DIVERSIFICAÇÃO DAS ESPÉCIES DO GÊNERO
***OLIGORYZOMYS* BANGS 1900 (RODENTIA,**
CRICETIDAE) NA REGIÃO NEOTROPICAL

SÃO PAULO

2010

ROBERTA PARESQUE

**DIVERSIFICAÇÃO DAS ESPÉCIES DO GÊNERO *OLIGORYZOMYS* BANGS,
1900 (RODENTIA, CRICETIDAE) NA REGIÃO NEOTROPICAL**

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: Prof. Dr. Gabriel Marroig

SÃO PAULO

2010

Ficha Catalográfica

Paresque, Roberta

Diversificação das espécies do gênero

Oligoryzomys Bangs, 1900 (Rodentia, cricetidae)

na região neotropical

Número de páginas:

Tese (Doutorado) - Instituto de Biociências
da Universidade de São Paulo. Departamento de
Ciências Biológicas.

1. *Oligoryzomys* 2. Região Neotropical.
Universidade de São Paulo. Instituto de
Biociências. Departamento de Ciências Biológicas.

Comissão Julgadora:

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Prof. Dr. Gabriel Marroig

Orientador

Dedicatória

Aos meus pais Antonio e Italina que sempre acreditaram nos meus sonhos e me deram condições para realizá-los. Obrigada por me mostrarem o caminho correto, por me terem feito forte, decidida, alegre e estudiosa.

Essa conquista eu dedico a vocês.

Agradecimentos

Claro que eu nem sei por onde começar... porque não sei se vou conseguir expressar com palavras toda a minha gratidão às pessoas que estão citadas aqui. Muito obrigada a vocês que acompanharam e contribuíram!

Ao meu orientador Prof. Dr. Gabriel Marroig, muito obrigada pela sua confiança. Me sinto muito feliz e orgulhosa em poder me espelhar na sua forma de fazer ciência, na sua capacidade e no seu entusiasmo em relação ao trabalho. Especialmente gostaria de agradecer a você por ser um bom amigo, por ter me apoiado quando fui assumir o cargo de professora com a bolsa Fapesp recém aprovada, por permitir que eu fosse trabalhar em outros laboratórios e por ter entendido sempre de eu ter sido sua aluna mais cara...

Ao Prof. Dr. Jorge Salazar-Bravo, da Texas Tech University, pela amizade, confiança no meu trabalho e principalmente pela oportunidade que me ofereceu em trabalhar com a sua coleção de lâminas e tecidos de *Oligoryzomys*. Sem dúvidas, suas contribuições foram relevantes para todas conclusões deste trabalho. Obrigada por me ensinar tanto de análises filogenéticas, sistemática dos roedores Neotropicais, taxonomia de *Oligoryzomys* e publicação científica.

À Profa. Dra. Valéria Fagundes, da Universidade Federal do Espírito Santo, que me deu a primeira chance e que sempre me acompanhou. Obrigada pela oportunidade que me deu quando fui te abordar num dos seus primeiros dias de UFES. Saí da sua sala muito feliz quando disse-me: Você pode começar quando quiser! E assim fui para cooperar no Laboratório de Genética Animal. Esses primeiros anos de vários ratos e cariótipos ao microscópio foram minhas primeiras descobertas em relação à biologia. E lembro com muito carinho os bons momentos passados com Leonardo Alves Baião, Marcela Ferreira Paes, Cristina Dornelas, Rosana dos Reis A. Nunes e Mariana Xavier Machado, hoje todos mestres e em breve doutores... Nesses anos de colaboração vieram também minhas primeiras publicações. Uma aventura! Val, agradeço sinceramente a oportunidade que você me deu. Ao laboratório que você me cedeu. E a tudo que você me ensinou.

À Prof. Dra. e Amiga Ana Paula Carmignotto, pela oportunidade em trabalhar com a coleção de *Oligoryzomys* resultado de suas coletas durante o seu doutoramento pelo Cerrado. Obrigada por ter me ensinado muito sobre os pequenos mamíferos, pelo trabalho de campo sempre prazeroso, quantas viagens por esse Brasil afora... lugares

inesquecíveis como o Parque Nacional Grande Sertão Veredas, meu primeiro contato com as descrições de Guimarães Rosa. Paulinha muito obrigada pela paciência, pelas discussões, pela torcida e principalmente pelos animais cedidos.

Ao Prof. Dr. Alexandre Uarth Christoff, do Museu de Ciências Naturais da Universidade Luterana do Brasil, por ter aberto às portas da coleção de zoologia da ULBRA e colocá-la à minha disposição, por ter me ensinado sobre anatomia dos sigmodontíneos e por toda sua contribuição ao longo desse trabalho e, principalmente, pelo envio de vários espécimes gaúchos.

À Universidade de São Paulo, professores do Programa de Pós Graduação em Ciências Biológicas e funcionários do Instituto de Biociências, especialmente à Elzi, Deisy, Helenice, Érika e Helder pela disponibilidade em solucionar minhas dúvidas.

À Universidade Federal do Espírito Santo, principalmente aos professores do departamento de Ciências da Saúde, Biológicas e Agrárias, que aceitaram aumentar seu volume de trabalho ao concederem a licença para eu terminar a tese. Com certeza sem ajuda de vocês eu não teria conseguido. Muito obrigada!

Ao curador da seção de mamíferos do Museu Nacional do Rio de Janeiro, Dr. João Alves de Oliveira e à técnica Stella Franco por todo apoio durante as visitas à coleção, pelos bons momentos compartilhados e pelo bom papo nos horários de almoço. João e Stella foi um prazer conhecer tão de perto a dedicação de vocês em relação a esta coleção.

Ao curador da seção de mamíferos do Museu de Zoologia da USP, Dr. Mario de Vivo e à técnica Juliana Gualda pelo apoio durante as visitas à coleção e pelas discussões em relação aos *Oligoryzomys*.

Ao diretor do Museu de Ciências Naturais da Texas Tech University, Prof. Dr. Robert Baker, por ceder todos equipamentos do seu laboratório de citogenética para as análises dos cariótipos dos espécimes da Bolívia e pelo seu constante interesse e contribuição em relação a este trabalho.

À Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul pela disponibilidade ao acesso à coleção de *Oligoryzomys*.

Aos amigos queridos do Laboratório de Evolução de Mamíferos:

Ana Paula Aprígio de Assis, ou, como ela prefere... Paulinha. Obrigada pela energia positiva constante, pela ajuda com as burocracias e papeladas, por sempre ter discutido sobre os casos de amor e ódio durante a conclusão da tese, por ter me ensinado muito sobre filogeografia, por ser minha amiga sempre, por ter me recebido

na sua casa, e por não ter me deixado com tanta saudade de uma irmã mais nova... eu queria um dia poder te retribuir tudo isso;

Harley obrigada por ser um bom amigo, por ser sempre atencioso, por me despertar que posso ter mais confiança em mim mesma e por tudo que me ajudou durante a tese, desde a coleta no Catimbau até as últimas fotos;

Daniela Rossoni e Barbara Costa, impossível falar de vocês separadas... obrigada por me acolherem de braços abertos, obrigada por todas as dicas, discussões em relação às análises e ao texto e pelos bons momentos de bate papo entre um peixe frito, pão chapado e fim do dia no C.A;

Leila obrigada por ter me ensinado usar o digitalizador, montar as planilhas, organizar os dados... olha, que paciência a sua heim! Mas, especialmente, obrigada pela amizade a primeira vista e pelo seu carinho de sempre;

Guilherme Garcia, Felipe B. Oliveira, Arthur Porto, Elytania Menezes, Valderes De Conto e Diogo Melo obrigada pela amizade e pelos bons momentos de convívio no laboratório.

Aos meus amigos do Laboratório de Genética Animal e do Núcleo de Genética da UFES, por compartilharem desde o início toda a minha ansiedade e expectativa em relação à tese, por estarem sempre dispostos em ajudar e pelos bons momentos de convívio na bancada e nas coletas de campo: Rosana, Cristina, Marcela, Queila, Lorena, Léo Baião, Vitor, Lucas, Juliana, Clara, Cristie, Ludmila, Mariana, Sarah, Carol Loss, Núbia, Silvia e Juçara.

Aos amigos da Texas Tech University: Mirian Venegas, minha companheira de todas as horas, obrigada pela ajuda com as reações de PCR, pela amizade e por fazer parte da minha vida pra sempre; Nicté Ordóñez e Juan Pablo obrigada pelo convívio e trocas de experiências; Hugo Montilla-Meluk o que seria da minha vida no Texas sem você? Obrigada por toda ajuda com os momentos de apuros em inglês, pelo agradável convívio, pela sua amizade gentil, alegre e vibrante; Vicki Swier, pela ajuda com o microscópio e com os cariótipos; e a todos que me ajudaram de alguma forma: Miguel Pinto, David Rodriguez, Donna Hamilton, Liz Siles, Jhon Hanson, Faisal Ali, Prof. Dr. Bradley e Prof. Dr. Lou Densmore.

Aos amigos do Museu de Ciências da ULBRA, pelos bons momentos que me proporcionaram enquanto estive em Porto Alegre: Veridiana, Thiago, Leonardo, Ninive e Diego Jung.

À toda família do Prof. Jorge que me adotou enquanto estive trabalhando em seu laboratório, principalmente à Jack, obrigada por toda ajuda.

Aos amigos que leram, revisaram e/ou sugeriram: Ana Paula Aprígio Assis, Msc. Barbara Costa, Msc. Cristina D. Nogueira, Msc. Leila Shirai, Prof. Dr. Frederico Falcão Salles, Prof. Dr. Sergio Lucena Mendes, Prof. Dr. Celso Oliveira Azevedo e Dr. Marcelo Weksler.

À Profa. Dra. Lena Geise pela doação de tecidos, pelas fotografias de *O. microtis*, pela ajuda durante a coleta de campo no Parque Nacional do Catimbau e pela disponibilidade de sempre.

Aos meus amigos da biologia e da vida que sempre acompanharam e me apoiaram, mesmo sem entenderem nada na maioria das vezes: Karla Costa, Cintia Organo, Carlos Savernini, Juliano Bicalho, Ana Paula Davel, Tata Schiffler, Gisele, Eli, Luciana Rossoni, Raphael Castiglioni, Martha P. Coelho, Adriana Nunes, Carol Ayres, Antônio Chequer, Virginia, Martha Piassarolli, Ayrton e Fabíola . Galera, valeu pela energia!

A minha irmã e bióloga Karla Paresque por compartilhar todas as conquistas comigo, por sempre me desejar o melhor, por sempre estar disposta a me ajudar sem medir esforços e por ter cuidado tão bem da Ana Clara enquanto precisei ficar fora de casa. Kakau, qualquer coisa que eu escreva aqui não vai descrever a imensa gratidão que eu tenho por você. Muito obrigada, mesmo!

Ao meu pai, minha mãe, meus avós, meus irmãos Vitor e Paulinha, meus tios e primos por todo incentivo, carinho, dedicação e compreensão.

A minha Aninha que tem o sorriso mais lindo do mundo, que me trouxe de volta a fantasia, a ingenuidade e me lembrou que posso ser feliz com muito pouco. *“Ao seu lado eu tenho o dia mais feliz da minha vida todos os dias”*.

Ao Leonardo que entendeu a minha ausência e me apoiou em todas as decisões. Léo, sem você eu não teria conseguido. Obrigada por todas as vezes que você me acompanhou nas madrugadas no laboratório, pelo tanto de documentos que você organizou, por me aguentar cheia de carrapato depois de um dia no campo, por curar meu mal humor sempre, e por sempre ter me deixado despreocupada em relação aos afazeres e organização da nossa casa e da minha vida financeira. Muito obrigada!

Índice

Conteúdo	Página
Apresentação	1
Referências Bibliográficas	3
Capítulo 1. Introdução	4
Introdução Geral	5
Conceitos de espécie	13
Objetivos	31
Referências Bibliográficas	32
Capítulo 2. Material e Métodos	40
Coleta, preparação dos exemplares e amostras	41
Preparações citogenéticas	43
Da extração à obtenção das sequências	45
Amplificação do gene mitocondrial citocromo b	45
Amplificação do íntron 7 do beta-fibrinogênio	46
Purificação dos produtos de PCR	47
Sequenciamento	48
Montagem e alinhamento das sequências	49
Inferências filogenéticas	51
Genealogias intraespecíficas e filogeografia	55
AMOVA	57
Testes de neutralidade	58
Estatística D de Tajima	60
Interpretação da estatística D de Tajima	62
Estatística F_s de Fu	64
Distribuições Mismatch	66
Definição dos táxons	69
Distribuição geográfica e dos domínios vegetacionais	70
Descrição da morfologia externa e do crânio	73
Dados de morfologia geométrica e análises subsequentes	74
Referências Bibliográficas	79

Capítulo 3. Espécies do gênero <i>Oligoryzomys</i> (Rodentia, Cricetidae) da Bolívia definidas através de cariótipos e filogenia molecular do gene mitocondrial citocromo <i>b</i>	88
Resumo	89
Abstract	90
Introdução	91
Material e Métodos	100
Resultados	103
Discussão	120
Referências Bibliográficas	132
Capítulo 4. Diversificação do gênero <i>Oligoryzomys</i> Bangs 1900 (Rodentia: Cricetidae) na região Neotropical: cariótipo, morfologia e relações filogenética	137
Resumo	138
Abstract	140
Introdução	142
Material e Métodos	148
Resultados e Discussão	153
Conclusões	227
Referências Bibliográficas	234
Capítulo 5. Filogeografia do gênero <i>Oligoryzomys</i> Bangs 1900 (Rodentia: Cricetidae): modelos de expansão e invasão na região Neotropical	240
Resumo	241
Abstract	243
Introdução	244
Material e Métodos	258
Resultados	262
Discussão	275
Referências Bibliográficas	286
Apêndice 1	295
Apêndice 2	297
Apêndice 3	303
Apêndice 4	316

APRESENTAÇÃO

O gênero *Oligoryzomys* é um dos mais complexos e diversos da subfamília Sigmodontinae e da tribo Oryzomyini. Dentre os mamíferos destaca-se por apresentar notável incongruência taxonômica, já que o número de espécies não é consenso entre os autores. Esta tese não se trata de uma revisão taxonômica do gênero, no entanto, tem a finalidade de esclarecer alguns pontos conflitantes da taxonomia deste grupo e fornecer mapas atualizados da distribuição das espécies do gênero. Espero que os dados coligidos e analisados aqui possam contribuir significativamente para qualquer tentativa de revisão sistemática do Gênero no futuro. Para tanto, foram feitas comparações utilizando dados cariotípicos ($2n$ e NFa), morfológicos e sequências do gene mitocondrial citocromo *b* e do íntron 7 do beta fibrinogênio.

O presente trabalho está estruturado em 5 capítulos. O primeiro capítulo apresenta uma breve história da diversificação dos sigmodontíneos, uma introdução sobre o nível atual de conhecimento do gênero *Oligoryzomys* e por fim traz uma explanação dos aspectos filosóficos envolvidos no reconhecimento de espécie.

O segundo capítulo trata dos métodos utilizados na aquisição dos espécimes em trabalhos de campo, na obtenção do material para análises citogenéticas, da extração de DNA e subsequente sequenciamento do gene mitocondrial citocromo *b* e do íntron 7 do beta fibrinogênio. Descreve ainda as estimativas de relacionamento filogenético, a metodologia de análise da estrutura e história populacional e como foram exploradas a variação morfológica e delimitação taxonômica.

O terceiro capítulo discorre sobre aspectos citogenéticos e moleculares das espécies da Bolívia, cuja amostra foi gentilmente cedida pelo Prof. Dr. Jorge Salazar-Bravo no intuito de preencher com tais informações a lacuna existente nesta fauna. As lâminas deste material boliviano foram analisadas por mim para obter os dados brutos de cariótipo assim como todo o sequenciamento do material e posterior análises. Dentro dessa abordagem foram documentadas a variação cariotípica de algumas populações e discutidas questões taxonômicas visando responder “quem são” e “onde estão” as espécies reconhecidas para a Bolívia.

O quarto capítulo visa reconhecer as espécies válidas de *Oligoryzomys* e estabelecer as relações filogenéticas entre elas. Neste capítulo foram testadas as hipóteses dos grupos de espécies de acordo com as propostas de Carleton e Musser (1989) e Miranda *et al.* (2009). A partir dos resultados obtidos foram realizadas comparações entre as espécies dos grupos, as quais, permitiram fornecer dados qualitativos capazes de auxiliar na diagnose das espécies e da sua distribuição.

O quinto capítulo apresenta hipóteses dos processos e eventos envolvidos na diversificação do gênero na região Neotropical e encerra a monografia apresentando uma cronologia de diversificação das espécies estudadas.

Referências bibliográficas

Carleton, M. D., Musser G. G. 1989. Systematic studies of oryzomyine rodents (Muridae, Sigmodontinae): a synopsis of *Microryzomys*. Bulletin of the American Museum of Natural History 191:1-83.

Miranda, G. B., Oliveira, L. F. B., Andrades-Miranda, J., Langguth, A., Callegari-Jacques, S. M., Mattevi, M. S. 2009. Phylogenetic and Phylogeographic Patterns in Sigmodontine Rodents of the Genus *Oligoryzomys*. Journal of Heredity 100(3):309-321.

Capítulo 1

INTRODUÇÃO

INTRODUÇÃO

A HISTÓRIA E A DIVERSIFICAÇÃO DOS SIGMODONTÍNEOS

Mudanças na taxa de diversificação de vários grupos de vertebrados e invertebrados têm sido reveladas e explicadas por estudos macroevolutivos. O aumento dessa diversificação pode ser atribuído aos novos caracteres fenotípicos seguidos da exploração de novos nichos (Hodges e Arnold, 1995), oportunidade geográfica (invasão de novas regiões e habitats) ou redução da competição interespecífica. Já a diminuição da diversificação tem sido atribuída ao aumento da competição interespecífica (ex. marsupiais da América do Sul depois da grande troca de fauna), ou mudanças ambientais que reduzem os habitats apropriados.

Os roedores muróideos estão entre as mais especiosas famílias de mamíferos, compreendendo mais de 1.500 espécies (Musser e Carleton, 2005). As análises filogenéticas mostram que, usualmente, a alta taxa de diversificação não é característica comum a todos os muróideos, mas restrita a dois subclados recentes, os Murinae no Velho Mundo e os Sigmodontinae na região Neotropical, que juntos compreendem, aproximadamente, dois terços da diversidade dos muróideos (Steppan *et al.*, 2004).

A irradiação rápida e possivelmente adaptativa dos roedores sigmodontíneos no Neotrópico é excepcional entre os mamíferos. Aproximadamente 400 espécies surgiram durante os últimos 7 milhões de anos (Steppan *et al.*, 2004). Sua distribuição geográfica – aproximadamente toda a América do Sul e algumas regiões das Américas Central e do Norte - tem levado a debates sobre sua história geográfica e participação na grande troca

de faunas entre as Américas do Norte e do Sul durante o Plioceno (Baskin, 1986; D'Elía, 2000; D'Elía, 2003; Hershkovitz, 1955; Hershkovitz, 1962; Hershkovitz, 1966; Hershkovitz, 1972; Marshall, 1979; Marshall *et al.*, 1982).

Os sigmodontíneos têm sido objeto de estudos sistemáticos, tanto com dados morfológicos (Reig, 1980; Reig, 1984; Stepan, 1995; Weksler, 1996), quanto com dados moleculares (D'Elía, 2003; D'Elía *et al.*, 2006; Engel *et al.*, 1998; Smith e Patton, 1999; Weksler, 2003) e apesar de mostrarem uma nomenclatura relativamente estável, há evidências que faltam estudos com número amostral balanceado dos táxons, aplicação de métodos filogenéticos modernos e uso de caracteres qualitativos e quantitativos suficientes para garantir o reconhecimento satisfatório desta biodiversidade. Essa lacuna no conhecimento faz com que haja a necessidade de uma formalização taxonômica, principalmente para diminuir possibilidades de relacionamentos equivocados entre as espécies.

Os Sigmodontinae estão divididos dentro de tribos desde o trabalho pioneiro de Vorontzov (1959). Mais tarde, Hershkovitz (1962) propôs um modelo para a história evolutiva do grupo, onde previu duas linhagens decorrentes da complexidade do molar: uma linhagem basal e pentalofofonte (com mesolofo, nos molares superiores e mesolofídeo, nos molares inferiores completos) da qual um grupo Thomasomyini teria dado origem ao grupo Oryzomyini; e uma linhagem tetralofofonte, derivada (com redução do mesolofo e do mesolofídeo) que deu origem ao grupo Akodontini, parafilético, do qual irradiava as tribos Ichthyomyini, Phyllotini e Sigmodontini.

O agrupamento das tribos é aceito até hoje. Carleton e Musser (2005) reconheceram 8 tribos para a subfamília Sigmodontinae: Akodontini Vorontsov, 1959; Ichthyomyini Vorontsov, 1959; Oryzomyini Vorontsov, 1959; Phyllotini Vorontsov, 1959; Reithrodontini Vorontsov, 1959; Sigmodontini Wagner, 1843; Thomasomyini Steadman and Ray, 1982; e Wiedomyini Reig, 1980.

Por outro lado, existe muita discussão sobre a hipótese da evolução dos molares formulada por Hershkovitz (1962). Por exemplo, Reig (1977), Carleton (1980) e Voss e Carleton (1993) concordaram com a hipótese da posição basal ocupada pelos pentalofoodontes de Hershkovitz (1962). Alternativamente, Baskin (1978; 1986) divergiram de Hershkovitz (1962) e reconheceram os tetralofoodontes como o estoque ancestral.

Steppan (1995), demonstrou que embora roedores Ichthyomyini estejam comumente situados em clados com outros tetralofoodontes, como os Akodontini e Phyllotini, o grupo-irmão de Ichthyomyini foi revelado, às vezes, sendo Oryzomyini ou Thomasomyini. As análises de Steppan (1995) dão sinais que os Ichthyomyini (tetralofoodonte) ocupam uma posição relativamente basal na árvore dos Sigmodontinae. Dentro desse novo panorama, Steppan (1995) continuou levantando novas expectativas que contradiziam a posição basal dos pentalofoodontes. Somado a isso, as árvores de hipóteses filogenéticas obtidas mostraram que as condições pentalofoodonte e tetralofoodonte, representadas por gêneros sigmodontíneos, não formavam clados monofiléticos e provavelmente evoluíram repetidamente.

Mais tarde, Weksler (2003) baseando-se em sequências do exon IRBP (*Interphotoreceptor Retinoid Binding Protein*) estudou as relações filogenéticas de alguns sigmodontíneos e corroborou os achados de Steppan (1995). Neste

estudo foi revelado um clado contendo *Rheomys* (Ichthyomyini) e Sigmodon (Sigmodontini) na posição basal em relação a todos os outros sigmodontíneos (Weksler, 2003).

Grahn *et al.* (2005) fortaleceram a suposta ancestralidade dos tetralofondontes quando averiguaram que apenas Sigmodontini, reconhecida como a tribo mais basal deste grupo, demonstrava atividades recentes dos elementos de transposição LINE-1 (L1s). Os elementos de transposição LINE-1 (L1s) são onipresentes em mamíferos, e até onde se sabe, permaneceram ativos desde antes da radiação dos mamíferos. Grahn *et al.* (2005) examinaram os limites filogenéticos e o tempo do evento de extinção dos elementos de transposição LINE-1, em quatorze gêneros pertencentes a cinco tribos da subfamília Sigmodontinae. Eles verificaram que representantes de Oryzomyini, Akodontini, Phyllotini e Thomasomyini exibiram mutações nos aminoácidos conservados e várias mutações privadas. Além disso, eles não possuem sítio de restrição das subfamílias de L1 definidas. Os autores determinaram que ocorreu a extinção de L1 após a divergência de *Sigmodon*, mas antes de uma radiação maciça de espécies na América do Sul.

Grahn *et al.* (2005) sugeriram que a extinção dos elementos de L1 ocorreu em torno de 8,8 milhões de anos atrás. Eles afirmam que apesar da inexatidão da estimativa de 8,8 Mya, esta data é coerente com as estimativas dos padrões de especiação no sigmodontíneos propostas por Engel *et al.* (1998), fundamentados em sequências mitocondriais.

O GÊNERO *OLIGORYZOMYS*

Basicamente, este estudo examina a sistemática, distribuição e história biogeográfica do gênero *Oligoryzomys* Bangs, 1900 na região Neotropical. Comumente denominados “ratos de arrozais” (Figura 1.1), algumas espécies podem ser encontradas com frequência nas lavouras de arroz, onde parecem tirar proveito das condições ambientais artificiais criadas nesse tipo de cultura. São ainda ocupantes de regiões áridas, matas de galeria, zonas agrícolas e ambientes em sucessão ecológica, como nas capoeiras e bordas de mata (dados de coleta). Ocorrem desde o México (Tamaulipas) até o estreito de Magellan, no extremo sul da Argentina e Chile, e desde as elevadas altitudes dos Andes até a costa Atlântica (Carleton e Musser, 2005).

Estes roedores são importantes componentes da fauna de pequenos mamíferos. Apresentam pequeno porte, hábitos noturnos ou crepusculares e dieta frugívora-granívora-insetívora. Em restegas de arroz e milho, são encontrados embaixo de restos de palhas, troncos ou rochas. Podem trepar em arbustos, com facilidade; no chão, quando estão fugindo, correm aos saltos. São presas de aves, répteis e outros mamíferos (Eisenberg e Redford, 1999; Fonseca *et al.*, 1996). Várias espécies do gênero são reservatórios e transmissores do *Hantavirus* (Bunyaviridae), que podem causar ao homem febre hemorrágicaa síndrome pulmonar por *Hantavirus*, uma infecção muito grave que pode levar à morte (Delfraro *et al.*, 2003).

Figura 1.1. Representante do gênero *Oligoryzomys*, foco deste trabalho: *Oligoryzomys stramineus* coletado no Parque Nacional do Catimbau, Buíque, Pernambuco.

O gênero *Oligoryzomys* é um dos mais complexos e diversos da subfamília Sigmodontinae e da tribo Oryzomyini, abrigando 18 espécies em trabalhos mais recentes (Carleton e Musser, 2005; Weksler e Bonvicino, 2005). No entanto, existem 62 táxons nominais para *Oligoryzomys*. Em decorrência do elevado número de espécies e da extensa distribuição geográfica, o gênero nunca foi revisado de uma maneira ampla, tanto em termos taxonômicos, quanto geográficos, embora alguns autores tenham comentado sobre problemas taxonômicos de algumas espécies (Andrades-Miranda *et al.*, 2001; Bonvicino e Weksler, 1998; Gardner e Patton, 1976; Weksler e Bonvicino, 2005) e tenham elaborado hipóteses sobre a história evolutiva do grupo (Carleton e Musser, 1989; Dickerman e Yates, 1995; Miranda *et al.*, 2009; Myers e Carleton, 1981; Myers *et al.*, 1995; Perini *et al.*, 2004; Steppan, 1995; Trott *et al.*, 2007; Weksler, 2006).

Carleton e Musser (1989) propuseram, baseados em caracteres morfológicos, cinco grupos de espécies dentro do gênero *Oligoryzomys*: “*Fulvescens*”, “*Microtis*”, “*Andinus*”, “*Flavescens*” e “*Nigripes*” (Tabela 1.1). Posteriormente, Weksler e Bonvicino (2005) fizeram pequenas modificações na composição destes grupos e criaram um grupo novo nomeado *rupestris* para adicionar a recente descrita *O. rupestris* (Tabela 1.1). No entanto, a hipótese da formação destes grupos ainda não foi testada usando análises filogenéticas que comprovem as relações entre os grupos estabelecidos *a priori*.

Tabela 1.1. Grupos de espécies propostos por Carleton e Musser (1989) e Weksler e Bonvicino (2005) para o gênero *Oligoryzomys*. Os asteriscos significam sinônimas de *O. nigripes*.

Grupos de espécies do gênero <i>Oligoryzomys</i>	Carleton e Musser, 1989	Weksler e Bonvicino, 2005
Fulvescens	<i>O. fulvescens</i> <i>O. arenalis</i> <i>O. vegetus</i>	<i>O. fulvescens</i> <i>O. fulvescens costaricensis</i> <i>O. fulvescens fulvescens</i>
Microtis	<i>O. microtis</i>	
Andinus	<i>O. andinus</i> <i>O. chacoensis</i>	<i>O. andinus</i> <i>O. chacoensis</i>
Flavescens	<i>O. flavescens</i> <i>Oligoryzomys</i> sp. A <i>Oligoryzomys</i> sp. B	<i>O. flavescens</i> <i>O. microtis</i> <i>O. fornesi</i> <i>O. moojeni</i>
Nigripes	<i>O. nigripes</i> <i>O. eliurus</i> * <i>O. destructor</i> <i>O. longicaudatus</i> <i>O. delticola</i> *	<i>O. nigripes</i> <i>O. stramineus</i> <i>O. destructor</i> <i>O. longicaudatus philippii</i> <i>O. longicaudatus magellanicus</i>
Rupestris		<i>O. rupestris</i>
Sem grupo definido		<i>O. messorius</i> <i>Oligoryzomys</i> sp.

Miranda *et al.* (2009) realizaram análises filogenéticas utilizando dados de sequências dos genes IRBP e citocromo b e sugeriram que *Oligoryzomys* está dividido em 2 clados: um clado de espécies Amazônia-Cerrado, que seria a linhagem basal, constituída por 2 táxons na posição mais basal *O. microtis* (da Amazônia) e *O. fornesi* (do Cerrado) e mais *Oligoryzomys* sp., *O. fulvescens* e *O. messorius* da Amazônia e *O. moojeni* do Cerrado; e outro clado Pampa-Andino que agregam indivíduos de *O. andinus*, *O. flavescens*, *O. magellanicus*, *O. longicaudatus* e *O. pampanus*. *O. stramineus* da Caatinga e *O. nigripes* que apresenta uma distribuição mais ampla (Mata Atlântica e Cerrado) foram considerados mais relacionados ao clado Amazônia-Cerrado.

Dentro dessa abordagem, Miranda *et al.* (2009) sugeriu que as espécies de *Oligoryzomys* encontram-se intimamente associadas à regiões ecológicas particulares dentro dos domínios morfoclimáticos da região Neotropical. O excerto de Miranda *et al.* (2009) suscita a existência de espécies endêmicas em *Oligoryzomys*. Contudo, embora este seja o trabalho com maior número de caracteres e táxons que estudou as relações filogenéticas dentro do gênero, a amostra engloba, principalmente, espécies que ocorrem no Brasil e não avaliou espécies de outras localidades da região Neotropical.

A falta de um panorama contemporâneo da distribuição do gênero, somada à má caracterização das espécies descritas ao longo dos anos, refletem hoje em uma história com muitos aspectos contraditórios e confusos que tem como consequência vários problemas taxonômicos para os representantes de *Oligoryzomys*.

Dentro dessa abordagem, veio o interesse pelos *Oligoryzomys*, em parte, derivado da taxonomia e da perspectiva de abordar o problema da

diversidade e diversificação deste gênero complexo de roedores dentro de um panorama plural, englobando técnicas citogenéticas, filogenéticas e comparações morfológicas, gerando assim resultados que espero venham a contribuir para o conhecimento da biodiversidade do gênero. Os resultados obtidos trazem a reunião de uma amostra ampla e inédita da região Neotropical que avançam o estado da arte sobre os limites das espécies, suas distribuições geográficas, relações filogenéticas entre as espécies e complementos cariotípicos de algumas lacunas da distribuição do gênero.

No entanto, esta tese não produziu a revisão taxonômica do gênero e não tratou de revisões taxonômicas aprofundadas, que são necessárias em diversos grupos. Paulatinamente compreendi, em certa medida, que construir um sistema taxonômico definitivo, capaz de resolver todas as questões práticas relacionadas à sistemática do gênero, seria, para mim, inalcançável durante o tempo do doutoramento. Apesar disto, acredito que o resultado final destes quatro anos de trabalho incluindo dados de morfologia (quantitativa e qualitativa), cariótipos, e moleculares e análises integrativas destes possam somar na compreensão da variação em *Oligoryzomys* e servirem como ponto de partida para trabalhos futuros.

CONCEITOS DE ESPÉCIE

Há cerca de 150, uma viagem que deu origem a publicação "A Origem das Espécies", por Charles Darwin, revolucionou a ciência e a forma de pensar e explicar a extraordinária diversidade biológica.

Não há como não se questionar do porquê da existência de tantas espécies. E realmente, por que existem tantas espécies? Por que a natureza,

ou mais precisamente a seleção natural favoreceu as discontinuidades entre as espécies?

Petit e Excoffier (2009) acentuam as espécies como a pedra angular da biologia, ecologia e conservação, e continuam afirmando que sua delimitação correta é essencial. No entanto, há uma velha questão em torno do problema metodológico de identificação e que recentemente vem atraindo cuidados por que afeta a capacidade de inferir o número de espécies existentes.

As classificações aparecem como um interesse do homem em compreender e utilizar a ordem da natureza para fins próprios (Levi-Strauss, 2002). Desde Platão, Aristóteles até Lineu e autores do século XIX, simplesmente reconheciam espécies - *eidos* (Platão), ou tipos (Mills) -, inicialmente, nem os taxonomistas nem os filósofos fizeram uma estrita distinção entre coisas inanimadas e espécies biológicas; as definições de espécies que eles deram foram variadas e abrangentes. Mills (1843) introduziu a palavra *tipo* para espécies e Venn (1866) introduziu *tipo natural*, e filósofos têm usado, desde então, o termo tipo natural, ocasionalmente, para espécies.

De fato as espécies são conjuntos naturais de organismos que correspondem à unidade básica da biodiversidade. Ao adotar este ponto de vista estamos explicitamente dizendo que espécies têm uma existência real na natureza, mesmo que sendo o produto de um processo contínuo de evolução, às vezes, os limites entre estas entidades não sejam completamente separados.

Ao longo da história da biologia são crescentes as discussões e publicações a respeito de como conceituar o que é espécie. Ideias têm surgido e as definições têm sido cada vez mais debatidas, principalmente porque é

difícil um conceito universal de espécie que possa ser aplicado tanto a plantas, fungos, bactérias, líquens, animais, quanto a organismos sexuais ou assexuais, unicelulares, coloniais ou multicelulares, vivos ou extintos, recentes ou fósseis e grupos de organismos que vivem juntos (simpátricos e sincrônicos) ou separados (alopátricos). Assim, uma variedade de conceitos de espécies é esperada para representar adequadamente a complexidade de variação de padrões na natureza. Se essa variação for considerada, qualquer conceito culminará em controvérsias que tendem a obscurecer questões evolutivas efetivas. Como Hull (1997) alegou, devemos resistir à tentação de sobrepor falsa simplicidade: se “as situações das espécies são diferentes, então uma variedade de conceitos pode ser necessária e desejável para refletir essa complexidade”. Por enquanto, a adoção de um conceito universal para todos os grupos taxonômicos parece ser uma utopia. A questão a saber é: seria necessário alcançar um conceito universal de espécie que se encaixe em todas as unidades da natureza? Se for considerado que os taxonomistas devam chegar a um acordo quanto ao que eles chamam de "espécies", este problema não terá solução óbvia.

Tradicionalmente, a morfologia sempre foi muito usada pelos taxonomistas nas catalogações de espécies e suas acomodações nas chaves e em coleções. Entretanto, esta prática tornou-se insuficiente, se não enganosa para o estudo de espécies na natureza. Existem muitas espécies biológicas verdadeiras, que não se diferem morfologicamente. Tais espécies “ocultas” têm sido designadas espécies crípticas. Elas ocorrem em maior ou menor frequência em quase todos os grupos de organismos (Mayr, 1948).

Hoje, estão disponíveis abordagens adicionais baseadas em informação genotípica, fenotípica, cromossômica, quimiotaxonômica etc, que dão consistência à definição de espécie.

Mayr (1942; 1963) propôs o “**Conceito Biológico de Espécie**”. Este conceito define espécies biológicas como grupos de populações naturais, os quais são reprodutivamente isolados uns dos outros. Sendo assim, segundo Mayr, a ênfase desta definição não é sobre o grau de diferença morfológica, mas sobre o relacionamento genético.

Este conceito de espécie representa uma mudança completa nas posições ontológicas das espécies taxonômicas. O status de espécie é uma propriedade das populações, não dos indivíduos. Uma população não perde seu status de espécie, por exemplo, quando um indivíduo é híbrido.

Por outro lado, o conceito biológico de Mayr falha por não incluir organismos assexuados, além disso, o próprio Mayr (1942) admitiu que o seu Conceito Biológico de Espécie é baseado em situações locais onde populações em condições reprodutivas estão em contato umas com as outras. Mishler e Theriot (2000) fizeram críticas ao conceito de Mayr e o caracterizaram como um conceito relacional e não-dimensional, por considerar a especiação como uma aquisição do isolamento reprodutivo, o qual não pode ser testado para populações alopátricas. Mayr afirma que não se importa se populações geograficamente isoladas são a mesma espécie ou não. Os autores concluem que é por isso que inferências são feitas baseadas na possibilidade das populações alopátricas terem alcançado um grau morfológicamente distinto, embora todas essas similaridades possam ser fracamente correlacionadas com o cruzamento preferencial entre indivíduos de localidades mais próximas (Mishler e Theriot, 2000).

Segundo Mishler e Theriot (2000), o conceito biológico de espécie enfoca a ontologia das espécies e para representarem essa crítica citam a ilustração da conclusão de Mayr, que indivíduos são similares porque pertencem a mesma descendência de espécie, e não que indivíduos pertencem a mesma espécie porque eles são similares. Os autores alegam que Mayr tem observado que diferente disso não há correspondência necessária entre isolamento reprodutivo e diferença fenotípica/genética.

O conceito biológico de espécie não é universal nem dimensional e, em resumo, há descrição de inter cruzamento apenas de uma geração, o que leva a uma visão toco genética e não filogenética (Mishler e Theriot, 2000).

Van Valen (1976) propôs o “**Conceito Ecológico de Espécie**”, no qual definiu que:

“uma espécie é uma linhagem que ocupa uma zona adaptativa minimamente diferente de qualquer outra linhagem em sua distribuição e que evolui separadamente de todas as outras linhagens desta distribuição”.

“Uma linhagem é um clone ou uma sequência de ancestral-descendente da população”. Van Valen (1976) pg 233

Van Valen (1976) definiu zona adaptativa como a parte do ambiente, junto aos seus recursos, que potencialmente pode se ocupado por um táxon, independentemente de qualquer outro.

A palavra "Zona", segundo o autor, embora enraizada, é talvez infeliz ao sugerir que determinadas medidas sejam necessárias aos limites naturais de existência ou subconstituintes nos recursos do espaço.

Numa época (década de 70) que a expectativa para entender a relação biológica entre as espécies estava totalmente centrada nos genes e no fluxo

gênico, Van Valen foi radical em relação às suas considerações e descreveu que:

“(i) os genes são as peças de menor importância na evolução e devem normalmente ser considerado quase em mesmo grau (se muitas vezes, não pelas mesmas razões), como outras moléculas; (ii) o controle da evolução é em grande parte realizada pela ecologia e pelas restrições de desenvolvimento individual; e (iii) a seleção atua principalmente em fenótipos, que são os blocos de construção das comunidades”. pg 233

Em seu ensaio Van Valen (1976) pareceu querer alfinetar aos interessados apenas no fluxo gênico para definir espécies.

O “**Conceito de Reconhecimento de Espécie**” exposto em 1985 por Paterson diz que: “espécie é a população mais inclusiva de indivíduos biparentais que compartilham um sistema comum de fertilização”, ou seja, espécie é definida pela sinalização sexual ou sistemas específicos de reconhecimento no acasalamento. Este conceito define espécie, portanto, pelo critério do que as mantém juntas e o sistema de fertilização compreende todos os caracteres que contribuem à aquisição da fertilização, incluindo caracteres de parceiros emparelhados, feições dos gametas, os determinantes na sincronia de aquisição da condição reprodutiva, entre outros. Para Mayr (2000) o conceito de Paterson nada mais é que o Conceito Biológico de Espécie sob um diferente nome, no entanto critica a terminologia do “reconhecimento” porque este termo implica em “consciência, um nível elevado da função cerebral, o qual não é encontrado em animais inferiores”. Se o termo “reconhecimento” está rigidamente construído, este conceito de espécie poderia virtualmente excluir todas espécies de plantas (Mayr, 2000).

Entretanto, Paterson usou a palavra “reconhecimento” muito amplamente, comparando isto com o “reconhecimento de um antígeno específico pelo seu específico anticorpo” (Paterson, 1985; pag: 25). Coerente com uma definição tão ampla, ele também considerou interações “tais como aquelas entre pólen e estigma, ou entre óvulo e espermatozóide”, como reconhecimento (Paterson, 1985). O termo reconhecimento é ainda menos aplicável para fatores de esterilidade em plantas e para as incompatibilidades cromossômicas, responsáveis pela maior parte dos casos de isolamento pós-zigótico (Mayr, 2000).

Templeton (1989) propôs o “**Conceito de Coesão**” e definiu espécie como a população de indivíduos mais inclusiva, tendo o potencial para coesão fenotípica através de mecanismos intrínsecos de coesão, e de outra forma descreve que espécie é o grupo mais abrangente de organismos com o potencial capacidade de fluxo gênico. O conceito de coesão ou comunidade reprodutiva pode ser um critério para a maioria dos táxons, nos quais ocorrem intercruzamentos. Em sua essência enfatiza a presença do fluxo de genes.

Templeton (1998) combinou ideias concorrentes do conceito de espécie, tratou cruzamentos, reconhecimento ecológico e conceitos genealógicos em seu conceito de coesão. Templeton argumentou que uma combinação de processos ecológicos e reprodutivos de coesão é importante para manter a unidade e integridade de uma espécie evolutiva. Templeton discutiu que o seu conceito pode ser aplicado tanto para táxons assexuados ("pouco sexo"), como para táxons onde ocorrem fluxo gênico ("muito sexo") e a genealogia deve ser uma característica importante das espécies. Em seu ensaio ele é enfático:

“Talvez estejamos chegando ao apogeu do debate de espécie com esses conceitos combinados. Ao incorporar origens evolutivas e filogenéticas juntos com todos os meios biológicos pelos quais as espécies atualmente são mantidas, esses conceitos combinados podem cobrir todas as bases”.

Extensões dos pontos de vista sobre a coesão fenotípica e genotípica de Templeton incluem testes de limites de espécies conduzidos pelo próprio autor (Templeton, 1998; 2001), que reconhecem a influência de ambos os processos históricos nos cursos dos processos demográficos sobre a estrutura genética populacional. A abordagem utiliza um protocolo de análise dos clados agrupados (NCA) com a propriedade de delimitar espécies de uma forma que pode ser testada estatisticamente por meio de um conjunto de hipóteses nulas que avaliam a correlação dos genótipos e/ou fenótipos às localizações geográficas (Templeton *et al.*, 1995).

O protocolo NCA testa 2 hipóteses: (H1) organismos amostrados são derivadas de uma linhagem evolutiva única, e (H2) as populações de linhagens identificadas pela rejeição de H1 são “geneticamente passíveis de troca” (por exemplo, são espécies que se reproduzem sexualmente e estão interligadas por fluxo gênico) e/ou “ecologicamente permutáveis” (por exemplo, espécies que se reproduzem sexualmente, que possam ter populações alopátricas, ou espécies de reprodução assexuada com as mesmas adaptações e tolerâncias ambientais).

As espécies são reconhecidas somente após a rejeição de ambas as hipóteses. Especificamente, o teste H1 constrói redes de haplótipo, cálculo de medidas das distâncias entre clados das redes e testes de significância estatística das associações de clados aninhados com localizações geográficas

(Posada *et al.*, 2000). Se são encontradas associações significativas em uma clado ou mais, deve-se em seguida, seguir uma chave de inferência (Templeton, 1998) para discriminar entre os diferentes processos biológicos que podem ter causado a associação significativa. Se uma explicação inferir que ocorreu uma fragmentação histórica, há evidência para a possível existência de linhagens evolutivas distintas, e exige a rejeição de H1.

Depois de rejeitar H1 sob uma inferência de fragmentação histórica, existe a possibilidade de deduzir a existência de duas ou mais linhagens da amostra constituírem espécies de coesão diferentes. Então o próximo passo é testar a H2, que as linhagens definidas pelo evento de fragmentação são geneticamente trocável e/ou ecologicamente intercambiáveis (Templeton, 2001). H2 pode ser avaliada pela realização de mais de uma vez do NCA para testar a concordância estatística dos traços candidatos para intercambiabilidade genética (por exemplo, aqueles associados à prevenção ou de promoção do fluxo de genes, incluindo sistemas de isolamento, mecanismos de fertilização, etc) com as linhagens evolutivas definidas na rejeição de H1. Similarmente, o mesmo pode ser feito para as características de candidatos para intercambiabilidade ecológica (características biológicas, habitat, necessidades ou preferências, tolerâncias fisiológicas, adaptações; Shaw, 1999; Templeton, 1994; 1998). H2 é rejeitada por uma associação de qualquer conjunto de traços aos candidatos das linhagens previamente identificadas.

