV. Habitat selection. **Annals of Carnegie Museum**, v. 51, p. 331-343, 1982.

STRIMMER, K.; RAMBAUT, A. Inferring confidence sets of possibly misspecified gene trees. **Proc Biol Sci**, v. 269, n. 1487, p. 137-42, Jan 22 2002.

SVARTMAN, M. **Levantamento cariotípico de roedores da região do Distrito Federal**. 1989. 217 p. Tese (Doutorado). University of São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.

SWOFFORD, D. L. PAUP*. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (* and Other Methods). 4b10, Sunderland, 2003.

TAMURA, K. *et al.* MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. **Mol Biol Evol**, v. 24, n. 8, p. 1596-9, Aug 2007.

TAVARÉ, S. Some Probabilistic and Statistical Problems in the Analysis of DNA Sequences. In: MIURA, R. M. (Ed.). **American Mathematical Society: Lectures on Mathematics in the Life Sciences**: Amer Mathematical Society, v.17, 1986. p.57-86.

THOMAS, O. On the spiny rats of the *Proechimys* group from Southeastern Brazil. **Annals and Magazine of Natural History**, v. 8, p. 140-143, 1921.

THOMPSON, J. D. *et al.* CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. **Nucleic Acids Res**, v. 22, n. 22, p. 4673-80, Nov 11 1994.

THORNE, J. L. *et al.* Estimating the rate of evolution of the rate of molecular evolution. **Molecular Biology and Evolution**, v. 15, n. 12, p. 1647-1657, Dec 1998.

TUOMISTO, H. *et al.* Dissecting Amazonian Biodiversity. **Science**, v. 269, n. 5220, p. 63-66, Jul 7 1995.

VANZOLINI, P. E.; WILLIAMS, E. E. South American anoles: the geographic differentiation and evolution of the *Anolis chrysolepis* species group (Sauria, Iguanidae). **Archos Zool. S. Paulo**, v. 19, p. 1-124, 1970.

_____. The vanishing refuge: a mechanism for ecogeographic speciation. **Papeis Avulsos de Zoologia (Sao Paulo)**, v. 34, n. 23, p. 251-255, 1981.

VILELA, R. V. **Estudos em roedores da família Echimyidae, com abordagens em sistemática molecular, citogenética e biogeografia**. 2005. 123 p. Dissertação (Mestrado). Departamento de Biologia, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.

VUCETICH, M. G. *et al.* Review and analysis of the radiation of the South American Hystricognathi (Mammalia, Rodentia). **C. R. Acad. Sci. Paris**, v. 329, p. 763-769, 1999.

WALLACE, A. R. On the monkeys of the Amazon. **Proceedings of the Zoological Society of London**, v. 20, n. 1, p. 107-110, 1852.

WEBB, S. D. History of Savanna Vertebrates in New World .2. South-America and Great Interchange. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 9, p. 393-426, 1978.

WEKSLER, M. *et al.* Status of *Proechimys roberti* and *P. oris* (Rodentia : Echimyidae) from eastern Amazonia and central Brazil. **Journal of Mammalogy**, v. 82, n. 1, p. 109-122, FEB 2001.

WELCH, J. J.; BROMHAM, L. Molecular dating when rates vary. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 20, n. 6, p. 320-327, Jun 2005.

WELCH, J. J. *et al.* Molecular dates for the "Cambrian explosion": The influence of prior assumptions. **Systematic Biology**, v. 54, n. 4, p. 672-678, Aug 2005.

- WHITMORE, T. C.; PRANCE, G. T. Biogeography and Quaternary history in tropical America. **Oxford Monographs on Biogeography**, p. i-x, 1-214, 1987.
- WHITTLE, C. A.; JOHNSTON, M. O. Broad-scale analysis contradicts the theory that generation time affects molecular evolutionary rates in plants. **Journal of Molecular Evolution**, v. 56, n. 2, p. 223-233, Feb 2003.
- WIENS, J. J. *et al.* Why does a trait evolve multiple times within a clade? Repeated evolution of snakelike body form in squamate reptiles. **Evolution**, v. 60, n. 1, p. 123-141, Jan 2006.
- WILLIS, J. C. **Age and area. A study in geographic distribution and origin of species. With chapters by H. de Vries, H. B. Guppy, Mrs. E. M. Reid, J. Small.** Cambridge: (Univ. Press), 1922. Pp. x + 259.
- WILSON, D. E.; REEDER, D. M. **Mammal species of the world: a taxonomic and geographic reference.** 3rd. Baltimore: Johns Hopkins University Press, 2005. xxxv, 2142 p.
- WOODS, C. A. The history and classification of South American hystricognath rodents: Reflections on the far away and long ago. In: MARES, M. A. e GENOWAYS, H. H. (Ed.). **Mammalian biology in South America: a symposium held at the Pymatuning Laboratory of Ecology, May 10-14, 1981.** Linesville: Pymatuning Laboratory of Ecology, University of Pittsburgh, 1982. p.377-392.
- _____. Suborder Hystricognathi. In: WILSON, D. E. e REEDER, D. M. (Ed.). **Mammal species of the world: a taxonomic and geographic reference.** 2nd. Washington: Smithsonian Institution Press, 1993. p.771-806.
- WOODS, C. A.; KILPATRICK, C. W. Infraorder Hystricognathi Brandt, 1855. In: WILSON, D. E. e REEDER, D. M. (Ed.). **Mammal species of the world : a taxonomic and geographic reference.** 3rd. Baltimore, Md.: Johns Hopkins University Press, v.2, 2005. p.1538-1600.
- WRIGHT, S. *et al.* The road from Santa Rosalia: A faster tempo of evolution in tropical climates. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 103, n. 20, p. 7718-7722, May 16 2006.
- XIA, X.; XIE, Z. DAMBE: software package for data analysis in molecular biology and evolution. **Journal of Heredity**, v. 92, n. 4, p. 371-373, Jul-Aug 2001.
- YONENAGA-YASSUDA, Y. *et al.* Supernumerary system in *Proechimys iheringi iheringi* (Rodentia, Echimyidae) from the state of São Paulo Brazil. **Caryologia**, v. 38, p. 179-194, 1985.
- ZINK, R. M. Phylogeographic studies of North American birds. In: MINDELL, D. P. (Ed.). **Avian molecular evolution and systematics.** San Diego, London etc.: Academic Press, 1997. p.301-324.

ZUCKERKANDL, E.; PAULING, L. Molecules as documents of evolutionary history. **J Theor Biol**, v. 8, n. 2, p. 357-66, Mar 1965.