Lamarck (1749-1829) contestou o dogma da imutabilidade e propôs as primeiras idéias de filogenia. Em 1858, a Teoria da Seleção Natural de Darwin incluía o fator tempo no conceito de diversidade biológica e o fator de

parentesco (ancestralidade comum). A partir do século XX, apareceu uma escola de sistemática que partia do princípio de que os organismos constituíam sistemas em contínua modificação. Os primeiros elementos teóricos dessa abordagem foram publicados em 1950 pelo entomólogo alemão, Willi Hennig, em “Grundzüge einer Theorie der Phylogenetischen Systematik” (“Fundamentos uma Teoria da Sistemática Filogenética”). A revisão e tradução da sua grande obra de 1950 para o inglês, foi publicada em 1966, como *Phylogenetic Systematics*, o que fez com que Hennig e suas idéias ficassem amplamente conhecidos. Antes da teoria da sistemática filogenética de Hennig, o conhecimento das relações de parentesco entre espécies e grupos de espécies era feito de modo intuitivo.

Segundo o “**Conceito Hennigiano**”, o conceito de espécie baseado somente no critério “comunidade reprodutiva” não satisfaz a demanda da sistemática filogenética, pois não pode ser aplicado a uma dimensão temporal de espécie. Hennig (1966) propôs então um critério: “Quando relações férteis entre os indivíduos de uma espécie deixarem de existir, ela se desintegrará em duas espécies e deixará de existir, passando a ser a espécie ancestral comum às duas espécies irmãs”. De acordo com Hennig, espécies ancestrais não sobrevivem em eventos de especiação.

Meier e Willmann (2000) apresentaram uma definição modificada para o conceito Hennigiano de espécie: “Espécies são populações naturais reprodutivamente isoladas ou grupos de populações naturais. Elas se originam via a dissolução de espécies ancestrais em um evento de especiação e deixam de existir durante a extinção ou especiação”.

O isolamento reprodutivo e a coesão foram usados alternativamente por Hennig, pois para ele o que interessava era a delimitação da espécie no tempo. O conceito de coesão ou comunidade reprodutiva pode ser um critério para a maioria dos táxons, nos quais ocorrem intercruzamentos, mas nesse caso o que define a identidade de uma espécie é a sua diferença reprodutiva e, a formação dessa diferença entre novas espécies irmãs é que define um evento de especiação, por isso que os termos espécie e especiação são relacionados.

A sistemática filogenética é uma ciência que visa reconstruir a história evolutiva dos grupos, para isso Hennig desenvolveu alguns termos e princípios. Primeiramente, era preciso ter um método de análise que permitisse chegar à filogenia de grupos comparáveis (semaforontes) e de suas características (isso foi possível a partir do uso do conceito de homologia). De acordo com Hening (1966) as homologias envolvem relações entre estruturas em espécies diferentes e quando se afirma que estruturas diferentes em espécies diferentes são homólogas (mesma origem), considera-se que essas espécies apresentam um ancestral em comum.

Posteriormente, surgiu uma das principais contribuições de Hennig à sistemática filogenética, que possibilitava inferir a ancestralidade comum a partir da determinação de quais eram as condições homólogas modificadas e as mais antigas, a partir das quais as novas surgiram. Ele denominou de série de transformações, a seqüência de modificações que uma determinada estrutura sofreu, e passou a chamar de plesiomorfia (caráter primitivo) as condições homólogas de estruturas pré-existentes, das quais as novas se originaram e, de apomorfia (caráter derivado) a condição mais recente de uma

estrutura surgida de uma condição anterior. O compartilhamento desses caracteres por grupos taxonômicos foi denominado de simplesiomorfia e sinapomorfia.

Entretanto, o grande princípio do método filogenético foi a polarização de caracteres, pois era preciso distinguir dentro das condições de um caráter, qual era a condição apomórfica e qual era a condição plesiomórfica e colocá-las em pólos diferentes. Se uma condição é apomórfica dentro de um grupo, então ela surgiu depois da origem desse grupo, assim o que existia era o caráter plesiomórfico, sendo o caráter apomórfico herdado de níveis anteriores. Dessa maneira, a plesiomorfia é aquela condição de um caráter encontrada em um grupo externo ao qual se está analisando (método da comparação do grupo externo).

Para a filogenia um dos principais critérios é a monofilia (ancestralidade comum), ou seja, apomorfias compartilhadas são indícios de ancestralidade em comum, já que não é possível agrupar organismos pela ausência de caracteres (plesiomorfias). Assim, sinapomorfias delimitam grupos monofiléticos.

Quando Hennig desenvolveu a idéia de que um grupo monofilético consistia de uma espécie ancestral e todos os seus descendentes, as espécies puderam ser vistas como uma série temporal de populações conectando dois eventos de especiação. Em 1957, ele afirmou que “uma espécie X é mais relacionada a uma espécie Y do que a uma outra, se ela compartilha uma espécie ancestral comum com Y e que não é ao mesmo tempo espécie ancestral de uma espécie Z” e assim, pode ser chamado de grupo monofilético. Para Hennig, cada evento de cladogênese origina uma espécie nova, ou seja,

cada segmento de um cladograma corresponde a uma espécie e que quando se define uma espécie sem um evento de cladogênese (especiação filética ou anagênese) não se considera o grupo como monofilético.

O “**Conceito Filogenético de Espécie**” teve origem nas publicações de Hennig (1966) e posteriores transformações da teoria filogenética. Hennig (1966) reconheceu que o conceito biológico de espécie era problemático em relação à história cronológica das espécies e propôs mudanças para o conceito. Os filogeneticistas reconheceram os problemas associados com o conceito biológico de espécies e reformularam novos conceitos de espécies que eram filogenéticos no nome ou essência.

Rosen (1979) foi o primeiro a aplicar os princípios de análises cladísticas para o problema de reconhecimento de espécies. O resultado foi um conceito autapomórfico das espécies que delineou espécies como grupos de indivíduos (populações) que compartilhavam uma apomorfia única. Essas espécies autapomórficas, “grupos de indivíduos com caracteres apomórficos únicos, é a unidade evolutiva significativa”. Posteriormente, Donoghue (1985) e Queiroz (1988) argumentaram que espécies seriam baseadas em monofilia, buscando fazer análises cladísticas abaixo do nível de espécies para chegar até grupos de população baseando-se em supostas sinapomorfias.

Independentemente, e simultaneamente, Eldredge e Cracraft (1980) e Nelson e Platnick (1981) formularam um conceito de espécies que era fundado na teoria filogenética, independente de análises cladísticas: “um grupo diagnosticável de indivíduos dentre os quais existe uma história parental de ancestralidade e descendência, além dos quais não existe e nem exibem um padrão de ancestralidade e descendência filogenética entre grupos de tipos

parecidos” ou “simplesmente a menor amostra detectada de organismos auto-perpetuáveis que possuem um conjunto único de caracteres.”

Cracraft (1983), posteriormente, modificou seu Conceito Filogenético de Espécie, excluindo menções explícitas de disjunções reprodutivas: “o menor grupo diagnosticável de organismos individuais dentre os quais existe um modelo parental de ancestralidade e descendência”. Essa exclusão foi justificada, pelo próprio Cracraft: “Eu não sei um único exemplo em que dados na coesão reprodutiva ou disjunção são os únicos fatores estabelecendo limites taxonômicos”. De fato, até mesmo dentro das espécies, diferenças fenotípicas de alguns tipos, por exemplo, comportamental ou bioquímica, são sempre os dados primários que levam ao reconhecimento de um táxon distinto. Rosen (1979) observou que o inter cruzamento é simplesiomórfico – que são compartilhados por indivíduos do ancestral comum mais recente de duas espécies - e que, portanto, essa descoberta dentre os organismos em espécies aparentadas não é nem inesperado e nem uma informação particular.

O conceito filogenético de espécie proposto por Eldredge e Cracraft (1980), Nelson e Platnick (1981) e Cracraft (1983) contém, substancialmente, componentes similares que foram amplificados adicionalmente por Nixon e Wheeler (1990): “a menor agregação de populações sexuadas ou linhagens assexuadas diagnosticáveis por uma combinação única de estados de caracteres em indivíduos comparáveis (semaforontes)”. Segundo esse conceito, espécies filogenéticas são unidades básicas da evolução orgânica e estão representadas por um táxon terminal.

Simpson (1951; 1961) ao formular um conceito de espécie, sentiu a necessidade de incluir dimensões temporais no mesmo – fator não considerado pelo conceito biológico de espécie de Mayr (1942; 1963).

Simpson (1951) propôs o “**Conceito Evolutivo de Espécie**”: “uma espécie evolutiva é uma entidade composta de organismos que mantêm sua identidade em relação a outras entidades ao longo do tempo e do espaço e que possuem independentes suas tendências históricas e seu destino evolutivo”. Este conceito trata as espécies como linhagens individualizadas. Wiley (1978) afirmou que o conceito de espécies como linhagens se ajusta particularmente bem a sistemática filogenética.

Assim como Hennig (1966), Wiley (1978) também reconhece as espécies como as únicas entidades naturais – consistindo os elementos básicos do sistema filogenético. Além disto, também rejeita a definição de espécie baseada apenas em caracteres morfológicos. Para Wiley as diferenças que existem entre as espécies não se devem a mudanças morfológicas, mas sim à ruptura de um sistema tocogenético preexistente e o estabelecimento de um novo sistema (especiação).

Segundo Hennig (1966) e Ghiselin (1974; 1981) espécies evolutivas possuem uma individualidade lógica com origem, existência e fim. Hennig (1966) complementou que espécies evolutivas são entidades tocogenéticas que funcionam no sistema filogenético como clados, e exemplificou:

“de uma forma geral, o esquema é baseado em um paralelismo triplo: organismos multicelulares são compostos por células, reproduzem-se por mitose e manifestam ontogenias; espécies são compostas por organismos, unem-se por reprodução e manifestam tocogenias; clados são compostos por espécies, unem-se por especiação e

manifestam filogenias. Ontogenia, tocogenia e filogenia não são tipos de processos, mas sim a resposta destes”.

Hening (1966) representou as espécies por linhas nos cladogramas. Linhas estas que, segundo o autor, indicam suas relações com outras espécies e permitem o estudo dos processos históricos de uma espécie qualquer em particular.

Ao longo dessa discussão mostrou-se que o conceito de espécie deixou de ser trivial e seguiu com novos conceitos. Provavelmente, o que acentuou a origem dessa discórdia foram os novos conhecimentos das últimas décadas. Há pouco tempo os taxonomistas só podiam julgar uma espécie baseados em que eles podiam ver, como barbatanas, pele e penas. Hoje é possível ler sequências de DNA, o que está permitindo descobrir uma riqueza escondida da diversidade biológica.

Baseando-se em sequências de DNA, especificamente do gene mitocondrial citocromo b, Baker e Bradley (2006) propuseram o **Conceito Genético de Espécie**, este conceito define espécies como um grupo de organismos geneticamente compatíveis, populações naturais intercruzantes, que são geneticamente isolados de outros grupos.

Segundo Baker e Bradley (2006), sob o conceito genético de espécie, os resultados do isolamento genético mostram como 2 genomas divergem a tal ponto que eles são geneticamente distintos e concluíram que uma distância genética de 2% é típica de uma variação populacional intra-específica, enquanto que os valores de 10% geralmente são obtidos para espécies diferentes. No entanto, os autores declararam que não tiveram a intenção de dar a entender que um valor de 10% sempre indica 2 espécies biológicas, ou

que o valor de 2% sempre identifica populações co-específicas. Em vez disso, sugerem que, se o objetivo é reconhecer de forma eficiente espécies de mamíferos, deverão ser recolhidos dados adicionais (genes nucleares ou variação morfológica) para determinar se as espécies existem.

Alternativamente, os autores concluem que, se os filogrupos apresentam uma divergência de 2%, há uma probabilidade menor em identificar duas espécies. Se a distância genética for de 5% há uma probabilidade maior do que a de 2%, mas menos probabilidade do que o valor de 10%. À luz da discussão acima, os autores citam inúmeros exemplos onde a distância com valor 5% está presente em espécie-irmã de mamíferos que tinha sido reconhecida pela variação morfológica antes de ser estudada com métodos moleculares. Segundo Baker e Bradley (2006) um valor de 5% muitas vezes identifica espécies genéticas despercebidas e, seguem dizendo que não há nada de exclusivo ou especial a cerca do valor 5%, este é um valor subjetivo, e foi escolhido a partir de uma revisão das distâncias genéticas de mamíferos publicadas.

Kevin de Queiroz, um biólogo de Smithsonian Institution, julgou que o debate de conceitos de espécie foi longe demais. Queiroz (1998) declarou que todo esse debate não lidou com o problema em si, mas com as suas confusões. A maioria dos conceitos de espécie concorda em algumas coisas básicas, como a noção de que uma espécie é uma linhagem distinta. Para Queiroz, isso é a definição fundamental de uma espécie e, segundo ele, a maioria das discórdias sobre espécie não é realmente sobre o seu conceito, mas sobre como reconhecer via certos critérios o que é uma espécie. De acordo com Queiroz, métodos diferentes trabalham melhor em casos

diferentes. Por exemplo, o isolamento reprodutivo é uma forte evidência que uma população de pássaros é uma espécie. Mas não é a única medida que pode ser usada. E cita que para os rotíferos, que não tem sexo, os cientistas devem usar outros tipos de critérios.

Ao longo do desenvolvimento deste trabalho viu-se que a questão de como as espécies seriam definidas trata-se de um ponto importante e delicado, primeiro porque *Oligoryzomys* é um grupo, que até onde se sabia, os limites morfológicos inter-específicos são discretos e/ou dúbios e, segundo, porque o número de espécies varia muito de acordo com as considerações de cada autor (ver Tate, 1932; Myers e Carleton, 1981; Carleton e Musser, 1989; Andrades-Miranda *et al.*, 2001; Weksler e Bonvicino, 2005). O conceito aplicado ao longo dessa tese foi o conceito filogenético.

Procurou-se, ao estabelecer as espécies, reunir evidências cariotípicas, morfológicas e filogenéticas que mostravam descontinuidades entre as linhagens. A presença de cariótipos espécie-específicos no gênero foi um ponto de partida fundamental, pois diferenças cariotípicas podem indicar mecanismos pré-zigóticos de isolamento reprodutivo entre as linhagens. A partir do estabelecimento de cariótipos espécie-específicos procurou-se identificar descontinuidades morfológicas que representavam as diferenças entre as linhagens, além de estabelecer as variações intra e inter-específicas. Em conclusão, os dados obtidos pelas análises filogenéticas corroboraram os táxons terminais como o grupo diagnosticável de organismos individuais, resultados da ausência de fluxo gênico entre os grupos, os quais são reciprocamente monofiléticos indicando que estes são espécies diferentes de acordo com o conceito filogenético de espécie.

OBJETIVOS

O presente estudo consiste em preencher, em parte, a lacuna existente sobre o conhecimento da diversificação e a evolução do gênero *Oligoryzomys* na região Neotropical.

Objetivo geral:

Reconhecer as espécies válidas do gênero *Oligoryzomys* e sua área de distribuição.

São objetivos específicos desta tese:

- 1) Caracterizar os padrões citogenéticos de variação intra e inter-populacional de *Oligoryzomys* da Bolívia, vista a colaboração com o Prof. Dr. Jorge Salazar-Bravo, em reconhecimento à lacuna no conhecimento desta fauna na Região Neotropical.
- 2) Verificar para quais espécies/populações de *Oligoryzomys* o cariótipo pode ser utilizado como uma ferramenta para a diagnose de espécies através do estabelecimento de cariótipos espécie-específicos.
- 3) Identificar e descrever, qualitativamente, os caracteres anatômicos diagnósticos das espécies de *Oligoryzomys* reconhecidas.
- 4) Averiguar possíveis descontinuidades craniométricas capazes de diferenciar as espécies reconhecidas.
- 5) Estimar os limites da distribuição geográfica das espécies reconhecidas.
- 6) Inferir as relações filogenéticas entre as espécies de *Oligoryzomys* reconhecidas
- 7) Comparar as estimativas de tempo obtidas com eventos históricos paleogeográficos descritos para a região Neotropical que possam ter gerado os padrões de diversificação observados no gênero *Oligoryzomys*.
- 8) Propor os processos de divergência e diferenciação genética entre as linhagens.

Referências bibliográficas

- Andrades-Miranda J., Oliveira, L. F. B., Lima-Rosa, C. A. V., Nunes, A. P., Zanchin, N. I. T., Mattevi, M. S. 2001. Chromosome studies of seven species of *Oligoryzomys* (Rodentia: Sigmodontinae) from Brazil. *Journal of Mammalogy* 82:1080-1091.
- Baker, R. J., Bradley, R. D. 2006. Speciation in mammals and the Genetic Species Concept. *Journal of Mammalogy* 87:643-662.
- Baskin, J. A. 1978. *Bensonomys*, *Calomys*, and the origin of the phyllotine group of neotropical cricetines (Rodentia: Cricetidae). *Journal of Mammalogy* 59:125-135.
- Baskin, J. A. 1986. The late Miocene radiation of Neotropical sigmodontine rodents in North America. *In: Vertebrates, phylogeny, and philosophy* (Flanagan, K. M., Lillegraven, J. A. eds.), University of Wyoming Contributions to Geology. Special Paper, 3:287-303.
- Bonvicino, C. R., Weksler, M. 1998. A new species of *Oligoryzomys* (Rodentia, Sigmodontinae) from northeastern and central Brazil. *Zeitschrift für Saugetierkunde* 63:90-103.
- Carleton, M. D., Musser G. G. 1989. Systematic studies of oryzomyine rodents (Muridae, Sigmodontinae): a synopsis of *Microryzomys*. *Bulletin of the American Museum of Natural History* 191:1-83.
- Cracraft, J. 1983. The significance of phylogenetic classifications for systematic and evolutionary biology. *In: Proceedings NATO Advanced Study Institute on Numerical Taxonomy* (Felsenstein, J. ed.), Springer-Verlag. Pp. 1-17.
- D'Elía, G., Luna, L., González, E. M., Patterson, B. D. 2006. On the Sigmodontinae radiation (Rodentia, Cricetidae): An appraisal of the phylogenetic position of *Rhagomys*. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 38:558-564.
- Delfraro, A., Clara, M., Tomé, L., Achaval, F., Levis, S., Calderón, G., Enria, D., Lozano, M., Russi, J., Arbiza, J. 2003. Yellow pygmy rice rat (*Oligoryzomys*

- flavescens*) and hantavirus pulmonary syndrome in Uruguay. *Emerging Infectious Diseases* 9:846-852.
- D'Elia, G. 2000. Comments on recent advances in understanding sigmodontine phylogeny and evolution. *Mastozoología Neotropical* 7:47-55.
- D'Elia, G. 2003. Phylogenetics of Sigmodontinae (Rodentia, Muroidea, Cricetidae), with special reference to the akodont group, and with additional comments on historical biogeography. *Cladistics* 19:307-323.
- Dickerman, A. W., Yates, T. L. 1995. Systematics of *Oligoryzomys*: protein-electrophoretic analyses. *Journal of Mammalogy* 76:172-188.
- Donogue, M. J. 1985. A critique of the biological species concept and recommendations for a phylogenetic alternative. *Bryologist* 88:172-181.
- Eisenberg, J. F., Rerford, K.H. 1999. Mammals of the Neotropics. The Central Neotropics. V. 3: Ecuador, Peru, Bolivia, Brazil. University of Chicago. Press, Chicago. 609 p.
- Eldred, N., Cracraft, J. 1980. Phylogenetic patterns and the evolutionary process. New York, Columbia University. 349p.
- Engel, S. R., Hogan, K. M., Taylor, J. F., Davis, S. K. 1998. Molecular systematics and paleobiogeography of the South American sigmodontine rodents. *Molecular Biology and Evolution* 15:35-49.
- Fonseca, G. A. B., Hermmann, G., Leite, Y. L. R., Mittermeyer, R. A., Rylands, A.B., Patton, J.L. 1996. Lista anotada dos mamíferos do Brasil. Conservation International & Fundação Biodiversitas. Occasional Papers in Conservation Biology, 4: 1-38.
- Gardner, A. L., Patton, J. L. 1976. Karyotypic variation in oryzomyine rodents with comments on chromosomal evolution in Neotropical cricetine complex. Occasional Papers Louisiana State University Museum of Zoology 49:1-48.
- Ghiselin, M. T. 1974. A radical solution to the species problem. *Systematic Zoology* 23:536-544.

- Ghiselin, M. T. 1981. Categories, life, and thinking. *Behavior and Brain Science* 4:269-313.
- Grahn, R.A., Rinehart, T.A., Cantrell, M.A., Wichman H.A. 2005. Extinction of LINE-1 activity coincident with a major mammalian radiation in rodents. *Cytogenetic and Genome Research* 110:407-415.
- Hennig, W. 1966. *Phylogenetic systematics*. Urbana, University of Illinois. 263p.
- Hershkovitz, P. 1955. South American marsh rats, genus: *Holochilus*, with a summary of sigmodont rodents. *Fieldiana Zoology* 37:639-687.
- Hershkovitz, P. 1962. Evolution of neotropical cricetine rodents (Muridae) with special reference to the phyllotine group. *Fieldiana Zoology* 46:1-524.
- Hershkovitz, P. 1966. Mice, land bridges and Latin American faunal interchange. *In: Ectoparasites of Panama* (Wenzel R. I., Tipton, V. J. eds.), Field Museum of Natural History, Chicago, Illinois. Pp. 725-751.
- Hershkovitz, P. 1972. The recent mammals of the Neotropical region: a zoogeographic and ecology review. *In: Evolution, mammals and southern continents* (Keast, A., Erk, F. C., Glass, B. eds.), State University of New York, Albany. Pp. 311-431.
- Hodges, S. A., Arnold, M. L. 1995. Spurring plant diversification: Are floral nectar spurs a key evolutionary innovation? *Proceedings of the Royal Society of London, Series B* 262:343-348.
- Hull, D. 1997. The Ideal Species Definition and Why We Can't Get It. *In: Species: The Units of Biodiversity*, (Claridge, M. F., Dawah, H. A., Wilson, M. R. eds.), London: Chapman Hall. Pp. 357-380.
- Lévi-Strauss, C. Reprinted 2002. *Myth and Meaning*. Routledge Classics, Great Britain. (1978).

- Marshall, L. G. 1979. A model for paleobiogeography of South American cricetine rodents. *Paleobiology* 5:126–132.
- Marshall, L. G., Webb, S. D., Sepkoski Jr, J. J., Raup, D. M. 1982. Mammalian Evolution and the Great American Interchange. *Science* 215:1351-1357.
- Maynard Smith, J., Burian, R., Kaufman, S., Alberch, P., Campbell, J. 1985. Developmental constraints and evolution. *The Quarterly Review of Biology* 60:265–287.
- Mayr, E. 1942. *Systematics and the origin of species*. Columbia University Press, New York.
- Mayr, E. 1963. *Animal species and evolution*. Harvard University Press, Cambridge, Mass.
- Mayr, E. 2000. The Biological Species Concept. *In: Species Concepts and Phylogenetic Theory: A Debate* (Wheeler, Q. D., Meier, R. eds.), Columbia University Press. Pp. 17-29.
- Mayr, E. 2000. A critique from the Biological Species Concept perspective: What is a species, and what is not? *In: Species Concepts and Phylogenetic Theory: A Debate* (Wheeler, Q. D., Meier, R. eds.), Columbia University Press. Pp. 93-100.
- Mayr, E. 2000. A defense of the Biological Species Concept. *In: Species Concepts and Phylogenetic Theory: A Debate* (Wheeler, Q. D., Meier, R. eds.), Columbia University Press. Pp. 161-166.
- Miranda, G. B., Oliveira, L. F. B., Andrades-Miranda, J., Langguth, A., Callegari-Jacques S. M., Mattevi, M. S. 2009. Phylogenetic and Phylogeographic Patterns in Sigmodontine Rodents of the Genus *Oligoryzomys*. *Journal of Heredity* 100(3):309-321.
- Mishler, B. D., Theriot, E. 2000. The phylogenetic species concept *sensu* Mishler and Theriot: monophyly, apomorphy, and phylogenetic species

- concepts. *In: Species Concepts and Phylogenetic Theory: A Debate* (Wheeler, Q. D., Meier, R. eds.), Columbia University Press. Pp. 44-54.
- Mishler, B. D., Theriot, E. 2000. A critique from the Mishler and Theriot phylogenetic species concept perspective: monophyly, apomorphy, and phylogenetic species concepts. *In: Species Concepts and Phylogenetic Theory: A Debate* (Wheeler, Q. D., Meier, R. eds.), Columbia University Press. Pp. 119-132.
- Mishler, B. D., Theriot, E. 2000. A defense of the phylogenetic species concept *sensu* Mishler and Theriot: monophyly, apomorphy, and phylogenetic species concepts. *In: Species Concepts and Phylogenetic Theory: A Debate* (Wheeler, Q. D., Meier, R. eds.), Columbia University Press. Pp. 179-184.
- Musser, G. G., Carleton, M. D. 2005. "Superfamily Muroidea". *In: Mammal Species of the World, Third Edition* (Wilson, D. E., Reeder, D. M. eds.), The Johns Hopkins University Press. Pp. 894-1531.
- Myers, P., Carleton, M. D. 1981. The species of *Oryzomys* (*Oligoryzomys*) in Paraguay and the identity of Azara's "*rat sixième ou rat à tarse noir*". *Miscellaneous Publications Museum of Zoology University of Michigan* 161:1-41.
- Myers, P., Lundrigan, B., Tucker, P. K. 1995. Molecular phylogenetics of oryzomyine rodents: the genus *Oligoryzomys*. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 4:372-382.
- Nelson, G., Platnick, N. 1981. *Systematics and Biogeography, cladistics and vicariance*. Columbia University Press. New York. 567 p.
- Nixon, K. C., Wheeler, Q. D. 1990. An amplification of the phylogenetic species concept. *Cladistics* 6:211-233.
- Paterson, H. E. H. 1985. The recognition concept of species. *In: Species and speciation*. (Vrba, E. S. ed.), Transvaal Museum Monograph No. 4, Transvaal Museum, Pretoria, South Africa. Pp. 21-29.

- Perini, M. V., Weimer, T., Callegari-Jacques, S. M., Mattevi, M. S. 2004. Biochemical polymorphisms and genetic relationships in rodents of the genera *Oryzomys* and *Oligoryzomys* (Sigmodontinae) from Brazil. *Biochemical Genetics* 42:317-329.
- Posada, D., Crandall, K. A., Templeton, A. R. 2000. GeoDis: A program for the cladistic nested analysis of the geographical distribution of genetic haplotypes. *Molecular Ecology* 9(4):487-488.
- Queiroz, de K. 1988. Systematics and the Darwinian revolution. *Philosophy of Science* 55:238-259.
- Queiroz, de K. 1998. The general lineage concept of species, species criteria, and the process of speciation: a conceptual unification and terminological recommendations. *In*: *Endless forms: species and speciation* (Howard, D. J., Berlocher S. H. eds.), Oxford: Oxford University Press. p. 57-75.
- Reig, O. A. 1980. A new fossil genus of South American cricetid rodents allied to *Wiedomys*, with an assessment of the Sigmodontinae. *Journal of Zoology* (London) 192:257–281.
- Reig, O. A. 1984. Distribuição geográfica e historia evolutiva dos roedores muroideos sulamericanos (Cricetidae: Sigmodontinae). *Revista Brasileira de Genética* 7:333–365.
- Rosen, D. E. 1979. Fishes from the uplands and intermontane basins of Guatemala: revisionary studies and comparative geography. *Bulletin of the American Museum of Natural History* 162:267-376.
- Shaw, K. L. 1999. A nested analysis of song groups and species boundaries in the Hawaiian cricket genus *Laupala*. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 11:332-341.
- Simpson, G. G. 1951. The species concept. *Evolution* 5:285–298.
- Simpson, G. G. 1961. *Principles of animal taxonomy*, Columbia University Press, New York.

- Smith, M. F., Patton, J. L. 1999. Phylogenetic relationships and the radiation of sigmodontine rodents in South America: evidence from cytochrome *b*. *Journal of Mammalian Evolution* 6:89-128.
- Steppan, S. J. 1995. Revision of the tribe Phyllotini (Rodentia: Sigmodontinae), with a phylogenetic hypothesis for the Sigmodontinae. *Fieldiana Zoology N. S.* 80:1–112.
- Steppan, S. J., Adkins, R. M., Anderson, J. 2004. Phylogeny and divergence-date estimates of rapid radiations in muroid rodents based on multiple nuclear genes. *Systematic Biology* 53(4):533-553.
- Tate, G. H. H. 1932. The taxonomic history of the South and Central American cricetid rodents of the genus *Oryzomys*. Part 2: subgenera *Oligoryzomys*, *Thallomyscus* and *Melanomys*. *American Museum Novitates* 580:1–17.
- Templeton, A. R. 1989. The meaning of species and speciation: a genetic perspective. *In: Speciation and its Consequences* (Otte, D., Endler, J. A. eds.), Sinauer, Sunderland, MA. Pp. 3-27.
- Templeton, A. R. 1998. Species and speciation. Geography, population structure, ecology, and gene trees. *In: Endless Forms. Species and Speciation* (Howard, D. J., Berlocher, S. H. eds.), Oxford University Press, New York. Pp. 32-43.
- Templeton, A. R. 1994. The role of molecular genetics in speciation studies. *In: Molecular Ecology and Evolution: Approaches and Application* (Schierwater, B., Desalle, Wagner, G. P. eds), Birkhauser Verlag. Pp. 455-477.
- Templeton, A. R., Routman, E., Phillips, C. 1995. Separating population structure from population history: a cladistic analysis of the geographical distribution of mitochondrial DNA haplotypes in the Tiger Salamander, *Ambystoma tigrinum*. *Genetics* 140:767-782.
- Templeton, A. R. 2001. Using phylogeographic analyses of gene trees to test species status and boundaries. *Molecular Ecology* 10:779-791.

- Trott, A. I., Callegari-Jacques, S. M., Oliveira, L. F. B., Langguth, A., Mattevi, M. S. 2007. Genetic diversity and relatedness within and between species of the genus *Oligoryzomys* (Rodentia, Sigmodontinae). *Brazilian Journal of Biology* 67:631–637.
- Van Valen, L. 1976. Ecological species, multispecies, and oaks. *Taxon* 25:233-239.
- Vorontzov, N. N. 1959. The system of hamsters (Cricetinae) in the sphere of the world fauna and their phylogenetic relations. *Byulleten' Moskovskovo Obshchestva Ispytatelei Prirody, Otdel Biologicheskii*, 64:134-137 (in Russian).
- Weksler, M. 1996. Revisão sistemática do grupo de espécies *nitidus* do gênero *Oryzomys* (Rodentia: Sigmodontinae). Universidade Federal do Rio de Janeiro. Dissertação de mestrado.
- Weksler, M. 2003. Phylogeny of Neotropical oryzomyine rodents (Muridae: Sigmodontinae) based on the nuclear IRBP exon. *Molecular Phylogenetic and Evolution* 29:331-349.
- Weksler, M. 2006. Phylogenetic relationships of oryzomyine rodents (Muroidea: Sigmodontinae): separate and combined analyses of morphological and molecular data. *Bulletin of the American Museum of Natural History* 296:1–149.
- Weksler, M., Bonvicino, C. R. 2005. Taxonomy of pigmy rice rats genus *Oligoryzomys* Bangs, 1900 (Rodentia, Sigmodontinae) of the Brazilian Cerrado, with the description of two new species. *Arquivos do Museu Nacional* 63:113-130.
- Wiley, E. O. 1978. The evolutionary species concept reconsidered. *Systematic Zoology* 27:17-26.

Capítulo 2

MATERIAL E MÉTODOS

MATERIAL E MÉTODOS

COLETA, PREPARAÇÃO DOS EXEMPLARES E AMOSTRAS

Parte dos exemplares provenientes do Brasil estudados nesta monografia foram frutos de trabalhos de campo realizados durante o meu mestrado pelo Laboratório de Genética Animal, coordenado pela Profa. Dra. Valéria Fagundes, em colaboração com o Prof. Dr. Alexandre U. Christoff da Universidade Luterana do Brasil (localidades da Mata Atlântica) e com a Profa. Dra. Ana Paula Carmignotto da Universidade Federal de São Carlos - Museu de Zoologia da USP (localidades do Cerrado).

No decorrer deste projeto foram amostradas duas localidades: Buíque, em Pernambuco, localidade tipo de *O. stramineus*, e Parque Nacional de Caparaó, localidade sugerida por Carleton e Musser (1989) de ter uma espécie nova de *Oligoryzomys* do grupo *flavescens*. A tabela 2.1 sumariza as atividades de campo e localidades de coleta no Brasil.

Durante as coletas os pontos de captura foram escolhidos de forma que representassem a maior variedade de habitats reconhecidos na área. Foram colocadas nesses pontos armadilhas do tipo “Sherman” e/ou “Tomahawk” iscadas com pasta de amendoim, sardinha, aveia e banana. Nas coletas do Cerrado foram usadas também armadilhas de queda (“pit-fall traps”). Todos animais coletados foram preparados como espécimes-testemunho e seguiram para os acervos do Museu de Biologia Professor Mello Leitão (MBML - ES), Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo (MZUSP - SP) e Museu de Ciências Naturais da Universidade Luterana do Brasil (MCNU - RS). Foram registradas informações da reprodução e ecologia dos espécimes. Da maioria

dos exemplares foram realizadas preparações citogenéticas ainda no campo. De todos exemplares foram retiradas amostras de tecidos para a obtenção de DNA, estas amostras estão mantidos em etanol absoluto e armazenados em freezer a -4°C.

Amostras de tecido de *O. rupestris* foram cedidas pela Profa. Dra. Lena Geise da Universidade Estadual do Rio de Janeiro. Amostras de tecido de *O. nigripes* provenientes de Una (BA) foram cedidas pela Profa. Dra. Yatiyo Yonenaga-Yassuda da Universidade de São Paulo.

As lâminas citogenéticas referentes aos espécimes provenientes da Bolívia e as amostras de tecido dos exemplares provenientes da Argentina, Belize, Bolívia, Costa Rica, Equador, México, Nicarágua, Panamá, Peru, Suriname e Venezuela foram cedidas pelo Prof. Dr. Salazar-Bravo da Texas Technology University, colaborador deste projeto.

Ao todo foram incluídas nas análises amostras de, aproximadamente, 400 espécimes provenientes de 32 localidades da região Neotropical (para os capítulos seguintes cada conjunto de amostra estão organizados nos respectivos apêndices). Várias fisionomias foram amostradas incluindo campos sulinos, floresta ombrófila, floresta amazônica, chaco, campos de altitude, mata de tabuleiro, caatinga, cerrado, yungas e páramos andinos.

Além disso, 3 outras amostras de tecido do grupo externo foram processados junto com as demais. Fizeram parte do grupo externo *Microryzomys minutus* e *Neacomys subspinosus*, ambas espécies indicadas por Weksler (2003) como táxons irmãos de *Oligoryzomys* e *Cerradomys languth*. Todas as 3 espécies pertencem à tribo Oryzomyini. Ainda, foram

obtidas sequências no GenBank de *Sigmodon leucotis* (grupo externo), *O. longicaudatus*, *O. messorius* e *Oligoryzomys* sp. E.

PREPARAÇÕES CITOGENÉTICAS

As metáfases foram obtidas a partir de preparações diretas de medula óssea, após injeção intraperitoneal, “*in vivo*” de colchicina 0,1% (1 ml/100 g de peso corpóreo) cerca de 40 minutos antes da dissecação. Os fêmures foram isolados, o canal da medula óssea foi lavado com auxílio de uma seringa contendo solução de *Hanks' Balanced Salt Solution* (Invitrogen). Após homogeneização esta mistura foi centrifugada a 3500 RPM durante 7 minutos. O precipitado de células foi incubado em solução de KCl 0,075M durante 30-40 min a 37°C. O processo de fixação foi lento e à temperatura ambiente. A suspensão celular foi fixada em de solução Carnoy (metanol/ ácido acético 3:1) gelado.

Para o estabelecimento do número diplóide (2n) e do número de braços autossômicos (NFa) foram contadas, no mínimo, 10 metáfases em lâminas após coloração com Giemsa. O padrão de montagem dos cariótipos seguiu Gardner e Patton (1976).

Tabela 2.1. Sumário das coletas dos exemplares estudados neste trabalho. Estão incluídos os dados das localidades de coleta, técnica de amostragem, museus onde foram ou serão depositados os espécimes testemunhos, espécies amostradas e os respectivos número de espécimes (N).

Localidade	Município e Estado	Lat., Lon.	Tipos de armadilhas	Testemunhos	Espécies	N
Estação Biológica de Santa Lúcia	Santa Tereza ES	19°56'S, 40°36'W	Sherman e Tomahawk	MBML	<i>O. nigripes</i>	24
Reserva Biológica de Duas Bocas	Cariacica ES	20°16'S, 40°28'W	Sherman e Tomahawk	MBML	<i>O. nigripes</i>	2
Parque Nacional de Aparados de Serra	São Francisco de Paula, RS	29°11'S, 50°05'W	Sherman e Tomahawk	MCNU	<i>O. nigripes</i>	12
					<i>O. flavescens</i>	2
Parque Nacional da Serra do Caparaó	Dores do Rio Preto ES	20°29'S, 41°40'W	Sherman e Tomahawk	MBML	<i>O. nigripes</i>	8
					<i>O. flavescens</i>	12
Parque Nacional Grande Sertão Veredas	Formoso MG	15°23'S, 45°54'W	Sherman, Tomahawk e pit-fall	MZ-USP	<i>O. moojeni</i>	7
					<i>O. fornesi</i>	2
Centro de Instrução e Adestramento de Brasília	Brasília DF	16°00'S, 47°57'W	Sherman, Tomahawk e pit-fall	MZ- USP	<i>O. nigripes</i>	1
					<i>O. fornesi</i>	5
Parque Nacional da Serra da Bodoquena	Bodoquena, MS	20°42'S, 56°52'W	Sherman, Tomahawk e pit-fall	MZ- USP	<i>O. nigripes</i>	4
					<i>O. fornesi</i>	1
					<i>O. chacoensis</i>	1
Serra Geral do Tocantins	Porto Estrela TO	10°53'S, 46°42'W	Sherman, Tomahawk e pit-fall	MZ-USP	<i>O. fornesi</i>	1
					<i>O. moojeni</i>	1
Estação Ecológica Águas de Santa Bárbara	Águas de Santa Bárbara SP	15°38'S, 57°11'W	Sherman, Tomahawk e pit-fall	MZ-USP	<i>O. nigripes</i>	1
					<i>O. fornesi</i>	5
Parque Nacional do Catimbau	Buíque PE	8°36'S, 37°09'W	Sherman e Tomahawk	MZ-USP	<i>O. stramineus</i>	4

DA EXTRAÇÃO À OBTENÇÃO DAS SEQUÊNCIAS

O DNA foi isolado de amostras de fígado ou músculo preservados em etanol, de acordo com as recomendações do fabricante do DNeasy DNA extraction kit (Quiagen Inc.) ou seguindo o protocolo de Brufford *et al.* (1992), que consiste na digestão do tecido “*overnight*” a 37°C em solução com 622 µl 1xTNE, 62µl Tris-HCl 1M (ph 8.0), 41 µl SDS 10% e 9 µl proteinase K (10mg/ml) seguida de uma precipitação com NaCl e etanol. Após as extrações a quantidade e qualidade do DNA foram verificadas em gel de agarose 1%.

Amplificação do gene mitocondrial citocromo b (Cyt-b)

O DNA mitocondrial revelou-se um bom marcador de fronteira entre as espécies (Bradley e Baker, 2001) e da estrutura de populações geográficas (Zink e Barrowclough, 2008). Sequências do gene mitocondrial citocromo *b* têm sido uma das ferramentas mais utilizadas para inferir as relações filogenéticas entre os roedores Neotropicais (e.g. Smith e Patton, 1999; Salazar-Bravo *et al.*, 2001; Miranda *et al.*, 2009). Por possuir tanto códons de evolução lenta quanto códons de evolução rápida, bem como regiões conservadas e regiões variáveis, constitui um bom marcador para testar a divergência filogenética em vários níveis (Farias *et al.*, 2001).

As cópias do gene mitocondrial *Cyt-b* foram clonadas e amplificadas via PCR (reação de polimerase em cadeia) utilizando os oligonucleotídeos iniciadores (*primers*) L14115 (5'-GATATGAAAAACCATCGTTG-3') e H15228 (5'-ACAAGACCAGAGTAATGTTTATACTAT-3') que amplifica cópias integrais do *Cyt b* e os oligonucleotídeos iniciadores MVZ05 e MVZ 16 (Smith e Patton, 1993) que amplifica 801 pares de base. Cada solução de PCR foi preparada para um volume final de 50ul, contendo 5mM de solução tampão 10x, 4mM de MgCl₂,

0,25 µl de Taq polimerase (Invitrogen Taq platinum kit), 0,25µM de cada primer (oligonucleotídeos iniciadores), 10mM de dNTPs e 250ng a 1µg de DNA. As temperaturas usadas na reação de amplificação foram: desnaturação inicial a 94°C durante 3 min; 35 ciclos com desnaturação a 94°C por 40 seg., anelamento a 47°C por 45 seg. e extensão a 72°C por 1 min e 15seg; e uma extensão adicional a 72°C por 10 min. Foi feito um controle negativo em todas as reações para garantir que os produtos de PCR não estavam contaminados e a qualidade dos produtos amplificados. Os produtos finais de PCR foram checados em gel de agarose a 2%.

Amplificação do íntron 7 do beta-fibrinogênio

Recentemente alguns íntrons de genes nucleares têm-se demonstrado ferramentas poderosas para análises filogenéticas em vertebrados (Slade *et al.*, 1994; Miller e Withler, 1996; Schneider *et al.*, 1996; Prychitko e Moore, 1997; 2000; 2003; Fieldman e Omland, 2005; Matocq *et al.*, 2007). Dentre as suas qualidades, destacam-se a facilidade em amplificá-los por PCR, uma vez que são flaqueadores de genes conservados (Prychitko e Moore, 2003); possuem uma taxa de evolução menor do que os genes mitocondriais e maior do que as sequências de exons nucleares (Prychitko e Moore, 1997; 2000); e sua alta taxa de substituição junto com a frequente ocorrência de *indels* (inserção e deleção) implica em um padrão da evolução de muitas sequências de íntrons serem adaptativamente neutras ou próximas a isso.

O íntron 7 do beta fibrinogênio apresenta a razão transição:transversão mais baixa do que do DNA mitocondrial (Yang, 1994) e as substituições de nucleotídeos (A→T, A→G, etc.) é mais homogênea. Consequentemente, as homoplasias são menores neste íntron do que no DNA mitocondrial (Prychitko e Moore, 2000).

O íntron 7 do gene nuclear é responsável pela expressão da cadeia beta do fibrinogênio (proteína plasmática que atua na coagulação do sangue). Suas amplificações foram realizadas pela reação em cadeia da polimerase (PCR) utilizando os oligonucleotídeos iniciadores: fita L (5'-CACAACGGCATGTTCTTC AGCAC-3') e fita U (5'-ACCCCAGTAGTATCTGCCGTTTGGATT-3'). Cada solução de PCR foi preparado para um volume final de 50ul, contendo 5mM de solução tampão 10x, 2mM de MgCl₂, 0,25 µl de Taq polimerase (Invitrogen Taq platinum kit), 0,25µM de cada primer (oligonucleotídeos iniciadores), 10mM de dNTPs e 250ng a 1µg de DNA. As temperaturas usadas na reação de amplificação foram: desnaturação inicial a 94°C durante 10 min; 30 ciclos com desnaturação a 94°C por 1 min, anelamento a 63°C por 30 seg. e extensão a 72°C por 1 min; e uma extensão adicional a 72°C por 1 min. Em todas as reações foi feito um controle negativo. Os produtos finais de PCR foram checados em gel de agarose a 2%.

Purificação dos produtos de PCR

Os produtos de PCR foram purificados com ExoSap (enzima exonuclease – exo I; e fosfatase alcalina de camarão - SAP). A enzima exo I digere o excesso de oligonucleotídeos iniciadores da PCR enquanto a SAP desfosforila o excesso de dNTPs (Werle *et al.*, 1994). Para a reação de purificação foram adicionadas 2 unidades de ExoSap (1:4) a 8 µl de produto da reação de PCR, a mistura foi homogeneizada e incubada a 37°C por 30 min seguida de uma inativação das enzimas a 80°C por 15 min.

Sequenciamento

Os produtos de PCR purificados, resultados das amostras do Brasil, foram sequenciados pela Plataforma de Sequenciamento de DNA da Embrapa (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária) e o restante da amostra foi sequenciada pela empresa Macrogen (EUA).

As amostras amplificadas do gene citocromo b foram sequenciadas com os *primers* internos MVZ04, MVZ127 (Smith e Patton, 1993) e L14115. Foram obtidos aproximadamente 1200 pares de base do citocromo b.

As amostras amplificadas com o íntron 7 do beta fibrinogênio foi sequenciado com os mesmos 2 *primers* usados na amplificação. Foram obtidos aproximadamente 650 pares de bases.

Montagem e alinhamento das sequências

As sequências foram checadas quanto à sua qualidade, sendo que somente as sequências com picos claros no cromatograma foram utilizadas. Algumas reações de sequenciamento precisaram ser repetidas para um ou mais *primers*.

A montagem das sequências foi realizada no programa DNASTar[®], neste programa são inseridas as sequências relativas a um espécime e a partir destas é gerada a fita consenso (Figura 2.1). Cada fita consenso foi editada de acordo com molde de sequências de táxons próximos previamente disponíveis no GenBank e renomeadas com os códigos dos espécimes. O apêndice 1 contém uma amostra contendo o alinhamento das sequências do gene mitocondrial citocromo b e do íntron beta fibrinogênio.

Em relação ao DNA mitocondrial, Bensasson *et al.* (2001) observaram que algumas espécies animais possuem inúmeras cópias de genes mitocondriais no núcleo. Conhecidos como “pseudogenes mitocondriais nucleares” ou “NUMTs” estas sequências representam tanto resquícios de uma inserção ocorrida em um passado distante quanto colonizações de sequências mitocondriais recentes (Riccheti *et al.*, 2004). Estas sequências podem ser amplificadas acidentalmente quando a intenção seria amplificar genes mitocondriais.

Para avaliar a possibilidade das sequências obtidas neste estudo serem realmente sequências originais do gene mitocondrial citocromo *b* e não cópias de pseudogenes integradas ao núcleo (Bensasson *et al.*, 2001) as seguintes medidas foram tomadas: (a) no programa DNASTar[®] as sequências de nucleotídeos foram traduzidas em aminoácidos para verificar a existência de códons de parada ou mudanças do quadro de leitura e (b) as frequências dos nucleotídeos foram calculadas para verificar a existência de *déficit* de guanina,

típico de fragmentos de regiões codificadoras do DNA mitocondrial (Vences *et al.*, 2004).

Logo após, as sequências foram alinhadas no programa BioEdit. Por não existirem *gaps* nas sequências do gene mitocondrial citocromo b a matriz de dados foi criada facilmente, à medida que as sequências eram inseridas já se encontravam alinhadas. O alinhamento do íntron 7 do beta fibrinogênio apresentou 1 região com gap de 14 pares de bases a partir da posição 342 na sequência da espécie *Cerradomys langguth*, de 7 pares de bases a partir da posição 336 na sequência da espécie *Microryzomys minutus* e de 5 pares de bases a partir da posição 399 na sequência da espécie *Neacomys subspinosus*, estas 3 espécies foram constituintes do grupo externo.

Figura 2.1. Janela do programa DNASTar[®] demonstrando a qualidade dos cromatogramas e como foi gerada a fita consenso.

INFERÊNCIAS FILOGENÉTICAS

As filogenias são baseadas no princípio de que todos os organismos atuais e extintos são interligados por relações de ancestralidade comum. O objetivo dos estudos filogenéticos é propor as hipóteses mais prováveis sobre história evolutiva dos organismos. Com base no princípio de ancestralidade comum, a evolução ocorre por ramificação, onde uma linhagem se divide em duas ou mais. Os métodos de reconstrução filogenética expressam as hipóteses sobre as relações evolutivas entre os organismos na forma de um cladograma chamado de árvore filogenética. O padrão de ramificação de uma árvore é chamado de topologia (Graur e Li, 2000). As árvores filogenéticas são compostas por nós, que representam os pontos de divergência entre as sequências, e por ramos, que indicam o número de polimorfismos de bases que separam as sequências de sua sequência ancestral comum.

A expectativa da sistemática seria que as árvores de genes representassem as árvores de organismos. No entanto, é importante deixar claro que podem existir diferenças entre as árvores de genes e a árvore representativa da história real das linhagens. Uma filogenia baseada em sequências de DNA propõe hipóteses da evolução de um determinado gene, ou família de genes, ou proteínas, enquanto que a segunda tem em vista hipóteses das relações evolutivas entre os táxons. Nem sempre a filogenia de genes permite compreender ou é compatível com a história filogenética real dos organismos.

No desenvolvimento deste trabalho as árvores filogenéticas foram construídas empregando-se o método de máxima verossimilhança calculados através da interface virtual do programa RaxML (Stamatakis *et al.*, 2008) disponível no endereço <http://phylobench.vital-it.ch/raxml-bb/>.

O método da máxima verossimilhança incorpora modelos evolutivos explícitos (Swofford *et al.*, 1996). A partir da divergência entre dois táxons, o número de diferenças nas suas seqüências homólogas de DNA aumentam proporcionalmente ao longo do tempo. No entanto, a comparação de seqüências homólogas entre os táxons revelam que cada sítio evolui sob condições muito particulares. Em alguns casos as diferenças podem ser associadas a uma pressão seletiva devido à sua função. Por exemplo, em genes codificadores de proteínas, os sítios correspondentes à terceira posição do códon estão mais sujeitos à variação do que os correspondentes à primeira e à segunda posição, porque mutações na terceira posição alteram menos frequentemente o aminoácido correspondente devido à natureza degenerada do código genético (Graur e Li, 2000; Nei e Kumar, 2000). Essa heterogeneidade faz com que em alguns conjuntos de dados existam sítios tão conservados que não apresentam substituições entre táxons distantemente relacionados, enquanto em outros sítios a variação é muito grande, a ponto de mascarar o sinal filogenético, devido à presença de substituições múltiplas mesmo entre linhagens próximas taxonomicamente (Swofford, 1996; Holder e Lewis, 2003; Felsenstein, 2004). Além disso, alguns tipos de substituições entre os sítios ocorrem com maior freqüência do que outros e as substituições também estão sujeitas à freqüência de bases que ocorre no segmento estudado. Todos esses fatores podem interferir nas inferências filogenéticas aumentando o número de substituições paralelas ou reversões de estado, que não podem ser detectados pela simples comparação das seqüências dos táxons atuais.

No entanto, foram desenvolvidos diversos modelos evolutivos que descrevem o padrão de substituição de nucleotídeos no DNA em diferentes conjuntos de dados. Existem diferentes testes e critérios para escolher o modelo

evolutivo mais adequado para um conjunto de dados. O modelo mais geral de substituição de nucleotídeos é descrito pela matriz de taxas instantâneas (Tavaré, 1986),

$$\mathbf{Q} = \{q_{ij}\} = \begin{pmatrix} - & r_{AC}\pi_C & r_{AG}\pi_G & r_{AT}\pi_T \\ r_{AC}\pi_A & - & r_{CG}\pi_G & r_{CT}\pi_T \\ r_{AG}\pi_A & r_{AG}\pi_C & - & r_{GT}\pi_T \\ r_{AT}\pi_A & r_{CT}\pi_C & r_{GT}\pi_G & - \end{pmatrix}.$$

Nesta matriz, cada elemento q_{ij} na i -ésima linha e j -ésima coluna especifica a taxa relativa de mudança do nucleotídeo i para o nucleotídeo j e os elementos da diagonal, representados por traços, são definidos de modo que a soma de cada linha seja zero. A frequência de cada um dos i -ésimos nucleotídeos é denotada por π . Supondo que as taxas de mutação direta e reversa são idênticas, como denotado na matriz acima, este modelo é conhecido como modelo geral reversível no tempo e incorpora seis parâmetros de taxas relativas, r_{AC} , r_{AG} , r_{AT} , r_{CG} , r_{CT} , r_{GT} e quatro parâmetros de frequências de bases, π_A , π_C , π_G , π_T . Este modelo geral pode ser reduzido ao modelo mais simples, como o modelo de Jukes-Cantor (Jukes e Cantor, 1969), impondo as restrições de taxas relativas de substituição idênticas e frequência do i -ésimo nucleotídeo igual a 0,25. A escolha do modelo de substituição que melhor descreve a evolução das seqüências foi feita de forma automática executada no programa RAxML (Stamatakis *et al.*, 2008).

As análises de máxima parcimônia foram conduzidas no programa *PAUP* versão 4.0b4 (Swofford, 2000), as árvores mais parcimoniosas foram obtidas por busca heurística com as árvores iniciais obtidas com o procedimento de *stepwise addition* com 50 replicações aleatórias, usando o rearranjo de ramos bipartição e reconexão (*treebisection and reconnection*). Esta análise emprega

um esquema de ponderação dinâmico que corrige as taxas de variação nas transições e transversões (Williams e Fitch, 1990). Os cladogramas tiveram seus índices de consistência (CI) e retenção (RI) calculados.

O índice de consistência (ci) é o número mínimo de passos que o caracter pode mostrar (m), dividido pelo número de passos que ele efetivamente mostra em um dado cladograma (s):

$$ci = \frac{m}{s}$$

O somatório de m , para todos os caracteres, dividido pelo somatório de s , dá o índice de consistência do cladograma (CI):

$$CI = \frac{\sum_{i=1}^n m_i}{\sum_{i=1}^n s_i}$$

Este índice reflete o grau de homoplasia do caracter. O uso de caracteres não informativos infla o índice de consistência do cladograma, o que pode ser problemático em comparações; enquanto que o aumento no número de táxons diminui o índice de consistência.

O índice de retenção (ri) é expresso como:

$$ri = \frac{(g - s)}{(g - m)}$$

onde g é o número máximo de passos que o caracter pode mostrar na pior situação (total falta de resolução no cladograma); reflete o grau de sinapomorfia do caracter. O índice de retenção do cladograma é:

$$RI = \frac{\sum_{i=1}^n g_i - \sum_{i=1}^n s_i}{\sum_{i=1}^n g_i - \sum_{i=1}^n m_i}$$

Os níveis de suporte estatístico dos cladogramas obtidos foi avaliada por *bootstrap* não-paramétrico (Felsenstein, 1985) com 1000 pseudo-réplicas, os valores de *bootstrap* acima de 70% foram considerados como evidência de corroboração para um dado nó (Hillis e Bull, 1993).

GENEALOGIAS INTRAESPECÍFICAS E FILOGEOGRAFIA

Primeiramente, através do programa DNAsp (Rozas *et al.*, 2003), foi obtido o número total de haplótipos distintos (k) da amostra. Cada sequência que apresentou pelo menos um nucleotídeo diferente em uma dada posição (sítio polimórfico), quando comparada com as demais, foi denominada como um haplótipo.

Posteriormente, de acordo com a abordagem de genética molecular de populações, foram quantificados, através do programa Arlequin versão 3.1 (Excoffier *et al.*, 2005) os seguintes descritores de variabilidade molecular:

- Número de sítios segregantes (s): representa o número total de sítios polimórficos, aqueles que apresentam dois ou mais nucleotídeos diferentes numa mesma posição, no conjunto das sequências alinhadas. Usado para estimativas de diversidade nucleotídica.
- Número médio de diferenças par a par (π): representa o número médio das diferenças entre todos os pares de haplótipos da amostra.
- Diversidade nucleotídica: Foi introduzido pela primeira vez por Nei e Li em 1979. Representa o número médio de diferenças nucleotídicas entre os haplótipos calculados par a par (Nei, 1987). Usado para medir o grau de

polimorfismo dentro de uma população. Assim, diversidade nucleotídica é dada pelo cálculo:

$$\text{Diversidade nucleotídica} = (\sum f_x f_y p_{xy}) / N_{\text{hapl}}$$

onde f_x e f_y são as frequências dos haplótipos “x” e “y”; p_{xy} é o número de diferenças entre os dois haplótipos, e N_{hapl} = número de haplótipos.

Após a obtenção dos descritores da variabilidade genética foram testadas as hipóteses sobre a estabilidade demográfica de diferentes populações, de diferentes espécies de *Oligoryzomys*, usando sequências do gene mitocondrial citocromo b e do íntron 7 do beta-fibrinogênio, em um teste exato de diferenciação populacional (Raymond e Rousset, 1995), que testa a hipótese da distribuição aleatória dos indivíduos entre os pares de populações, como descrito em Raymond e Rousset (1995) e Goudet et al. (1996). Este teste de diferenciação exata para todas as populações é análogo ao teste exato de Fisher, como em uma tabela de contingência dois-por-dois, no entanto, esse teste possibilita a construção de uma tabela extendida que engloba todas as populações e haplótipos observados. Então, todos os estados potenciais da tabela de contingência são exploradas com em uma cadeia de Markov. Durante a aleatorização entre os estados da cadeia de Markov é estimada a probabilidade de observar um quadro mais ou menos parecido à configuração da amostra observada, sob a hipótese nula de panmixia. Se a proporção esperada for menor ou igual ao observado na tabela de contingência o valor de P será significativo.

Análise de Variância Molecular (AMOVA)

Para determinar se as populações estão estruturadas como previsto por cada uma das hipóteses obtidas pelas árvores filogenéticas foram realizadas análises de variância molecular (AMOVA), como implementado no Arlequin, que permitem calcular a porcentagem de variância dentro e entre populações. Se o valor da AMOVA for maior dentro das populações do que entre, indica-se falta de estruturação geográfica.

As estruturas populacionais foram definidas para cada grupo de espécie / hipótese, de acordo com as relações obtidas nas análises filogenéticas. Foram usadas as distâncias de Tamura e Nei, para calcular a distância entre os pares. Transições e transversões receberam o mesmo peso. A significância estatística dos componentes de variância foi avaliada utilizando os procedimentos não paramétricos de permutação descritas por Excoffier et al. (1992), que consiste em permutação de haplótipos entre os indivíduos, entre populações, ou entre grupos de populações. Após cada rodada da permutação, pode-se recalcular todas estas estatísticas para obter a sua distribuição nula. Dependendo da estatística testada, e dada a concepção hierárquica, diferentes tipos de permutações são executadas. No âmbito deste processo, a suposição de normalidade habitual na análise dos testes de variância não é mais necessário, nem é necessário assumir a igualdade de variância entre as populações ou grupos de populações, ao invés disso, um grande número de permutações (1000 ou mais) é necessário para obter alguma precisão sobre a probabilidade final.

Testes de neutralidade

Foi numa pequena nota de 2 páginas, publicada na Nature, que Kimura deu ensejo ao grande impacto teórico experimentado pela genética de populações.

Kimura (1968) influenciou imensamente a formulação da teoria neutra da evolução molecular, que está baseada principalmente no argumento sobre a magnitude da carga genética que seria imposta pela seleção positiva se esta fosse a única força motriz na evolução de proteínas. Em seu trabalho a disponibilidade de seqüências α e β de hemoglobina, de uma variedade de espécies de primatas e mamíferos, lhe permitiu estimar uma taxa de substituição de aminoácidos e modelar este processo de substituição em duas hipóteses opostas: seleção e neutralidade. Kimura concluiu que a carga era muito grande sob seleção, enquanto que em condições próximas da neutralidade era praticamente inexistente.

Simultaneamente, Kimura (1968) obteve polimorfismos protéicos (aloenzimas) para cada espécie e os testou sob os dois modelos alternativos. Obteve, essencialmente, a mesma conclusão em favor da neutralidade. Assim, neste breve artigo, Kimura não só formulou sua teoria neutra da evolução molecular, como também apontou uma orientação futura para os testes empíricos de hipóteses de deriva e seleção. Dentro desse modelo, a partir da análise do polimorfismo intra e interespecífico seria possível inferir não somente no padrão, mas também nos processos de divergência das espécies.

Kimura se mostrou incisivo, alguns anos mais tarde (1983) no seu conceito de polimorfismo, o qual definiu da seguinte forma: "polimorfismo é apenas uma fase transitória da evolução molecular" (Kimura, 1983).

Este capítulo fornece uma visão geral das abordagens estatísticas para a detecção de seleção natural nas sequências de DNA. Segundo Kreitman (2000),

a distinção entre uma variação de nucleotídeos que distingue dois alelos dentro de **uma** espécie, é comumente referido como polimorfismo, e uma variação de nucleotídeos que distingue dois alelos de **diferentes** espécies é chamada de divergência ou diferenças fixada, de qualquer forma esse limite pode ser muito sutil. No entanto, em ambos os casos os dados podem ser vistos como o fornecimento de informações sobre a evolução em diferentes profundidades de tempo no processo. As diferenças entre as substituições nas espécies são o conjunto de mutações que conseguiram chegar à fixação, através de deriva genética, seleção direta ou indireta (carona genética). Polimorfismos, em contrapartida, são as mutações, cuja disposição final, qualquer fixação ou perda, ainda tem de ser determinado por estes mesmos processos.

Utilizou-se dois testes estatísticos capazes de inferir a neutralidade dos alelos presentes na população. Estes são descritos a seguir:

Estatística D de Tajima

Fumio Tajima (1989) apresentou uma estatística D que é usada para testar a hipótese nula de mutação-deriva em equilíbrio e tamanho populacional constante. Em outras palavras, D de Tajima é uma estatística usada para comparar a diversidade nucleotídica observada contra a diversidade esperada sob o pressuposto de que todos os polimorfismos são seletivamente neutros e o tamanho da população constante

Tajima (1989) considerou duas estatísticas: a média da diferença par a par (π) e o número de sítios segregantes (S). Sob a hipótese nula, os valores esperados destas estatísticas são:

$$\begin{aligned}E[\pi] &= \theta \\E[S] &= a_1 \theta\end{aligned}$$

Onde $\theta = 4N\mu$, N é o tamanho efetivo da população, $2N$ é o tamanho da população haplóide e μ é a taxa de mutação por geração; e a_1 é dado por:

$$a_1 = \sum_{i=1}^{n-1} 1/i$$

Onde n é o número de sequências nucleotídicas e i é a frequência do haplótipo.

Sob a hipótese nula, tanto a estimativa π quanto a estimativa S/a_1 devem ser aproximadamente iguais em valor. Se eles estão prestes a igualdade em termos de valor, então não se pode rejeitar a hipótese nula. Se, por outro lado, eles são muito diferentes rejeita-se a hipótese nula. Mas quão diferente é "muito diferente"? A resposta depende de como é a variação destas duas estatísticas

de amostra para amostra. Tajima propôs uma fórmula para a amostragem da variância destas estatísticas a qual é definida da seguinte forma:

$$V = \text{Var}[\pi - S/a_1]$$

Esta fórmula denota a variância da amostra da diferença entre as duas estimativas. Então D de Tajima é:

$$D = \frac{\pi - S/a_1}{\sqrt{V}}$$

D de Tajima manifesta a diferença entre as duas estimativas em relação a seu erro padrão. Se a diferença entre π e S/a_1 estão normalmente distribuídas, então poderia esperar que D está entre -2 e 2 cerca de 95% das vezes. De fato, esta diferença, não é distribuída normalmente, mas não deve ser muito longe disso. Tajima (1989) sugere que se deve suspeitar dos valores de D que estão muito fora do intervalo [-2, 2].

Embora D seja simples em conceito, ele é cansativo para se calcular.

Precisa-se de três informações extraídas dos dados: π , S , e do número, n , de seqüências da amostra no DNA. Perante estes dados, calcula-se:

$$\begin{aligned} a_1 &= \sum_{i=1}^{n-1} 1/i \\ a_2 &= \sum_{i=1}^{n-1} 1/i^2 \\ b_1 &= \frac{n+1}{3(n-1)} \\ b_2 &= \frac{2(n^2+n+3)}{9n(n-1)} \\ c_1 &= b_1 - 1/a_1 \\ c_2 &= b_2 - \frac{n+2}{a_1 n} + \frac{a_2}{a_1^2} \\ e_1 &= c_1/a_1 \\ e_2 &= c_2/(a_1^2 + a_2) \end{aligned}$$

Então D de Tajima é dado por:

$$D = \frac{\pi - S/a_1}{\sqrt{e_1 S + e_2 S(S-1)}}$$

Interpretação da estatística D de Tajima

Tajima (1989) mostrou que se pode comparar as duas estimativas de θ para detectar assinaturas de seleção natural em seqüências nucleotídicas. Nos termos de expectativas neutras, os valores de π e S semelhantes devem conduzir a estimativas de θ , e a diferença entre essas estimativas deve ser aproximadamente zero. Se, no entanto, as duas estimativas são diferentes, tem-se provas de seleção. Tajima definiu o resumo estatístico D como a diferença entre as duas estimativas de θ - a estimativa de θ π menos a estimativa de θ S .

$$D = \theta(\pi) - \theta(S)$$

Se um novo alelo que confere um benefício surge em uma população, espera-se que este seja conduzido à fixação por seleção natural. Isso deve remover a maior parte da variação genética ligada ao sítio sob seleção (*selective sweep*) e espera-se que as variantes genéticas sobre o mesmo pano de fundo da mutação vantajosa sejam arrastadas para a fixação. A seleção, portanto, diminui a quantidade de polimorfismo no sítio sob seleção, afetando tanto S quanto π . Após uma *selective sweep*, S se recupera mais rapidamente do que π , o que significa que a estimativa de θ será maior quando se usa S do que quando se usa π ; isto conduz a um valor da estatística D de Tajima negativo.

A Seleção Balanceada também pode ser detectável utilizando a estatística D de Tajima. Seleção Balanceada está prevista para manter o excesso de polimorfismos (em relação à expectativa neutra) no sítio sob seleção. Isso resultará em dois grupos de haplótipos que se tornam diferenciados uns dos outros ao longo do tempo. Porque há um excesso de diferenças entre os haplótipos dos dois pólos, a média de diferenças par a par na amostra será maior do que o esperado em um modelo neutro. Neste caso, a nossa estimativa de θ usando π será maior do que a de S , resultando em um D de Tajima positivo. Ao contrário da detecção de seleção positiva, a assinatura da Seleção Balanceada está prevista para persistir durante o tempo que o polimorfismo é mantido por seleção.

É importante lembrar que os desvios de expectativas neutras podem ser devidos à seleção natural ou a demografia. Foi mostrado como o valor do D de Tajima pode ser inferior ou superior a zero no âmbito de um modelo de seleção positiva ou balanceada, respectivamente. Ainda, pode-se obter uma estatística D de Tajima negativa se uma população está em expansão porque S irá aumentar mais rapidamente do que π .

Estatística F_s de F_u

Várias estatísticas adicionais foram desenvolvidos para examinar as configurações alélicas e os polimorfismos dos nucleotídeos para testar a sua coerência com as expectativas da neutralidade (Fu, 1996; 1997; Fu e Li, 1993). Uma das estatísticas é o teste F_s de F_u , que pode ser, no geral, o melhor ensaio para a detecção pressões seletivas e crescimento da população.

A estatística F_s de F_u avalia a probabilidade de se observar em uma amostra aleatória neutra um número de alelos semelhante ou menor do que o valor observado, dado o número de diferenças par a par observadas, tomadas como um estimador de θ . Todos os testes estatísticos discutidos por Fu (1997) são dependentes de um parâmetro essencial o θ (definido anteriormente).

Fu (1997) observou que a estatística F_s foi muito sensível a expansão demográfica da população, conduzindo, geralmente, a valores negativos de F_s . A estatística F_s tende a ser negativa, quando há excesso de mutações recentes. Um valor negativo de F_s foi considerado uma prova contra a neutralidade de mutações.

A significância estatística de F_s foi testada gerando amostras aleatórias sob a hipótese de neutralidade seletiva e população em equilíbrio, utilizando um algoritmo de simulação coalescente adaptado de Hudson (1990). O P-valor (nível de significância - corresponde o valor da probabilidade de se obter o efeito observado, dado que a hipótese nula seja verdadeira), da estatística F_s é então obtida como a proporção de estatísticas F_s aleatórias igual ou inferior à observação.

Usando simulações, Fu (1997) verificou que o ponto crítico de 5% de significância para cada um dos testes, exceto para F_s , foi o ponto correspondente ao quinto percentual abaixo da sua distribuição empírica. O

ponto crítico para o teste F_s , no entanto, foi o valor correspondente ao segundo percentual abaixo de sua distribuição empírica. Portanto, se for utilizado o valor de F_s correspondente ao quinto percentual abaixo da sua distribuição empírica, a probabilidade de rejeitar o modelo neutro quando esta for verdadeira será maior do que 5%. Porque F_s se comporta de forma diferente dos outros testes não foi totalmente explicada e compreendida pelo autor, mas, segundo este, parece em parte devido à forma estatística do teste e, em parte devido a grande variância da amostra estimada pelo θ de Tajima.

O autor defende que o procedimento para a determinação de um ponto crítico no problema acima, seria adequado quando se tem apenas uma ou algumas amostras de DNA, mas seria muito demorado testar o poder de um teste estatístico com muitas centenas ou milhares de amostras.

Para reduzir o número de simulações, o autor obteve o ponto crítico a partir de um teste que usou um único valor de θ e utilizou uma interpolação linear para obter o ponto crítico para um dado valor de θ . Suponha que θ_i ($i=1, \dots, m$) sejam os valores de θ examinados e os valores críticos correspondentes sejam $C(\theta_i)$. Sendo assim o ponto crítico para $\theta_i < \theta < \theta_{i+1}$ é determinado por:

$$c(\theta) = \frac{c(\theta_{i+1}) - c(\theta_i)}{\theta_{i+1} - \theta_i} (\theta - \theta_i) + c(\theta_i).$$

O programa ARLEQUIN versão 3.1 (Excoffier *et al.*, 2005), utilizado aqui para os cálculos e obtenção dos valores de F_s de F_u , testa a estatística de F_S pela geração de amostras aleatórias sob a hipótese de neutralidade seletiva e equilíbrio da população. O programa usa um algoritmo de simulação coalescente

adaptado por Hudson (1990). O valor crítico da estatística de FS (determinado como P-valor) é então obtido como a proporção das estatísticas FS aleatórias igual ou inferior ao observado. Excoffier *et al.* (2005) refizeram as simulações de Fu (1997) e notaram o mesmo comportamento dos resultados, frente a isso, consideraram que uma estatística FS deve ser considerada significativa ao nível de 5%, caso o seu P-valor seja inferior a 0,02 e não a 0,05.

Distribuições *Mismatch*

As distribuições *mismatch* foram calculadas no programa ARLEQUIN versão 3.1 (Excoffier *et al.*, 2005) e foram utilizadas para a investigação da história demográfica das populações (Rogers e Harpending, 1992; Harpending *et al.*, 1998).

As distribuições *mismatch* resumem informações sobre as diferenças genéticas entre pares de indivíduos em uma amostra. Esta distribuição é geralmente multimodal em amostras extraídas de populações em equilíbrio demográfico, e geralmente unimodal em populações que passaram por uma expansão demográfica recente (Rogers e Harpending, 1992; Slatkin e Hudson, 1991), ou através de uma série expansão com elevados níveis de migração entre demes vizinhas (Ray *et al.*, 2003; Excoffier, 2004).

Elas são construídas pela contagem do número de diferenças nucleotídicas (ou restrição) observadas entre os pares de haplótipos. Para a representação das frequências relativas dos pares que diferem por zero sítios, por um sítio, e assim por diante são usados gráfico de dispersão ou histograma (Figura 2.2). As distribuições são construídas sob um eixo horizontal, o qual estima o número de substituições por sítios e não as diferenças do sítio (Rogers *et al.*, 1996) .

Rogers *et al.* (1996) mostraram as distribuições calculadas (círculos abertos na figura 2.2) a partir de 77 indivíduos asiáticos usando sequências de nucleotídeos com 630 pb do gene mitocondrial D-loop. As distribuições de muitos pares de indivíduos diferiram em 9 sítios, mas em alguns casos houveram poucas diferenças: o mínimo encontrado foi 0 e o máximo 15 sítios.

Figura 2.2. Representação da distribuição *mismatch* (extraída de Rogers *et al.*, 1996). No eixo horizontal, i significa o número de diferenças por sítios de nucleotídeos entre pares de indivíduos. Os círculos abertos mostram as frequências relativas (F_i) das diferenças dos pares em relação à i . A linha tracejada é a frequência observada. A linha sólida é a frequência esperada. π é a média da diferença dos pares de haplótipos, S é o número de sítios segregantes, e MAE é a média do erro absoluto.

A aplicação deste método não é adequado para qualquer sistema genético. As fórmulas que calculam o valor esperado das distribuições *mismatch*, sob várias hipóteses da história populacional (Watterson 1975; Li, 1977; Rogers e Harpending, 1992), partem do pressuposto que a recombinação é ausente ou muito rara.

Os comentários de Rogers *et al.* (1996) a respeito da figura 2.2 defendem que se a população estivesse em equilíbrio de mutação-deriva teria apresentado a mesma diferença média entre pares, desta forma, a distribuição *mismatch* esperada seria parecida com a linha tracejada. No entanto, o que eles observaram foram as duas distribuições se comportando de formas muito diferentes.

De acordo com Rogers *et al.* (1996) essa incongruência não deve ser considerada o suficiente para rejeitar a hipótese de equilíbrio entre mutação-deriva. Para isso, seria preciso mostrar também que tais diferenças são raras em populações em equilíbrio. Outros estudos citados por Rogers *et al.* (1996) têm desenvolvido métodos para testar esses dois paralelos usando simulações por computador e o que se tem encontrado é a rejeição da hipótese de equilíbrio com vários conjuntos de dados (Harpending *et al.*, 1993; Harpending, 1994; Sherry *et al.*, 1994; Rogers, 1995).

O mesmo padrão da distribuição *mismatch* observado na figura 2.2 poderia ter sido produzido por um episódio de crescimento da população ou pelo favorecimento da fixação de um alelo mitocondrial (Rogers e Harpending, 1992; Rogers, 1995; 1996). Segundo Rogers *et al.* (1996) separar essas hipóteses exigem dados adicionais. Para entender como isso pode acontecer, considere uma situação usando dados de loci diferentes: se o padrão refletir o crescimento da população, então todos loci devem ter as mesmas formas de curvas ; se o

padrão refletir a seleção, então o loci que desassociou deve apresentar uma curva diferente, uma vez que as histórias seletivas de loci diferentes não são idênticas.

O programa ARLEQUIN versão 3.1 (Excoffier *et al.*, 2005) verifica o desvio entre as curvas observada e esperada da distribuição de *mismatch*, dentro do modelo de expansão populacional, utilizando a soma dos desvios ao quadrado (SSD), cujo significado pode ser testado de forma semelhante ao índice *mismatch*: assume valores maiores para as distribuições multimodais, comumente encontrados em uma população fixa, do que para distribuições unimodais, típico de populações em expansão.

DEFINIÇÃO DOS TÁXONS

Para os espécimes coletados ao longo deste trabalho procurou-se obter dados de cariótipo, moleculares (citocromo b e beta-fibrinogênio) e de morfologia externa, craniana e pós-craniana. No entanto, parte da amostra analisada neste estudo foi obtida através de colaborações ou estudos de espécimes depositados em museus. Destes animais, foram obtidos apenas os dados que estavam disponíveis. Alguns animais foram sequenciados e/ou medidos, mas não possuíam dados citogenéticos. Os apêndices dos próximos capítulos indicam quais espécimes foram usados em cada um dos estudos.

Considerou-se as informações do número diplóide ($2n$) e do número fundamental autossômico (NFa) como ponto de partida para a identificação dos clados indicados pelas análises moleculares. Assim, a posição na árvore dos indivíduos cariotipados agrupados com os indivíduos sem os dados cariotípicos indicavam a qual espécie este clado pertencia.

Nas análises morfológicas considerou-se primeiramente os indivíduos cariotipados, obteve-se uma matriz de variação dentro dos citótipos

estabelecido, a partir dessa variação conhecida a priori classificou-se, quando possível, os espécimes depositados nos museus por compartilharem caracteres semelhantes com aqueles cariotipados.

Em geral, os representantes das espécies são muito parecidos em tamanho, coloração e caracteres anatômicos, então, nos casos de dúvida na classificação da espécie o espécime não foi incluído nas análises morfológicas e morfométricas.

DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA E DE DOMÍNIOS VEGETACIONAIS

Foram obtidas as coordenadas geográficas disponíveis em trabalhos anteriores de citogenética para mapear a distribuição das formas cariotípicas para *Oligoryzomys*.

Foram transcritas das etiquetas dos espécimes depositados nos museus as coordenadas geográficas das suas respectivas localidades de coleta. Quando as etiquetas não continham a coordenada geográfica foi realizada uma busca no *gazetteer* disponível na internet (www.fallingrain.com/world) a partir dos dados indicados da localidade de coleta. Para obter a altitude de algumas localidades foram utilizados os dados disponíveis na página www.google.earth.com.

A classificação dos domínios vegetacionais foram levantados no mapa digital de ecorregiões Neotropicais de Dinerstein *et al.* (1995).

Compilação dos dados cromossômicos e sua informação na distribuição geográfica

Além dos cariótipos estabelecidos ao longo deste trabalho, foram considerados os dados citogenéticos disponíveis na literatura para *Oligoryzomys* em toda sua área de ocorrência. Assim, destacam-se:

- Kiblicky (1969): *O. fulvescens* da Venezuela;
- Gardner e Patton (1976): *O. andinus* do Peru, *O. fulvescens* da Costa Rica e 4 variantes de *O. longicaudatus* (denominação dos autores) sendo 3 formas provenientes do Peru e 1 da Venezuela.
- Gallardo e González (1977): *O. longicaudatus* (indicado pelos autores como *O. l. philippii*) do Chile.
- Haiduk *et al.* (1979): *O. fulvescens* do México;
- Myers e Carleton (1981): *O. nigripes*, *O. chacoensis* e *O. fornesi* do Paraguai.
- Gallardo e Patterson (1985): *O. longicaudatus* (indicado pelos autores como *O. l. philippii*) e *O. magellanicus* (indicado pelos autores como *O. l. magellanicus*) do Chile;
- Brum-Zorrilla *et al.* (1988): *O. flavescens* da Argentina e Uruguai e *O. nigripes* do Uruguai;
- Vidal Rioja *et al.* (1988): *O. flavescens* da Argentina e Uruguai;
- Sbalqueiro *et al.* (1991): *O. flavescens* do Sul do Brasil;
- Espinosa e Reig (1991): *O. longicaudatus*, *O. flavescens* e *O. nigripes* (denominada pelos autores como *O. delticola*) da Argentina.
- Silva e Yonenaga-Yassuda (1997): *O. rupestris* (indicado pelas autoras como *Oligoryzomys* sp. 1 e *Oligoryzomys* sp. 2).
- Bonvicino e Weksler (1998): *O. flavescens*, *O. stramineus* e *O. nigripes* do Brasil;
- Aniskin e Volobouev (1999): *O. flavescens* da Bolívia e *O. microtis* do Peru;

- Andrades-Miranda *et al.* (2001): *O. stramineus*, *O. nigripes*, *O. flavescens*, *O. messorius*, *O. fornesi* (indicado pelos autores como *O. eliurus*), *O. moojeni* (indicado como *Oligoryzomys* sp.) e *Oligoryzomys* sp. (indicado como *O. microtis*) de diferentes localidades do Brasil;
- Lima *et al.* (2003): *O. moojeni* (indicado pelos autores como *Oligoryzomys* sp.) do Centro-Oeste do Brasil;
- Weksler e Bonvicino (2005): *O. flavescens*, *O. stramineus*, *O. rupestris* do Brasil;
- Haynie *et al.* (2006): *O. destructor* e *O. microtis* do Equador;
- Paresque *et al.* (2007): *O. nigripes* do Brasil.

DESCRIÇÃO DA MORFOLOGIA EXTERNA E DO CRÂNIO

Para descrição da morfologia externa comparou-se 10 caracteres morfológicos qualitativos: coloração das regiões dorsal, ventral, gular e do flanco, coloração da cauda, distribuição dos pelos e das escamas da cauda, número e distribuição das mamas e coloração das almofadas plantares. As características cranianas foram descritas de acordo com os seguintes autores: dentição (Reig, 1977), artérias cefálicas (Bugge, 1970; Carleton, 1980; Carleton e Musser 1989) e forâmens cranianos (Wahlert, 1974; 1985; Voss, 1988). As séries molares superior e inferior foram designadas por M e m, respectivamente.

Cinco variáveis de medidas corpóreas foram transcritas das etiquetas de identificação dos exemplares depositados em museus: comprimento do corpo, altura da orelha, comprimento do pé sem unha, comprimento do pé com unha e comprimento da cauda.

Os indivíduos sem o terceiro molar eclodido foram considerados jovens, classe etária 1, e foram usados para comparação das colorações do corpo, pés e cauda. Indivíduos com todos molares funcionais, sem desgastes, com superfície de oclusão sem exposição evidente da dentina foram considerados classe etária 2. Indivíduos com molares apresentando início de desgaste, com as dobras marginais de esmalte ausentes ou reduzidas a ilha, foram considerados adultos classe etária 3. Indivíduos com molares sem cúspides, obliteração completa das dobras de esmalte e aplainamento da superfície de oclusão foram considerados adulto-velha, classe etária 4.

DADOS DE MORFOLOGIA QUANTITATIVOS E ANÁLISES SUBSEQUENTES

Foram obtidos 33 marcadores geométricos no crânio (Figura 2.3) usando um digitalizador 3D MX Microscribe com precisão de 0,05 mm, segundo Cheverud (1995), com as seguintes modificações: os pontos ZS e ZI, sutura superior entre o zigomático e o maxilar e sutura inferior entre o zigomático e o maxilar, respectivamente, não foram tomados; foram tomados dois pontos relacionados ao forame incisivo FIA e FIP, extremidade anterior do forame incisivo e extremidade posterior do forame incisivo, respectivamente (Tabela 2.2).

Cheverud (1995) registrou marcadores com os quais é possível “dividir” o crânio em conjuntos relacionados à função/desenvolvimento (Tabela 2.3). A partir das coordenadas foram estimadas um conjunto de 36 medidas Euclidianas, as quais foram classificadas em seis grupos: oral, orbital, nasal, zigomático, base do crânio e abóboda craniana. Estes grupos estão relacionados à função/desenvolvimento do crânio de acordo com Cheverud (1995). As medidas obtidas através destes pontos e o grupo funcional à qual pertencem encontram-se na Tabela 2.3.

Nos casos de espécimes danificados em alguma região que contivesse pontos de referência laterais, foi utilizada a medida do lado intacto como a média; espécimes com pontos de referência centrais danificados não foram digitalizados.

Cada crânio foi medido duas vezes em cada ponto e a repetibilidade de cada medida, isto é, a proporção da variância relativa a diferenças individuais ao invés do erro da medida, foi estimada (Falconer, 1989). A repetibilidade calculada separadamente para cada um dos caracteres teve uma variação mínima o que significa que o erro na determinação das medidas é pequeno na amostra e, portanto, teve um impacto desprezível nos resultados. Sendo assim,

foi utilizada a média das medidas repetidas para cada espécime em todas as análises subsequentes.

Figura 2.3. Visão ventral, dorsal e lateral do crânio de um roedor, mostrando os pontos que foram registrados com o digitalizador. A identificação dos pontos encontra-se na tabela 2.2.

Além dos pontos no crânio, foram obtidos os valores da estatística descritiva (média, desvio padrão, valores máximo e mínimo) para todas as espécies a partir do conjunto total de variáveis. Os padrões de variação craniométrica foram explorados em análises discriminantes para testar a diferenciação entre espécies identificadas *a priori* (Manly, 1994).

A técnica estatística da análise discriminante é apropriada para testar a hipótese que as médias de um conjunto de variáveis para dois ou mais grupos são iguais. Está baseada na maximização da variância entre grupos, com relação à variância dentro dos grupos. A função discriminante multiplica cada variável independente por seu peso e soma esses produtos para gerar o Z (escore discriminante).

Os escores extraídos na análise discriminante sumarizam a variação dentro e entre os grupos e os coeficientes discriminantes para cada variável refletem estas diferenças entre grupos e permitem alocar cada espécime a um grupo usando os escores gerados.

A média dos escores discriminantes dos grupos é denominada centróide. Quando a análise envolve dois grupos, há dois centróides; com três grupos, há três centróides e assim por diante. Se os grupos forem bem diferentes terão centróides distintos. O teste de significância estatística de uma função discriminante é uma medida generalizada de distância entre centróides de grupos. É realizado comparando as distribuições dos escores discriminantes para os grupos. Se a sobreposição nas distribuições é pequena, a função discriminante separa bem os grupos. Se a sobreposição é grande, a função é um discriminador pobre entre os grupos .

Tabela 2.2. Pontos registrados nos crânios de *Oligoryzomys*. As abreviações D e E referem-se às medidas tomadas nos lados direito e esquerdo do crânio.

Pontos	Descrição
IS	Interincisivo superior
PM	Sutura maxilar-prémaxilar (D/E)
NSL	Extremidade rostral do osso nasal
NA	Extremidade caudal do osso nasal (junção com o osso frontal)
BR	“Bregma” – sutura entre o frontal e o parietal (posição medial)
PT	Sutura entre o frontal e o parietal (D/E)
FM	Sutura entre o frontal e o malar (D/E)
FIA	Extremidade anterior do forame incisivo
FIP	Extremidade posterior do forame incisivo
MT	Tuberosidade maxilar (D/E) – caudal ao terceiro molar
PNS	Espinha caudal do nasal
APET	Petrous temporal (D/E)
BA	“Basion” – ponto ventral do forame magno
OPI	“Opisthion” – ponto dorsal do forame magno
EAM	Meato auditivo externo rostral (D/E)
PEAM	Meato auditivo externo caudal (D/E)
ZYGO	Sutura entre o zigomático e o temporal (D/E)
TSP	Sutura entre o temporal o esfenoidal e o frontal (D/E)
TS	Sutura entre o temporal e o esfenoidal (D/E)
JP	Processo jugular (D/E)
AS	“Asterion” – sutura entre o parietal e o occipital (D/E)

Tabela 2.3. Medidas craniais e o grupo funcional à qual pertence cada medida.

Medida	Grupo funcional
IS-PM	Oral
IS-NA	Nasal
IS-PNS	Oral, nasal
PM-FIA	Oral
PM-FIP	Oral
PM-MT	Oral
NSL-NA	Nasal
NSL-FIA	Nasal, oral
NSL-FIP	Oral, nasal
NA-BR	Abobóda cranial
NA-FM	Orbital
NA-PNS	Nasal
BR-PT	Abobóda cranial
BR-APET	Abobóda cranial
PT-FM	Orbital
PT-APET	Abobóda cranial
PT-BA	Abobóda cranial
PT-EAM	Abobóda cranial
PT-ZYGO	Zigomático
PT-TSP	Abobóda cranial, Zigomático
FM-FIA	Orbital, oral
FM-MT	Zigomático
FIA-FIP	Oral
FIP-ZYGO	Oral
FIP-TSP	Zigomático
MT-PNS	Zigomático
PNS-APET	Oral
APET-BA	Base do crânio
APET-BA	Base do crânio
APT-TS	Base do crânio
BA-EAM	Base do crânio
EAM-ZYGO	Zigomático
ZYGO-TSP	Zigomático
PT-AS	Abobóda cranial
JP-AS	Base do crânio
BA-OPI	Base do crânio

Referências bibliográficas

- Ackermann, R. R., Cheverud, J. M. 2000. Phenotypic covariance structure in tamarins (genus *Saguinus*): A comparison of variation patterns using matrix correlation and common principal component analysis. *American Journal of Physical Anthropology* 111:489-501.
- Andrades-Miranda J., Oliveira, L. F. B., Lima-Rosa, C. A. V., Nunes, A. P., Zanchin, N. I. T., Mattevi, M. S. 2001. Chromosome studies of seven species of *Oligoryzomys* (Rodentia: Sigmodontinae) from Brazil. *Journal of Mammalogy* 82:1080-1091.
- Aniskin, V. M., Volobouev, V. T. 1999. Comparative chromosome banding of two South-American species of rice rats of the genus *Oligoryzomys* (Rodentia, Sigmodontinae). *Chromosome Research* 7:557-562.
- Bensasson, D., Zhang, D-X., Hartl, D. L., Hewitt, G. M. 2001. Mitochondrial pseudogenes: evolution misplaced witnesses. *Trends in Ecology & Evolution* 16:314-321.
- Bonvicino, C. R., Weksler, M. 1998. A new species of *Oligoryzomys* (Rodentia, Sigmodontinae) from northeastern and central Brazil. *Zeitschrift fur Säugetierkunde* 63:90-103.
- Bradley, R. D., Baker, R. J. 2001. A test of the Genetic Species Concept: cytochrome-*b* sequences and mammals. *Journal of Mammalogy* 82:960-973.
- Brum-Zorrilla, N., Fronza, T. G., Wainberg, R., Vidal-Rioja, L., Zwirner, N. 1988. *Oryzomys flavescens* and *O. delticola* chromosomes (Rodentia, Cricetidae) from Uruguay and Argentina. *Caryologia* 41:275-288.
- Bugge, J. 1970. The contribution of the stapelial artery to cephalic arterial supply in muroid rodents. *Acta Anatomica*, 76:313-336.
- Carleton, M. D. 1980. Phylogenetic relationships in neotomine-peromyscine rodents (Muroidea) and a reappraisal of the dichotomy within New World Cricetinae. *Miscellaneous Publications, Museum of Zoology, University of Michigan* 157:1-146.

- Carleton, M. D., Musser G. G. 1989. Systematic studies of oryzomyine rodents (Muridae, Sigmodontinae): a synopsis of *Microryzomys*. Bulletin of the American Museum of Natural History 191:1-83.
- Cheverud, J. M. 1988. A comparison of genetic and phenotypic correlations. Evolution 42:958-968.
- Cheverud, J. M. 1995. Morphological integration in the saddle-back tamarin (*Saguinus fuscicollis*) cranium. American Naturalist 145:63-89.
- Cheverud, J. M. 1996. Quantitative genetic analysis of cranial morphology in the cotton-top (*Saguinus oedipus*) and saddle-back (*S. fuscicollis*) tamarins. Journal of Evolutionary Biology 9:5-42.
- Dinerstein, E., Olson, D. M., Graham, D. J., Webster, A. L., Primm, S. A., Bookbinder, M. P., Ledec, G. 1995. Ecoregions of Latin America and the Caribbean (inset map). *In*: A Conservation Assessment of the Terrestrial Ecoregions of Latin America and the Caribbean, The World Bank, Washington, DC.
- Espinosa, M. B., Reig, O. A. 1991. Cytogenetics and karyosystematics of South American oryzomyine rodents (Cricetidae, Sigmodontinae). III. Banding karyotypes of Argentinean *Oligoryzomys*. Sonderdruck aus Zeitschrift für Säugetierkunde 56:306-317.
- Excoffier, L. 2004. Patterns of DNA sequence diversity and genetic structure after a range expansion: lessons from the infinite-island models. Molecular Ecology 13:853-864.
- Excoffier, L., Laval G., Schneider, S. 2005. ARLEQUIN ver. 3.0: an integrated software package for population genetics data analysis. Evolutionary Bioinformatics Online, 1:47–50.
- Falconer, D. S. 1989. Introduction to Quantitative Genetics. 3rd ed. John Wiley and Sons: New York.
- Farias, I. P., Ortí, G., Sampaio, I., Schneider, H., Meyer, A. 2001. The cytochrome *b* gene as a phylogenetic marker: the limits of resolution for

- analyzing relationships among cichlid fishes. *The Journal of Molecular Evolution* 53:89-103.
- Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution* 39:783-791.
- Felsenstein, J. 2004. *Inferring phylogenies*. Sinauer, Sunderland, MA.
- Feldman, C., Omland, K. E. 2005. Phylogenetics of the common raven complex (*Corvus*: Corvidae) and the utility of ND4, COI and b-fibrinogen 7 in avian molecular systematics. *Zoologica Scripta* 34:145-156.
- Fu, Y. X. 1996. New statistical tests of neutrality for DNA samples from a population. *Genetics* 143:557-570.
- Fu, Y. X. 1997. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics*, 147:913-925.
- Fu, Y. X., LI, W. H. 1993. Statistical tests of neutrality of mutations. *Genetics* 133:693-709.
- Gallardo, M. H., Patterson, B. D. 1985. Chromosomal differences between two nominal subspecies of *Oryzomys longicaudatus* Bennett. *Mammalian Chromosomes Newsletter* 25:49-53.
- Gardner, A. L., PATTON, J. L. 1976. Karyotypic variation in oryzomyine rodents with comments on chromosomal evolution in Neotropical cricetine complex. *Occasional Papers Louisiana State University Museum of Zoology* 49:1-48.
- Gaur, D., Li, W. H. 2000. Molecular phylogenetics. *In: Fundamentals of Molecular Evolution* (Gaur, D., Li, W. H. eds.), Sinauer Associates, Sunderland.
- Haiduk, M. W., Bickhan, J., Schmidly, D. J. 1979. Karyotypes of six species of *Oryzomys* from Mexico and Central America. *Journal of Mammalogy* 60:610-615.
- Hapending, H. 1994. Signature of ancient population growth in a low resolution mitochondrial DNA mismatch distribution. *Human Biology* 66:591-600.

- Harpending, H. C., Sherry S., Rogers, A. R., Stoneking, M. 1993. The genetic structure of ancient human populations. *Current Anthropology* 34:483-496.
- Harpending, H. C., Batzer, M. A., Gurven, M., Jorde, L. B., Rogers, A. R., Sherry, S. T. 1998. Genetic traces of ancient demography. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 95:1961-1967.
- Haynie, M. L., Brant, J. G., McAliley, L. R., Carrera, J. P., Revelez, M. A., Parish, D. A., Viteri, X., Jones, C., Phillips, C. J. 2006. Investigations in a natural corridor between two national parks in Central Ecuador: results from the sowell expedition, 2001. *Occasional papers Museum of Texas Tech University* 263:1-16.
- Hillis, D. M., Bull, J. J. 1993. An empirical test of bootstrapping as a method for assessing confidence in phylogenetic analysis. *Systematic Biology* 42:182-192.
- Holder, M., Lewis, P. O. 2003. Phylogeny estimation: traditional and Bayesian approaches. *Nature reviews* 4:275-284.
- Hudson, R. R. 1990. Gene genealogies and the coalescent process. *In: Oxford Survey Evolutionary Biology* (Futuyma, D. J., Antonovics, J. eds.), Oxford University Press, New York. Pp. 1-44
- Jukes, T. H., Cantor, C. R. 1969. Evolution of protein molecules. *In: Mammalian protein metabolism* (Munro, H. N. ed.), Academic Press, New York. Pp. 21-132.
- Kiblicky, P. 1969. The chromosomes of two species of the genus *Oryzomys* (Rodentia: Cricetidae). *Experientia* 25:1338-1339.
- Kimura, M. 1968 Evolutionary rate at the molecular level. *Nature* 217:624-626.
- Li, W. H. 1977. Distribution of nucleotide differences between two randomly chosen cistrons in a finite population. *Genetics* 85:331-337.
- Lima J. F. S., Bonvincino, C. R., Kasahara, S. 2003. A new karyotype of *Oligoryzomys* (Sigmodontinae, Rodentia) from central Brazil. *Hereditas* 139:1-6.

- Manly, B .F. J. 1994. Multivariate statistical methods: a primer. 2nd ed., London, Chapman & Hall.
- Matocq, M. D., Murphy, P. J. 2007. Fine-scale phenotypic change across a species transition zone in the genus *Neotoma*: disentangling independent evolution from phylogenetic history. *Evolution* 61:2544-2557.
- Miller, K. M., Withler, R. E. 1996. Sequence analysis of a polymorphic Mhc class II gene in Pacific salmon. *Immunogenetics* 43:337-351.
- Miranda, G. B., Oliveira, L. F. B., Andrades-Miranda, J., Langguth, A., Callegari-Jacques S. M., Mattevi, M. S. 2009. Phylogenetic and Phylogeographic Patterns in Sigmodontine Rodents of the Genus *Oligoryzomys*. *Journal of Heredity* 100(3):309-321.
- Myers, P., Carleton, M. D. 1981. The species of *Oryzomys* (*Oligoryzomys*) in Paraguay and the identity of Azara's "*rat sixième ou rat à tarse noir*". *Miscellaneous Publications Museum of Zoology University of Michigan* 161:1-41.
- Nei, M. 1987. *Molecular evolutionary genetics*. Columbia Univ. Press, New York.
- Nei, M., Li, W. H. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 76:5269-5273.
- Nei, M., Kumar, S. 2000. *Molecular evolution and phylogenetics*. Oxford University Press, New York.
- Paresque, R., Silva, M. J. J., Yonenaga-Yassuda, Y., Fagundes V. 2007. Karyological geographic variation of *Oligoryzomys nigripes* Olfers, 1818 (Rodentia, Cricetidae) from Brazil. *Genetics and Molecular Biology* 30:43-53.
- Prychitko, T. M., Moore, W. S. 1997. The utility of DNA sequences of an intron from the beta-fibrinogen gene in phylogenetic analysis of woodpeckers (Aves: Picidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 8:193-204.

- Prychitko, T. M., Moore, W. S. 2000. Comparative evolution of the mitochondrial cytochrome b gene and nuclear 3-fibrinogen intron 7 in woodpeckers. *Molecular Biology and Evolution* 17:1101-1111.
- Prychitko, T. M., Moore, W. S. 2003. Alignment and phylogenetic analysis of Fibrinogen intron 7 sequences among avian orders reveal conserved regions within the intron. *Molecular Biology and Evolution* 20:762-771.
- Ray, N., Currat, M., Excoffier, L. 2003. Intra-Deme Molecular Diversity in Spatially Expanding Populations. *Molecular Biology and Evolution* 20(1):76-86.
- Reig, C. A. 1977. A proposed unified nomenclature for the enameled components of the molar teeth of the Cricetidae (Rodentia). *Journal of Zoology (London)* 181:227-241.
- Ricchetti, M., Tekaia, F., Dujon, B. 2004 Continued Colonization of the Human Genome by Mitochondrial DNA. *PLoS Biology* 2(9):e273.
- Roff, D. A. 1997. *Evolutionary quantitative genetics*. Chapman and Hall, New York.
- Rogers, A. R. 1995. Genetic evidence for a Pleistocene population explosion. *Evolution* 49:608-615.
- Rogers, A. R., Harpending, H. 1992. Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences. *Molecular Biology and Evolution* 9:552-569.
- Rogers, A. R., Fraley, A. E., Bamshad, M. J., Watkins, W. E. S., Scott, L. T., Jorde, L. B. 1996. Mitochondrial Mismatch Analysis is Insensitive to the Mutational Process. *Molecular Biology and Evolution* 13(7):895-902.
- Rozas, J., Sanchez-DelBarrio, J. C., Messeguer, X., Rozas, R. 2003. DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods. *Bioinformatics*, 19:2496-2497.
- Salazar-Bravo, J., Dragoo, J. W., Tinnin, D. S., Yates, T. L. 2001. Phylogeny and Evolution of the Neotropical Rodent Genus *Calomys*: Inferences from

- Mitochondrial DNA Sequence Data. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 20(2):173-184.
- Sbalqueiro, I. J., Mattevi, M. S., Oliveira, L. F. B., Solano, M. J. V. 1991. B chromosome system in populations of *Oryzomys flavescens* (Rodentia, Cricetidae) from southern Brazil. *Acta Theriologica* 36:193-199.
- Schneider, H., Sampaio, I., Harada, M. L., Barroso, C. M. L., Schneider, M. P. C., Czelusniak, J., Goodman, M. 1996. Molecular phylogeny of the New World monkeys (Platyrrhini, Primates) based on two unlinked nuclear genes: IRBP intron 1 and epsilon-globin sequences. *American Journal of Physical Anthropology* 100:153-179.
- Sherry, S., Rogers, A. R., Hapending, H. C., Soodyall, H., Jenkins, T., Stoneking, M. 1994. Mismatch distributions of mtDNA reveal recent human population expansions. *Human Biology* 66:761-775.
- Silva, M. J de J., Yonenaga-Yassuda, Y. 1997. New karyotypes of two related species of *Oligoryzomys* genus (Cricetidae, Rodentia) involving centric fusion with loss of NORs and distribution of telomeric (TTAGGG)_n sequences. *Hereditas* 121:217-229.
- Slade, R. W., Moritz, C., Heideman, A. 1994. Multiple nuclear-gene phylogenies: application to pinnipeds and comparison with a mitochondrial DNA gene phylogeny. *Molecular Biology and Evolution* 11:341-356.
- Slatkin, M., Hudson, R. R. 1991. Pairwise comparisons of mitochondrial DNA sequences in stable and exponentially growing populations. *Genetics* 129(2):555-62.
- Smith, M. F., Patton, J. L. 1993. The diversification of South American rodents: evidence from mitochondrial sequence data for the Akodontini tribe. *Biological Journal of the Linnean Society* 50:149-177.
- Smith, M. F., Patton, J. L. 1999. Phylogenetic relationships and the radiation of sigmodontine rodents in South America: evidence from cytochrome *b*. *Journal of Mammalian Evolution* 6:89-128.

- Stamatakis, A., Hoover, P., Rougemont, J. 2008. A rapid bootstrap algorithm for the RAxML Web servers. *Systematic Biology*, 57:758-771.
- Swofford, D. L., Olsen, G. J., Waddell, P. J., Hillis, D. M. 1996. Phylogenetic inference. *In: Molecular Systematics*. (Hillis, D. M., Moritz, C., Mable, B. K. eds.), Sinauer, Sunderland, MA. Pp. 407-514.
- Swofford, D. L. 2000. PAUP*: Phylogenetic Analysis Using Parsimony (*and Other Methods), Version 4.0b10. Sinauer Associates, Sunderland, MA.
- Tajima, F. 1989. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics* 123:585-595.
- Tavaré, S. 1986. Some probabilistic and statistical problems in the analysis of DNA sequences. *In: Some Mathematical Questions in Biology: DNA Sequence Analysis* (Miura, R. M., Providence, R. I. eds.), American Mathematical Society. Pp. 57-86.
- Vences, M., Thomas, M., Van der Meijden, A., Chiari, Y., Vieites, D. R. 2004. Performance of 16S rRNA in DNA barcoding of amphibians. *Integrative and Comparative Biology* 44:657-657.
- Vidal-Rioja, L., Fronza, T. G., Wainberg, R., Brum-Zorrilla, N., Wallace, F., Zambelli, A. 1988. C-banding pattern and satellite DNA localization on the chromosomes of *Oryzomys flavescens* (Rodentia, Cricetidae). *Caryologia* 41:323-328.
- Voss, R. S. 1988. Systematics and ecology of Ichthyomyine rodents (Muroidea): patterns of morphological evolution in a small adaptive radiation. *Bulletin of the American Museum of Natural History* 188(2):260-493.
- Wahlert, J. H. 1974. The cranial foramina of protrogomorphous rodents; an anatomical and phylogenetic study. *Bulletin of the Museum of Comparative Zoology* 113:113-214.
- Wahlert, J. H. 1985. Cranial foramina of rodents. *In: Evolutionary Relationships Among Rodents: A Multidisciplinary Analysis*. (Luckett, W. P., Hartenberger, J. L. eds.), Plenum Press, New York. Pp. 311-333.

- Watterson, G. A. 1975. On the number of segregating sites in genetical models without recombination. *Theoretical Population Biology* 7:256-276.
- Weksler, M. 2003. Phylogeny of Neotropical oryzomyine rodents (Muridae: Sigmodontinae) based on the nuclear IRBP exon. *Molecular Phylogenetic and Evolution* 29:331-349.
- Weksler, M., Bonvicino, C. R. 2005. Taxonomy of pigmy rice rats genus *Oligoryzomys* Bangs, 1900 (Rodentia, Sigmodontinae) of the Brazilian Cerrado, with the description of two new species. *Arquivos do Museu Nacional* 63:113-130.
- Werle, E., Schneider, C., Renner, M., Volker, M., Fiehn, W. 1994. Convenient single-step, one tube purification of PCR products for direct sequencing. *Nucleic Acids Research* 22:4354-4355.
- Williams, P. L., Fitch, W. M. 1990. Phylogeny determination using dynamically weighted parsimony method. *Methods in Enzymology* 183:615-626.
- Yang, Z. 1994. Maximum likelihood phylogenetic estimation from DNA sequences with variable rates over sites: Approximate methods. *Journal of Molecular Evolution* 39:306-314.
- Zink, R. M., Barrowclough, G. F. 2008. Mitochondrial DNA under siege in avian phylogeography. *Molecular Ecology* 17:2107-2121.

Capítulo 3

**ESPÉCIES DO GÊNERO *OLIGORYZOMYS* (RODENTIA,
CRICETIDAE) DA BOLÍVIA DEFINIDAS A PARTIR DE CARIÓTIPOS E
FILOGENIA MOLECULAR DO GENE MITOCONDRIAL CITOCROMO *B***

RESUMO

Oligoryzomys é um gênero de roedor com uma ampla distribuição desde o sul da América do Norte, América Central e América do Sul. São apresentados neste trabalho os cariótipos das espécies de *Oligoryzomys* que ocorrem na Bolívia: *O. chacoensis* $2n=58/NFa=74$ proveniente das terras baixas dos Departamentos de Santa Cruz e Tarija; *O. andinus* $2n=60/NFa=70-72$ proveniente das terras altas dos Andes (500m a 850m); *O. aff. andinus* $2n=58/NFa=72$ de Tarija; *O. microtis* $2n=62-68/NFa=66-76$ provenientes do norte da Bolívia onde predomina a Floresta Amazônica; e *O. aff. flavescens* $2n=66-68/NFA=68$ provenientes das porções mais altas dos Andes Boliviano (800m a 2000m). Adicionalmente, dados moleculares sugeriram a ocorrência de *O. fulvescens* e *Oligoryzomys* sp. A, acima de 2500 m nos Andes. Foram conduzidas análises filogenéticas baseadas em sequências de citocromo b (Cyt b) e testada a monofilia do gênero envolvendo diferentes espécies de *Oligoryzomys* provenientes da Bolívia, Brasil, Paraguai, Argentina, Peru, Equador e México. Os resultados indicaram que *Oligoryzomys* é um gênero monofilético sendo a espécie *O. fornesi* encontrada na posição mais basal. Os dados de cariótipo e as áreas de distribuição das espécies foram delimitados em um mapa com pontos de distribuição. Foi possível observar que os diferentes clados sugeridos pelo cariótipo foram confirmados pelas análises filogenéticas e mostraram uma relativa coesão ecológica ao tipo de bioma onde ocorrem.

Palavras-chave: *Oligoryzomys*, variabilidade cromossômica, biodiversidade Neotropical, espécies andinas, relações filogenéticas.

ABSTRACT

Oligoryzomys is a genus of small rodents which are widely distributed throughout southern North America, Central America and all South America. We present karyotypes of *Oligoryzomys* species from Bolivia: *O. chacoensis* $2n=58/NFa=74$ from the lowlands of Santa Cruz and Tarija Departments; *O. andinus* $2n=60/NFa=70-72$ from high Andean mountains (500m to 850m); *O. andinus* $2n=58/NFa=72$ from Tarija; *O. microtis* $2n=62-68/NFA=66-76$ from northern of Bolivia where Amazon Forest is predominant; and *O. aff. flavescens* $2n=66-68/NFa=68$ from top of Bolivian Andes (800m to 2000m). Additionally, molecular data suggests that *O. fulvescens* and *Oligoryzomys* sp. A occur in Andean Bolivian over 2500m. In order to understand the relations with other *Oligoryzomys* species and to test the monophyly of the genus, phylogenetic analysis was conducted, based on cytochrome b sequences involving different species of *Oligoryzomys* from Bolivia, Brazil, Paraguay, Argentina, Ecuador e Peru e Mexico. The results indicate that the *Oligoryzomys* genus is monophyletic, with the species *O. fornesi* found to be more basal. The karyotypes and the distribution areas of the species were mapped on the phylogeny. It appears that the different clades present a relative ecological cohesion and are arranged according to a gradient from closed to open habitats.

Key words: *Oligoryzomys*, Chromosomal variability, Neotropical biodiversity, Andean species, phylogenetic relationships.

INTRODUÇÃO

Roedores do gênero *Oligoryzomys* são endêmicos do Novo Mundo, apresentam uma distribuição ampla que compreende toda a região Neotropical, desde o México (Tamaulipas) até as ilhas do sul do Estreito de Magellan no Chile e Argentina; desde a costa Pacífica até a costa Atlântica. Aparecem ocupando mesmo os habitats das terras altas das Américas do Sul e Central (acima de 3600 m), ambientes xéricos nos biomas da Caatinga e Cerrado brasileiros e habitats no nível do mar na Floresta Atlântica (Musser e Carleton, 2005; *sensu* deste trabalho).

As revisões sistemáticas mais recentes do gênero organizaram a maioria das espécies em de 6 grupos de espécies (Carleton e Musser, 1989; Weksler e Bonvicino, 2005): “*Andinus*”, “*Flavescens*”, “*Fulvescens*”, “*Microtis*”, “*Nigripes*”, e “*Rupestris*”; somente três espécies reconhecidas não foram alocadas em nenhum desses grupos: *O. griseolus*, *O. brendae* e *O. victus*. No presente trabalho são reconhecidas, no mínimo, 22 espécies para o gênero, sendo que duas das 18 espécies reconhecidas por Musser e Carleton (2005), são sinônimos juniores de *O. nigripes*: *O. delticola* (Francés e D’Elia, 2006) e *O. eliurus*, e duas espécies foram recentemente descritas por Weksler e Bonvicino (2005): *O. moojeni* e *O. rupestris*.

Interessante, entretanto, é que o número de espécies reconhecidas (Carleton e Musser, 1989; Musser e Carleton, 2005; Weksler e Bonvicino, 2005; Francés e D’Elia, 2006) é menor do que o número de cariótipos relatados para *Oligoryzomys*, sugerindo que o número de espécies válidas para o gênero pode aumentar. Em uma compilação foram identificadas 30 formas cariotípicas distintas para *Oligoryzomys* (Gardner e Patton, 1976; Andrades-Miranda *et al.*, 2001; Weksler e Bonvicino, 2005; Palma *et al.*, 2005; Presente trabalho) e estas

não incluem dados de cariótipos para *O. arenalis*, *O. brendae*, *O. griseolus* e *O. victus* (Tabela 3.1). O estudo citogenético em *Oligoryzomys* pode ser uma ferramenta poderosa para a diagnose das espécies, pois elas apresentam, até onde se sabe, cariótipos espécie-específicos (e.g., Gardner e Patton, 1976; Myers e Carleton, 1981; Paresque *et al.*, 2007).

Apesar de ser um roedor comum na América do Sul, *Oligoryzomys* foi pouco estudado na Bolívia. Olds e Anderson (1987) trataram questões de nomenclatura do gênero para as espécies bolivianas baseados em dados morfológicos e morfométricos. Estes autores identificaram 3 espécies para a Bolívia: *O. chacoensis*, *O. microtis*, e *O. longicaudatus*. No entanto, não definiram os limites morfológicos entre elas, permanecendo uma lacuna para a diagnose precisa das espécies.

Hoje a taxonomia proposta por Olds e Anderson (1987) está desatualizada. O que os autores definiram como *O. microtis* incluía *O. fornesi*, considerada por estes um sinônimo júnior. Uma década depois, Bonvicino e Weksler (1998) reconheceram *O. fornesi* como espécie válida, baseados em diferenças morfológicas e citogenéticas entre *O. fornesi* e *O. microtis*.

A situação mais delicada talvez seja em relação ao nome que os autores definiram como *O. longicaudatus*, sendo que o uso deste nome específico para os animais da Bolívia está completamente em desacordo com a nomenclatura atual (Anderson, 1997; Musser e Carleton, 2005; Palma *et al.*, 2005; 2007; Rivera *et al.*, 2007). Historicamente, *O. longicaudatus* talvez tenha sido um dos nomes mais confusos na taxonomia do grupo. Desde a publicação de Gardner e Patton (1976), onde estão descritas 4 formas cariotípicas variantes para *O. longicaudatus* (Tabela 3.1), que o uso do nome veio sendo aplicado de forma inconsistente. As revisões mais atuais realizadas por Gallardo e Patterson

(1985) e Palma *et al.* (2005; 2007) definiram a forma cariotípica, os caracteres morfológicos e concordaram que *O. longicaudatus* tem seus limites de distribuição na Argentina e Chile.

Dickerman e Yates (1995) estudaram as variações de aloenzimas em espécimes de *Oligoryzomys* provenientes da Bolívia. Baseando-se nos resultados obtidos os autores reconheceram 3 espécies: *O. microtis*, *O. destructor* e *O. chacoensis*, entretanto, também não discutiram os limites ou critérios usados na aplicação dos nomes. Neste mesmo trabalho os autores testaram e confirmaram a monofilia do gênero *Oligoryzomys* em relação à *Microryzomys*.

Mais tarde, Anderson (1997) estudou a fauna de mamíferos da Bolívia e propôs a ocorrência de 5 espécies para a Bolívia: *O. andinus*, *O. chacoensis*, *O. destructor*, *O. flavescens* (indicado pelo autor como *Oligoryzomys* sp. b) e *O. microtis*. Neste trabalho reconheceu que *O. longicaudatus* não ocorre na Bolívia, em desacordo com a proposta de Olds e Anderson (1987). Apenas alguns comentários curtos dos dois trabalhos anteriores (Olds e Anderson, 1987; Dickerman e Yates, 1995) foram citados na monografia de Anderson (1997) sobre os mamíferos da Bolívia.

Anderson (1997) continuou sendo pouco preciso em relação à diagnose e aos critérios aplicados para nomear as espécies bolivianas. No entanto, forneceu dados tão claros de distribuição geográfica das espécies, quanto lhe permitiram suas identificações. A figura 3.1 mostra a distribuição proposta para as espécies na Bolívia: *O. andinus* ocorre nas terras mais altas dos Departamentos de La Paz, Oruro e Potosí (Figura 3.1a); *O. chacoensis* ocupa as terras baixas de campo e cerrado (*grasslands and thornscrub habitats*) nos departamentos de Chuquisaca, Santa Cruz e Tarija em elevações de até 640 m (Figura 3.1a); *O.*

destructor habita a região das Yungas dos Departamentos de Chuquisaca, Cochabamba, La Paz, Oruro, Potosí, Santa Cruz e Tarija (Figura 3.1b); *O. gr. flavescens* está em simpatria com *O. destructor*, porém numa faixa de distribuição menor, que vai dos Departamentos de Chuquisaca, Cochabamba, La Paz, Santa Cruz e Tarija (Figura 3.1c); e *O. microtis* ocupa as terras baixas dos departamentos de Beni, Chuquisaca, Cochabamba, La Paz, Pando, Santa Cruz e Tarija, a elevações de até 1800 m (Figura 3.1d).

Figura 3.1. Distribuição das espécies de *Oligoryzomys* na Bolívia, sugerida por Anderson (1997). A) distribuição de *O. andinus* (representada pela letra A) e *O. chacoensis* (representada pela letra B); B) distribuição de *O. destructor*; C) distribuição de *O. gr. flavescens*; e D) distribuição de *O. microtis*.

Em relação às informações cariotípicas a maioria dos dados disponíveis para as espécies citadas para a Bolívia são provenientes de outras localidades. Por exemplo, o cariótipo de *O. andinus* conhecido, $2n=60$ e $NFa=70$, veio proveniente de espécimes coletados em Ancash, no Peru (Gardner e Patton, 1976). O cariótipo de *O. chacoensis* descrito com $2n=58$ e $NFa=74$ vieram de Jujuy e Tucuman, na Argentina (Espinosa e Reig, 1991). Espécimes cariotipados de *O. microtis* com $2n=64$ e $NFa=66$ foram relatados provenientes: de Loreto, no Peru, porém, denominado como *O. longicaudatus* variante 2 (Gardner e Patton, 1976); de Ucayali e Loreto, no Peru (Aniskin e Volobouev, 1999); da Amazônia, Brasil (Patton *et al.*, 2000); e de Puyo e Baños, no Equador (Haynie *et al.*, 2006). Haynie *et al.* (2006) relacionaram a forma com $2n=68$ e $NFa=70$ à *O. destructor* encontrada também em Puyo e Baños, no Equador.

Apenas o trabalho de Aniskin e Volobouev (1999) tratou diretamente com espécimes coletados em solo boliviano. Indivíduos de *O. flavescens*, provenientes de Tarija apresentaram $2n=64$ ou 66 e $NFa=66$ ou 68 (Aniskin e Volobouev; 1999). Essa mesma variação cromossômica foi relatada para espécimes provenientes de Santa Catarina e Rio Grande do Sul, Brasil (Andrades-Miranda *et al.*, 2001); São Paulo, Brasil (Weksler e Bonvicino, 2005); Buenos Aires, Córdoba e Jujuy, Argentina (Espinosa e Reig, 1991); e Uruguai (Brum-Zorrila *et al.*, 1988). Adicionalmente, outras formas cariotípicas relacionadas à *O. flavescens* foram descritas: $2n=66$ e $NFa=70$ da Argentina e Uruguai (Brum-Zorrila *et al.*, 1988); $2n=64$ e $NFa=68$ de Minas Gerais, Brasil (Weksler e Bonvicino, 1998); e $2n=68$ e $NFa=70$ de Tucuman, Argentina (Espinosa e Reig, 1991).

Está claro que, embora os roedores do gênero *Oligoryzomys* estejam amplamente distribuídos na Bolívia, eles ainda são pouco conhecidos

taxonomicamente e citogeneticamente. Não há consenso de quantas espécies devam ser reconhecidas. Além disso, as chaves disponíveis para a identificação das espécies são incompletas e as classificações foram propostas de forma altamente artificiais.

Os objetivos deste capítulo foram rever a delimitação das espécies, compreender os padrões da variação cariotípica dentro do gênero e propor uma taxonomia mais estável para o grupo. Para atingir tais objetivos foram avaliados os limites específicos baseando-se em informações citogenéticas e inferências filogenéticas para mais de 100 indivíduos, coletados em 39 localidades de 8 dos 9 departamentos bolivianos.

Com base nesses dados foi possível: (i) caracterizar as espécies de *Oligoryzomys* que ocorrem na Bolívia integrando sistemática molecular, citogenética, biogeografia e taxonomia; (ii) testar as hipóteses a priori de Olds e Anderson (1987), Dickerman e Yates (1995) e Anderson (1997) das espécies de *Oligoryzomys* propostas para a Bolívia e (iii) testar se os clados sugeridos pelas hipóteses filogenéticas apoiam as formas cariotípicas encontradas.

Tabela 3.1. Compilação dos dados cariotípicos (número diplóide= 2n e número fundamental autossômico= NFa) do gênero *Oligoryzomys*.

Táxon	2n	NFa	Localidade	Referência
<i>O. andinus</i>	60	70	Peru: Ancash	Gardner e Patton, 1976
<i>O. andinus</i>	60	71-72	Bolívia: Cochabamba, Chuquisaca, Santa Cruz	Presente trabalho
<i>O. aff. andinus</i>	58	70	Bolívia: Tarija	Presente trabalho
<i>O. chacoensis</i> (<i>O. cf. longicaudatus</i>)	58	74	Argentina: Jujuy e Tucuman	Espinosa e Reig, 1991
<i>O. chacoensis</i>	58	72	Bolívia: Santa Cruz Brasil: Mato Grosso do Sul	Presente trabalho
<i>O. flavescens</i>	64	68	Brasil: Minas Gerais	Bonvicino e Weksler, 1998
<i>O. flavescens</i>	64	66	Brasil: São Paulo	Weksler e Bonvicino, 2005
			Brasil: Espírito Santo	Presente trabalho
<i>O. flavescens</i>	66	70	Argentina e Uruguai	Brum-Zorrila <i>et al.</i> , 1988 Vidal-Rioja <i>et al.</i> , 1988
<i>O. flavescens</i>	64	66	Argentina: Buenos Aires e Uruguai	Brum-Zorrila <i>et al.</i> , 1988
	66	68		
<i>O. flavescens</i>	64	66	Bolívia: Tarija	Aniskin e Volobouev, 1999
	66	68		
<i>O. flavescens</i>	64	66	Brasil: Rio Grande do Sul, Paraná e Santa Catarina	Andrades-Miranda <i>et al.</i> , 2001
	66	68		
<i>O. flavescens</i>	66	68	Argentina: Jujuy e Tucuman	Espinosa e Reig, 1991
	68	70		
<i>O. flavescens</i> (<i>O. fornesi</i>)	64	66	Paraguai: Caaguazú, Canendiyu, Misiones e Presidente Hayes	Myers e Carleton, 1981
	66	68		

<i>O. aff. flavescens</i>	66	72	Bolívia: Cochabamba, Chuquisaca, La Paz e Tarija	Presente trabalho
	66	68		
	68	68		
<i>O. fornesi</i>	62	64	Brasil: Goiás	Bonvicino e Weksler, 1998
<i>O. fornesi</i> (<i>O. eliurus</i>)	62	64	Brasil: Distrito Federal e Goiás	Svartman, 1989; Andrades-Miranda <i>et al.</i> , 2001
<i>O. fornesi</i>	62	64	Paraguai: Caaguazú e Canendiyu	Myers e Carleton, 1981
<i>O. fornesi</i> (<i>O. aff. eliurus</i>)	62	64	Brasil: Pernambuco	Furtado, 1981
<i>O. fornesi</i>	62	64	Brasil: Minas Gerais, São Paulo, Tocantins	Presente trabalho
<i>O. microtis</i> (<i>O. longicaudatus</i> var. 2)	64	66	Peru: Loreto	Gardner e Patton, 1976
<i>O. microtis</i>	64	66	Brasil: Amazônia	Patton <i>et al.</i> , 2000
<i>O. microtis</i>	64	66	Peru: Ucayali e Loreto	Aniskin e Volobouev, 1999
<i>O. microtis</i>	64	66	Equador: Puyo e Baños	Haynie <i>et al.</i> , 2006
<i>O. microtis</i> (ref. <i>O. destructor</i>)	68	70	Equador: Puyo e Baños	Haynie <i>et al.</i> , 2006
<i>O. microtis</i>	62	66	Bolívia: Pando, Beni, La Paz e Santa Cruz	Presente trabalho
	64	68, 74, 76		
	66	70		
	68	78		
<i>O. moojeni</i>	70	74	Brasil: Goiás	Lima <i>et al.</i> , 2003
(<i>Oligoryzomys</i> sp.)	70	76	Brasil: Tocantins	
<i>O. moojeni</i>	70	74	Brasil: Minas Gerais e Tocantins	Presente trabalho
<i>O. delicatus</i>	60	72	Venezuela: Miranda	Kiblicky, 1969
<i>O. longicaudatus</i> var. 3	62	74	Venezuela: Bolívar	Gardner e Patton, 1976
<i>O. fulvescens costaricensis</i>	54	68	Costa Rica: San Jose	Gardner e Patton, 1976
<i>O. fulvescens</i>	60	74	México: Veracruz e Catemaco	Haiduk <i>et al.</i> , 1979
<i>O. longicaudatus</i>	56	66	Chile: Valdivia	Gallardo e Patterson, 1985

<i>O. magellanicus</i>	54	66	Chile: Punta Arenas	Gallardo e Patterson, 1985
<i>O. nigripes</i>	62	78-82	Brasil: Bahia, Minas Gerais, Espírito Santo, Rio de Janeiro, São Paulo, Rio Grande do Sul, Mato Grosso do Sul	Paresque <i>et al.</i> , 2007
<i>O. nigripes</i>	62	80-81	Uruguai	Brum-Zorrilla <i>et al.</i> , 1988
<i>O. nigripes</i>	62	82	Paraguai	Myers e Carleton, 1981
<i>O. nigripes</i>	62	82	Argentina: Delta do Rio Paraná	Espinosa e Reig, 1991
<i>O. stramineus</i>	52	68	Brasil: Minas Gerais	Weksler e Bonvicino, 2005
			Brasil: Goiás	Andrades-Miranda <i>et al.</i> , 2001
			Brasil: Pernambuco	Presente trabalho e Maia <i>et al.</i> , 1983
<i>O. rupestris</i>	46	52	Brasil: Goiás	Weksler e Bonvicino, 2005
			Brasil: Bahia	Silva e Yonenaga-Yassuda, 1997
<i>O. rupestris</i>	44-45	52-53	Brasil: Minas Gerais	Silva e Yonenaga-Yassuda, 1997
<i>O. messorius</i>	56	58	Brasil: Roraima	Andrades-Miranda <i>et al.</i> , 2001
<i>Oligoryzomys</i> sp. E (<i>O. microtis</i>)	66	74	Brasil: Amapá	Andrades-Miranda <i>et al.</i> , 2001
<i>Oligoryzomys</i> sp. (<i>O. longicaudatus</i> var. 1)	68	74	Peru: Ayacucho	Gardner e Patton, 1976
<i>Oligoryzomys</i> sp. (<i>O. delticola</i>)	60	76	Uruguai: Rio Quegnay	Brum-Zorrilla <i>et al.</i> , 1988
<i>Oligoryzomys</i> sp. C	60	72	Suriname	Presente trabalho
<i>Oligoryzomys</i> sp. (<i>O. longicaudatus</i> var. 4)	60	76	Peru: Ayacucho	Gardner e Patton, 1976

MATERIAL E MÉTODOS

Amostra e Preparações Citogenéticas

Ao todo 116 representantes de *Oligoryzomys* foram cariotipados durante o trabalho de campo na Bolívia entre 1984 e 2001 (Figura 3.2 e Apêndice 2). Foram amostrados espécimes dos Departamentos de Beni, Chuquisaca, Cochabamba, La Paz, Pando, Oruro, Santa Cruz e Tarija, em altitudes que variaram de 160 a 4200 m. Foram adicionadas à matriz 89 sequências de *Oligoryzomys*, sendo que destes, 31 animais da Bolívia tiveram seus cariótipos analisados neste estudo.

À matriz de sequências foram incluídas: sequências de *O. nigripes* do Brasil e *O. longicaudatus* do Chile para testar a hipótese sugerida por Myers e Carleton (1981) que estas espécies não ocorrem na Bolívia; sequências de *O. fulvescens*, *O. moojeni*, *O. fornesi* e *O. messorius* para testar se estas espécies ocorrem na Bolívia e obter hipóteses das relações filogenéticas entre elas; sequências provenientes da localidade tipo de *O. destructor*, Huánuco, Peru.

Além disso, espécimes nomeados como *O. destructor* (AMNH 264137-NK22848 e AMNH 264139-NK22889) por Anderson (1997), (MSB 55319-NK11548) por Dickerman e Yates (1995) tiveram suas lâminas e sequências do gene mitocondrial citocromo *b* analisadas.

As árvores foram enraizadas com sequências homólogas, obtidas ao longo desse trabalho: *Cerradomys langguth*, *Neacomys subspinosus* e *Microryzomys minutus*.

Foram construídos gráficos de boxplot mostrando a amplitude e a média de altitude que as espécies de *Oligoryzomys* ocorrem na Bolívia. A descrição das ecorregiões segue Dinerstein *et al.* (1995).

As metáfases foram obtidas a partir de preparações de medula óssea de acordo com Anderson *et al.* (1987). As lâminas foram coradas com Giemsa e analisadas ao microscópio óptico. Para o estabelecimento do número diplóide (2n) e do número fundamental autossômico (NFa) foram contadas, no mínimo, 10 metáfases por indivíduo. As melhores metáfases foram fotografadas e montadas. A descrição dos cromossomos segue Gardner e Patton (1976).

Figura 3.2. Mapa das localidades de coleta dos representantes do gênero *Oligoryzomys* durante trabalho de campo na Bolívia.

Sequências do DNA Mitocondrial (mtDNA)

O DNA genômico foi extraído a partir de amostras de fígado usando *DNeasy tissue extraction Kit* (Qiagen®). A região do citocromo b do genoma mitocondrial foi amplificada através da técnica de PCR (*polymerase chain reaction*) usando os primers MVZ05 e MVZ16 (Smith e Patton, 1991). As condições de PCR foram as seguintes: 94°C por 5 min, 35 ciclos de 94°C por 30 s, 48°C por 45 s e 72°C por 1 min, com uma extensão final a 72 °C por 10 min e incubação a 4°C.

Os produtos de PCR foram visualizados em gel de agarose e purificados com ExoSAP-IT® Kit (Amersham Biosciences). Os *primers* MVZ04, MVZ05 e MVZ127 foram utilizados nas reações de sequenciamento para a obtenção da sequência completa do gene. Todo o material foi sequenciado pela empresa MacroGen (USA) e em seguida editadas no programa DNASTAR® Inc. e alinhadas no programa Bioedit.

Análises de Parcimônia foram conduzidas no PAUP*, versão 4.0b10 (Swofford 2002) com todos caracteres tratados como “*unorded*” e com o mesmo peso. *Gaps* terminais (devido a sequências mais curtas, não devido ao alinhamento) foram tratados como “*missing*”. Árvores geradas aleatoriamente (*not just addition sequence*) foram usadas como ponto de início com 1000 réplicas. O algoritmo “*The tree-bisection-reconnection*” (TBR) foi usado para “*branch-swapping*”.

Os resultados de máxima verossimilhança foram obtidos através do programa RaxML BlackBox (<http://phylobench.vital-it.ch/raxml-bb>). Todas árvores foram editadas no programa FigTree (versão 1.2).

RESULTADOS

No mínimo, 7 espécies de *Oligoryzomys* ocorrem na Bolívia:

- *O. microtis* foi registrada nas terras baixas denominadas Bosques Amazônicos do Pando até aos Bosques Amazônicos Subandinos e Savanas inundáveis dos Llanos de Moxo, ocorrendo nos Departamentos de Pando, Beni, La Paz e Santa Cruz;
- *O. chacoensis* ocorre nas terras baixas entre as Savanas Inundáveis do Pantanal e Cerrado Chiquitano, dos Departamentos de Tarija e Santa Cruz;
- *O. aff. fulvescens* ocorre em Santa Cruz e nas terras altas das Yungas do Departamento de La Paz;
- *O. andinus* ($2n=60$) ocorre nas terras altas dos Bosques Secos Interandinos dos Departamentos de Chuquisaca, Cochabamba e Santa Cruz;
- *O. aff. andinus* ($2n=58$) parece restrita aos Bosques Tucumano Boliviano do Departamento de Tarija;
- *O. aff. flavescens* ocorre nos Bosques Secos Interandinos, Bosques Tucumano Boliviano e Puna Semi-úmida dos Departamentos de Beni, Chuquisaca, Cochabamba, La Paz e Tarija; e
- *Oligoryzomys* sp. A ocorre nas terras altas de Cochabamba e La Paz (Figuras 3.3 e 3.4).

A

B

Figura 3.3. Representação altitudinal das espécies de *Oligoryzomys* reconhecidas para a Bolívia. No eixo Y a variação da altitude em metros, acima do nível do mar; e no eixo X os nomes das espécies. A) Gráfico de boxplot, o retângulo corresponde os 50% dos valores centrais da distribuição. B) Gráfico em barra de erros, onde o ponto central representa a média dos valores de altitude e o “T” o intervalo de confiança (IC).

A seguir são descritas 14 formas cariotípicas relacionadas a 5 espécies cariotipadas de *Oligoryzomys* da Bolívia. A figura 3.4 mostra os pontos de coleta das espécies de *Oligoryzomys* e seus respectivos números diplóides.

Oligoryzomys chacoensis (2n=58 e NFa=74)

Pares 1 ao 9 são meta ou submetacêntricos com variação gradativa de tamanho, o par 10 é um acrocêntrico grande e os pares 11 ao 28 são acrocêntricos com variação gradativa de tamanho. O cromossomo X é um submetacêntrico grande e o Y é um metacêntrico pequeno (Figura 3.5). Este cariótipo é semelhante ao descrito por Myers e Carleton (1981) para representantes de *O. chacoensis* provenientes do Paraguai.

Figura 3.5. Cariótipo de um espécime macho de *O. chacoensis* (NK 21019) com 2n=58 e NFa=74; cromossomo X submetacêntrico grande e Y metacêntrico pequeno.

Oligoryzomys andinus (2n=60 e NFa=70, 71 e 72)

Pares 1 e 2 são metacêntricos grandes, pares 3 e 4 são submetacêntricos médios, o par 5 pode ser homomórfico metacêntrico (NFa=72), homomórfico acrocêntrico (NFa=70) ou heteromórfico, constituído por um cromossomo metacêntrico e um cromossomo acrocêntrico (NFa=71), pares 6 a 8 são meta submetacêntricos pequenos. Par 9 é um acrocêntrico grande e os pares 10 a 29 são acrocêntricos com variação gradativa de tamanho.

O cromossomo X é um submetacêntrico grande e o Y um submetacêntrico médio (Figura 3.6 a).

O. aff. andinus (2n=58 e NFa=72)

Pares 1 e 2 são metacêntricos grandes, pares 3, 4 e 5 são submetacêntricos médios, pares 6 a 8 são meta submetacêntricos pequenos. Par 9 é um acrocêntrico grande e os pares 10 a 28 são acrocêntricos com variação gradativa de tamanho (Figura 3.6 b).

A forma com 2n=58 tem a mesma forma dos pares autossômicos descritos para *O. andinus*, no entanto, não tem a variação no par 5, que se mostrou sempre na forma metacêntrica e tem um par acrocêntrico pequeno a menos do que a forma com 2n=60.

O cromossomo X é um submetacêntrico grande e o Y um submetacêntrico médio (Figura 3.6 b).

Aceitou-se a definição de Gardner e Patton (1976) para *O. andinus* com um cariótipo composto de 2n=60 e NFa=70. A distribuição desta espécie está associada às terras altas dos Andes e tem uma variação no NFa=70, 71 e 72. A forma com 2n=58, dos animais de Tarija, foi considerada como *O. aff. andinus*.

Figura 3.6. A) Cariótipo de uma fêmea de *O. andinus* (NK 23957) com $2n=60$ e $NFa=71$, par 5 heteromórfico, formado por um cromossomo metacêntrico e um acrocêntrico. B) Cariótipo de uma macho de *O. aff. andinus* (NK 21832) com $2n=58$ e $NFa=72$, par 5 constituído por 2 cromossomos metacêntricos; cromossomo X submetacêntrico grande e Y metacêntrico médio.

Oligoryzomys microtis (2n=62-64-66 e 68 e NFa=66-68-70-74-76 e 78)

Esta espécie apresentou uma ampla variação cromossômica, são descritas a seguir 7 formas cariotípicas para esta espécie na Bolívia:

Variante 1: 2n=62 e NFa=66

Par 1 é um submetacêntrico grande, pares 2 a 28 são acrocêntricos com variação gradativa de tamanho e os pares 29 e 30 são metacêntricos pequenos. O cromossomo X é um subtelocêntrico médio e o Y é um subtelocêntrico pequeno (Figura 3.7 a); este cariótipo está sendo descrito pela primeira vez na literatura.

Variante 2: 2n=64 e NFa=68

Par 1 é um metacêntrico grande, pares 2 a 29 são acrocêntricos com variação gradual de tamanho, pares 30 e 31 são metacêntricos pequenos. O cromossomo X é um submetacêntrico grande e o Y é um submetacêntrico pequeno (Figura 3.7 b); este cariótipo está sendo descrito pela primeira vez na literatura.

Variante 3: 2n=64 e NFa=74

Par 1 é um submetacêntrico grande, pares 2 a 26 são acrocêntricos com variação gradual de tamanho, par 27 é um submetacêntrico médio e os pares 28 a 31 são meta submetacêntricos pequenos. O cromossomo X é um submetacêntrico grande e o Y um submetacêntrico pequeno (Figura 3.7 c); este cariótipo está sendo descrito pela primeira vez na literatura.

Variante 4: 2n=64 e NFa=74

Par 1 é um submetacêntrico grande, pares 2 a 26 são acrocêntricos com variação gradual de tamanho e os pares 27 ao 31 são meta ou submetacêntricos pequenos. O cromossomo X é um submetacêntrico médio e o Y um subtelocêntrico pequeno (Figura 3.7 d); este cariótipo está sendo descrito pela primeira vez na literatura.

Variante 5: 2n=64 e NFa=76

Par 1 é um submetacêntrico grande, pares 2 a 25 são acrocêntrico com variação gradual no tamanho, pares 26 e 27 são submetacêntricos médios e os pares 28 a 31 são meta ou submetacêntricos pequenos. O cromossomo X é um submetacêntrico grande e o Y um acrocêntrico grande (Figura 3. 7 e); este cariótipo está sendo descrito pela primeira vez na literatura.

Variante 6: 2n=66 e NFa=70

Par 1 é um submetacêntrico médio, pares 2 e 3 são submetacêntricos pequenos. Pares 4 a 32 são acrocêntricos com variação gradativa de tamanho. O cromossomo X é um submetacêntrico médio e o Y um submetacêntrico pequeno (Figura 3.7 f).

Variante 7: 2n=68 e NFa=78

Par 1 é um submetacêntrico grande, par 2 é um metacêntrico grande, par 3 é um submetacêntrico grande. Pares 4 a 30 são acrocêntrico com variação gradativa de tamanho e os pares 31 a 33 são meta ou submetacêntrico pequenos. O cromossomo X é um submetacêntrico grande e o cromossomo Y é um submetacêntrico pequeno (Figura 3.8 a); este cariótipo está sendo descrito pela primeira vez na literatura.

provenientes da Bolívia. A) fêmea com $2n=62$ e $NFa=66$; B) macho com $2n=64$ e $NFa=68$; C) macho com $2n=64$ e $NFa=74$; D) macho com $2n=64$ e $NFa=74$; E) macho com $2n=64$ e $NFa=76$ e F) macho com $2n=66$ e $NFa=70$.

Oligoryzomys aff. flavescens (2n=66 e 68 e NFa=68 e 2n=66 e NFa=72)

Foram detectadas três formas cariotípicas similares para *O. aff. flavescens*, as variações são descritas abaixo:

Variante 1: 2n=66 e NFa=72

28 pares acrocêntricos com variação gradativa de tamanho e 4 pares submetacêntricos pequenos. O cromossomo X é um submetacêntrico ou subteloentrico grande, com variação no tamanho do braço curto e o Y é um submetacêntrico médio (Figura 3.8 b); este cariótipo está sendo descrito pela primeira vez na literatura.

Variante 2: 2n=66 e NFa=68

Par 1 é um acrocêntrico grande, pares 2 a 30 são acrocêntricos de tamanho médio a pequeno e os pares 31 e 32 são metacêntricos pequenos. O cromossomo X é um submetacêntrico grande e o Y um submetacêntrico médio (Figura 3.8 c).

Variante 3: 2n=68 e NFa=68

Par 1 é um acrocêntrico grande, pares 2 a 27 são acrocêntricos de tamanho médio a pequeno, par 28 é um metacêntrico pequeno e os pares 29 a 33 são acrocêntricos pequenos. A forma dos cromossomos sexuais são iguais as formas variantes 1 e 2 (Figura 3.8 d).

Figura 3.8. A) Forma variante 7 do cariótipo de *O. microtis*, macho com $2n=68$ e $NFa=78$. B) Fêmea de *O. aff. flavescens* com $2n=66$ e $NFa=72$. C) Fêmea de *O. aff. flavescens* com $2n=66$ e $NFa=68$. D) Macho de *O. aff. flavescens* com $2n=68$ e $NFa=68$.

Análises filogenéticas

Nas análises de parcimônia 51 caracteres foram variáveis mas não informativos e 232 caracteres foram informativos. A análise de parcimônia gerou 1 árvore com 938 passos, índice de consistência (CI) =0.429, índice de retenção (RI) =0.871, e índice de homoplasia (HI) =0.571.

As relações entre às espécies de *Oligoryzomys* foram bem apoiadas tanto nas análises de parcimônia (Figura 3.9), quanto nas análises de máxima verossimilhança (Figura 3.10). Nas duas árvores a monofilia de *Oligoryzomys* foi apoiada por um valor de 100% de *bootstrap*. As relações entre os clados também se mostraram, em sua maioria, estáveis e apoiadas por valores elevados, entre 94 e 100, sendo que o valor mais baixo de *bootstrap* foi observado na árvore de parcimônia na relação intraespecífica de um dos espécime de *O. chacoensis*.

O. fornesi se mostrou como o clado mais basal que se relaciona com todas as outras espécies de *Oligoryzomys*. Dentro de *O. microtis* foi observada apenas a segregação dos espécimes do Equador. Não foram observadas segregações entre os espécimes do Brasil e da Bolívia, ou entre as formas cariotípicas distintas detectadas para a Bolívia. Os espécimes provenientes do Peru, localidade tipo de *O. destructor* se classificaram com os demais indivíduos de *O. microtis*.

A diferença par a par dos indivíduos classificados como *O. microtis* foi muito pequena, mesmo entre as formas cariotípicas diferentes. Os maiores valores encontrados foram em relação aos indivíduos do Equador para os espécimes das outras localidades (Tabela 3.2).

Tabela 3.2. Distância par a par entre os espécimes de *O. microtis* provenientes do Brasil (verde), Bolívia (azul), Equador (rosa) e Peru (amarelo).

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	
Brasil	Brasil	Brasil	Brasil	Bolivia	Bolivia	Bolivia	Bolivia	Bolivia	Bolivia	Bolivia	Bolivia	Bolivia	Bolivia	Bolivia	Bolivia	Bolivia	Bolivia	Bolivia	Bolivia	Bolivia	Equador	Equador	Eq
pa3115P	jm68JPom	mz190401J	mz190403J	nk102045	nk102098	nk102143	nk12397	nk12968	nk13145	nk13324	nk13425	nk13604	nk13605	nk13914	nk13915	nk13962	nk13973	nk14003	nk14049	nk14334	tk104090	tk104192	tk104193
	0,0038	0,0050	0,0087	0,0088	0,0075	0,0100	0,0087	0,0087	0,0087	0,0125	0,0137	0,0212	0,0237	0,0237	0,0275	0,0225	0,0225	0,0200	0,0225	0,0038	0,0225	0,0425	0,0425
	-	0,0038	0,0075	0,0076	0,0062	0,0087	0,0075	0,0075	0,0075	0,0112	0,0125	0,0200	0,0250	0,0225	0,0287	0,0212	0,0212	0,0187	0,0212	0,0025	0,0212	0,0412	0,0412
		-	0,0087	0,0088	0,0075	0,0100	0,0087	0,0087	0,0087	0,0125	0,0137	0,0212	0,0262	0,0237	0,0300	0,0225	0,0225	0,0200	0,0225	0,0038	0,0225	0,0425	0,0425
			-	0,0126	0,0112	0,0137	0,0125	0,0125	0,0125	0,0162	0,0175	0,0250	0,0300	0,0275	0,0337	0,0262	0,0237	0,0237	0,0237	0,0075	0,0262	0,0437	0,0437
				-	0,0114	0,0139	0,0126	0,0126	0,0126	0,0164	0,0176	0,0252	0,0302	0,0277	0,0341	0,0265	0,0265	0,0239	0,0265	0,0076	0,0265	0,0429	0,0429
					-	0,0025	0,0013	0,0013	0,0013	0,0050	0,0062	0,0187	0,0237	0,0212	0,0275	0,0200	0,0200	0,0150	0,0200	0,0062	0,0200	0,0400	0,0400
						-	0,0013	0,0038	0,0038	0,0075	0,0087	0,0212	0,0262	0,0237	0,0300	0,0225	0,0225	0,0175	0,0225	0,0087	0,0225	0,0425	0,0425
							-	0,0025	0,0025	0,0062	0,0075	0,0200	0,0250	0,0225	0,0287	0,0212	0,0212	0,0162	0,0212	0,0075	0,0212	0,0412	0,0412
								-	0,0025	0,0062	0,0075	0,0200	0,0250	0,0225	0,0287	0,0212	0,0212	0,0162	0,0212	0,0075	0,0212	0,0387	0,0387
									-	0,0038	0,0212	0,0262	0,0237	0,0300	0,0200	0,0225	0,0175	0,0225	0,0112	0,0225	0,0400	0,0400	0,0400
										-	0,0225	0,0275	0,0250	0,0312	0,0212	0,0237	0,0187	0,0237	0,0125	0,0237	0,0437	0,0437	0,0437
											-	0,0125	0,0025	0,0162	0,0112	0,0087	0,0062	0,0087	0,0200	0,0062	0,0437	0,0437	0,0437
												-	0,0150	0,0062	0,0137	0,0137	0,0187	0,0137	0,0250	0,0112	0,0512	0,0512	0,0512
													-	0,0187	0,0137	0,0112	0,0087	0,0112	0,0225	0,0087	0,0462	0,0462	0,0462
														-	0,0175	0,0175	0,0225	0,0175	0,0287	0,0150	0,0524	0,0524	0,0524
															-	0,0075	0,0175	0,0075	0,0212	0,0100	0,0449	0,0449	0,0449
																-	0,0150	0,0000	0,0212	0,0075	0,0449	0,0449	0,0449
																	-	0,0150	0,0187	0,0125	0,0449	0,0449	0,0449
																		-	0,0212	0,0075	0,0412	0,0412	0,0412
																			-	0,0212	0,0412	0,0412	0,0412
																				-	0,0474	0,0474	0,0474
																					-	--	--

Nos resultados obtidos pelo método de parcimônia *O. fulvescens* se mostrou como grupo irmão de *O. microtis*, enquanto que pelo método da máxima verossimilhança *O. fulvescens* ocupou, depois de *O. fornesi*, uma posição que se relaciona com as outras espécies de *Oligoryzomys*. Nos dois casos, dois espécimes da Bolívia, um de La Paz e um de Santa Cruz, constituíram clado com representantes de *O. fulvescens* provenientes do México e são denominados nesse trabalho como *O. aff. fulvescens*.

Os representantes de *O. aff. flavescens* revelaram-se grupo irmão de *O. longicaudatus*. Claramente, *O. longicaudatus* parece não ocorrer na Bolívia, pois, nos dois resultados filogenéticos nenhum dos indivíduos da amostra da Bolívia foi agrupado com o clado de *O. longicaudatus*.

As relações intra-específicas em *O. flavescens* mostraram a segregação de dois grupos: um constituído por espécimes da Argentina e Brasil, o qual foi denominado *O. flavescens* e outro por espécimes da Bolívia chamado *O. aff. flavescens*. Dentro desses dois grupos não foi observada nenhuma estrutura clara de diferenciação das populações. Por exemplo, os animais provenientes da Serra do Caparaó, que Carleton e Musser (1989) chamaram de *Oligoryzomys* sp. A, não mostraram sinais de segregação dos demais espécimes do Brasil, sendo assim, são definidas aqui como *O. flavescens*.

Figura 3.9. Árvore de parcimônia a partir de 801 pb do gene mitocondrial citocromo b, mostrando a hipótese das relações filogenéticas entre as espécies do gênero *Oligoryzomys*. As cores estão simbolizando a distinção dos clados. Na frente do nome das espécies da Bolívia estão o número diplóide (2n), o número de braços autossômicos (NFa) e a localidade. A árvore foi enraizada com *Cerradomys langguth*, *Neacomys subspinosus* e *Microryzomys minutus*. O único valor de *bootstrap* menor que 94 foi para a relação interespecífica de *O. chacoensis*

Figura 3.10. Árvore de máxima verossimilhança a partir de 801 pb do gene mitocondrial citocromo b, mostrando a hipótese das relações filogenéticas entre as espécies do gênero *Oligoryzomys*. As cores estão simbolizando a distinção dos clados. Na frente do nome das espécies da Bolívia estão o número diplóide (2n), o número de braços autossômicos (NFa) e a localidade. A árvore foi enraizada com *Neacomys subspinosus* e *Microryzomys minutus*.

As relações entre *O. chacoensis*, *O. nigripes*, *O. andinus*, *O. moojeni*, *O. messorius* e *Oligoryzomys* sp. A mostraram agrupamentos diferentes para os dois tipos de análises (Figura 3.9 e 3.10). No entanto, será dada mais ênfase na topologia obtida pela máxima verossimilhança que mostrou um padrão parecido com os resultados obtidos no capítulo 4, onde foi usado a sequência completa do Cyt-b e um maior número de amostras.

Nos dois casos, tanto pela parcimônia quanto pela verossimilhança, os resultados sugerem que *O. moojeni*, *O. nigripes* e *O. messorius* não ocorrem na Bolívia.

Na filogenia obtida pela parcimônia, *O. moojeni* ocupou uma posição de grupo irmão de *O. chacoensis*, *O. nigripes*, *O. messorius* e *Oligoryzomys* sp. A, enquanto que pela máxima verossimilhança se mostrou um clado irmão de *Oligoryzomys* sp. A.

Pelos resultados de parcimônia *O. messorius* foi revelado como o clado irmão de *Oligoryzomys* sp. A e *O. chacoensis* se mostrou grupo irmão de *O. nigripes*.

Nas duas hipóteses filogenéticas os espécimes de Tarija que apresentaram $2n=58$ se revelaram, junto com um espécime da Argentina, um clado distinto dos animais com $2n=60$. Baseando-se na segregação dos clados a forma com $2n=60$ foi associada à *O. andinus*, enquanto a forma com $2n=58$ à *O. aff. andinus*. As filogenias obtidas somada a distinção cariotípica sugerem então que estes dois citótipos possam ser táxons distintos.

Os espécimes nomeadas como *O. destructor* (Anderson, 1997; Dickerman e Yates, 1995) mostraram $2n=60$ e $NFa=71-72$, o mesmo complemento cromossômico e clado que *O. andinus*, respectivamente. A definição e distribuição de *O. destructor* precisa ser esclarecida nos níveis morfológico,

citogenético e molecular. Não foram encontradas evidências nem citogenética, nem molecular que *O. destructor* ocorra na Bolívia.

DISCUSSÃO

Quais espécies são reconhecidas para a Bolívia e onde elas estão?

Os resultados obtidos neste trabalho não corroboram as interpretações de Olds e Anderson (1987) que sugeriram apenas três espécies para a Bolívia: *O. longicaudatus*, *O. microtis* e *O. chacoensis*. Sem dúvidas, Olds e Anderson (1987) subestimaram a diversidade do gênero na Bolívia e parece claro que *O. longicaudatus* esteja restrita às terras Argentinas e Chilenas.

Por outro lado, os dados encontrados aqui quanto ao número de espécies, seus nomes e suas distribuições estão mais próximos e de acordo com Anderson (1997). As análises citogenéticas e filogenéticas sugerem que *O. andinus*, *O. chacoensis*, *O. aff. flavescens* e *O. microtis* podem ser confirmadas para a Bolívia, corroborando os registros de Anderson (1997); *O. longicaudatus* não ocorre na Bolívia; e outras três espécies podem ser adicionadas à lista: *O. aff. andinus*, *O. fulvescens* e *Oligoryzomys* sp. A.

Dentre os sete clados detectados para a Bolívia, cinco foram cariotipados (*O. andinus*, *O. aff. andinus*, *O. chacoensis*, *O. aff. flavescens* e *O. microtis*) e puderam ser reconhecidos a partir de seus cariótipos espécie-específicos. Estes resultados corroboram estudos anteriores de que os representantes de *Oligoryzomys* possuem cariótipos espécie-específicos e que esta pode ser uma ferramenta para a identificação das espécies do gênero (Gardner e Patton, 1976; Myers e Carleton, 1981; Brum-Zorrilla *et al.*, 1988; Espinosa e Reig, 1991; Silva e Yonenaga-Yassuda, 1997; Bonvicino e Weksler, 1998; Andrades-Miranda *et al.*, 2001; Lima *et al.*, 2003; Presente trabalho).

Ao todo, foram identificadas 42 formas cariotípicas distintas para o gênero ao longo da distribuição de 18 espécies com cariótipos conhecidos, destas, 12 formas estão sendo descritas aqui pela primeira vez.

Representantes de *O. chacoensis* foram coletados nas terras baixas que estão sob domínio das Savanas Inundáveis do Pantanal, entre 200 e 800 m.

Representantes de *O. microtis* ocorrem nos Bosques Amazônicos em altitudes entre 150 e 840 m. Nos Bosques Amazônicos de Beni e Santa Cruz, *O. microtis* foi coletado em simpatria com *O. aff. flavescens*, estes pontos foram as localidades com as menores altitudes de coleta de *O. aff. flavescens*.

Oligoryzomys sp. A e *O. fulvescens* foram as espécies menos abundantes na Bolívia e ocorrem em simpatria com *O. aff. flavescens* e *O. andinus*. Representantes de *Oligoryzomys* sp. A ocorrem entre 1570 e 2650 m nos Departamentos de La Paz e Cochabamba, enquanto que *O. fulvescens* ocorre entre 810 e 2450 m nos Departamento de Santa Cruz e La Paz, respectivamente.

No Departamento de Tarija três clados podem ser encontrados em simpatria: *O. andinus*, *O. aff. andinus* e *O. aff. flavescens*. Ao longo dos Andes estes três grupos estão parcialmente segregados sendo possível definir a presença de *O. aff. andinus* apenas nas terras mais baixas do departamento de Tarija, *O. andinus* nos Bosques Secos Interandinos e de *O. aff. flavescens* nas regiões de Yungas, apesar de alguns indivíduos de *O. andinus* e *O. aff. flavescens* terem sido coletados em simpatria. No entanto, analisando a distribuição altitudinal destas duas espécies percebe-se que de fato *O. andinus* foi encontrado em uma distribuição altitudinal menor, entre 810 e 3250 m e, em média, ocorre a aproximadamente 1500 m, enquanto que *O. aff. flavescens*

apresentou uma distribuição altitudinal maior variando entre 240 a 4170 m e, em média, ocorre a aproximadamente 3000 m acima do nível do mar.

Considerando as vegetações que dominam o departamento de Tarija observa-se Chaco Serrano, Bosques Secos Interandinos e Bosque Tucumano Boliviano, uma diversidade grande de habitat que pode justificar a presença das três espécies em simpatria.

Como foi relatado os grupos estabelecidos pelas análises citogenéticas formaram clados apoiados pelas análises filogenéticas. Segundo a filogenia obtida aqui, os clados formados sugerem um agrupamento de espécies diferente dos propostos por Carleton e Musser (1989) e Weksler e Bonvicino (2005) para *Oligoryzomys*: *O. chacoensis* deve ser retirado do grupo “*Andinus*” e adicionado ao grupo “*Nigripes*”; *O. longicaudatus* deve sair do grupo *Nigripes* e ser incluído no grupo “*Flavescens*”; *O. fornesi* deve ser retirado do grupo “*Flavescens*” e incluído no grupo “*Microtis*”. A tabela (3.3) abaixo resume a nova representação da constituição dos grupos de espécies para *Oligoryzomys*.

Tabela 3.3. Nova proposta dos grupos de espécies obtida neste trabalho, em comparação aos grupos propostos por Carleton e Musser (1989) e Weksler e Bonvicino (2005) para o gênero *Oligoryzomys*. Os asteriscos significam sinonímias de *O. nigripes*. Símbolo de jogo da velha: grupos analisados no capítulo 4 que traz um panorama geral do gênero ao longo da sua distribuição.

Grupos de espécies do gênero <i>Oligoryzomys</i>	Carleton e Musser, 1989	Weksler e Bonvicino, 2005	Paresque, presente trabalho
<i>Fulvescens</i>	<i>O. fulvescens</i> <i>O. arenalis</i> <i>O. vegetus</i>	<i>O. fulvescens</i> <i>O. f. costaricensis</i> <i>O. f. fulvescens</i>	<i>O. fulvescens</i> <i>O. vegetus</i>
<i>Microtis</i>	<i>O. microtis</i>		<i>O. microtis</i> <i>O. aff. microtis</i> <i>O. fornesi</i>
<i>Andinus</i>	<i>O. andinus</i> <i>O. chacoensis</i>	<i>O. andinus</i> <i>O. chacoensis</i>	<i>O. andinus</i> <i>O. aff. andinus</i>
<i>Flavescens</i>	<i>O. flavescens</i>	<i>O. flavescens</i>	<i>O. flavescens</i>
Sugere usar o nome	<i>Oligoryzomys</i> sp. A	<i>O. microtis</i> <i>O. fornesi</i>	<i>O. aff. flavescens</i>
<i>Longicaudatus</i>	<i>Oligoryzomys</i> sp. B	<i>O. moojeni</i>	<i>O. longicaudatus</i>
<i>Nigripes</i>	<i>O. nigripes</i> <i>O. eliurus</i> * <i>O. destructor</i> <i>O. longicaudatus</i> <i>O. delticola</i> *	<i>O. nigripes</i> <i>O. stramineus</i> <i>O. destructor</i> <i>O. longicaudatus philippii</i> <i>O. longicaudatus magellanicus</i>	<i>O. nigripes</i> <i>O. stramineus</i> <i>O. chacoensis</i>
<i>Rupestis</i>		<i>O. rupestris</i>	#
Sem grupo definido		<i>O. messorius</i> <i>Oligoryzomys</i> sp.	#

Quais são as dúvidas e os dados conflitantes?

As maiores questões em aberto são em relação aos espécimes classificados como *O. aff. andinus*, a validade do nome *O. destructor*, a segregação dos clados entre *O. flavescens* e *O. aff. flavescens* e a distribuição quase “misteriosa” de *O. fulvescens*.

Em relação à *O. aff. andinus* os resultados filogenéticos mostraram que os animais com $2n=58$ de Tarija são, de fato, um táxon distinto de *O. andinus* com $2n=60$. Em Tarija foram encontrados os dois complementos, cujos cromossomos autossômicos e sexuais mostraram as formas muito semelhantes. Por outro lado, se estas formas fossem apenas variações cariotípicas presentes no grupo, seria de se esperar, a presença de formas híbridas com $2n=59$, por exemplo, o que não foi observado entre mais de 40 indivíduos analisados.

Neste caso a diferença cromossômica é devido a um evento de fusão ou fissão cêntrica que pode ter reduzido (fusão) ou aumentado (fissão) o número diplóide. Qualquer que tenha sido o rearranjo (fusão ou fissão) a diferença causada pode estar sendo uma barreira para a troca de genes entre os dois clados, levando a formação de dois grupos monofiléticos distintos. São comuns as citações de que os portadores de rearranjos sofrem consequências com a formação de gametas geneticamente desbalanceados, caso haja permuta dentro da alça de inversão, e a consequência desse fenômeno é a inviabilidade ou a redução da fertilidade entre os indivíduos portadores do rearranjo (Griffiths, 1998).

Em um contexto parecido a este, Baker e Bickham (1986) descreveram um modelo de fusão cêntrica monobraquial responsável pelo isolamento reprodutivo, que leva a esterilidade. Os autores relataram a ocorrência de fusões cêntricas resultando em homologias monobraquiais (na qual um braço é

homólogo mas o outro não) dos cromossomos resultantes com dois braços. Neste caso a hibridação por contato secundário resultou na formação de multivalentes complexos, responsáveis pelos problemas na segregação e produção de gametas não balanceados.

Os espécimes que Anderson (1997) e Dickerman e Yates (1995) chamaram de *O. destructor* tiveram suas lâminas e sequências analisadas. Os resultados mostraram que estes indivíduos possuem $2n=60$ e $NFa=72$, o mesmo complemento cromossômico que *O. andinus*, ao mesmo tempo, as análises filogenéticas corroboraram os dados cariotípicos, mostrando que estes indivíduos não formaram clados separados de *O. andinus*.

Os espécimes coletados na localidade tipo de *O. destructor* classificaram-se nas análises filogenéticas com *O. microtis* de outras localidades do Peru e da Bolívia.

Capllonch *et al.* (1997) e Díaz (2000) registraram a presença de *O. destructor* na Argentina, no entanto, os autores sugeriram que estes indivíduos também pudessem pertencer a *O. longicaudatus*. Nestes trabalhos os autores não caracterizaram os espécimes que estão denominando como *O. destructor*, não fazem qualquer comparação à série tipo e nem deixam claro os limites de separação entre *O. destructor* e *O. longicaudatus*.

Mais tarde, Weksler e Bonvicino (2005) associaram a forma variante 4, com $2n=60$ e $NFa=76$, descrito por Gardner e Patton (1976) à espécie *O. destructor*. Não foram encontradas evidências desse citótipo na Bolívia. Os indivíduos com $2n=60$ da amostra boliviana não apresentaram o mesmo NFa da forma variante 4 do Peru e foram denominados como *O. andinus*. Se de fato a associação proposta Weksler e Bonvicino (2005) está correta ou não precisa ser analisada. Um ponto a favor desta associação é a proximidade de coleta do

espécime cariotipado com a localidade tipo de *O. destructor*, mas certamente esse fato não é suficiente para corroborar qualquer associação.

Haynie *et al.* (2006) estudaram espécimes do Equador com cariótipo constituído por $2n=68$ e $NFa=70$, os autores associaram, sem justificativas, este citótipo à *O. destructor*.

Rivera *et al.* (2007) estudaram as relações filogenéticas das espécies de *Oligoryzomys* da Argentina e seguiram as denominações de Capllonch *et al.* (1997) e Díaz (2000), sendo que os resultados das suas análises sugeriram a classificação de um clado grupo irmão de *O. flavescens* e *O. longicaudatus*, o qual denominaram como *O. destructor*. Mas, como nos trabalhos anteriores os autores não fizeram uma discussão onde deixassem claros os critérios utilizados para o uso deste nome. Provavelmente esse “clado irmão” detectado por Rivera *et al.* (2007) trata-se da mesma segregação de *O. flavescens* e *O. aff. flavescens* descritas aqui.

É notável que o nome específico *O. destructor* vem sendo atribuído a espécimes do Peru, Bolívia e Argentina, no entanto, os critérios usados para a designação são duvidosos e o seu uso vem sendo aplicado de forma indevida e ubíqua. Se *O. destructor* realmente é uma espécie válida deve ter uma distribuição muito mais restrita do que sugerido por Olds e Anderson (1987), Anderson (1997), Capllonch *et al.* (1997), Carleton e Musser (1989), Díaz (2000), Musser e Carleton (2005) e Rivera *et al.* (2007), próxima a sua localidade tipo no Departamento de Huánuco (Peru), onde foi registrada entre 900 e 1000m de altitude. Os limites morfológicos e geográficos de *O. destructor* devem ser estabelecidos, embora as evidências reunidas neste trabalho levam a crer que *O. destructor* possa ser uma sinonímia de *O. andinus* ou de *O. microtis*.

Dentre a amostra deste trabalho estão incluídas sequências dos espécimes provenientes do Equador coletados por Haynie *et al.* (2006). Segundo os autores duas formas cariotípicas associadas à *Oligoryzomys* ocorrem no Equador: $2n=64$ e $NFa=66$ relacionado à *O. microtis*; e $2n=68$ e $NFa=70$ relacionado à *O. destructor* (Haynie *et al.*, 2006). Representantes de *O. microtis* coletados próximo a localidade tipo (Manacapará, Baixo Rio Solimões), na Amazônia (Brasil) apresentaram $2n=64$ e $NFa=66$ (Patton *et al.*, 2000). Aniskin e Volobouev (1999) descreveram o mesmo cariótipo para *O. microtis* do Peru. Apesar de não ter sido possível relacionar os mesmos indivíduos cariotipados com as sequências obtidas, os resultados das análises filogenéticas mostraram que os espécimes do Equador formaram um clado irmão de *O. microtis* e seus representantes foram identificados como *O. aff. microtis*.

Claramente, os indivíduos do Equador parecem ser diferentes dos indivíduos de *O. microtis* do Brasil, Peru e Bolívia. Os valores das diferenças par a par alcançaram aproximadamente 4% entre estes dois grupos, enquanto que as diferenças entre os animais do Brasil, Bolívia e Peru chegaram no máximo a 2%.

Neste caso, a distância geográfica pode ser o fator mais relevante para a diferenciação e segregação do clado do Equador.

Musser e Carleton (1993; 2005) propuseram a distribuição geográfica de *O. microtis* na Amazônia (Brasil) e terras baixas do Peru, Bolívia, Paraguai e Argentina. Aqui é proposta uma distribuição diferente para *O. microtis* englobando a Amazônia Brasileira (Patton *et al.*, 2000), Boliviana (Presente trabalho) e Peruana (Aniskin e Volobouev, 1999) e *O. aff. microtis* na Amazônia Equatoriana (Haynie *et al.*, 2006, Presente trabalho).

Em relação a *O. flavescens* foram encontrados 6 diferentes citótipos para a espécie ao longo da sua distribuição desde o leste do Brasil, Paraguai, Argentina até os Andes Boliviano ($2n=64$, $NFa=66$; $2n=65$, $NFa=67$; $2n=66$, $NFa=68$; $2n=67$, $NFa=69$; $2n=68$, $NFa=68$ and $2n=68$, $NFa=70$). Esta variação é devida a presença de 1 a 4 cromossomos acrocêntricos supernumerários no cariótipo (Brum-Zorrilla *et al.*, 1988; Espinosa e Reig, 1991; Sbalqueiro *et al.*, 1991; Aniskin e Volobouev, 1999). Em adição à variação no número diplóide Brum-Zorrilla *et al.* (1988), Espinosa e Reig (1991) e Sbalqueiro *et al.* (1991) descreveram variações na forma e tamanho dos cromossomos sexuais, devido a adição-deleção de heterocromatina constitutiva tanto no cromossomo X quanto no cromossomo Y.

Carleton e Musser (1989) sugeriram que *O. flavescens* está restrita à área que compreende o leste e sul do Brasil, Uruguai e Argentina. Para os animais da Serra do Caparaó (estado de Minas Gerais), Andes do Peru e Bolívia e altiplano do sudeste do Peru (departamento de Puno) estes autores os designaram como *Oligoryzomys* sp. A, *Oligoryzomys* sp. B e *Oligoryzomys* sp. C, respectivamente.

A análise cariotípica dos animais da Bolívia e da Serra do Caparaó se mostraram muito semelhantes às formas cariotípicas e às suas variantes descritas na literatura para *O. flavescens*. No entanto, há uma distinção clara entre a forma cariotípica dos animais da Serra do Caparaó, São Paulo, Argentina e Uruguai que apresentaram $2n=64$ e $NFa=66$, dos animais da Bolívia que apresentaram uma variação de $2n=66$ ou 68 e $NFa=68$ e $2n=66$ e $NFa=72$.

Possivelmente das 3 espécies supostas por Carleton e Musser (1989) pelo menos duas delas podem ser confirmadas aqui como táxons distintos. Um deles realmente restrito ao Uruguai, Argentina e leste e sul do Brasil com $2n=64-66$ e $NFa=66-68-70$ (Brum-Zorrilla *et al.*, 1988; Espinosa e Reig, 1991;

Sbalqueiro *et al.*, 1991), e outro distribuído nos Andes da Bolívia com $2n=66-68$ e $NFa=68-72$, região de Yungas e $2n=64-66$ e $NFa=66-68$ do departamento de Tarija (Aniskin e Volobouev, 1999; Presente trabalho). A segregação dos dois clados indicada pelas hipóteses filogenéticas corroboram às diferenças cariotípicas estabelecidas para as formas variantes do Brasil-Uruguai-Argentina contra as formas variantes da Bolívia.

Então o que é *O. flavescens*?

Inicialmente, *O. flavescens* foi descrito por Waterhouse, em 1837, a partir de exemplares coletados em Maldonado, Uruguai. Desta forma, a posição mais sensata à assumir é: (i) considerar os representantes do Brasil, Uruguai e Argentina com $2n=64-66$ e $NFa=66-68-70$ como *O. flavescens*, porque dentro deste grupo estão incluídos os espécimes da localidade tipo; (ii) considerar os espécimes da Bolívia com $2n=64-66-68$ e $NFa=66-68-72$ um grupo *affinis* de *O. flavescens*.

Finalmente, para fechar as dúvidas colocadas no início desse tópico, serão tratadas adiante questões relacionadas à *O. fulvescens*.

Haiduk *et al.* (1979) foram os primeiros a estudar as populações do México, neste trabalho os autores descreveram um cariótipo com $2n=60$ e $NFa=74$ e o relacionaram à espécie *O. fulvescens*. Por outro lado, Musser e Carleton (1993) sugeriram que *O. delicatus* Thomas, 1917 com $2n=60$ e $NFa=72$ da Venezuela (Kiblicky, 1969) seja sinônimo de *O. fulvescens* devido a alta similaridade no $2n$ e NFa . Comparando a estrutura dos cromossomos destes dois cariótipos foram encontradas diferenças relevantes entre eles. Em um consenso, sugere-se reconhecer o cariótipo $2n=60$ e $NFa=72$ da Venezuela pertencente à *O. delicatus* como sugerido por Kiblicky (1969) e o cariótipo $2n=60$ e $NFa=74$ à espécie *O. fulvescens*.

Gardner e Patton (1976) associaram a forma $2n=54$ e $NFa=68$ à *O. fulvescens* proveniente da Costa Rica, talvez este cariótipo possa representar a espécie *O. vegetus* que segundo Carleton e Musser (1995) ocupam as terras mais altas do Panamá e Costa Rica.

Definitivamente é necessário confirmar os limites e a diagnose do nome específico *fulvescens*, levando-se em consideração os tipos de *O. navus*, *O. muchiquensis* e *O. griseolus* da Colômbia, *O. tenuipes* e *O. delicatus* da Venezuela e os tipos de *O. destructor* e *O. arenalis* do Peru para uma elucidação taxonômica e uma distribuição geográfica clara de *O. fulvescens*.

A variação cromossômica em *Oligoryzomys*

Sem dúvidas, a variação cariotípica observada para *Oligoryzomys* é extraordinária. Quais eventos estão envolvidos na diferenciação destes citótipos? A plasticidade do cariótipo pode estar relacionada à algum tipo de vantagem durante o período de colonização, que permitiu ocupar desde altas elevações da Cordilheira dos Andes, sul da América do Sul, todos biomas brasileiros (Amazônia, Cerrado, Caatinga, Floresta Atlântica- terras altas e baixas, Pantanal e Campos sulinos), América Central até o sul da América do Norte? Ou esta variação é neutra?

Sem dúvida *Oligoryzomys* pode ser um grupo potencial para estudos de modelo de especiação cariotípica. Na literatura são relatados que rearranjos cromossômicos do tipo fusão-fissão seguidos de inversão e fusão em tandem podem estar envolvidos na diferenciação dos citótipos. Outra hipótese é a presença de cromossomos B responsáveis pela variação do número diplóide, como no caso da espécie de *O. flavescens* e *O. aff. flavecsens*.

Estudos anteriores mostraram que muitas espécies de *Oligoryzomys* exibem uma alta diversidade cariotípica em ambos níveis interespecífico, com cariótipos espécie-específico e, intraespecífico, como alguns grupos (e.g. *O. nigripes*) com alta variabilidade na macroestrutura cariotípica (Paresque *et al.*, 2007).

Na maioria das vezes, as diferenças cariotípicas não estão associadas à diferenças morfológicas no nível de espécies, sendo este um dos maiores motivos para a confusão taxonômica no gênero. Assim, a relação entre divergência cariotípica e diagnose morfológica a partir de caracteres externos, cranianos ou pós cranianos precisam ser reexaminados em *Oligoryzomys*. O número, a forma e o tamanho dos cromossomos podem ser ferramentas espécie-específicas importantes para a diagnose das espécies em *Oligoryzomys* (e.g. Bonvicino e Weksler, 1998; Lima-Rosa *et al.*, 2000; Andrades-Miranda *et al.*, 2001; Weksler e Bonvicino, 2005).

O próximo capítulo desta tese abordará exatamente estes aspectos, tentando responder se as unidades citogenéticas e os agrupamentos indicados pelas análises filogenéticas estão refletindo alguma descontinuidade morfológica entre os grupos.

Referências Bibliográficas

- Anderson, S. 1997. Mammals of Bolivia, Taxonomy and Distribution. Bulletin of the American Museum of Natural History 231:1-652.
- Andrades-Miranda J., Oliveira, L. F. B., Lima-Rosa, C. A. V., Nunes, A. P., Zanchin, N. I. T., Mattevi, M. S. 2001. Chromosome studies of seven species of *Oligoryzomys* (Rodentia: Sigmodontinae) from Brazil. Journal of Mammalogy 82:1080-1091.
- Aniskin, V. M., Volobouev, V. T. 1999. Comparative chromosome banding of two South-American species of rice rats of the genus *Oligoryzomys* (Rodentia, Sigmodontinae). Chromosome Research 7:557-562.
- Baker, R. J., Bickham, J. W. 1986. Speciation by monobrachial centric fusions. Proceedings of the National Academy of Science 83:8245-8248.
- Bonvicino, C. R., Weksler, M. 1998. A new species of *Oligoryzomys* (Rodentia, Sigmodontinae) from northeastern and central Brazil. Zeitschrift für Säugetierkunde 63:90-103.
- Brum-Zorrilla, N., Fronza, T. G., Wainberg, R., Vidal-Rioja, L., Zwirner, N. 1988. *Oryzomys flavescens* and *O. delticola* chromosomes (Rodentia, Cricetidae) from Uruguay and Argentina. Caryologia 41:275-288.
- Capllonch, P., Autino A., Díaz, M., Barquez, R. M., Goytia, M. 1997. Los mamíferos del Parque Biológico Sierra de San Javier, Tucumán, Argentina: observaciones sobre su sistemática y distribución. Mastozoología Neotropical 4(1):49-71.
- Carleton, M. D., Musser G. G. 1989. Systematic studies of oryzomyine rodents (Muridae, Sigmodontinae): a synopsis of *Microryzomys*. Bulletin of the American Museum of Natural History 191:1-83.
- Carleton, M. D., Musser, G. G. 1995. Systematic Studies of Oryzomyine Rodents (Muridae, Sigmodontinae) - Definition and Distribution of *Oligoryzomys* *vegetus* (Bangs, 1902). Proceedings of the Biological Society of Washington 108(2):338-369.

- Díaz, M. 2000. Key to the native mammals of Jujuy province, Argentina. Occasional Papers of the Oklahoma Museum of Natural History 7:1-29.
- Dickerman, A. W., Yates, T. L. 1995. Systematics of *Oligoryzomys*: protein-electrophoretic analyses. Journal of Mammalogy 76:172-188.
- Dinerstein, E., Olson, D. M., Graham, D. J., Webster, A. L., Primm, S. A., Bookbinder, M. P., Ledec, G. 1995. Ecoregions of Latin America and the Caribbean (inset map). *In*: A Conservation Assessment of the Terrestrial Ecoregions of Latin America and the Caribbean, The World Bank, Washington, DC.
- Espinosa, M. B., Reig, O. A. 1991. Cytogenetics and karyosystematics of South American oryzomyine rodents (Cricetidae, Sigmodontinae). III. Banding karyotypes of Argentinian *Oligoryzomys*. Sonderdruck aus Zeitschrift für Säugetierkunde 56:306-317.
- Francés, J., D'Elía, G. 2006. *Oligoryzomys delticola* es sinónimo de *O. nigripes* (Rodentia, Cricetidae, Sigmodontinae). Mastozoología Neotropical 13:123-131.
- Furtado, V. V. 1981. Diversidade cromossômica em roedores das famílias Cricetidae e Caviidae de Pernambuco, Brasil. PhD Thesis. Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.
- Gallardo, M. H., Patterson, B. D. 1985. Chromosomal differences between two nominal subspecies of *Oryzomys longicaudatus* Bennett. Mammalian Chromosomes Newsletter 25:49-53.
- Gardner, A. L., Patton, J. L. 1976. Karyotypic variation in oryzomyine rodents with comments on chromosomal evolution in Neotropical cricetine complex. Occasional Papers Louisiana State University Museum of Zoology 49:1-48.
- Griffiths, A. J. F., Jofrey, H. M., Suzuki, D. T., Richard, L. C. 1998. Introdução à Genética. 6º edição. Guanabara.
- Haiduk, M. W., Bickhan, J., Schmidly, D. J. 1979. Karyotypes of six species of *Oryzomys* from Mexico and Central America. Journal of Mammalogy 60:610-615.

- Haynie, M. L., Brant, J. G., McAliley, L. R., Carrera, J. P., Revelez, M. A., Parish, D. A., Viteri, X., Jones, C., Phillips, C. J. 2006. Investigations in a natural corridor between two national parks in Central Ecuador: results from the sowell expedition, 2001. Occasional papers Museum of Texas Tech University 263:1-16.
- Kiblisky, P. 1969. The chromosomes of two species of the genus *Oryzomys* (Rodentia: Cricetidae). *Experientia* 25:1338-1339.
- Lima J. F. S., Bonvincino, C. R., Kasahara, S. 2003. A new karyotype of *Oligoryzomys* (Sigmodontinae, Rodentia) from central Brazil. *Hereditas* 139:1-6.
- Lima-Rosa, C. A. V., Hutz, M. H., Oliveira, L. F. B., Andrades-Miranda, J., Mattevi, M. S. 2000. Heterologous amplification of microsatellite loci from mice and rat in Oryzomyini and Thomasomyini South American rodents. *Biochemical Genetics* 38:97-108.
- Musser, G. G., Carleton, M. D. 1993. Family Muridae. *In: Mammal species of the world: a taxonomic and geographic reference*. 2nd ed. (Wilson, D. E., Reeder D. M. eds.), Smithsonian Institution Press, Washington, D.C. Pp. 501-755.
- Musser, G. G., Carleton, M. D. 2005. "Superfamily Muroidea". *In: Mammal Species of the World, Third Edition* (Wilson, D. E., Reeder, D. M. eds.), The Johns Hopkins University Press. Pp. 894-1531.
- Myers, P., Carleton, M. D. 1981. The species of *Oryzomys* (*Oligoryzomys*) in Paraguay and the identity of Azara's "*rat sixième ou rat à tarse noir*". *Miscellaneous Publications Museum of Zoology University of Michigan* 161:1-41.
- Olds, N., Anderson, S. 1987. Notes on Bolivian mammals 2. Taxonomy and distribution of rice rats of the genus *Oligoryzomys*. *In: Studies in Neotropical mammalogy: essays in honor of Philip Hershkovitz* (Patterson, B. D., Timm, R. M. eds.), Fieldiana Zoology, New Series, Chicago, 39:261-281.
- Palma, R. E., Rivera-Milla, E., Salazar-Bravo, J., Torres-Pérez, F., Pardiñas, U. F. J., Marquet, P. A., Spotorno, A. E., Meynard, A. P., Yates, T. L. 2005.

- Phylogeography of *Oligoryzomys longicaudatus* (Rodentia: Sigmodontinae) in temperate South America. *Journal of Mammalogy* 86:191-200.
- Paresque, R., Silva, M. J. J., Yonenaga-Yassuda, Y., Fagundes V. 2007. Karyological geographic variation of *Oligoryzomys nigripes* Olfers, 1818 (Rodentia, Cricetidae) from Brazil. *Genetics and Molecular Biology* 30:43-53.
- Patton, J. L., da Silva, M. N. F., Malcolm, J. R. 2000. Mammals of the Rio Juruá and the evolutionary and ecological diversification of Amazonia. *Bulletin of the American Museum of Natural History* 244:1-305.
- Rivera, P. C., González-Iltig, R. E., Rossi-Fraire, H. J., Levis, S., Gardenal, C.N. 2007. Molecular identification and phylogenetic relationships among the species of the genus *Oligoryzomys* (Rodentia, Cricetidae) present in Argentina, putative reservoirs of hantaviruses. *Zoologica Scripta* 36:231-239.
- Sbalqueiro, I. J., Mattevi, M. S., Oliveira, L. F. B., Solano, M. J. V. 1991. B chromosome system in populations of *Oryzomys flavescens* (Rodentia, Cricetidae) from southern Brazil. *Acta Theriologica* 36:193-199.
- Silva, M. J de J., Yonenaga-Yassuda, Y. 1997. New karyotypes of two related species of *Oligoryzomys* genus (Cricetidae, Rodentia) involving centric fusion with loss of NORs and distribution of telomeric (TTAGGG)_n sequences. *Hereditas* 121:217-229.
- Svartman, M. 1989. Levantamento cariotípico de roedores da região do Distrito Federal. Dissertação de mestrado. São Paulo, São Paulo, Brasil.
- Swofford, D. L. 2000. PAUP*: Phylogenetic Analysis Using Parsimony (*and Other Methods), Version 4.0b10. Sinauer Associates, Sunderland, MA.
- Vidal-Rioja, L., Fronza, T. G., Wainberg, R., Brum-Zorrilla, N., Wallace, F., Zambelli, A. 1988. C-banding pattern and satellite DNA localization on the chromosomes of *Oryzomys flavescens* (Rodentia, Cricetidae). *Caryologia* 41:323-328.
- Weksler, M., Bonvicino, C. R. 2005. Taxonomy of pigmy rice rats genus *Oligoryzomys* Bangs, 1900 (Rodentia, Sigmodontinae) of the Brazilian

Cerrado, with the description of two new species. Arquivos do Museu Nacional
63:113-130.

Capítulo 4

DIVERSIFICAÇÃO DO GÊNERO *OLIGORYZOMYS* BANGS 1900

(RODENTIA: CRICETIDAE) NA REGIÃO NEOTROPICAL:

CARIÓTIPO, MORFOLOGIA E RELAÇÕES FILOGENÉTICAS

RESUMO

O gênero *Oligoryzomys* Bangs (1900) é um dos mais diversos da Subfamília Sigmodontinae, reúne, de acordo com esta revisão, no mínimo, 26 espécies que ocorrem em toda a região Neotropical, desde o sudoeste do México ao sul da Argentina e desde à costa leste às montanhas Andinas. Devido à ampla distribuição geográfica, à pequena diferenciação morfológica e a má caracterização de algumas espécies descritas no passado, a diagnose das espécies do gênero é muito confusa. Nesse sentido, os objetivos deste capítulo foram identificar quais são e onde estão as espécies do gênero *Oligoryzomys*, fornecer caracteres morfológicos, cariotípicos e moleculares capazes de diferenciá-las e obter hipóteses sobre as relações filogenéticas entre as espécies reconhecidas. O ponto de partida foi o estabelecimento de cariótipos espécie-específicos, que levou em consideração o número e a forma dos cromossomos. Dos mesmos espécimes com cariótipos conhecidos foram obtidas sequências do gene mitocondrial citocromo b (1140 pb) e do íntron 7 do beta fibrinogênio (610 pb). Ao todo foram analisadas 271 sequências do gene mitocondrial citocromo b e 201 sequências do íntron 7 do beta fibrinogênio. As relações filogenéticas foram propostas baseadas nas análises de parcimônia e de máxima verossimilhança. Os clados sugeridos pela filogenia foram caracterizados morfológicamente do ponto de vista quantitativo e qualitativo. Ao todo 280 espécimes depositados em museus brasileiros foram analisados qualitativamente, destes 242 foram analisados quantitativamente e 210 tinham seus cariótipos conhecidos. Os resultados obtidos permitiram reconhecer 19 espécies de *Oligoryzomys*, arrançadas em 6 grupos de espécies: “*Microtis*” (*O. microtis* e *O. fornesi*), “*Fulvescens*” (*O. fulvescens* e *O. vegetus*), “*Longicaudatus*” (*O. longicaudatus*, *O. magellanicus* e *O. flavescens*), “*Andinus*”

(*O. andinus*), “*Messorius*” (*O. messorius*, *O. rupestris*, *O. moojeni*, *Oligoryzomys* sp. A, *Oligoryzomys* sp. B, *Oligoryzomys* sp. C, *Oligoryzomys* sp. D e *Oligoryzomys* sp. E), “*Nigripes*” (*O. nigripes*, *O. chacoensis* e *O. stramineus*). Três espécies sem dados cariotípicos e moleculares foram identificadas a partir das análises qualitativas, *Oligoryzomys* sp. nova A e *Oligoryzomys* sp. nova B, provenientes do estado do Ceará, e *O. aff. delicatus* do estado do Pará. A validade dos nomes das espécies *O. eliurus* e *O. destructor* foi questionada, uma vez que foram analisados indivíduos das localidades tipo destas espécies e não foram encontradas evidências que pudessem identificá-las. Outras espécies não foram amostradas: *O. victus*, *O. brendae*, *O. griseolus* e *O. arenalis*. Os nomes *O. delicatus* e *O. tenuipes*, atualmente considerados sinônimos de *O. fulvescens*, podem ser válidos. A distribuição destas espécies, na maioria das vezes, está restrita a algum dos tipos de biomas neotropicais, com três espécies tendo distribuições mais abrangentes: *O. nigripes* que ocorre tanto em áreas de Mata Atlântica como em áreas de Cerrado; *O. flavescens* distribuído desde as regiões mais elevadas da costa leste Brasileira até os Páramos Andinos; e *O. microtis* que tem uma distribuição ampla nas regiões sob domínio da Floresta Amazônica, ocorrendo no noroeste do Brasil, Bolívia, Peru e Equador. Algumas espécies podem ser encontradas em simpatria como *O. nigripes* e *O. flavescens* na Mata Atlântica; *O. nigripes*, *O. moojeni* e *O. fornesi* no Cerrado; *O. nigripes* e *O. chacoensis* aos arredores do Chaco; e *O. flavescens*, *O. andinus*, *O. fulvescens* e *Oligoryzomys* sp. A. nos Páramos da Bolívia.

ABSTRACT

Oligoryzomys Bangs (1900) is among the most diverse genus of Subfamily Sigmodontinae, accordingly to the present revision, at least 26 species, distributed throughout the Neotropical region, from southwestern Mexico, Andean mountains, southern Argentina to the east coast. Due to the wide geographic distribution, small morphological differentiation and poor characterization of some species described in the past, the diagnosis of species is very confusing. In this sense, the objectives of this chapter were to identify what and where are the *Oligoryzomys* species. Were providing morphological, karyotypic and molecular data which able to differentiate them and to obtain hypotheses about phylogenetic relationships among recognized species. The starting point was the establishment of species-specific karyotypes, considering the number and shape of chromosomes. The same specimens with known karyotypes were obtained sequences of mitochondrial cytochrome b gene (1140 bp) and intron 7 of beta fibrinogen (610 bp). In total were analyzed 271 sequences of mitochondrial cytochrome b gene and 201 sequences of intron 7 of beta fibrinogen. The phylogenetic relationships were proposed based on parsimony and maximum likelihood analysis. The clades suggested by phylogeny were quantitatively (36 measures generated from 35 markers geometry of the skull) and qualitatively characterized (structure and pelage coloration, incisive foramen morphology, mandible morphology, pattern carotid, molar morphology, supraorbital edge morphology, morphology of the interorbital region and morphology and orientation of the magnum foramen). In total 280 specimens deposited in Brazilian museums were analyzed qualitatively, these 242 were analyzed quantitatively and 210 had their karyotypes known. The results allowed to identify 19 *Oligoryzomys* species, arranged in 6 species groups: “*Microtis*” (*O. microtis*

and *O. fornesi*), “*Fulvescens*” (*O. fulvescens* and *O. vegetus*), “*Longicaudatus*” (*O. longicaudatus*, *O. magellanicus* and *O. flavescens*), “*Andinus*” (*O. andinus*), “*Messorius*” (*O. messorius*, *O. rupestris*, *O. moojeni*, *Oligoryzomys* sp. A, *Oligoryzomys* sp. B, *Oligoryzomys* sp. C, *Oligoryzomys* sp. D and *Oligoryzomys* sp. E), “*Nigripes*” (*O. nigripes*, *O. chacoensis* and *O. stramineus*). Three species without karyotypic and molecular data were identified from the qualitative analysis, *Oligoryzomys* sp. n. A and *Oligoryzomys* sp. n. B, both from Ceará state, and *O. aff. delicatus* from Pará state. The validity of the names *O. eliurus* and *O. destructor* has been questioned because do not have evidence that could identify them among the studied individuals from type localities. Other species were not sampled: *O. victus*, *O. brendae*, *O. griseolus* and *O. arenalis*. The names *O. delicatus* and *O. tenuipes*, which today are considered synonyms of *O. fulvescens*, may be valid. The species distribution, in most cases, is restricted to some types of Neotropical biomes, only three species have wider distribution: *O. nigripes* that occurs in the Atlantic Forest and the Cerrado; *O. flavescens* distributed from the highest regions of the east, to the Andean Páramos; and *O. microtis* which has a wide distribution in Amazon rainforest region, occurring in northwest of Brazil, Bolivia, Peru and Ecuador. Some species can be found in sympatry: *O. nigripes* and *O. flavescens* in Atlantic Forest; *O. nigripes*, *O. moojeni* and *O. fornesi* in Cerrado; *O. nigripes* and *O. chacoensis* in Chaco; and *O. flavescens*, *O. andinus*, *O. fulvescens* and *Oligoryzomys* sp. A. in Bolivian Páramos.

INTRODUÇÃO

O gênero *Oligoryzomys* reúne atualmente 18 espécies, depois da divisão do grupo polifilético *Oryzomys* em 10 gêneros novos (Weksler *et al.*, 2006), *Oligoryzomys* constitui o grupo mais diversificado da tribo Oryzomyini (Musser e Carleton, 2005). Seus representantes são pequenos roedores (10-30g), com os pés bem desenvolvidos e cauda mais longa que o tamanho do corpo.

Desde a descrição do “*rat à tarse noir*” feita por Azara (1801) de um indivíduo proveniente de Atyrá, Paraguai, que claramente deveria tratar-se de um representante do gênero *Oligoryzomys*,

“Nenhum outro roedor paraguaio, nativo ou introduzido, jovem ou adulto, tem as combinações similares de tamanho do corpo pequeno, cauda maior que o tamanho do corpo e cabeça juntos, dorso castanho e ventre esbranquiçado”

(Myers e Carleton, 1981, p.13)

que o número de espécies e a composição do gênero não é consenso entre os autores.

Oligoryzomys foi durante muito tempo considerado subgênero de *Oryzomys*, apenas em 1989 Carleton e Musser elevaram *Oligoryzomys* a categoria genérica. Vários nomes específicos têm permanecido instáveis na história taxonômica do grupo. Propostos originalmente, em sua maioria, como espécies, foram alocados posteriormente como subespécies ou consideradas sinônimos (e.g. Cabrera, 1961; Musser e Carleton, 1993; Francès e D'Elía, 2006; Musser e Carleton, 2005). No entanto, recentemente, há uma tendência de revalidação do status original de algumas espécies associadas a esses nomes (Musser e Carleton, 2005), corroborados pelos resultados obtidos a partir de análises citogenéticas e moleculares (Andrades-Miranda *et al.*, 2001; Palma *et al.*, 2005). Tais análises ainda sugerem rearranjos adicionais, como a adição de

novas espécies ao gênero (Bonvicino e Weksler, 1998; Andrades-Miranda *et al.*, 2001; Weksler e Bonvicino, 2005). A falta de uma delimitação taxonômica explícita que reflita a diversidade biológica em *Oligoryzomys* justifica a necessidade de estudos taxonômicos das suas populações.

O gênero encontra-se amplamente distribuído desde o sul da América do Norte, América Central e América do Sul, apresentando espécies que ocorrem desde os Páramos Andinos em altitudes superiores a 2.800 m até as Florestas Úmidas na Costa Atlântica. Dados de campo confirmaram a ocorrência de duas a quatro espécies simpátricas e parapátricas como documentado por Massoia (1973), Myers e Carleton (1981) e Olds e Anderson (1987), no entanto, o reconhecimento das espécies nem sempre é claro, pois os caracteres diagnósticos e os níveis de variações intraespecíficas não estão bem estabelecidos na literatura. Assim, ferramentas citogenéticas e moleculares podem ser imprescindíveis no reconhecimento dos táxons de *Oligoryzomys*.

Estudos citogenéticos anteriores sugerem que as espécies de *Oligoryzomys* possuem cariótipos espécie-específicos: o complemento cromossômico constituído pelo número diplóide (2n) e pelo número fundamental autossômico (NFa) podem ser caracteres importantes para a taxonomia dos representantes do gênero (Gardner e Patton, 1976; Bonvicino e Weksler, 1998; Andrades-Miranda *et al.*, 2001; Weksler e Bonvicino, 2005). Atualmente são reconhecidas 42 formas cariotípicas (Tabela 3.1) para os representantes de *Oligoryzomys*, no entanto, o número de formas não corresponde ao número de espécies reconhecidas e quatro espécies *O. arenalis*, *O. griseolus*, *O. brendae* e *O. victus* não possuem dados cromossômicos registrados na literatura. Um estudo com uma visão multidisciplinar abrangendo cromossomos, caracteres morfológicos e moleculares é fundamental para entender a diversidade do

gênero, mas a ampla distribuição é, sem dúvida, um fator limitante à abordagem taxonômica subsidiada por uma boa representatividade de todas as espécies.

Carleton e Musser (1989) forneceram o primeiro arranjo taxonômico mais abrangente do gênero, sugerindo 5 grupos de espécies: “*Fulvescens*” onde estão incluídas *O. fulvescens* do México, América Central e norte da América do Sul, *O. arenalis* das montanhas e vales Andinos do Peru e *O. vegetus* das terras altas do noroeste do Panamá (entre 1.200 e 1.500 m); “*Microtis*” constituído somente por *O. microtis* da região Amazônica da Bolívia, Brasil e Peru; “*Andinus*” com *O. andinus* dos Andes da Bolívia e Peru e *O. chacoensis* do Chaco e Cerrado da Argentina, Bolívia, Brasil e Paraguai; “*Flavescens*” com *O. flavescens* ocorrendo desde o nível do mar até 2.150 m na Argentina, Brasil e Uruguai e três espécies não descritas denominadas *Oligoryzomys* sp. A proveniente de Minas Gerais da região da Serra do Caparaó a aproximadamente 1.000 m, *Oligoryzomys* sp. B das terras altas dos Andes da Bolívia e Peru entre 2.150 e 4.175 m e *Oligoryzomys* sp. C do Departamento de Puno no Peru entre 3.940 e 4.000 m; “*Nigripes*” com *O. nigripes* documentado na Argentina e Paraguai, *O. eliurus* do leste e Centro-oeste do Brasil, *O. destructor* dos Andes do sul da Colômbia, Equador, Peru e Bolívia, *O. longicaudatus* do sul do Chile até os Andes da Bolívia e *O. delticola* do Sul do Brasil, Argentina e Uruguai. Apesar de ter sido um estudo amplo, as espécies incluídas nestes grupos permaneceram sem diagnose ou qualquer informação sobre suas afinidades filogenéticas.

Dando continuidade à proposta dos grupos sugeridos por Carleton e Musser (1989), Weksler e Bonvicino (2005) ao descreverem duas espécies novas de *Oligoryzomys*, incluíram *O. moojeni* no grupo “*Flavescens*” e designaram um novo grupo: “*Rupestris*”, no qual alocaram *O. rupestris*. Por outro

lado, Miranda *et al.* (2009) estudaram principalmente espécies da América do Sul e sugeriram uma definição de grupos de espécies baseados nos resultados filogenéticos do gene mitocondrial citocromo *b* e do gene IRBP. Neste estudo os autores relacionaram os grupos geneticamente coesos à regiões ecológicas particulares, sugeriram o arranjo das espécies em um clado denominado Pampa-Andino e outro clado Cerrado-Amazônia, na ocasião não levaram em consideração os grupos propostos por Carleton e Musser (1989) e Weksler e Bonvicino (2005).

Em uma interpretação do conhecimento atual da taxonomia do grupo fica claro que as espécies do Brasil e do sul da América do Sul foram mais amostradas e estudadas, possuem registros cariotípicos (Andrades Miranda *et al.*, 2001; Espinosa e Reig, 1991; Sbalqueiro *et al.*, 1991; Gallardo e Palma, 1990; Gallardo e Patterson, 1985; Weksler e Bonvicino, 2005), algumas espécies foram estudadas morfológicamente (Gallardo e Palma, 1990; Bonvicino e Weksler, 1998; Weksler e Bonvicino, 2005) e tiveram suas relações filogenéticas estabelecidas (Myers *et al.*, 1995; González *et al.*, 2002; Perini *et al.*, 2004; Palma *et al.*, 2005; Trott *et al.*, 2007; Rivera *et al.*, 2007; Miranda *et al.*, 2009).

Por outro lado, registros provenientes da Venezuela, Peru, Colômbia, Equador, Suriname, Guianas, México e países da América Central são limitados às descrições originais, ou a um estudo citogenético ou ecológico onde não há discussão dos caracteres diagnósticos que levaram a assumir os nomes dos táxons (Gardner e Patton, 1976; Kiblicky, 1969; Aniskin e Volobouev, 1999; Haynie *et al.*, 2006), ou a estudos filogenéticos com número reduzido de espécies representantes (Dickerman e Yates, 2005). Quanto a morfologia, Carleton e Musser (1995) fizeram o estudo que englobou o maior número de espécimes para a região da América Central, no qual, discutiram a definição e

distribuição de *O. vegetus* e *O. fulvescens* e, Olds e Anderson (1987) e Anderson (1997) apresentaram uma relação das espécies de *Oligoryzomys* que ocorrem na Bolívia.

Estudos recentes mostraram que houve uma flutuação taxonômica e novos limites das distribuições geográficas para algumas espécies. Olds e Anderson (1987) e Carleton e Musser (1989) consideraram *O. fornesi* sinônimo junior de *O. microtis*, no entanto, Bonvicino e Weksler (1998) reconheceram *O. fornesi* como uma espécie válida baseados em medidas do crânio. Francès e D'Elía (2006) consideraram *O. delticola* sinônimo junior de *O. nigripes* baseados em similaridades citogenéticas e moleculares. Bonvicino e Weksler (1998) e Weksler e Bonvicino (2005) questionaram a validade de *O. eliurus* que também pode ser sinônimo de *O. nigripes*. Palma *et al.* (2005) estabeleceram os limites moleculares e morfológicos para *O. longicaudatus* e propuseram uma nova área de distribuição para a espécie limitada a costa Chilena.

Outros táxons como *O. fulvescens*, por exemplo, tem 12 sinonímias segundo Musser e Carleton (2005) e precisam ser estudados com mais ferramentas. Uma das espécies, *O. messorius*, considerada sinônimo junior de *O. fulvescens* pode ser uma espécie válida segundo dados cariotípicos, moleculares e distribuição geográfica (Andrades-Miranda *et al.*, 2001; Miranda *et al.*, 2009); *O. destructor* considerada espécie válida por Musser e Carleton (1989) precisa ter seus limites morfológicos e geográficos estabelecidos, Paresque *et al.* (in prep.) não encontraram evidências cariotípicas que corroboram a presença desta espécie na Bolívia, sendo que os animais denominados como *O. destructor* por Anderson (1997) e Dickerman e Yates (1995) podem ser sinônimos de *O. andinus* ou *O. microtis* (Paresque *et al.*, in prep.).

Nesse sentido, o objetivo deste capítulo foi ter a visão mais ampla possível das questões relacionadas ao gênero *Oligoryzomys*. Procurou-se estabelecer quais são os limites morfológicos, cariotípicos, geográficos e taxonômicos das espécies. Além disso, foram testadas as hipóteses dos grupos de espécies sugeridos por Carleton e Musser (1989) e Miranda *et al.* (2009), baseando-se em dados moleculares e análises filogenéticas. Como foi dito na introdução, não se teve aqui a pretensão de fazer uma revisão taxonômica do gênero capaz de responder questões relacionadas às sinonímias das espécies.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostra

A amostra reunida para este capítulo tentou ser a mais abrangente possível, tanto em termos taxonômicos quanto em termos geográficos. Foram conduzidos estudos citogenéticos, morfológicos e de filogenia molecular em representantes de *Oligoryzomys* provenientes de diferentes biomas da região Neotropical.

Foram estudados citogeneticamente aproximadamente 225 exemplares, representantes de 9 espécies de *Oligoryzomys*: *O. andinus* (n=27), *O. aff. andinus* (13), *O. chacoensis* (n=3), *O. flavescens* (n=15), *O. aff. flavescens* (32), *O. fornesi* (n=14), *O. microtis* (n=41), *O. moojeni* (n=8), *O. nigripes* (n=65), *O. stramineus* (n=4) e *Oligoryzomys* sp. C do Suriname (n=3). Adicionalmente, foi realizada uma compilação dos dados citogenéticos de *Oligoryzomys* disponíveis na literatura.

Foram obtidas 271 sequências do gene mitocondrial citocromo b (~ entre 801 e 1143 pb) e 201 sequências do íntron 7 do beta-fibrinogênio (610 pb). Destas, 163 sequências são comuns para os dois genes que representam 13 espécies reconhecidas por Musser e Carleton (2005) e Weksler e Bonvicino (2005): *O. andinus*, *O. chacoensis*, *O. flavescens*, *O. fornesi*, *O. fulvescens*, *O.*

longicaudatus, *O. messorius*, *O. microtis*, *O. moojeni*, *O. nigripes*, *O. rupestris*, *O. stramineus* e *O. vegetus*, e mais 6 espécies não nomeadas: *O. aff. andinus*, *O. aff. flavescens*, *Oligoryzomys* sp. A proveniente da Bolívia, *Oligoryzomys* sp. B proveniente da Venezuela, *Oligoryzomys* sp. C proveniente do Suriname e *Oligoryzomys* sp. D proveniente da Venezuela. Adicionalmente, foi obtida a sequência do gene mitocondrial citocromo b disponível no GenBank para *Oligoryzomys* sp. E proveniente do Amapá, Brasil. Somando 20 espécies do gênero *Oligoryzomys*.

Os dados do número de identificação, localidade, coordenadas, espécies e sequências gênicas estão sumarizados no apêndice 3. No total 29 localidades de 14 países foram amostradas.

As espécies indicadas por dados cariotípicos espécie-específicos e confirmadas pelas hipóteses filogenéticas foram estudadas qualitativamente para a identificação de caracteres diagnósticos, e quantitativamente para averiguar se existem descontinuidades craniométricas capazes de discriminar as espécies num espaço multivariado.

Os estudos morfológicos qualitativos foram conduzidos para as 13 espécies que ocorrem no Brasil: *O. chacoensis* (n=3), *O. delicatus* (n=12), *O. flavescens* (n=24), *O. fornesi* (n=32), *O. messorius* (n=1), *O. microtis* (n=14), *O. moojeni* (n=12), *O. nigripes* (n=76), *O. rupestris* (n=8), *O. stramineus* (n=14) e *Oligoryzomys* sp. E proveniente do Amapá (n=2), *Oligoryzomys* sp. nova A (n=24) e *Oligoryzomys* sp. nova B do Ceará (n=14); uma espécie que ocorre no México e América Central: *O. fulvescens* (n=2); uma espécie do Panamá: *O. vegetus* (n=1); uma espécie da Venezuela, *Oligoryzomys* sp. B (n=1); e uma espécie que ocorre na Argentina: *O. longicaudatus* (n=1). Marcadores geométricos foram tomados para 242 espécimes, entretanto, apenas 221

indivíduos, pertencentes a oito espécies, foram incluídos nas análises quantitativas. Não foram incluídas nas análises estatísticas as espécies com número amostral menor do que cinco indivíduos, considerado um número insuficiente para as análises, e os animais ou muito jovens ou muito velhos que pudessem ser *outliers* da amostra (elementos com comportamento muito diferente dos demais). A relação dos espécimes examinados e as espécies utilizadas nas comparações morfológicas foi organizada no apêndice 4.

Os espécimes que fizeram parte dos estudos anatômicos estão depositados nas seguintes instituições de pesquisa:

MUCN – Museu da Outra de Ciências Naturais, Universidade Luterana do Brasil, Canoas (RS);

MCN – Museu de Ciências Naturais, Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre (RS);

MZUSP – Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo, São Paulo (SP);

MN – Museu Nacional do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro (RJ).

LEM – Material colecionado pelo Laboratório de Evolução de Mamíferos da Universidade de São Paulo, a ser incorporado à coleção do Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo, São Paulo (SP);

LGA – Material colecionado pelo Laboratório de Genética Animal da Universidade Federal do Espírito Santo, a ser incorporado à coleção do Museu de Biologia Professor Mello Leitão, Santa Teresa (ES).

Foram obtidas as coordenadas geográficas disponíveis em trabalhos anteriores de citogenética para mapear a distribuição das formas cariotípicas para *Oligoryzomys*. Foram transcritas das etiquetas dos espécimes depositados nos museus, as coordenadas geográficas das suas respectivas localidades de coleta. Quando as etiquetas não continham a coordenada geográfica foi

realizada uma busca no Gazetteer disponível na internet (www.fallingrain.com/world) a partir dos dados indicados da localidade de coleta. Para obter a altitude de algumas localidades (quando estas não foram obtidas no campo) foi utilizado o dado disponível na página www.google.earth.com. Com a compilação dos dados de latitude e longitude foi produzido um mapa com as distribuições das espécies de *Oligoryzomys* (Figura 4.1).

A classificação das ecorregiões Neotropicais seguiu a classificação de Dinerstein *et al.* (1995).

Figura 4.1. Mapa da distribuição das espécies do gênero *Oligoryzomys* na região Neotropical, os polígonos estão baseados em dados de coleta, no exame de exemplares depositados em museus e na compilação de dados cariotípicos disponíveis na literatura.

Caracterização citogenética e molecular dos táxons

Primeiramente foram obtidos o número diplóide ($2n$) e o número fundamental autossômico (N_{Fa}) dos espécimes. Nesta etapa tentou-se associar as formas cariotípicas aos nomes específicos de *Oligoryzomys*. Em seguida, foram realizadas análises de máxima verossimilhança para testar se o arranjo de espécies sugeridos pelos cariótipos espécie-específicos seriam corroborados pelos arranjos dos clados das hipóteses filogenéticas.

Foram construídas duas matrizes de sequências: a primeira com dados do gene mitocondrial citocromo b (~1140pb) e a segunda com o intron 7 do beta fibrinogênio (610pb). Foram adicionadas 6 sequências do GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) à matriz com sequências do citocromo b.

Como grupo externo foram utilizados *Neacomys subspinosus*, *Microryzomys minutus*, *Cerradomys langguthi*, *Sigmodon* e *Akodon toba*. e

Foram realizadas análises máxima verossimilhança e de coalescência com as duas matrizes de dados originais. O arranjo de espécies sugeridos pelas análises foram corroborados com os dados citogenéticos e morfológicos quando disponíveis.

Índices de diversidade e diferenciação populacional

A diversidade haplotípica (H) e a diversidade nucleotídica (Tajima, 1983; Nei, 1987) foram estimadas usando o software Arlequin 3.01 (Schneider *et al.*, 2000).

A diferenciação genética global dos pares de amostras da população foi estimada com índices de fixação de pares (F_{ST}), testadas através da comparação de uma distribuição nula simulada, sem diferenças entre as populações. Foram realizadas 10.000 randomizações, para testar a hipótese nula de que a distribuição de haplótipos observada é aleatória em relação ao local de amostragem (Raymond e Rousset, 1995).

Comparações morfológicas

Os padrões da variação morfológica dos táxons estudados foram descritos a partir das análises quantitativas e qualitativas dos caracteres crânios-dentários e externos. Foram usados espécimes-testemunhos depositados em museus ou obtidos durante trabalhos de campo relacionados a esse projeto. Procurou-se estabelecer os limites morfológicos entre as espécies a partir da comparação dos caracteres morfológicos que podem ser úteis para a diagnose dos espécimes.

As comparações morfológicas foram divididas em conjuntos mais restritos de espécies conforme sugerido pelos resultados da análise filogenética molecular ou das espécies que são coletadas em simpatria, com o objetivo de facilitar a identificação dessas espécies. A distinção *a priori* de algumas amostras de *Oligoryzomys* do leste e centro-oeste do Brasil é extremamente dificultada pela sobreposição dos caracteres morfológicos ou pela ausência de caracteres discretos para a diferenciação e diagnose das espécies. Frente a este problema, as espécies do leste e centro-oeste do Brasil foram preferencialmente representadas por populações com informações citogenéticas e/ou moleculares publicadas ou obtidas nesse trabalho que possibilitassem suas identificações iniciais.

Os dados da descrição da morfologia externa, dos caracteres qualitativos, da morfometria geométrica e as análises estatísticas dos dados, seguiram conforme descritos no capítulo 2 deste documento.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Inferências filogenéticas: Citocromo b

As 271 sequências do gene citocromo b representaram 218 haplótipos que foram usados nas análises filogenéticas. O cladograma obtido por máxima verossimilhança mostra uma separação nítida dos clados, apoiados por valores altos de *bootstrap* e confirma a monofilia do gênero *Oligoryzomys* (Figura 4.2).

O. fornesi e *O. microtis* apareceram nas posições mais basais da árvore, relacionando-se entre si e com as demais espécies de *Oligoryzomys*.

Os representantes de *O. fornesi* não mostraram uma diferenciação geográfica entre os espécimes amostrados, no mesmo clado foram agrupados animais provenientes de Tocantins, São Paulo e Minas Gerais.

Em relação à *O. microtis* está clara a presença de uma diferenciação geográfica em relação ao clado constituído pelos espécimes do Equador, distinto do clado dos espécimes provenientes do Brasil, Bolívia e Peru.

Os espécimes do Equador foram classificados previamente como *O. microtis*, no entanto, classificaram-se segregados na árvore, como um clado irmão, porém distinto de *O. microtis*. Adicionalmente, os valores de F_{ST} (Tabela 4.1) entre as populações do Equador vs. as populações da Bolívia e Peru foram extremamente elevados entre 0,847 e 0,919, indicando um alto nível de isolamento genético entre estes clados.

Fundamentando-se (i) na segregação do clado contendo apenas os espécimes do Equador e (ii) nos altos valores de F_{ST} encontrados, resolveu-se definir este clado como um grupo *affinis* de *O. microtis*.

Apesar de terem sido encontrados valores elevados de F_{ST} para os espécimes do Peru vs. espécimes da Bolívia (Tabela 4.1), não está clara essa distinção na árvore filogenética. Os animais do Peru e os indivíduos

provenientes do Brasil e dos Departamentos de Pando, Beni, Santa Cruz, La Paz e Tarija (Bolívia) classificaram-se juntos, sem uma estrutura geográfica nítida na árvore filogenética. Além disso, deve-se levar em consideração o desbalanço na amostra Peruana, que contém apenas 4 indivíduos, contra o alto número amostral proveniente da Bolívia.

As populações da Bolívia apresentaram valores baixos de F_{ST} indicando a presença de um alto fluxo gênico entre estas populações (Tabela 4.1). Na filogenia obtida um representante de *O. microtis* proveniente de Santa Cruz se comportou de maneira muito peculiar, revelando-se como o grupo irmão de todos outros *O. microtis* e *O. aff. microtis*. A sua sequência foi checada, mas como não foi averiguada nenhuma anormalidade resolveu-se manter esse indivíduo nas análises.

Quando foram conferidos os resultados cariotípicos encontrados para os animais de Santa Cruz, dentre eles estava a forma mais diferente relatada para *O. microtis* com $2n=68$ e $NFa=78$ (consulte o capítulo 3 para detalhes), esse mesmo complemento só foi compartilhado com um indivíduo do departamento de Beni. A coincidência de uma forma cariotípica muito distinta e uma classificação segregada dos demais representantes de *O. microtis* sugerem que pode ter algo diferente entre a fauna de Santa Cruz e Beni. Infelizmente não haviam disponíveis para análise tecido do mesmo animal cariotipado, um investimento que poderia tirar a dúvida se os animais com $2n=68$ e $NFa=78$ corresponderiam a este clado grupo irmão de todos *O. microtis* e *O. aff. microtis*.

As espécies da América Central *O. fulvescens* e *O. vegetus* apareceram como clados irmãos. Em relação à *O. vegetus* foi verificado que o espécime da Costa Rica se mostrou como grupo irmão dos espécimes do Panamá, devido ao número reduzido da amostra não foi possível calcular o valor de F_{ST} para estes

dois clados. Os valores da distância par a par entre o indivíduo da Costa Rica e os indivíduos do Panamá variaram entre 0,0362 a 0,0496, enquanto que as diferenças observadas entre os espécimes do Panamá variaram entre 0,009 a 0,010 e entre *O. fulvescens* e *O. vegetus* a diferença observada foi entre 0,084 a 0,121. Resumindo esses valores nota-se que a diferença encontrada normalmente entre os clados são bem maiores do que a diferença observada entre os espécimes da Costa Rica e do Panamá.

Os espécimes que constituíram o clado *O. fulvescens* não mostraram uma estrutura geográfica, os animais do México, localidade tipo da espécie se classificaram entre animais da Bolívia, Nicarágua e Belize.

Quanto ao grupo “*Andinus*” vários comentários podem ser revisados no capítulo 3, onde são assumidos dois táxons *O. andinus* e *O. aff. andinus*. Os valores elevados de F_{ST} (Tabela 4.2) sugerem que estes dois clados estão isolados. Os espécimes com $2n=60$ não se classificaram em nenhum momento com os indivíduos de Tarija que possuem $2n=58$. Em Tarija foram encontradas as duas formas cariotípicas, sendo que os valores de F_{ST} indicaram que há fluxo gênico apenas entre os representantes de Tarija que possuem $2n=60$ e as demais populações com $2n=60$ de Cochabamba, Chuquisaca e Santa Cruz.

O. messorius apareceu como grupo irmão de um primeiro clado formado por *O. rupestris* e *Oligoryzomys* sp. A, e de um segundo clado constituído por *O. moojeni*, *Oligoryzomys* sp. B, *Oligoryzomys* sp. C, *Oligoryzomys* sp. D e *Oligoryzomys* sp. E.

Finalmente, *O. longicaudatus* mostrou-se grupo irmão de *O. flavescens* provenientes da Argentina e Brasil e de *O. aff. flavescens* proveniente da Argentina e Bolívia. Os dados moleculares e citogenéticos indicam que existem as duas formas na Argentina: *O. flavescens* e *O. aff. flavescens*. O grupo

“*Longicaudatus*” se relacionam com o clado constituído por *O. chacoensis*, *O. aff. nigripes* provenientes do Sul da Bahia, *O. stramineus* e *O. nigripes*.

Tabela 4.1. Cálculo do fluxo gênico entre as populações de *O. microtis* provenientes do Equador, Peru e Bolívia (Beni, La Paz e Pando). Valores de F_{ST} abaixo de 0,25 (em negrito) indicam a presença de fluxo entre as populações. Os valores elevados destacados em cinza enfatizam a ausência de fluxo entre *O. aff. microtis* do Equador e *O. microtis* das demais localidades.

População 1	População 2	F_{ST}
<i>O. aff. microtis</i> Equador	<i>O. microtis</i> Pando	0,84762
<i>O. aff. microtis</i> Equador	<i>O. microtis</i> Beni	0,84993
<i>O. aff. microtis</i> Equador	<i>O. microtis</i> LaPaz	0,91925
<i>O. microtis</i> Peru	<i>O. microtis</i> Pando	0,43535
<i>O. microtis</i> Peru	<i>O. microtis</i> Beni	0,57706
<i>O. microtis</i> Peru	<i>O. microtis</i> LaPaz	0,66284
<i>O. microtis</i> Pando	<i>O. microtis</i> Beni	0,07233
<i>O. microtis</i> Pando	<i>O. microtis</i> LaPaz	0,03431
<i>O. microtis</i> Beni	<i>O. microtis</i> LaPaz	0,01527

Tabela 4.2. Cálculo do fluxo gênico entre *O. andinus* e *O. aff. andinus* provenientes dos Departamentos de Tarija. E entre populações de *O. andinus* provenientes de Cochabamba, Chuquisaca e Santa Cruz. Valores de F_{ST} abaixo de 0,25 (em negrito) indicam a presença de fluxo. Os valores elevados destacados em cinza enfatizam a ausência de fluxo entre a *O. andinus* e *O. aff. andinus*.

População 1	População 2	F_{ST}
<i>O. aff. andinus</i> Tarija	<i>O. andinus</i> Tarija	0,84625
<i>O. aff. andinus</i> Tarija	<i>O. andinus</i> Chuquisaca	0,81721
<i>O. aff. andinus</i> Tarija	<i>O. andinus</i> Cochabamba	0,85944
<i>O. aff. andinus</i> Tarija	<i>O. andinus</i> St Cruz	0,81687
<i>O. andinus</i> Tarija	<i>O. andinus</i> Chuquisaca	0,31921
<i>O. andinus</i> Tarija	<i>O. andinus</i> Cochabamba	0,3
<i>O. andinus</i> Tarija	<i>O. andinus</i> St Cruz	0,17763
<i>O. andinus</i> Chuquisaca	<i>O. andinus</i> Cochabamba	0,26607
<i>O. andinus</i> Chuquisaca	<i>O. andinus</i> St Cruz	-0,00885
<i>O. andinus</i> Cochabamba	<i>O. andinus</i> St Cruz	0,11905

Figura 4.1. Mapa da distribuição das espécies do gênero *Oligoryzomys* na região Neotropical, os polígonos estão baseados em dados de coleta, no exame de exemplares depositados em museus e na compilação de dados cariotípicos disponíveis na literatura.

- A= *O. fornesi*
- B= *O. microtis*
- C= *O. fulvescens*
- D= *O. vegetus*
- E= *O. andinus*
- F= *O. longicaudatus*
- G= *O. flavescens*
- H= *O. nigripes*
- I= *O. chacoensis*
- J= *O. stramineus*
- K= *O. rupestris*
- L= *O. moojeni*
- M= *O. messorius*
- N= *Oligoryzomys* sp. B
- O= *Oligoryzomys* sp. E
- P= *Oligoryzomys* sp. A
- Q= *Oligoryzomys* sp. C
- R= *Oligoryzomys* sp. D
- S= *O. aff. delicatus*

ima
lo hipóteses das
e as espécies de
143 pb do
e bootstrap
o representados
do figura
ão dos táxons.

O. flavescens mostrou uma estrutura geográfica complexa, onde apareceram segregados em um clado os animais do Espírito Santo, Rio Grande do Sul, São Paulo e Argentina, definidos no capítulo 3 como *O. flavescens*. Em um outro clado, apareceram animais da Bolívia e Argentina, denominados como *O. aff. flavescens*, sem uma estrutura geográfica clara da relação entre eles.

Os dados cariotípicos e filogenéticos indicam que na Argentina estas duas espécies podem ser encontradas em simpatria.

Os valores de F_{ST} elevados entre os animais do Brasil e da Bolívia confirmam que realmente estes clados estão isolados (Tabela 4.3).

Entre os animais da Bolívia, algumas populações parecem estar mais isoladas do que outras. Por exemplo, os animais de Cochabamba, coletados nas altitudes mais elevadas, são os que apresentaram maiores valores de F_{ST} . Os menores valores de F_{ST} observados foram entre Chuquisaca e Tarija e Chuquisaca e Argentina (Tabela 4.3).

Espécimes previamente identificados como *O. nigripes* provenientes do Sul da Bahia não foram agrupados com os demais indivíduos de *O. nigripes* provenientes do Espírito Santo, Rio Grande do Sul e São Paulo. Os valores de F_{ST} indicaram que a população da Bahia, definida com *O. aff. nigripes*, está isolada das demais populações coletadas mais ao Sul (Tabela 4.4). Apesar da segregação dos animais da Bahia parecer óbvia, deve-se levar em consideração o desbalanço amostral para esta população constituída por apenas dois exemplares. O valor da distância par a par entre *O. aff. nigripes* do Sul da Bahia e as demais populações de *O. nigripes* foi alto, em média 0,6767.

Tabela 4.3. Cálculo do fluxo gênico entre as populações de *O. flavescens* provenientes do Brasil e Argentina e *O. aff. flavescens* da Argentina e dos Departamentos Bolivianos de Chuquisaca, Cochabamba, La Paz e Tarija. Valores de F_{ST} abaixo ou próximos de 0,25 (em negrito) indicam a presença de fluxo entre as populações. Os valores elevados destacados em cinza enfatizam a ausência de fluxo entre a *O. flavescens* e *O. aff. flavescens*.

População 1	População 2	F_{ST}
<i>O. flavescens</i> Brasil	<i>O. aff. flavescens</i> Argentina	0,33426
<i>O. flavescens</i> Brasil	<i>O. aff. flavescens</i> Cochabamba	0,77484
<i>O. flavescens</i> Brasil	<i>O. aff. flavescens</i> Chuquisaca	0,73678
<i>O. flavescens</i> Brasil	<i>O. aff. flavescens</i> La Paz	0,81806
<i>O. flavescens</i> Brasil	<i>O. aff. flavescens</i> Tarija	0,75009
<i>O. flavescens</i> Argentina	<i>O. aff. flavescens</i> Cochabamba	0,34055
<i>O. aff. flavescens</i> Argentina	<i>O. aff. flavescens</i> Chuquisaca	0,25201
<i>O. aff. flavescens</i> Argentina	<i>O. aff. flavescens</i> Tarija	0,28886
<i>O. aff. flavescens</i> Cochabamba	<i>O. aff. flavescens</i> Chuquisaca	0,39378
<i>O. aff. flavescens</i> Cochabamba	<i>O. aff. flavescens</i> Tarija	0,43593
<i>O. aff. flavescens</i> Chuquisaca	<i>O. aff. flavescens</i> Tarija	0,13003

Tabela 4.4. Cálculo do fluxo gênico entre as populações de *O. nigripes* provenientes de diferentes localidades do Brasil: Bahia, Espírito Santo, São Paulo e Rio Grande do Sul. Valores de F_{ST} abaixo ou próximos de 0,25 (em negrito) indicam a presença de fluxo entre as populações.

População 1	População 2	F_{ST}
<i>O. aff. nigripes</i> Bahia	<i>O. nigripes</i> São Paulo	0,34825
<i>O. aff. nigripes</i> Bahia	<i>O. nigripes</i> Espírito Santo	0,31744
<i>O. aff. nigripes</i> Bahia	<i>O. nigripes</i> Rio Grande do Sul	0,32423
<i>O. nigripes</i> São Paulo	<i>O. nigripes</i> Espírito Santo	0,04056
<i>O. nigripes</i> São Paulo	<i>O. nigripes</i> Rio Grande do Sul	0,05661
<i>O. nigripes</i> Espírito Santo	<i>O. nigripes</i> Rio Grande do Sul	0,1044

Inferências filogenéticas: Beta fibrinogênio

As 201 sequências do intron 7 do beta fibrinogênio representaram 60 haplótipos que foram usados nas análises filogenéticas.

Não houve uma separação nítida dos táxons: *O. fornesi*, *O. aff. microtis* e *O. microtis*; *Oligoryzomys* sp. A, *O. chacoensis*, *O. andinus* e *O. aff. andinus*; e *O. aff. flavescens* e *O. flavescens*, como na árvore obtida pelos dados do citocromo b (Figura 4.3).

As outras relações filogenéticas mostraram-se semelhantes, no entanto, envolveram alternâncias de arranjos dentro de uma mesma espécie e o consenso destas topologias não evidenciou uma resolução clara dos relacionamentos inter-específicos, mostrando uma grande politomia em alguns casos (Figura 4.3).

Em *Oligoryzomys*, o gene beta fibrinogênio (FGB) está evoluindo num ritmo mais lento do que o gene cyt b, sendo certamente um marcador limitado na resolução dos relacionamentos filogenéticos inter-específicos do gênero.

O FGB tem sido utilizado em investigações recentes de mamíferos (Seddon et al. 2001; WickliVe et al., 2003; Krajewski et al., 2004; Spradling et al., 2004; Yu e Zhang, 2005). Matocq et al. (2007) sugeriram que o FGB é um marcador nuclear promissor para resolver as relações no nível intra-genérico em mamíferos e mostraram uma quantidade substancial de variação e sinal filogenético comparado a outros genes nucleares estudados em *Neotoma*. No entanto, o FGB mostrou ser um marcador limitado na resolução de relacionamentos filogenéticos em aves (Johnson e Clayton, 2000; Feldman e Omland, 2005), mas parece adequado para resolver as divergências de aves mais antigas (Weibel e Moore, 2002; Prychitko e Moore, 2003; Moyle, 2004; Sheldon et al., 2005).

- A= *O. fomesi*
- B= *O. microtis*
- C= *O. fulvescens*
- D= *O. vegetus*
- E= *O. andinus*
- F= *O. longicaudatus*
- G= *O. flavescens*
- H= *O. nigripes*
- I= *O. chacoensis*
- J= *O. stramineus*
- K= *O. rupestris*
- L= *O. moojeni*
- M= *O. messorius*
- N= *Oligoryzomys* sp. B
- O= *Oligoryzomys* sp. E
- P= *Oligoryzomys* sp. A
- Q= *Oligoryzomys* sp. C
- R= *Oligoryzomys* sp. D
- S= *O. aff. delicatus*

Figura 4.1. Mapa da distribuição das espécies do gênero *Oligoryzomys* na região Neotropical, os polígonos estão baseados em dados de coleta, no exame de exemplares depositados em museus e na compilação de dados cartográficos disponíveis na literatura.

áxima
strando
es filogenéticas
e *Oligoryzomys* a
ntron 7 do beta-
mapa indicando
cons.

Considerações filogenéticas: hipóteses dos grupos de espécies vs. hipóteses dos cenários

Segundo os dados obtidos, a discussão filogenética em *Oligoryzomys* tornou-se mais clara, primeiro porque reuniu o maior número de táxons terminais dentre os estudos já realizados e segundo por ter abarcado grande parte da distribuição geográfica do gênero.

Oligoryzomys mostrou ser um gênero monofilético, com dois clados nas posições mais basais: *O. fornesi* e *O. microtis* que se relacionam entre si e com todas as outras espécies.

Agora, a partir das hipóteses filogenéticas sugeridas pode-se testar a monofilia dos grupos propostos por Carleton e Musser (1989) e a sua composição, bem como as modificações promovidas por Weksler e Bonvicino (2005).

A maioria dos grupos foram corroborados pelos resultados das análises filogenéticas, deve-se manter os nomes dos grupos “*Fulvescens*”, “*Microtis*”, “*Andinus*” e “*Nigripes*” e alterar os nomes “*Flavescens*” e “*Rupestris*” para “*Longicaudatus*” e “*Messorius*”, respectivamente, devido a aplicação do nome mais antigo dentre as espécies que constituem os grupos. Em relação à composição dos grupos sugere-se: (veja Figura 4.4 e Tabela 4.5 para detalhes)

- i. adicionar *O. fornesi* no grupo “*Microtis*”;
- ii. adicionar *O. aff. andinus* e retirar *O. chacoensis* do grupo “*Andinus*”
- iii. adicionar *O. chacoensis* e retirar *O. longicaudatus* do grupo “*Nigripes*”
- iv. adicionar *O. longicaudatus*, *O. flavescens* e *O. aff. flavescens* no grupo “*Longicaudatus*”;
- v. adicionar *O. messorius*, *O. rupestris*, *O. moojeni*, *Oligoryzomys* sp. A, *Oligoryzomys* sp. B, *Oligoryzomys* sp. C, *Oligoryzomys* sp. D e *Oligoryzomys* sp. E no grupo “*Messorius*”.

Figura 4.4. Hipóteses filogenéticas dos grupos de espécies de *Oligoryzomys* obtidas por máxima verossimilhança, baseada em sequências do gene mitocondrial citocromo b (1140pb). Em evidência na vertical os grupos de espécies. Em sublinhado os grupos renomeados neste trabalho.

Tabela 4.5. Nova proposta dos grupos de espécies obtida neste trabalho, em comparação aos grupos propostos por Carleton e Musser (1989) e Weksler e Bonvicino (2005) para o gênero *Oligoryzomys*. Os asteriscos significam espécies não incluídas no estudo. ^a sinonímia de *O. nigripes*.

Grupos de espécies do gênero <i>Oligoryzomys</i>	Carleton e Musser, 1989	Weksler e Bonvicino, 2005	Paresque, presente trabalho
<i>Fulvescens</i>	<i>O. fulvescens</i> <i>O. arenalis</i> * <i>O. vegetus</i>	<i>O. fulvescens</i> <i>O. f. costaricensis</i> <i>O. f. fulvescens</i>	<i>O. fulvescens</i> <i>O. vegetus</i>
<i>Microtis</i>	<i>O. microtis</i>		<i>O. microtis</i> <i>O. aff. microtis</i> <i>O. fornesi</i>
<i>Andinus</i>	<i>O. andinus</i> <i>O. chacoensis</i>	<i>O. andinus</i> <i>O. chacoensis</i>	<i>O. andinus</i> <i>O. aff. andinus</i>
<i>Flavescens</i>	<i>O. flavescens</i>	<i>O. flavescens</i>	<i>O. flavescens</i>
Sugere usar o nome <i>Longicaudatus</i>	<i>Oligoryzomys</i> sp. A <i>Oligoryzomys</i> sp. B	<i>O. microtis</i> <i>O. fornesi</i> <i>O. moojeni</i>	<i>O. aff. flavescens</i> <i>O. longicaudatus</i>
<i>Nigripes</i>	<i>O. nigripes</i> <i>O. eliurus</i> ^a <i>O. destructor</i> <i>O. longicaudatus</i> <i>O. delticola</i> ^a	<i>O. nigripes</i> <i>O. stramineus</i> <i>O. destructor</i> <i>O. longicaudatus philippii</i> <i>O. longicaudatus magellanicus</i>	<i>O. nigripes</i> <i>O. aff. nigripes</i> <i>O. stramineus</i> <i>O. chacoensis</i>
<i>Rupestris</i>		<i>O. rupestris</i>	<i>O. messorius</i> <i>O. rupestris</i> <i>O. moojeni</i> <i>Oligoryzomys</i> sp. A <i>Oligoryzomys</i> sp. B <i>Oligoryzomys</i> sp. C <i>Oligoryzomys</i> sp. D <i>Oligoryzomys</i> sp. E

A abordagem e a interpretação dos resultados obtidos por Miranda *et al.* (2009) foram baseadas nas árvores obtidas pelo gene mitocondrial citocromo b e pelo gene IRBP, os autores propuseram um cenário no qual as espécies de *Oligoryzomys* foram arranjadas em um padrão como se eles tivessem ocupado o continente sul-americano de acordo com um gradiente territorial no sentido norte-sul e corroboraram a hipótese desse cenário baseando-se na posição basal dos táxons amazônicos (*O. microtis*) seguido por um táxon do cerrado (*O. fornesi*), enquanto as linhagens da região sul do continente classificaram-se em posições derivadas.

As hipóteses das relações filogenéticas obtidas aqui sugerem um cenário muito mais complexo do que o proposto por Miranda *et al.* (2009). A reconstrução das filogenias baseadas nas sequências do gene mitocondrial citocromo b e do FGB sugerem que de fato *O. microtis* e *O. fornesi* ocupam a posição mais basal na topologia, no entanto, a posição ocupada por outros clados Amazônicos, do Cerrado, da América Central, dos Andes, da Mata Atlântica, do Chaco e da Caatinga, classificaram-se em posições que não corroboram o arranjo de dois clados: Cerrado-Amazonas e Pampa-Andino como propuseram Miranda *et al.* (2009).

A situação atual do conhecimento acerca da filogeografia de *Oligoryzomys* revelou uma controvérsia tanto na composição dos clados quanto na relação filogenética entre elas.

O próximo capítulo trará essas discussões filogeográficas testando as hipóteses filogenéticas obtidas para *Oligoryzomys* e as suas relações com os eventos geológicos ocorridos na América do Sul, procurando entender quais foram os processos evolutivos envolvidos na definição dos padrões atuais das espécies.

Morfometria

A dispersão das medidas euclidianas obtidas através dos marcadores geométricos no crânio estão sumarizadas na Tabela 4.6. As espécies *O. fornesi*, *O. microtis* e *O. delicatus* apresentaram as menores dimensões cranianas, enquanto que *O. nigripes* e *O. stramineus* apresentaram as maiores medidas. *O. moojeni*, *O. rupestris*, *O. delicatus* e *O. flavescens* mostraram os valores das medidas oscilando entre valores altos e valores baixos dependendo das variáveis consideradas (Tabela 4.6).

A investigação da conformidade entre os clados sugeridos pela filogenia e a variação morfológica foi aplicada à medidas do crânio e submetidas a uma Análise Discriminante Canônica. Nesta análise, cada espécie, representou grupos estabelecidos *a priori*.

O sumário estatístico mostrou que a análise discriminante foi capaz de classificar corretamente 93,6% dos casos. Três grupos tiveram 100% dos seus indivíduos classificados corretamente: *O. delicatus*, *O. microtis* e *O. rupestris* (Tabela 4.7). Dentre os indivíduos classificados incorretamente estão: 7 indivíduos de *O. nigripes*, dos quais 3 foram classificados como *O. stramineus*, 1 como *O. flavescens*, 1 como *O. fornesi* e 2 como *O. rupestris*; 1 indivíduo de *O. flavescens* foi classificado como *O. moojeni*; 4 indivíduos de *O. fornesi*, dos quais 1 foi identificado como *O. nigripes*, 1 como *O. flavescens*, 1 como *O. moojeni* e 1 como *O. microtis*; 1 indivíduo de *O. moojeni* foi classificado como *O. delicatus*; e 1 indivíduo de *O. stramineus* foi classificado como *O. nigripes*.

Tabela 4.6. Estatísticas descritivas, em mm, das medidas euclidianas obtidas a partir dos marcadores geométricos para as espécies de *Oligoryzomys* estudadas; são fornecidos a média, valores máximo e mínimo, desvio padrão e o tamanho amostral.

Variáveis	<i>O. nigripes</i>					<i>O. flavescens</i>				
	N=107					N=32				
	Média	Min	Max	Var	D P	Média	Min	Max	Var	D P
ISPM	5,0150	4,3312	5,7245	0,0834	0,2888	4,6309	3,8504	5,5787	0,1840	0,4290
ISNSL	3,6342	2,5447	4,4158	0,1530	0,3912	3,3990	2,5797	4,1071	0,1152	0,3394
ISPNS	12,0268	10,6396	13,3379	0,2804	0,5295	11,2671	9,6101	12,6085	0,5488	0,7408
PMFIA	2,0202	1,6833	2,4214	0,0319	0,1786	1,8684	1,3754	2,2886	0,0695	0,2636
PMFIP	3,0047	2,3440	3,6265	0,0625	0,2501	2,9987	2,5974	3,3969	0,0520	0,2281
PMMT1	6,7245	5,7790	7,5184	0,1096	0,3311	6,4001	5,5265	7,1699	0,1245	0,3529
NSLNA	9,4450	7,7337	11,0713	0,5139	0,7169	8,7010	7,4065	10,4320	0,5639	0,7509
NSLFIA	5,5992	4,8171	6,4645	0,1144	0,3383	5,3023	4,6065	6,2011	0,1547	0,3933
NSLFIP	9,9613	8,7620	11,0240	0,2413	0,4912	9,4849	7,9265	10,6181	0,3911	0,6254
NABR	8,8713	7,1375	10,5217	0,3934	0,6272	8,6778	7,4865	10,5100	0,6986	0,8358
NAFM1	3,4160	2,8720	4,0373	0,0532	0,2306	3,3370	2,8660	3,8909	0,0681	0,2609
NAPNS	8,1988	7,2360	9,0993	0,1444	0,3801	7,9098	6,8288	9,0690	0,3064	0,5536
BRPT1	4,7104	4,0758	5,4153	0,0847	0,2911	4,7093	4,2312	5,3905	0,0782	0,2797
BRAPET1	8,1043	7,4115	8,7976	0,0873	0,2955	7,8435	7,3931	8,4343	0,0902	0,3003
PTFM1	6,3108	5,5871	7,2413	0,1256	0,3544	5,9096	5,3322	6,4351	0,0643	0,2536
PTAPET1	8,3099	7,6354	8,9439	0,0918	0,3030	7,9721	7,3248	8,8100	0,1460	0,3821
PTBA1	11,2965	10,2617	12,5112	0,1759	0,4194	10,8007	9,6725	11,8984	0,3527	0,5939
PTEAM1	7,5413	6,8963	8,3696	0,1061	0,3257	7,2957	6,6106	8,3384	0,2360	0,4857
PTZYGO1	6,1445	5,4550	7,0268	0,1174	0,3426	5,7610	4,9356	6,5733	0,1590	0,3988
PTTSP1	4,0087	3,4663	4,5634	0,0552	0,2350	3,7459	3,1680	4,2125	0,0633	0,2515
FMFIA	7,0685	6,0926	8,1391	0,1600	0,4000	6,4978	5,3708	7,6751	0,3424	0,5851
FMMT1	7,5609	6,8451	8,4806	0,1133	0,3367	7,0987	6,3364	7,6666	0,1284	0,3583
FIAPFIP	4,8193	4,3034	5,5366	0,0659	0,2566	4,6096	4,0104	5,1505	0,0926	0,3044
FIPMT1	3,9905	3,6125	4,7522	0,0447	0,2113	3,6906	3,1649	4,2491	0,0904	0,3006
FIPZYGO1	8,0990	7,0701	9,0784	0,1824	0,4270	7,6903	6,5728	8,9146	0,3485	0,5903
FIPTSP1	6,3304	5,3086	7,3617	0,1504	0,3878	5,8211	4,8012	7,1560	0,3056	0,5528
MTPNS1	1,7826	1,4688	2,1360	0,0131	0,1146	1,7430	1,5137	1,9347	0,0101	0,1005
PNSAPET1	5,1544	4,3960	6,0364	0,1271	0,3564	4,8428	4,1288	5,7823	0,1872	0,4327
APETBA1	3,8925	3,3537	4,4243	0,0632	0,2513	3,6491	2,9958	4,3284	0,0950	0,3083
APETTS1	3,2406	2,6440	3,8939	0,0424	0,2059	3,1262	2,7004	3,4378	0,0333	0,1824
BAEAM1	6,0591	5,5188	6,7618	0,0568	0,2383	5,8984	5,2349	6,5636	0,1119	0,3346
EAMZYGO1	4,7793	3,7923	6,3086	0,1666	0,4082	4,3713	3,5201	5,2933	0,2018	0,4492
ZYGOTSP1	3,2431	2,5193	3,9008	0,0822	0,2868	3,1941	2,3373	3,6747	0,0916	0,3027
PTAS1	7,7653	6,9739	9,2049	0,1889	0,4346	7,6360	7,0084	8,5179	0,1908	0,4368
JPAS1	5,0898	4,1786	6,0546	0,1340	0,3661	4,5393	3,3865	5,8155	0,3726	0,6104
BAOPI	4,0123	3,3675	4,5447	0,0635	0,2520	4,0244	3,4233	4,3638	0,0516	0,2273

Continua...

Continua...

	<i>O. fornesi</i>					<i>O. moojeni</i>				
	N=37					N=8				
	Média	Min	Max	Var	D P	Média	Min	Max	Variância	D P
ISPM	4,3382	3,5654	5,0375	0,1547	0,3933	4,4216	3,7875	4,8634	0,1955	0,4421
ISNSL	3,0786	2,4066	3,7852	0,1155	0,3398	3,4837	3,1377	3,8062	0,0570	0,2388
ISPNS	10,4354	9,0320	12,0449	0,5972	0,7728	10,9027	9,9403	11,6056	0,5107	0,7146
PMFIA	1,7837	1,3570	2,0078	0,0327	0,1809	1,7947	1,5697	2,0291	0,0319	0,1787
PMFIP	2,4052	1,7494	3,2424	0,1082	0,3290	2,5356	2,1314	2,8837	0,1005	0,3169
PMMT1	5,8920	5,0412	6,6046	0,1773	0,4211	6,2462	5,8968	6,5489	0,0582	0,2412
NSLNA	8,3103	6,6186	9,9691	0,7225	0,8500	8,5124	7,1513	9,9790	1,2612	1,1230
NSLFIA	4,9956	3,9545	6,1178	0,2526	0,5026	5,2522	4,6010	5,6274	0,1729	0,4158
NSLFIP	8,5446	7,1292	10,5016	0,6241	0,7900	8,8370	8,1117	9,7694	0,3826	0,6185
NABR	8,1545	6,7984	9,8072	0,4184	0,6468	8,3465	8,2144	8,5212	0,0093	0,0966
NAFM1	3,1514	2,2876	3,7776	0,0972	0,3117	3,2771	3,0346	3,5966	0,0297	0,1723
NAPNS	7,3743	6,3729	8,4151	0,2616	0,5115	7,6500	7,3683	7,8172	0,0223	0,1493
BRPT1	4,6646	4,1791	5,2576	0,0621	0,2493	4,4968	3,9798	4,9996	0,0939	0,3065
BRAPET1	7,3458	6,5984	7,7575	0,1051	0,3243	7,4681	7,1446	7,9001	0,0670	0,2588
PTFM1	5,7541	4,7431	6,7499	0,2150	0,4637	5,8022	5,0822	6,5792	0,3189	0,5647
PTAPET1	7,6320	6,8647	8,7518	0,2548	0,5048	7,6853	7,3308	8,0093	0,0596	0,2442
PTBA1	10,2168	9,0979	11,6136	0,3957	0,6290	10,3711	9,9327	10,9927	0,1185	0,3442
PTEAM1	6,8617	6,0378	8,0250	0,2293	0,4788	6,9839	6,5004	7,4364	0,1144	0,3383
PTZYG01	5,5212	4,8649	6,3213	0,1088	0,3298	5,5821	4,9542	6,0931	0,1569	0,3961
PTTSP1	3,7439	3,3317	4,4187	0,0777	0,2788	3,7655	3,4467	4,1407	0,0457	0,2139
FMFIA	6,0286	5,1751	7,2634	0,2797	0,5289	6,3018	5,9299	6,5648	0,0586	0,2420
FMMT1	6,7617	6,0007	8,1825	0,2425	0,4925	6,9390	6,5109	7,3715	0,0783	0,2797
FIAFIP	3,9395	3,3931	4,8025	0,1496	0,3868	4,1193	3,7157	4,7554	0,1373	0,3705
FIPMT1	3,7814	3,2254	4,3024	0,0702	0,2650	3,9566	3,6828	4,2204	0,0236	0,1535
FIPZYG01	7,2473	6,0392	8,5076	0,4102	0,6405	7,4255	6,8633	8,1119	0,2863	0,5350
FIPTSP1	5,7785	4,8457	6,7329	0,2295	0,4790	6,0154	5,6463	6,4971	0,0880	0,2967
MTPNS1	1,6323	1,3599	1,8628	0,0166	0,1289	1,6718	1,4741	1,8700	0,0188	0,1370
PNSAPET1	4,4693	3,6357	5,4440	0,2300	0,4796	4,7242	4,2171	5,5356	0,2908	0,5393
APETBA1	3,3941	2,8211	3,9317	0,0769	0,2773	3,3695	3,0617	3,7004	0,0485	0,2203
APETTS1	3,1802	2,6799	3,6976	0,0529	0,2300	3,0665	2,7022	3,3505	0,0431	0,2075
BAEAM1	5,5656	4,8593	6,2976	0,1030	0,3209	5,5869	5,3020	5,9857	0,0643	0,2536
EAMZYG01	4,0748	3,1049	4,7896	0,1884	0,4341	4,0811	3,7615	4,5943	0,0784	0,2800
ZYGOTSP1	2,7631	2,2305	3,6609	0,1235	0,3514	2,7773	2,3778	3,4484	0,1136	0,3371
PTAS1	6,9188	6,2874	7,4792	0,1370	0,3702	7,1643	6,7739	7,4884	0,0661	0,2570
JPAS1	4,7710	3,9723	5,5932	0,1203	0,3469	4,8490	4,2325	5,4897	0,2070	0,4550
BAOPI	3,7319	3,2221	4,3214	0,0651	0,2552	3,8072	3,5334	4,0659	0,0441	0,2099

Continua...

Continua...

	<i>O. rupestris</i>					<i>O. microtis</i>				
	N=8					N=5				
	Média	Min	Max	Var	D P	Média	Min	Max	Var	D P
ISPM	4,7556	4,4656	5,2221	0,0967	0,3110	4,2610	4,0777	4,5336	0,0343	0,1852
ISNSL	3,4858	3,1200	3,7513	0,0450	0,2121	2,5593	1,6206	3,4073	0,4164	0,6453
ISPNS	11,4563	10,7423	12,2408	0,2493	0,4993	10,3542	9,6176	10,9615	0,2491	0,4991
PMFIA	1,6117	1,4777	1,7765	0,0132	0,1151	1,6295	1,5323	1,6982	0,0042	0,0648
PMFIP	2,6888	2,6095	2,8230	0,0053	0,0731	2,5132	2,0865	3,0541	0,1558	0,3947
PMMT1	6,2096	5,8507	6,4637	0,0500	0,2235	6,0570	5,4608	6,7323	0,2321	0,4818
NSLNA	8,6819	8,3095	9,3384	0,1290	0,3592	7,9013	7,1753	8,3414	0,2215	0,4706
NSLFIA	5,5283	5,2048	6,0774	0,0815	0,2854	4,3418	3,6351	4,8277	0,2108	0,4592
NSLFIP	9,2251	8,7688	9,8658	0,1487	0,3856	7,8994	6,9193	8,8120	0,5396	0,7346
NABR	8,2145	7,6468	8,8880	0,2172	0,4661	8,1162	6,7125	9,3445	1,1303	1,0631
NAFM1	3,2891	3,1093	3,5950	0,0334	0,1829	3,0535	2,8019	3,2535	0,0386	0,1964
NAPNS	7,8780	7,4123	8,2462	0,0898	0,2997	7,1623	6,9395	7,4740	0,0397	0,1992
BRPT1	4,5735	4,2375	4,8108	0,0422	0,2053	4,7532	4,2758	5,0518	0,0948	0,3080
BRAPET1	7,8358	7,4631	8,1728	0,0637	0,2523	7,4831	7,1710	7,9145	0,0957	0,3093
PTFM1	5,6146	5,3143	5,9751	0,0675	0,2597	5,4996	4,9878	6,1462	0,2180	0,4669
PTAPET1	8,0486	7,7480	8,3967	0,0684	0,2616	7,5955	7,2034	8,2549	0,1809	0,4253
PTBA1	10,8455	10,4479	11,2819	0,0708	0,2661	10,4057	9,7514	10,9283	0,2383	0,4881
PTEAM1	7,3411	6,9814	7,6758	0,0671	0,2590	7,0120	6,6380	7,1900	0,0539	0,2322
PTZYG01	5,9626	5,8210	6,0369	0,0064	0,0797	5,5981	5,1104	6,1544	0,1656	0,4070
PTTSP1	3,8354	3,3717	4,0878	0,0470	0,2167	3,8290	3,5465	4,1271	0,0486	0,2204
FMFIA	6,4324	5,8453	6,9189	0,1425	0,3775	6,1350	5,7149	6,9132	0,2640	0,5138
FMMT1	7,0502	6,6305	7,3532	0,0662	0,2573	6,6496	6,4296	6,9309	0,0411	0,2027
FIAFIP	4,0746	3,8607	4,2916	0,0275	0,1659	3,9774	3,5237	4,5438	0,1677	0,4095
FIPMT1	3,8297	3,6073	4,1300	0,0382	0,1955	3,8480	3,5359	4,0488	0,0384	0,1958
FIPZYG01	7,6784	6,8272	8,0888	0,1975	0,4444	6,6788	6,6031	6,7479	0,0048	0,0695
FIPTSP1	5,8201	5,5742	6,1288	0,0490	0,2214	5,7186	5,6288	5,8874	0,0121	0,1101
MTPNS1	1,7965	1,6656	2,0257	0,0121	0,1100	1,6397	1,5194	1,7800	0,0136	0,1167
PNSAPET1	4,5370	3,9221	5,0001	0,1544	0,3929	4,4168	3,6047	5,2475	0,4389	0,6625
APETBA1	3,5705	3,4008	3,7843	0,0177	0,1332	3,3260	3,1763	3,5370	0,0207	0,1439
APETTS1	3,0279	2,8322	3,2239	0,0216	0,1471	3,1185	2,8229	3,3604	0,0429	0,2071
BAEAM1	5,6018	5,2388	5,8462	0,0434	0,2084	5,4258	4,9826	5,8892	0,1620	0,4025
EAMZYG01	4,3603	3,9886	4,7410	0,0459	0,2142	4,1577	3,4078	4,6235	0,2521	0,5021
ZYGOTSP1	3,1667	2,7275	3,5447	0,0961	0,3101	2,4733	2,2848	2,7630	0,0501	0,2238
PTAS1	7,9072	7,5721	8,1671	0,0280	0,1672	7,4735	7,1712	7,8754	0,1185	0,3442
JPAS1	4,5685	4,3217	5,0153	0,0518	0,2277	4,7865	4,4349	5,1790	0,0741	0,2722
BAOPI	3,8358	3,6819	4,0859	0,0204	0,1429	4,0293	3,8014	4,3254	0,0502	0,2240

Continua...

Continua...

	<i>O. delicatus</i>					<i>O. stramineus</i>				
	N=9					N=13				
	Média	Min	Max	Var	D P	Média	Min	Max	Var	D P
ISPM	4,6278	4,2437	4,9490	0,0778	0,2790	5,1580	4,5367	5,7759	0,1313	0,3624
ISNSL	3,1911	2,6080	3,6686	0,1033	0,3215	3,8878	3,5102	4,2989	0,0679	0,2605
ISPNS	10,5619	9,7372	11,3800	0,3449	0,5872	12,4135	10,8721	13,4382	0,5078	0,7126
PMFIA	1,8029	1,6876	2,0061	0,0141	0,1189	2,2119	1,9429	2,5717	0,0359	0,1894
PMFIP	2,1400	2,0065	2,4954	0,0250	0,1580	3,0572	2,8375	3,3705	0,0231	0,1519
PMMT1	5,8084	5,4545	6,0461	0,0451	0,2123	6,8859	6,3952	7,4141	0,1055	0,3248
NSLNA	8,8576	7,5760	9,7019	0,5159	0,7183	9,7629	8,5342	10,7366	0,4090	0,6396
NSLFIA	5,1198	4,5935	5,6203	0,1375	0,3709	5,6323	4,6934	6,5218	0,2642	0,5140
NSLFIP	8,4166	7,6856	8,8211	0,2275	0,4770	10,1493	8,8189	11,0304	0,4109	0,6410
NABR	7,9276	7,1201	9,0429	0,3448	0,5872	9,1851	8,3345	10,1503	0,3804	0,6167
NAFM1	3,2391	2,8494	3,5874	0,0681	0,2609	3,4831	3,1406	3,8854	0,0681	0,2609
NAPNS	7,1044	6,3885	7,6671	0,1887	0,4344	8,5066	8,0923	9,0731	0,1109	0,3331
BRPT1	4,5631	4,2501	4,8315	0,0468	0,2163	4,7062	4,3295	5,0292	0,0537	0,2318
BRAPET1	7,2146	7,0878	7,3208	0,0059	0,0767	8,0354	7,4797	8,4846	0,0881	0,2969
PTFM1	5,7727	5,2116	6,1804	0,0974	0,3121	6,6336	5,8164	7,2531	0,1580	0,3975
PTAPET1	7,5777	7,4065	7,8419	0,0305	0,1745	8,4469	8,0591	8,7397	0,0500	0,2235
PTBA1	10,3077	9,9161	11,0786	0,1529	0,3910	11,3728	10,1860	11,9394	0,2603	0,5101
PTEAM1	6,9856	6,7873	7,3610	0,0440	0,2097	7,8167	7,2967	8,2702	0,0719	0,2682
PTZYGO1	5,7709	5,3753	6,4536	0,1425	0,3775	6,4575	6,2155	6,9379	0,0570	0,2388
PTTSP1	3,6867	3,5531	3,9475	0,0195	0,1396	4,2932	4,0231	4,5553	0,0212	0,1457
FMFIA	6,0130	5,4434	6,5937	0,1320	0,3634	7,4254	6,4945	8,1045	0,1805	0,4249
FMMT1	6,6656	6,0516	7,1712	0,1325	0,3640	7,6465	6,9321	8,1526	0,1333	0,3651
FIAFIP	3,6614	3,3480	4,0612	0,0399	0,1997	5,0288	4,3663	5,6751	0,1142	0,3379
FIPMT1	3,9604	3,6336	4,3393	0,0546	0,2337	4,1555	3,8330	4,3737	0,0318	0,1782
FIPZYGO1	7,3956	6,7247	8,1409	0,1678	0,4096	8,5750	7,5978	9,3358	0,3445	0,5869
FIPTSP1	5,9965	5,4274	6,4476	0,1193	0,3454	6,5776	6,2337	6,9473	0,0453	0,2129
MTPNS1	1,6726	1,5263	1,8052	0,0075	0,0864	1,8896	1,6532	2,1278	0,0160	0,1264
PNSAPET1	4,7572	4,4059	5,1691	0,0644	0,2537	5,0608	4,4650	5,5449	0,1028	0,3207
APETBA1	3,5405	3,2639	3,7091	0,0256	0,1599	4,0112	3,4233	4,5436	0,0985	0,3138
APETTS1	3,1465	2,9178	3,3765	0,0234	0,1530	3,4906	3,3218	3,7759	0,0251	0,1585
BAEAM1	5,5501	5,1965	6,0479	0,0661	0,2571	6,2261	5,7506	6,4567	0,0551	0,2348
EAMZYGO1	4,5367	4,2776	4,8084	0,0320	0,1789	4,3017	3,4689	5,2559	0,3635	0,6029
ZYGOTSP1	3,0762	2,6485	3,4924	0,0809	0,2844	3,3331	2,9856	3,9647	0,0706	0,2658
PTAS1	6,8335	6,2138	7,4904	0,2191	0,4681	7,6722	7,1460	8,2171	0,0754	0,2746
JPAS1	5,3395	5,0192	5,6045	0,0468	0,2163	5,2404	4,6846	5,5806	0,0759	0,2755
BAOPI	3,7216	3,3878	4,0514	0,0442	0,2103	4,1891	3,9526	4,4771	0,0258	0,1607

Tabela 4.7. Sumário estatístico da classificação dos indivíduos classificados conforme escores gerados pela função canônica discriminante entre os grupos estabelecidos a priori: *O. delicatus*, *O. flavescens*, *O. fornesi*, *O. microtis*, *O. moojeni*, *O. nigripes*, *O. rupestris* e *O. stramineus*. Em negrito o número de indivíduos classificados incorretamente.

Classificação segundo escores gerados pela função discriminante									N total
Espécies	O.	O.	O.	O.	O.	O.	O.	O.	
	<i>nigripes</i>	<i>flavescens</i>	<i>fornesi</i>	<i>moojeni</i>	<i>rupestris</i>	<i>microtis</i>	<i>delicatus</i>	<i>stramineus</i>	
<i>O. nigripes</i>	100	1	1	0	2	0	0	3	107
<i>O. flavescens</i>	0	31	0	1	0	0	0	0	32
Grupos <i>O. fornesi</i>	1	1	33	1	0	1	0	0	37
Originais <i>O. moojeni</i>	0	0	0	7	0	0	1	0	8
<i>O. rupestris</i>	0	0	0	0	8	0	0	0	8
<i>O. microtis</i>	0	0	0	0	0	5	0	0	5
<i>O. delicatus</i>	0	0	0	0	0	0	9	0	9
<i>O. stramineus</i>	1	0	0	0	0	0	0	12	13

Para uma aplicação prática das análises morfométricas foram agrupadas nos testes estatísticos as espécies que ocorrem em simpatria, assim pode ser averiguado o poder das análises na diferenciação das espécies simpátricas que, normalmente, é onde se tem as maiores dúvidas no momento da atribuição dos nomes.

Na primeira análise discriminante foram incluídas 3 espécies que podem ser encontradas em simpatria: *O. flavescens*, *O. fornesi* e *O. nigripes*. O primeiro e o segundo eixo discriminante (FD1 e FD2) sumarizaram 66,4% e 33,6%, respectivamente, da diferenciação craniométrica entre as espécies. Quando os escores individuais foram rotulados de acordo com seus grupos específicos, as três espécies puderam ser identificadas ocupando regiões quase exclusivas do espaço multivariado, sugerindo diferenciação craniométrica clara entre elas. A primeira tendência de variação se expressa ao longo da FD1 representando a diferenciação entre *O. nigripes* e *O. fornesi*. O segundo contínuo de diferenciação, representado ao longo da FD2, ilustra a discriminação de *O. flavescens* (Figura 4.5).

Figura 4.5. Escores da primeira função discriminante (FD1) versus escores da segunda função discriminante (FD2) revelando o padrão de diferenciação morfométrica de *O. flavescens*, *O. fornesi* e *O. nigripes*.

Dentre as 36 medidas analisadas, 20 foram significativamente diferentes entre as três espécies: ISPM, ISNSL, ISPNS, PMMT1, NSLFIA, NSLFIP, NAPNS, BRAPET1, PTAPET1, PTBA1, PTEAM1, FMFIA, FMMT1, FIAFIP, FIPZYGO1, PNSAPET1, BAEAM, EAMZYGO1, JPAS1 e APETBA (Tabela 4.8).

Além destas medidas citadas acima *O. nigripes* mostrou diferenças significativas em relação à *O. flavescens* e *O. fornesi* para PTZYGO, PTFM1, PTTSP1, FIAMT1 e FIATSP1. Para as medidas BAOPI, NABR, NAFM1, MTPNS1, ZYGOTSP e PTAS1 *O. fornesi* mostrou diferenças significativas em relação a *O. nigripes* e *O. flavescens*.

Tabela 4.8. Sumário da análise de variância (ANOVA) que indicou quais variáveis craniométricas mostraram-se significativamente diferentes entre *O. fornesi*, *O. flavescens* e *O. nigripes*, espécies simpátricas em diferentes localidades do Brasil. Em destaque cinza estão as duas variáveis que não foram significativamente diferentes.

Variáveis	Wilks' Lambda	F	Sig.
ISPM	,594	59,136	,000
ISNSL	,733	31,472	,000
ISPNS	,484	92,342	,000
PMFIA	,793	22,615	,000
PMFIP	,545	72,172	,000
PMMT1	,530	76,657	,000
NSLNA	,706	35,989	,000
NSLFIA	,712	35,057	,000
NSLFIP	,520	79,806	,000
NABR	,847	15,582	,000
NAFM1	,854	14,824	,000
NAPNS	,645	47,622	,000
BRPT1	,996	,386	,681
BRAPET1	,503	85,504	,000
PTFM1	,692	38,521	,000
PTAPET1	,637	49,239	,000
PTBA1	,568	65,722	,000
PTEAM1	,676	41,380	,000
PTZYGO1	,640	48,706	,000
PTTSP1	,784	23,807	,000
FMFIA	,539	73,860	,000
FMMT1	,562	67,483	,000
FIAFIP	,417	120,834	,000
FIPMT1	,783	23,973	,000
FIPZYGO1	,683	40,232	,000
FIPTSP1	,739	30,588	,000
MTPNS1	,788	23,302	,000
PNSAPET1	,673	42,025	,000
APETBA1	,633	50,050	,000
APETTS1	,954	4,154	,017
BAEAM1	,662	44,081	,000
EAMZYGO1	,678	41,099	,000
ZYGOTSP1	,712	35,033	,000
PTAS1	,608	55,775	,000
JPAS1	,779	24,566	,000
BAOPI	,820	19,014	,000

Na segunda análise discriminante foram incluídas 3 espécies de *Oligoryzomys* que já tiveram suas relações de nomes vs. cariótipos muito confundidos na literatura: *O. nigripes*, *O. fornesi* e *O. stramineus*. O cariótipo hoje associado à *O. fornesi* foi descrito por Furtado (1981) e Andrades-Miranda *et al.* (2001) como pertencente à *O. eliurus*. No entanto, nenhum dos autores justificaram quais características dos indivíduos analisados eram compartilhadas com as descrições originais da espécie, explicando assim sua inclusão neste táxon.

Segundo a descrição original de *O. eliurus* (Wagner, 1845), o holótipo desta espécie possui dimensões corporais maiores do que os exemplares de *O. fornesi* analisados neste trabalho. Furtado (1981) relacionou o mesmo cariótipo reconhecido hoje para *O. stramineus* à *O. aff. eliurus*, para espécimes provenientes do estado de Pernambuco em vegetação da Caatinga. A validade do nome *O. eliurus* foi questionada na literatura por Bonvicino e Weksler (1998), atualmente o nome está na lista de espécies reconhecidas para o gênero *Oligoryzomys* (Carleton e Musser, 2005), no entanto, as similaridades entre as dimensões corpóreas e área de ocorrência levam a hipótese que *O. eliurus* seja sinônimo junior de *O. nigripes*.

Nesta segunda análise, o primeiro e o segundo eixos discriminantes (FD1 e FD2) sumarizaram 73,9% e 26,1%, respectivamente, da diferenciação craniométrica entre as espécies. Quando os escores individuais foram rotulados de acordo com seus grupos específicos, as três espécies puderam ser identificadas ocupando regiões quase exclusivas do espaço multivariado, sugerindo diferenciação craniométrica entre elas. A primeira tendência de variação se expressa ao longo da FD1 representando a diferenciação entre *O.*

nigripes e *O. fornesi*. O segundo contínuo de diferenciação, representado ao longo da FD2, ilustra a discriminação de *O. stramineus* (Figura 4.6).

Figura 4.6. Escores da primeira função discriminante (FD1) versus escores da segunda função discriminante (FD2) revelando o padrão de diferenciação morfológica entre *O. stramineus*, *O. fornesi* e *O. nigripes*.

Para a maioria das variáveis *O. stramineus* apresentou medidas do crânio maiores do que *O. nigripes* e *O. fornesi* e *O. nigripes* maiores do que *O. fornesi* (Tabela 4.6). Dentre todas medidas analisadas, apenas BRPT1 não foi significativamente diferente. A classificação dos grupos através da análise discriminante foi capaz de acertar 96,8% dos casos, segundo a análise 3 espécimes de *O. nigripes* foram classificados como *O. stramineus*, 1 espécime de *O. fornesi* foi classificado como *O. nigripes* e 1 espécime de *O. stramineus* foi classificado como *O. nigripes*.

Na terceira análise discriminante foram incluídas 6 espécies de *Oligoryzomys*: *O. delicatus*, *O. fornesi*, *O. flavescens*, *O. microtis*, *O. moojeni* e *O. rupestris*. Os grupos revelaram-se bem diferenciados ao longo das duas primeiras funções discriminantes (Figura 4.7), que juntas abrangeram 73,2% da variação craniométrica entre as amostras. A maior parte da discriminação entre os grupos está representada pela FD1 que foi um descritor multivariado das diferenças de tamanho craniano entre as amostras. A FD 2 mostrou-se mais eficiente, nesse caso, para discriminar os indivíduos de *O. microtis*.

Dentre as 6 espécies incluídas, *O. microtis* e *O. fornesi* apresentaram as menores dimensões do crânio, enquanto *O. rupestris* apresentou as maiores dimensões cranianas (Tabela 4.6). A análise discriminante classificou 97% dos casos corretamente, dentre os erros estão 2 indivíduos de *O. fornesi* que foram classificados como *O. flavescens* e 1 indivíduo de *O. fornesi* classificado como *O. moojeni*.

Dentre as variáveis, 7 não se mostraram significativamente diferentes na análise discriminante: NSLNA, NAFM1, BRPT1, PTFM1, PTTSP1, FIPTSP1 e APETTS1 (Tabela 4.9).

Figura 4.7. Escores da primeira função discriminante (FD1) versus escores da segunda função discriminante (FD2) revelando o padrão de diferenciação morfológica de *O. delicatus*, *O. fornesi* e *O. microtis*, *O. rupestris*, *O. moojeni* e *O. flavescens*.

Tabela 4.9. Sumário da análise de variância (ANOVA) que indicou quais variáveis craniométricas mostraram-se significativamente diferentes entre *O. fornesi*, *O. flavescens* e *O. microtis*, *O. rupestris*, *O. moojeni* e *O. delicatus*. Em destaque cinza estão as sete variáveis que não foram significativamente diferentes.

Variáveis	Wilks' Lambda	F	Sig.
ISPM	,848	3,329	,008
ISNSL	,685	8,541	,000
ISPNS	,739	6,579	,000
PMFIA	,885	2,416	,042
PMFIP	,473	20,683	,000
PMMT1	,690	8,340	,000
NSLNA	,909	1,866	,108
NSLFIA	,744	6,414	,000
NSLFIP	,648	10,093	,000
NABR	,870	2,774	,022
NAFM1	,895	2,188	,062
NAPNS	,711	7,572	,000
BRPT1	,931	1,387	,236
BRAPET1	,567	14,180	,000
PTFM1	,923	1,552	,182
PTAPET1	,831	3,795	,004
PTBA1	,797	4,740	,001
PTEAM1	,815	4,236	,002
PTZYG01	,858	3,071	,013
PTTSP1	,978	,416	,837
FMFIA	,840	3,554	,006
FMMT1	,834	3,694	,004
FIAPFIP	,492	19,212	,000
FIPMT1	,884	2,435	,040
FIPZYG01	,818	4,131	,002
FIPTSP1	,966	,650	,663
MTPNS1	,794	4,813	,001
PNSAPET1	,870	2,778	,022
APETBA1	,815	4,223	,002
APETTS1	,947	1,041	,398
BAEAM1	,778	5,293	,000
EAMZYG01	,855	3,143	,011
ZYGOTSP1	,653	9,868	,000
PTAS1	,493	19,110	,000
JPAS1	,789	4,963	,000
BAOPI	,732	6,809	,000

Interpretações das diferenças e semelhanças craniométricas entre os grupos de *Oligoryzomys*

Em relação às espécies que ocorrem em simpatria: *O. nigripes*, *O. flavescens* e *O. fornesi*, foi observado que para a maioria das variáveis *O. nigripes* apresentou medidas do crânio maiores do que *O. flavescens* e *O. fornesi*, enquanto que *O. flavescens* mostrou dimensões maiores do que *O. fornesi* (Figuras 4.8 e 4.9).

O. flavescens e *O. nigripes* apresentaram medidas parecidas para PMFIA (oral), BRPT1 (Abobóda cranial) e BAOPI (base do crânio).

O. fornesi mostrou médias semelhantes à *O. flavescens* para PTTSP1 (Abobóda cranial - Zigomático) e FIPTSP1 (Zigomático) e médias maiores do que *O. flavescens* para FIPMT1 (oral), APETTS1 (base do crânio) e JPAS1 (base do crânio).

A tabela 4.10 mostra a correlação entre os escores das 4 primeiras funções discriminantes e as variáveis craniométricas calculadas para todas espécies analisadas de *Oligoryzomys*. Foram observados valores elevados entre as correlações, principalmente nas duas primeiras funções discriminantes, que indicam uma tendência de variação associada ao tamanho.

Neste caso o fator tamanho foi a principal mudança detectada que afetou a maneira como as espécies responderam a forças evolutivas e, portanto, deve ter desempenhado um papel primordial na diversificação do crânio de *Oligoryzomys*.

Serão tratadas no próximo tópico as características das espécies que foram indicadas pelos grupos monofiléticos, coincidentemente ou não, dentro desses grupos normalmente estão espécies parecidas em tamanho, corroborando a tendência do tamanho diversificação.

Figura 4.8. Gráficos em barra de erros, onde o ponto central representa a média dos valores da variável e o “T” o intervalo de confiança (IC), representando 6 variáveis craniométricas (FMMT1, FMFIA, BRAPET1, APETBA1, ISPNS e ISNSL), significativamente diferentes entre *O. nigripes*, *O. flavescens* e *O. fornesi*. Observe que a média dos valores para *O. nigripes* são maiores do que para *O. flavescens*, e de *O. flavescens* são maiores do que *O. fornesi*, condição observada para a maioria das variáveis.

Figura 4.9. Gráficos em barra de erros, onde o ponto central representa a média dos valores da variável e o “T” o intervalo de confiança (IC), representando 6 variáveis craniométricas (FIAFIP, FIPZYGO1, PTBA1, PNSAPET1, PMMT1 e NSLFIA), significativamente diferentes entre *O. nigripes*, *O. flavescens* e *O. fornesi*. Observe que a média dos valores para *O. nigripes* são maiores do que para *O. flavescens*, e de *O. flavescens* são maiores do que para *O. fornesi*, condição observada para a maioria das variáveis.

Tabela 4.10. Correlação entre os escores das 4 primeiras funções discriminantes e as variáveis craniométricas.

Variáveis		FD1	FD2	FD3	FD4
ISPM		0,6448	0,2981	-0,0805	0,2953
	sig.	0,0000	0,0000	0,2357	0,0000
ISNSL		0,5759	0,1754	0,0976	0,3597
	sig.	0,0000	0,0093	0,1499	0,0000
ISPNS		0,7871	0,2539	-0,0604	0,2075
	sig.	0,0000	0,0001	0,3736	0,0020
PMFIA		0,5427	0,3542	0,2454	0,1168
	sig.	0,0000	0,0000	0,0002	0,0846
PMFIP		0,8323	-0,1106	0,0283	-0,0517
	sig.	0,0000	0,1024	0,6771	0,4463
PMMT1		0,7901	0,1951	-0,0381	0,0283
	sig.	0,0000	0,0038	0,5750	0,6775
NSLNA		0,5386	0,3189	-0,0094	0,2853
	sig.	0,0000	0,0000	0,8902	0,0000
NSLFIP		0,5637	0,1253	-0,0380	0,4564
	sig.	0,0000	0,0641	0,5754	0,0000
NSLFIA		0,8101	0,1125	0,0191	0,2639
	sig.	0,0000	0,0967	0,7792	0,0001
NABR		0,5179	0,1002	0,1018	-0,0035
	sig.	0,0000	0,1393	0,1332	0,9587
NAFM1		0,4318	0,0902	0,0346	0,1873
	sig.	0,0000	0,1833	0,6106	0,0054
NAPNS		0,7496	0,1348	0,0544	0,1209
	sig.	0,0000	0,0463	0,4229	0,0741
BRPT1		0,1453	-0,0036	0,0161	-0,1156
	sig.	0,0316	0,9581	0,8125	0,0878
BRAPET1		0,8209	0,0684	-0,1825	0,0894
	sig.	0,0000	0,3139	0,0068	0,1877
PTFM1		0,5978	0,3829	0,1345	0,1465
	sig.	0,0000	0,0000	0,0468	0,0302
PTAPET1		0,7100	0,2105	-0,0663	0,1562
	sig.	0,0000	0,0017	0,3286	0,0208
PTBA1		0,7322	0,2018	-0,1344	0,1377
	sig.	0,0000	0,0027	0,0470	0,0418
PTEAM1		0,6624	0,1914	-0,0022	0,1105
	sig.	0,0000	0,0045	0,9747	0,1029
PTZYGO1		0,6149	0,3588	-0,0287	0,1990
	sig.	0,0000	0,0000	0,6729	0,0031
PTTSP1		0,4873	0,4427	0,0595	-0,0198
	sig.	0,0000	0,0000	0,3808	0,7704
FMFIA		0,7584	0,3232	-0,0184	0,0907
	sig.	0,0000	0,0000	0,7866	0,1811
FMMT1		0,7438	0,2658	-0,0803	0,1575
	sig.	0,0000	0,0001	0,2367	0,0197

FIAFIP		0,9067	0,1056	0,0883	-0,0122
	sig.	0,0000	0,1194	0,1931	0,8574
FIPMT1		0,2590	0,5251	-0,0617	0,1109
	sig.	0,0001	0,0000	0,3632	0,1016
FIAZYGO1		0,6461	0,2535	0,1256	0,3032
	sig.	0,0000	0,0001	0,0635	0,0000
FIPTSP1		0,4679	0,4416	-0,0144	0,1604
	sig.	0,0000	0,0000	0,8321	0,0175
MTPNS1		0,5280	0,1343	0,0702	0,1477
	sig.	0,0000	0,0471	0,3012	0,0288
PNSAPET1		0,5667	0,1826	-0,0916	0,2032
	sig.	0,0000	0,0067	0,1766	0,0025
APETBA1		0,6713	0,2571	-0,0054	0,2301
	sig.	0,0000	0,0001	0,9363	0,0006
APETTS1		0,2483	0,3763	0,2719	-0,0197
	sig.	0,0002	0,0000	0,0000	0,7724
BAEAM1		0,7061	0,1674	0,1226	0,1343
	sig.	0,0000	0,0131	0,0702	0,0472
EAMZYGO1		0,4733	0,1390	-0,3594	0,2932
	sig.	0,0000	0,0399	0,0000	0,0000
ZYGOTSP1		0,5717	0,0026	0,0561	0,4137
	sig.	0,0000	0,9699	0,4088	0,0000
PTAS1		0,6972	-0,0829	-0,2512	-0,0047
	sig.	0,0000	0,2220	0,0002	0,9445
JPAS1		0,1680	0,5678	-0,0715	0,2133
	sig.	0,0128	0,0000	0,2922	0,0015
BAOPI		0,5112	0,0309	0,1028	-0,1920
	sig.	0,0000	0,6492	0,1293	0,0043

Diagnose dos grupos de espécies de *Oligoryzomys*

De acordo com os clados sugeridos pelas hipóteses das relações filogenéticas apresentadas acima, as espécies do gênero *Oligoryzomys* foram reunidas em 6 grupos de espécies. Foi usado o nome do táxon nominal mais antigo, dentre as espécies constituintes, para designar cada grupo. Apesar do código internacional de nomenclatura zoológica (ICZN) não prevê regulamentação para aplicação de grupos de espécie foi empregada a regra da prioridade a estes.

Grupo *Microtis*

Espécies incluídas: *Oligoryzomys microtis*, *O. aff. microtis* e *Oligoryzomys fomesi* (Figura 4.10).

Distribuição: *O. microtis* ocorre em domínios da vegetação Amazônica da Bolívia, Brasil e Peru. *O. aff. microtis* ocorre em domínios de vegetação Amazônica no Equador. *O. fomesi* ocorre em domínios vegetacionais do Cerrado na Argentina e Brasil.

Figura 4.10. Árvore de máxima verossimilhança representando as hipóteses das relações filogenéticas entre as espécies do grupo “*Microtis*”. Em azul, *O. fomesi*; em verde claro, *O. aff. microtis* do Equador; em verde escuro *O. microtis*.

Myers e Carleton (1981), Olds e Anderson (1987) e Carleton e Musser (1989) consideraram *O. fornesi* como sinônimo junior de *O. microtis*. Patton *et al.* (2000) e Weksler e Bonvicino (2005) consideraram *O. fornesi* como uma espécie distinta de *O. microtis* baseados em diferenças cromossômicas e distribuição geográfica. Os resultados apresentados nesta monografia fortalecem a distinção destas duas espécies, pois os dados cromossômicos, a morfologia e as hipóteses das relações filogenéticas baseadas nas sequências gênicas sugerem a segregação destas duas espécies.

O. microtis e *O. fornesi* são as menores espécies do gênero, a principal diferença externa entre elas é a coloração do ventre que em *O. microtis* é grisalho mais para o esbranquiçado sem manchas e, em *O. fornesi* é amarelo ocre claro, podendo ou não apresentar manchas alaranjadas na região gular e na porção mais inferior do ventre. O dorso de *O. fornesi* é castanho, salpicado de pêlos aristiformes pretos de forma homogênea, ou seja, sem distinção da coloração da cabeça, enquanto que o dorso de *O. microtis* é castanho mais amarelado, com predomínio de pêlos aristiformes pretos na região da cabeça (Figura 4.11).

O crânio de *O. fornesi* é levemente alongado; há forte constrição anterior da região interorbital e divergência posterior, dando um aspecto triangular; bordas supraorbitais com as margens cortantes; nasal não prolongado, normalmente não ultrapassa o limite dos incisivos em vista ventral; forame incisivo em forma lenticular, normalmente alcança o primeiro molar e o vômer aparece dilatado ao longo de toda sua extensão; forame magno de aspecto arredondado e orientado ventralmente; mandíbula com processo capsular do incisivo inferior pouco dilatado, não ultrapassa a linha da incisura da mandíbula (Figura 4.12 a e b).

O. microtis tem crânio levemente alongado; constrição anterior da região interorbital; bordas supraorbitais com as margens tênues e curvilíneas; nasal levemente prolongado, normalmente ultrapassa o limite dos incisivos em vista ventral; forame incisivo em forma de gota, não alcança o primeiro molar e o vômer aparece dilatado nos 2/3 anteriores; forame magno de aspecto triangular e orientado ventralmente; mandíbula com processo capsular do incisivo inferior pouco dilatado, não ultrapassa a linha da incisura da mandíbula (Figura 4.12 c e d).

A série molar de *O. microtis* e de *O. fornesi* apresenta molares pentafodontes. Exemplares de *O. fornesi* podem apresentar redução do mesolofo e mesolofídeo, condição observada para cerca de 60% dos indivíduos analisados (n=22). O cariótipo de *O. fornesi* possui $2n=62$ e $NFa=64$; *O. microtis* apresentou uma grande variação em seu complemento com um $2n$ variando entre 62 a 68 e NFa entre 66 a 78 (ver o capítulo 3 desta monografia para detalhes).

Apesar da grande variação cariotípica intra e inter-populacional observada em *O. microtis* provenientes da Bolívia, ficou claro tanto nas hipóteses das relações filogenéticas quanto nos cálculos de F_{ST} que estes indivíduos não estão segregados, mais de uma forma cromossômica foi encontrada na mesma localidade amostrada. Assim, é possível sugerir que a variação cromossômica não estaria causando comprometimentos meióticos aos indivíduos (para mais detalhes sobre problemas meióticos consulte o capítulo 3 desta tese).

Figura 4.11. Comparação da coloração externa entre *O. fornesi* (A e B) e *O. microtis* (C e D), provenientes de Brasília, Distrito Federal (APC 865) e Rio Juruá, Amazonas (MVZ 190420), respectivamente. Destaque para a coloração dorsal em *O. microtis* (C) com a região da cabeça mais escura, diferente do resto do corpo e para a coloração ventral (B e D) amarelo ocre em *O. fornesi* e esbranquiçada em *O. microtis*. (*O. microtis* fotografado por L. Geise).

Figura 4.12. Em cima crânio de *O. fornesi* (CIAB 04) proveniente de Brasília, Distrito Federal. (A) vista dorsal e (B) vista ventral. Em baixo crânio de *O. microtis* (MVZ 190420) proveniente do Rio Juruá, Amazonas. (C) vista dorsal e (D) vista ventral. Destaque da vista dorsal para a forma da borda supraorbital, indicada pela seta, triangular em *O. fornesi* (A) e curvilínea em *O. microtis* (B); na região ventral destaque para o comprimento do forame incisivo, maior em *O. fornesi*, alcança a linha do primeiro molar e menor em *O. microtis*, não alcança o primeiro molar. Para descrição de outras diferenças verifique o texto. (*O. microtis* fotografado por L. Geise).

Grupo *Fulvescens*

Espécies incluídas: *Oligoryzomys fulvescens* e *Oligoryzomys vegetus*.

Distribuição: Foram registrados espécimes de *O. fulvescens* nos Andes Bolivianos, Panamá, Costa Rica, Nicarágua, El Salvador, Belize até Tamaulipas no México. *O. vegetus* ocorre apenas no Panamá e Costa Rica. Carleton e Musser (1995) registraram as duas espécies em simpatria em uma pequena faixa de altitude, entre 1000 m e 2000 m, no Panamá e Costa Rica, sendo que *O. vegetus* não penetra nas terras baixas tropicais destes países onde comumente é encontrada *O. fulvescens*.

Foi examinado, morfologicamente, apenas 1 exemplar de *O. fulvescens* presente na coleção do Museu Nacional do Rio de Janeiro (MN24644), proveniente de San Salvador, El Salvador. Este exemplar apresentou uma coloração dorsal alaranjada, levemente salpicada de preto, típica do gênero; flanco mais claro que o dorso e ventre grisalho esbranquiçado.

Carleton e Musser (1995) compararam as diferenças entre estas duas espécies a partir de espécimes provenientes do Panamá, Costa Rica, Nicarágua e México. Segundo os autores *O. vegetus* apresenta dimensões corpóreas maiores e crânio mais robusto do que *O. fulvescens*, por outro lado, sua constrição interorbital e placa zigomática são relativamente mais estreitas do que em *O. fulvescens*, e sua série molar aparentou ser mais delicada do que em *O. fulvescens* (Figura 4.13a); a mandíbula de *O. vegetus* possui processo capsular mais desenvolvido e proeminente do que *O. fulvescens* (Figura 4.13b); em relação à coloração *O. fulvescens* apresenta ventre pálido com pêlos cinza claros, enquanto que *O. vegetus* possui a região ventral cinza escura, com pêlos mostrando uma banda basal plúmbea.

Figura 4.13. A) Crânio em vistas dorsal, ventral e lateral e mandíbulas de: esquerda, *O. fulvescens* (comprimento total do crânio= 21,9 mm); e direita, *O. vegetus* (comprimento total do crânio= 23,5 mm). Extraído de Carleton e Musser (1995). B) Vistas lateral e medial da mandíbula ilustrando o desenvolvimento do processo capsular de *O. vegetus*, em cima, e *O. fulvescens*, em baixo. Abreviações: cap, processo capsular do incisivo inferior; con, processo condilar; cor, processo coronóide; sn, incisura da mandíbula.

Carleton e Musser (1995) consideraram *O. f. costaricensis*, *O. f. nicaraguae* e *O. f. pacificus*, todos com localidades tipo na América Central (Figura 4.14), como sinônimos juniores de *O. fulvescens*.

As análises filogenéticas apresentadas aqui corroboraram os resultados de Carleton e Musser (1995) que separaram, através de análises morfológicas, *O. vegetus* de *O. fulvescens* (4.15a). Nas análises filogenéticas *O. vegetus*, do Panamá, formou um clado distinto de outros espécimes provenientes da Costa Rica, México, Nicarágua e Belize (Figura 4.15b).

Figura 4.14. Mapa indicando as localidades tipo dos sinônimos atribuídos à *O. fulvescens* (marcadores amarelos) e à *O. vegetus* (marcador vermelho).

Figura 4.15. A) Gráfico extraído de Carleton e Musser (1995), mostrando o resultado da análise discriminante que separou *O. vegetus* (**veg**) de *O. fulvescens* (**ful**). Os polígonos sobrepostos representam os sinônimos de *O. fulvescens*: **nic**= *O. f. nicaraguae*; **pac**= *O. f. pacificus*; **cos**= *O. f. costaricensis*. B) Resultado da análise filogenética a partir de sequências do gene mitocondrial citocromo b mostrando a separação dos clados: *O. vegetus*, em vermelho, e *O. fulvescens*, em amarelo.

Grupo Andinus

Espécies incluídas: *Oligoryzomys andinus* e *Oligoryzomys aff. Andinus* (Figura 4.16)

Distribuição: *O. andinus* ocorre nas terras altas do Peru onde foram registrados espécimes nos Departamentos de La Libertad, Lambayeque, Ancash e Lima. Nos Andes da Bolívia foi registrado nos departamentos de Oruro, Cochabamba, Chuquisaca, Santa Cruz e Tarija. *O. aff. andinus* ocorre em simpatria com *O. andinus* no departamento de Tarija.

Figura. 4.16. Árvore de máxima verossimilhança representando as hipóteses das relações filogenéticas entre as espécies do grupo “*Andinus*”. Em lilás, *O. aff. andinus* e em roxo *O. andinus*.

Pouco se conhece sobre a morfologia de *O. andinus*. Osgood (1914) estudou várias espécies de mamíferos provenientes do norte Peru e, dentre outras, descreveu *O. andinus*. Não existem registros posteriores a Osgood na literatura relacionada à *Oligoryzomys* com descrições ou comparações morfológicas incluindo *O. andinus*.

Segundo Osgood (1914) *O. andinus* caracteriza-se por apresentar pés bem desenvolvidos; cauda muito longa; coloração típica de *Oryzomyini* com o dorso pálido, ocráceo e escurecido por manchas de pêlos pretos; linha lateral ocrácea discreta; rosto e cabeça pouco cinzentos; orelhas finas com pêlos basais e internos ocráceos e externos castanhos; patas brancas; cauda com pêlos curtos e escassos, com a parte de cima acastanhada e a de baixo esbranquiçada, tornando-se escura gradualmente em direção a ponta. Crânio semelhante, na forma geral, à *O. stolzmanni* (hoje considerado sinônimo junior de *O. destructor*) mas relativamente mais estreito e com dentes menores; forames palatinos comprimidos; região interorbital e base do nasal levemente côncava, com as bordas anguladas.

Osgood (1914) fez comparações entre *O. andinus* e *O. stolzmanni* (= *O. destructor*) e concluiu que *O. andinus* diferencia-se por apresentar pés e orelhas maiores, cauda mais longa e coloração externa com determinadas partes pálidas. Ainda, *O. andinus* habita uma região totalmente diferente na encosta oeste, separada da montanha Leste por praticamente toda a cadeia andina.

Grupo Longicaudatus

Espécies incluídas: *Oligoryzomys longicaudatus*, *Oligoryzomys magellanicus*, *Oligoryzomys flavescens* e *Oligoryzomys aff. flavescens* (Figura 4.17).

Distribuição: *O. longicaudatus* ocorre na Argentina e parte do Chile, *O. magellanicus* ocorre no sul da Argentina e Chile na região da Patagônia, *O. flavescens* ocorre na costa leste do Brasil, desde o Espírito Santo até o Rio Grande do Sul, alcança o Uruguai e a Argentina e *Oligoryzomys aff. flavescens* ocorre nos Andes da Bolívia.

Figura 4.17. Árvore de máxima verossimilhança representando as hipóteses das relações filogenéticas entre as espécies do grupo “*Longicaudatus*”. Em verde musgo, *O. longicaudatus*; em marrom claro, *O. flavescens*; e em marrom escuro, *O. aff. flavescens*.

Das quatro espécies incluídas neste grupo, duas delas, *O. longicaudatus* e *O. magellanicus* têm uma história taxonômica interessante que começou desde 1943, quando Osgood classificou os roedores chilenos do gênero *Oligoryzomys* em 3 subespécies: *O. l. longicaudatus*, *O. l. philippi* e *O. l. magellanicus*, com base em características morfológicas consideradas sutis pelo autor.

Os intervalos das subespécies originalmente reconhecidas foram aproximadamente congruentes com três das principais regiões ecogeográficas do Chile: *O. l. longicaudatus* proveniente da região do Mediterrâneo (desde o sul de Copiapo Valiiey, até o Norte da Província de Concepción); *O. l. philippi* da floresta temperada (desde o Norte da Província de Concepción, até o sul ca. 50° S) e *O. l. magellanicus*, da Patagônia e Florestas Fuegian ao sul, aproximadamente 50°.

Alguns exemplares de *Oligoryzomys* coletados nas proximidades de San Blas (Buenos Aires, Argentina) foram denominados como a subespécie *O. l. pampanus* por Massoia (1973). No entanto, em um estudo abrangente com representantes de várias populações ao longo da distribuição da espécie, Gallardo e Palma (1990) consideraram dados da morfologia externa, craniana e bacular desta espécie e não encontraram evidências de diferenciações subespecíficas para distinguir *O. longicaudatus* de *O. l. philippi*. Neste mesmo estudo os autores observaram que as populações atribuídas a *O. magellanicus*, provenientes de áreas mais ao sul, exibiram padrões de diferenciação quando comparadas às populações do norte em quase todas as características morfológicas analisadas. Gallardo e Palma (1990) mostraram ainda diferenças na morfologia bacular entre *longicaudatus-philippi* e *magellanicus* com o báculo deste último significativamente maior do que o táxon do norte.

Cromossomicamente, o mesmo estudo mostrou que *O. l. longicaudatus* e *O. l. philippi* apresentavam número diplóide idênticos ($2n= 56$), enquanto *O. l. magellanicus* apresentava $2n= 54$ (Gallardo e Patterson, 1985; Palma, 1987). Finalmente, as análises fenéticas dos dados de aloenzimas a partir de 15 loci de 60 espécimes das populações de *O. l. longicaudatus* e *O. l. philippi* no Chile (dados não disponíveis para *O. l. magellanicus*) apresentaram níveis elevados de similaridade genética (Palma, 1987).

Assim, com base na uniformidade morfológica e genética detectada entre as populações, Gallardo e Palma (1990) reconheceram uma única espécie entre 28° e 50° S, sendo *O. l. philippi* sinônimo junior de *O. longicaudatus*, enquanto que as populações da Patagônia, mais ao sul, consideradas como a subespécie *O. l. magellanicus* constituía uma espécie válida (*O. magellanicus*), ocorrendo entre 50° S até as Florestas da Patagônia e ilhas adjacentes em Magellanes, Chile.

Myers e Carleton (1981) consideraram *O. longicaudatus* mais similar a *O. nigripes* e *O. chacoensis* do que a *O. flavescens* e *O. fornesi*. Este padrão foi estabelecido pelos autores devido a semelhança no número de braços autossômicos, maiores em *O. longicaudatus*, *O. nigripes* e *O. chacoensis* e menores em *O. flavescens* e *O. fornesi* e características morfológicas como o tamanho das orelhas, maiores em *O. longicaudatus*, *O. nigripes* e *O. chacoensis* e menores em *O. flavescens* e *O. fornesi* e o tamanho dos pés menores em *O. longicaudatus*, *O. nigripes* e *O. chacoensis* e maiores em *O. flavescens* e *O. fornesi*. Por outro lado, os autores observaram que *O. longicaudatus* possui glândulas prepaciais bem desenvolvidas, característica compartilhada somente com *O. flavescens* e *O. fornesi*.

Certamente, *O. longicaudatus* é uma espécie de dimensões corpóreas maiores do que as observadas em *O. flavescens*, no entanto, as análises filogenéticas mostraram que *O. longicaudatus* está mais relacionado a *O. flavescens* do que a *O. nigripes* e *O. chacoensis*. Assim, a semelhança de tamanho compartilhada entre *O. longicaudatus*, *O. nigripes* e *O. chacoensis* pode ser explicada devido a uma convergência deste caráter nestes táxons.

O. flavescens foi descrito por Waterhouse em 1837 a partir de exemplares coletados em Maldonado no Uruguai. Aqui, foi reconhecido um táxon *O. aff. flavescens* com distribuição ao longo dos Andes da Bolívia (Aniskin e Volobouev, 1999; Presente trabalho), distinta do táxon *O. flavescens* de Waterhouse.

O. flavescens apresenta ampla distribuição na América do Sul. Ocorre na costa leste do Brasil desde o sul da Bahia, Rio Una - limite máximo de distribuição à nordeste (Weksler e Bonvicino, 2005), em direção ao Espírito Santo onde foi registrado na região de Caparaó em elevações superiores a 1800m (Bonvicino *et al.*, 1997; Presente trabalho), São Paulo (Kasahara e Yonenaga-Yassuda, 1984), Paraná (Sbalqueiro *et al.*, 1991), Santa Catarina até o Rio Grande do Sul (Andrades-Miranda *et al.*, 2001; Presente trabalho). Foi registrado no Uruguai (Brum-Zorrilla, 1988), nordeste e noroeste da Argentina (Espinosa e Reig, 1991; Pardiñas *et al.*, 2004), onde apresenta seu limite máximo de distribuição ao sul em Monte Hermoso (Pardiñas *et al.*, 2004). Na direção oeste foi registrado no Paraguai (Myers e Carleton, 1981).

A comparação da morfologia externa de *O. longicaudatus* e *O. flavescens* neste estudo revelou diferenças evidentes capazes de distingui-las facilmente. *O. longicaudatus* é uma espécie de dimensões corpóreas maiores do que *O. flavescens*. As medidas externas de *O. longicaudatus* estão mais próximas às medidas do grupo “*Nigripes*” enquanto que as medidas de *O. flavescens* estão

mais próximas às medidas do grupo "*Microtis*". O dorso de *O. flavescens* é castanho amarelado, muito salpicado de preto de forma homogênea e o ventre é creme com a base mais escura, podendo ou não ocorrer manchas na região gular; *O. longicaudatus* possui dorso castanho avermelhado, levemente salpicado de preto de forma homogênea e ventre grisalho com manchas nas regiões gular e posterior (Figura 4.18).

Em relação ao crânio apenas *O. flavescens* possui forames nasolacrimais moderadamente inflados lateralmente. *O. longicaudatus* possui a região interorbital convergente anteriormente de forma levemente triangular e borda supraorbital não cortante, ao passo que *O. flavescens* tem a região interorbital com bordas arredondadas, convergente medialmente, em forma de ampulheta e uma leve divergência posterior. O forame incisivo de *O. longicaudatus* tem forma lenticular, normalmente alcança o primeiro molar e o vômer aparece dilatado ao longo de toda sua extensão; em *O. flavescens* o forame incisivo tem forma de gota, normalmente ultrapassa o bordo anterior do primeiro molar e o vômer aparece dilatado somente nos 2/3 anteriores. Em ambas espécies o palato é largo e longo (*sensu* Hershkovitz, 1962); possuem de dois a três forames posteriores palatinos, distribuídos em rasas depressões palatinas orientadas longitudinalmente; borda anterior da fossa mesoptergóide variando de reta a levemente côncava, não atingindo a altura do M3; e forame magno de aspecto arredondado orientado ventralmente. Série molar mais robusta em *O. longicaudatus* do que em *O. flavescens* (Figura 4.19). Mandíbulas sem processo capsular do incisivo inferior desenvolvido; em *O. longicaudatus* a crista massetérica inferior é evidente e cruza transversalmente o corpo da mandíbula à altura do terço médio das raízes dos dentes molares (Figura 4.20).

O cariótipo de *O. longicaudatus* é composto por $2n=56$ e $NFa=66$ (Gallardo e Patterson, 1985). *O. magellanicus* possui $2n=54$ e $NFa=66$ (Gallardo e Patterson, 1985). *O. flavescens* possui $2n=64-66$ e $NFa=66-68-70$ (Brum-Zorrilla *et al.*, 1988; Espinosa e Reig, 1991; Sbalqueiro *et al.*, 1991; Presente trabalho) e *O. aff. flavescens* apresentaram uma forma com variação de $2n=64$, 66 ou 68 e $NFa=66$ ou 68 e outra forma com $2n=66$ e $NFa=72$. (ver o capítulo 3 desta monografia para detalhes).

Figura 4.18. Comparação da coloração externa entre *O. flavescens* (AC 46), (A) dorsal e (B) ventral, e *O. longicaudatus* (MN33637), C (dorsal) e D (ventral). Destaques para a coloração dorsal mais castanha e salpicada de preto em *O. flavescens* e mais avermelhada e menos salpicada de preto em *O. longicaudatus*; e para o ventre amarelado em *O. flavescens* e grisalho em *O. longicaudatus*.

Figura 4.19. Comparação dos crânios de *O. flavescens* (MCNU 680), em cima e *O. longicaudatus* (MN33637), em baixo. Destaque na vista dorsal (A e C) para a forma do nasal conspícuo em *O. flavescens*; na vista ventral (B e D) destaque para o comprimento do forame incisivo, mais comprido em *O. flavescens* do que em *O. longicaudatus*, no primeiro passa a linha anterior do primeiro molar e no segundo não; diferenças evidentes também na base do crânio, para detalhes verifique o texto.

Figura 4.20. Comparação das mandíbulas de *O. flavescens* (em cima) e *O. longicaudatus* (em baixo). A seta indica crista massetérica inferior conspícua em *O. longicaudatus*.

Grupo Nigripes

Espécies incluídas: *Oligoryzomys nigripes*, *Oligoryzomys aff. nigripes*, *Oligoryzomys chacoensis* e *Oligoryzomys stramineus* (Figura 4.21).

Distribuição: *O. nigripes* ocorre desde o extremo nordeste do Brasil no Estado do Ceará, descendo em direção à costa leste brasileira nos Estados da Bahia, Minas Gerais, Espírito Santo, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná, Santa Catarina até o Rio Grande do Sul. Ocorre também no Uruguai - seu limite máximo de distribuição ao sul - norte da Argentina, Paraguai, entrando na porção oeste do Brasil em Goiás, Distrito Federal e Mato Grosso do Sul - registro máximo de distribuição na direção oeste. Nos resultados obtidos nesse trabalho foi observado que indivíduos classificados previamente como *O. nigripes*, provenientes da Bahia, formaram um clado distinto o qual foi denominado *O. aff. nigripes*.

Os dados de campo mostraram que *O. nigripes* ocorrem em simpatria com *O. flavescens* nas regiões montanhosas da Floresta Atlântica, no entanto, os espécimes de *O. nigripes* tendem a ocorrer, preferencialmente, na faixa mais baixa, até 1800 m enquanto que os representantes de *O. flavescens* são encontrados, preferencialmente, acima de 1800m. Os dados de campo obtidos no Parque Nacional do Caparaó mostraram essa divisão muito clara com indivíduos de *O. nigripes* predominando até a altitude de 1800 m e indivíduos de *O. flavescens* acima de 1800 m (Figura 4.22).

O. chacoensis ocorre nas regiões sob domínio do Chaco, foi registrado em diferentes localidades do Paraguai (Myers e Carleton, 1981), Argentina na província de Formosa, Brasil nos estados de Mato Grosso do Sul e Mato Grosso (apenas no município de Cárceres) e Bolívia nos Departamentos de Beni, Santa Cruz e Tarija.

O. stramineus ocorre nas regiões sob domínio da Caatinga e Cerrado brasileiros, foi registrada nos estados de Goiás e Pernambuco.

Figura 4.21. Árvore de máxima verossimilhança representando as hipóteses das relações filogenéticas entre as espécies do grupo "Nigripes". Em laranja, *O. chacoensis*; em verde, *O. aff. nigripes*; em rosa, *O. stramineus*; e em cinza, *O. nigripes*.

Figura 4.22. Distribuição altitudinal de *O. nigripes* e *O. flavescens*, duas espécies simpátricas da Floresta Atlântica. O gráfico mostra a ocorrência predominante de *O. nigripes* nas altitudes inferiores a 1800 m e de *O. flavescens* nas altitudes superiores a 1800m.

Em *O. nigripes* a coloração do dorso é castanho alaranjado pouco salpicado de preto, na região do flanco há uma faixa bem delimitada de coloração castanho amarelado, mais clara que o dorso devido à diminuição de pêlos aristiformes, a coloração do ventre é cinza esbranquiçado com uma mancha evidente na região gular; em *O. chacoensis* a coloração do dorso é castanha avermelhado muito salpicado de preto, lembra nestes aspectos à coloração de *O. longicaudatus*, o flanco é gradualmente mais claro que o dorso, porém não muito distinto, o ventre é branco com a base grisalha e pode apresentar uma mancha tênue na região gular; em *O. stramineus* a coloração do dorso é alaranjada, levemente salpicada de preto, com a região do focinho mais escura e levemente amarelada, o flanco é levemente mais claro que o dorso e o ventre creme muito claro, sem manchas e com a base levemente grisalha (Figura 4.23).

A comparação do crânio destas três espécies mostrou que os representantes de *O. stramineus* possuem as maiores dimensões cranianas e da série molar (veja tabela 4.6), seguidos por *O. nigripes* e finalmente por *O. chacoensis*. Em vista dorsal *O. nigripes* apresenta arco zigomático em forma de “C”, aberto, mais curvado posteriormente, enquanto que em *O. chacoensis* e em *O. stramineus* o arco zigomático segue mais fechado e não tem a aparência em “C”. A região interorbital de *O. stramineus* sofre uma constrição mais acentuada anteriormente, onde as bordas supraorbitais sofrem uma forte convergência dando um aspecto característico desta espécie em relação à *O. nigripes* e *O. chacoensis*, as margens dorso-laterais são cortantes, no entanto, não chegam a formar cristas. O oposto foi verificado em *O. chacoensis* que apresentou a região interorbital em forma de ampulheta, com constrição na porção mediana, bordas supraorbitais levemente divergentes posteriormente e margens dorso-laterais

levemente cortantes. *O. nigripes* possui região interorbital ímpar dentre as espécies estudadas, a constrição é longa, praticamente acompanha a série molar e as bordas supraorbitais possuem margens arredondadas. A sutura coronal, entre o frontal e parietais, tem a forma de “V” em *O. nigripes*, forma de “U” em *O. stramineus* e forma de “♡” em *O. chacoensis* (Figura 4.24 a, b e c).

Em vista ventral o forame incisivo tem a forma lenticular e comprimento semelhantes nas três espécies, pode ou não alcançar a margem anterior do primeiro molar. A dilatação do vômer variou muito, sendo que a maioria dos indivíduos apresentaram os 2/3 anteriores dilatados. Em *O. nigripes* e *O. stramineus* o palato é longo e largo, possuem de dois a três pares de forames palatinos localizados posteriormente, distribuídos em rasas depressões palatinas e orientados longitudinalmente, por outro lado, *O. chacoensis* apresentou palato longo e mais estreito, com forames palatinos alcançando a porção anterior do primeiro molar. *O. chacoensis* apresentou uma pequena abertura do forame magno em comparação à *O. stramineus* e *O. nigripes*. A forma e a orientação desse forame diferiu nas três espécies: redondo e postero-ventral em *O. nigripes*, levemente triangular e postero-ventral em *O. stramineus* e triangular e ventral em *O. chacoensis* (Figura 4.24 d, e e f).

O. nigripes possui $2n=62$ e $NFa=78-82$; *O. aff. nigripes* possui $2n=62$, $NFa=78$; *O. stramineus* possui $2n=52$ e $NFa=68$; e *O. chacoensis* possui $2n=58$ e $NFa=72-74$.

Figura 4.23. Aspectos da coloração e morfologia externa dos representantes do grupo Nigripes. A e B) *O. nigripes* (MN 66071); C e D) *O. stramineus* (MN 15413); E e F) *O. chacoensis* (MN4301). Destaque para o ventre grisalho, característico deste grupo de espécie.

Figura 4.24. Em cima, crânios em vista dorsal de: A) *O. nigripes* (MCNU 531), B) *O. stramineus* (LEM 13) e C) *O. chacoensis* (MN4306). Em baixo, crânios em vista ventral de: D) *O. nigripes*, E) *O. stramineus* e F) *O. chacoensis*. Em destaques a região interorbital que apresentou padrões diferentes para as três espécies. Observe as diferenças na forma e orientação do forame magno (FM) e nas formas do arco zigomático e da sutura coronal entre as três espécies. Para detalhes verifique o texto.

Grupo Messorius

Espécies incluídas: *Oligoryzomys rupestris*, *Oligoryzomys moojeni*, *Oligoryzomys messorius*, *Oligoryzomys* sp. A, *Oligoryzomys* sp. B, *Oligoryzomys* sp. C, *Oligoryzomys* sp. D e *Oligoryzomys* sp. E (Figura 4.25).

Distribuição: Os representantes deste grupo estão em geral sub-amostrados e apresentaram registros de ocorrência pontuais. *O. messorius* foi registrado num enclave, dentro do bioma Amazônico, no norte do estado de Roraima (Andrades-Miranda *et al.*, 2001) e a cerca de 150 km Thomas (1901) registrou *O. messorius* nas montanhas de Kanaku, Guiana; *O. rupestris* foi coletado na região da Chapada Diamantina no estado da Bahia (Geise, com. pessoal); *O. moojeni*, ocorre no bioma Cerrado onde foi registrado no norte de Minas Gerais (Carmignotto, 2004), em Goiás (Andrades-Miranda *et al.*, 2001) e no sul de Tocantins (Lima *et al.*, 2003); *Oligoryzomys* sp. A ocorre na Bolívia nos Departamentos de Cochabamba e La Paz; *Oligoryzomys* sp. B ocorre na Venezuela nos departamentos de Sucre e Estado Cojedes; *Oligoryzomys* sp. C ocorre no Suriname nos distritos de Commewijne e Para; e *Oligoryzomys* sp. D ocorre na Venezuela no distrito Amazonas e *Oligoryzomys* sp. E no Brasil em Tartarugalzinho, estado do Amapá e no Suriname no distrito de Nickerie.

Figura 4.25. Árvore de máxima verossimilhança representando as hipóteses das relações filogenéticas entre as espécies do grupo “*Messorius*”.

Foram analisadas qualitativamente quatro espécies deste grupo: *O. messorius*, *O. moojeni*, *O. rupestris* e *Oligoryzomys* sp. E. Os exemplares de *O. messorius* e *Oligoryzomys* sp. E (referida como *O. microtis*) foram definidas baseadas na descrição dos seus cariótipos por Andrades-Miranda *et al.* (2001).

O. moojeni possui a região dorsal mais alaranjada e clara dentre todas espécies de *Oligoryzomys* incluídas neste estudo, o ventre é creme com a base grisalha, sem manchas. *O. rupestris* possui dorso castanho alaranjado com a região da cabeça levemente mais escura, o flanco é nitidamente mais claro que o dorso, devido a uma redução de pêlos aristiformes nessa região, o ventre é amarelado com a base cinza clara.

O único exemplar disponível no Museu Nacional de *O. messorius* é um jovem, foi verificado ao longo desse trabalho que a coloração dos representantes de *Oligoryzomys* tendem a mudar de acordo com a faixa etária, de modo que os indivíduos mais jovens apresentam o dorso cinza escuro, com leves tons castanhos e o ventre acinzentado, levemente grisalho.

Oligoryzomys sp. E possui dorso alaranjado, levemente salpicado de preto, o flanco é levemente mais claro que o dorso e o ventre é esbranquiçado, o mais claro dentre as espécies analisadas, sem manchas e com a base grisalha (Figura 4.26).

Figura 4.26. Aspectos da coloração e morfologia externa dos representantes do grupo Messorius. A e B) *O. moojeni* (APC 705); C e D) *O. messorius* (MN 60732); E e F) *Oligoryzomys* sp. E (MN 60720). Destaque para o ventre muito alaranjado de *O. moojeni* e para a coloração dorsal cinza escuro do jovem de *O. messorius*.

As quatro espécies deste grupo apresentaram crânio delicado com rostró estreito. Em *O. moojeni* a constrição da região interorbital é mais acentuada medialmente em forma de ampulheta; bordas supraorbitais curvilíneas e com as margens não cortantes; nasal curto, não ultrapassa o limite dos incisivos em vista ventral; forame incisivo em forma de gota, com o máximo de abertura na porção posterior, normalmente não alcança o anterocone do primeiro molar; vômer dilatado na região posterior; forame magno arredondado, mais orientado dorsalmente; mandíbula com processo capsular do incisivo inferior levemente dilatado, não ultrapassando a linha da incisura da mandíbula (Figura 4.27). Em *O. moojeni* o forame estapedial está presente e o padrão circulatório é do tipo 2 (Weksler e Bonvicino, 2005).

Em *O. rupestris* a constrição da região interorbital é mais acentuada medialmente; bordas supraorbitais curvilíneas e com as margens não cortantes; nasal levemente alongado, ultrapassa o limite dos incisivos em vista ventral; forame incisivo de forma lenticular, com a região mediana mais dilatada; pode ou não alcançar o nível do primeiro molar; vômer dilatado nos 2/3 anteriores; forame magno arredondado, mais orientado ventralmente; mandíbula com processo capsular do incisivo inferior levemente dilatado, não ultrapassando a linha da incisura da mandíbula (Figura 4.28). Uma sinapomorfia observada em *O. rupestris* foi a ausência ou redução do forame estapedial e padrão de circulação da carótida do tipo 3 (Voss, 1988).

Oligoryzomys sp. E pode ser reconhecida pelos seguintes conjuntos de caracteres: crânio alongado; constrição da região interorbital acentuada medialmente; bordas supraorbitais pouco divergentes; nasal levemente prolongado, ultrapassando levemente o limite dos incisivos em vista ventral; forame incisivo em forma de gota, com o máximo de abertura na porção

posterior, não ultrapassa a borda anterior do primeiro molar; vômer dilatado nos 2/3 anteriores; arcos zigomáticos orientados lateralmente; forame magno levemente triangular, mais orientado posteriormente (Figura 4.29). Mandíbula com processo capsular do incisivo inferior dilatado, porém não ultrapassa a linha da incisura da mandíbula. Em vista lateral observou-se a fenestra do subesquamosal orientado mais verticalmente; cobertura timpânica levemente desenvolvida (Figura 4.30).

O aspecto arredondado do crânio de *O. messorius* (Figura 4.29) é característico dos indivíduos juvenis deste gênero, não deve ser considerado como um caráter para reconhecer esta espécie, como não havia indivíduos adultos disponíveis preferiu-se não comparar as características cranianas deste espécime com as outras espécies. O espécime jovem de *O. messorius* apresentou crânio com parietais arredondados; constrição da região interorbital localizada anteriormente; bordas supraorbitais pouco divergentes; nasal curto ultrapassando o limite dos incisivos em vista ventral; forame incisivo lenticulado, com o máximo de abertura na porção mediana, ultrapassa a borda anterior do primeiro molar; vômer dilatado nos 2/3 anteriores; arcos zigomáticos orientados inferiormente; forame magno triangular, mais orientado posteriormente (Figura 4.29); fenestra do subesquamosal orientado mais horizontalmente; cobertura timpânica pequena (Figura 4.30); mandíbula com processo capsular do incisivo inferior não desenvolvido.

Figura 4.27. Crânio de *O. moojeni* (APC 705) em vistas dorsal (esquerda) e ventral (direita). Observe o forame incisivo em forma de gota e a dilatação do vômer maior na região posterior.

Figura 4.28. Crânio de *O. rupestris* em vista dorsal (esquerda) e ventral (direita). Extraído de Weksler e Bonvicino (2005).

Figura 4.29. Em cima, crânio em vistas dorsal e ventral de *Oligoryzomys* sp. E (MN 60719) e em baixo, crânio em vistas dorsal e ventral de *O. messorius* (MN 60732). O aspecto arredondado da caixa craniana, em vista dorsal, observado em *O. messorius* é característico de indivíduos jovens deste gênero. O espécime MN60719 está com parte da bula direita quebrada.

Figura 4.30. Em cima, vista lateral do crânio de *O. messorius* e em baixo, vista lateral do crânio de *Oligoryzomys* sp. E.

Dentro desse grupo seria razoável supor que o clado *Oligoryzomys* sp. B e os animais cariotipados por Kiblisky (1969) denominados *O. delicatus* tratem da mesma entidade taxonômica. Foi tentadora fazer esta correlação, uma vez que os animais sequenciados têm a mesma procedência dos animais cariotipados por Kiblisky (1969): localidades de Sucre e Cojedes na Venezuela. No entanto, a localidade tipo de *O. delicatus* Trinidad e Tobago está relativamente longe das localidades de Sucre e Cojedes, além disso, por não se tratarem da mesma amostra preferiu-se tomar uma posição mais conservadora, principalmente para evitar possíveis erros taxonômicos no futuro. Por outro lado, pode-se afirmar que estes animais da Venezuela tidos como sinônimos de *O. fulvescens* até então, são diferentes tanto em relação ao complemento

cariotípico, quanto em relação ao clado filogenético no qual estão inseridos *O. fulvescens* e *Oligoryzomys* sp. B.

O. moojeni apresentou $2n=70$ e $NFa=74$; *O. rupestris* apresentou $2n=44-46$ e $NFa=52-53$ (Silva e Yonenaga-Yassuda, 2001; Weksler e Bonvicino, 2005); *O. messorius* apresentou $2n=56$ e $NFa=58$ e *Oligoryzomys* sp. E $2n=66$ e $NFa=74$ (Andrades-Miranda *et al.*, 2001).

Três representantes de *Oligoryzomys* sp. C tiveram seus cariótipos analisados e revelaram uma forma cariotípica inédita para o gênero com $2n=60$ e $NFa=74$. A descrição do cariótipo segue abaixo:

TK10390, TK21065, TK17584: $2n=60$ $NFa=72$ (Figura 4.31)

Par 1 é um subtelocêntrico grande, pares de 2 a 7 são meta/submetacêntricos com variação gradual de tamanho, pares 8 e 9 são acrocêntricos grandes e os pares de 10 a 29 são acrocêntricos com variação gradual de tamanho. O cromossomo X é um subtelocêntrico grande e o Y um acrocêntrico pequeno (Figura 4.29).

Devido a diferenças na forma e tamanho dos cromossomos, tanto nos pares autossômicos quanto no par sexual, esse cariótipo não é o mesmo que o descrito para *O. andinus* da Bolívia (presente trabalho) e do Peru (Gardner and Patton, 1976), entre as diferenças destacam-se: em *O. andinus* o par 1 é um submetacêntrico; há apenas um par acrocêntrico grande; o X é um submetacêntrico grande e o Y um metacêntrico médio.

Figura 4.31. Cariótipo de um macho de *Oligoryzomys* sp. C proveniente do Suriname (TK10390), $2n=60$, $NFa=72$.

Grupo *Incertae sedis*

Espécies: *O. delicatus* e *O. aff. delicatus*

Distribuição: *O. delicatus* foi registrada nas seguintes localidades da Venezuela: Cojedes, Miranda, e Sucre (Kiblisky, 1969); e Trinidad e Tobago que é a localidade tipo; *O. aff. delicatus* foi registrada nas áreas próximas a capital do Pará: Belém

O. delicatus é considerada atualmente uma sinonímia de *O. fulvescens*, no entanto, as evidências reunidas neste trabalho sugerem que *O. delicatus* seja uma espécie válida por diferenças encontradas em seu complemento cromossômico ($2n=60$, $NFa=72$), quando comparada à *O. fulvescens* ($2n=60$, $NFa=64$).

Os espécimes examinados no MZUSP provenientes de Belém já estavam identificados como *O. delicatus* (segundo B. Patterson) e foi observado que realmente apresentavam diferenças em relação à *O. microtis* e *O. fulvescens*. Como não foi possível comparar a amostra do MZUSP com os espécimes cariotipados da Venezuela, assumiu-se o nome *O. aff. delicatus*, como uma sugestão que este grupo precisa ser estudado em níveis taxonômicos.

Ainda, além de relacionar a amostra do MZUSP aos animais cariotipados da Venezuela, seria importante incluir nessa comparação os indivíduos que formaram o clado identificado como *Oligoryzomys* sp. B, provenientes de Sucre e Cojedes, mesmas localidades amostradas por Kiblisky (1969). Se *Oligoryzomys* sp. B e *O. delicatus* se tratarem da mesma entidade taxonômica, deve ser alocada no grupo "*Messorius*".

Foi observada a ocorrência de duas espécies no extremo noroeste do Ceará que, provavelmente, são espécies novas para o gênero, pois, apresentaram características distintas não compartilhadas com outras espécies de *Oligoryzomys*. Foram denominadas como *Oligoryzomys* sp. nova A e *Oligoryzomys* sp. nova B, a primeira está associada as áreas de brejos e a segunda à capinzais, capoeiras e matas. As duas espécies ocorrem nos municípios de Ipu, Itapagé, Itapipoca, Pacoti e São Benedito (Figura 4.32).

Figura 4.32. Distribuição das duas espécies novas de *Oligoryzomys* encontradas no norte do Ceará.

***Oligoryzomys* sp. nova A e *Oligoryzomys* sp. nova B**

Distribuição: *Oligoryzomys* sp. nova A ocorre nas áreas cobertas por “brejos” e *Oligoryzomys* sp. nova B nas áreas cobertas por capinzais, capoeiras e matas dos municípios de Ipu (4°19'23.66"S, 40°42'50.69"O) , Itapagé (3°43'24.21"S, 39°35'33.24"O), Itapipoca (3°30'26.27"S, 39°34'17.4 3"O), Pacoti (4°13'28.52"S, 38°55'57.50"O), e São Benedito (4 °2´54"S, 40°51´54"O), estado do Ceará, em altitudes que variam entre 250 a 920 m.

Oligoryzomys sp. nova A apresentou dimensões corpóreas e do crânio maiores do que *Oligoryzomys* sp. nova B. *Oligoryzomys* sp. nova A possui dorso castanho, com presença de muitos pêlos aristiformes pretos, enquanto que *Oligoryzomys* sp. nova B possui dorso alaranjado, com poucos pêlos aristiformes, o que caracteriza uma coloração dorsal mais clara do que a observada em *Oligoryzomys* sp. nova A (Figura 4.33). O ventre de *Oligoryzomys* sp. nova A é acinzentado, apenas com as pontas dos pêlos brancas, não possui manchas na região gular como as observadas na maioria das espécies do gênero; em *Oligoryzomys* sp. nova B o ventre é creme a creme claro com a base dos pelos acinzentados, pode apresentar uma leve mancha apenas na região gular. Os pêlos do ventre de *Oligoryzomys* sp. nova B são mais densos e macios do que em *Oligoryzomys* sp. nova A (Figura 4.33).

Figura 4.33. Representantes de *Oligoryzomys* sp. nova A (os dois da esquerda) e *Oligoryzomys* sp. nova B (os dois da direita) em cima, vista dorsal e em baixo, vista ventral. Na vista dorsal destaque para a coloração castanha e mais escura em *Oligoryzomys* sp. nova A e mais alaranjada e clara em *Oligoryzomys* sp. nova B. Na vista ventral destaque para a coloração cinza e mais rala em *Oligoryzomys* sp. nova A e creme e mais densa em *Oligoryzomys* sp. nova B. Da esquerda pra direita (IP 999, IP 1000, IP 324 e IP 1170) e tamanho do corpo registrados nas respectivas etiquetas (85 mm, 85 mm, 60 mm e 85 mm, respectivamente).

Oligoryzomys sp. nova A pode ser reconhecida pelos seguintes conjuntos de caracteres: crânio alongado; constrição da região interorbital comprida; bordas supraorbitais pouco divergentes; nasal levemente prolongado, ultrapassando o limite dos incisivos em vista ventral; forame incisivo em forma de gota, com o máximo de abertura na porção posterior, podendo ou não ultrapassar a borda anterior do primeiro molar; vômer dilatado nos 2/3 anteriores; forame magno levemente triangular, mais orientado posteriormente; mandíbula com processo capsular do incisivo inferior dilatado, porém não ultrapassa a linha da incisura da mandíbula (Figuras 4.34, 4.35 e 4.36).

Oligoryzomys sp. nova B pode ser reconhecida pelos seguintes conjuntos de caracteres: crânio mais arredondado do que alongado; constrição da região interorbital mais acentuada medialmente; bordas supraorbitais levemente divergentes; nasal curto, não ultrapassa o limite dos incisivos em vista ventral; forame incisivo em forma lenticular, com o máximo de abertura na porção mediana, normalmente alcança o anterocone do primeiro molar; vômer dilatado até a região posterior; forame magno arredondado, mais orientado ventralmente; mandíbula com processo capsular do incisivo inferior muito dilatado ultrapassando a linha da incisura da mandíbula (Figuras 4.34, 4.35 e 4.36).

Ambas espécies apresentaram palato longo e largo, com duas perfurações palatinas, a primeira é mediana e pequena (na direção entre M1 e M2) e a segunda é posterior e maior, localizada depois do terceiro molar; borda anterior da fossa mesoptergóide variando de reta a levemente côncava, não atingindo a altura do M3; os molares são pentalofodontes.

Figura 4.34. Crânios em vista dorsal, na esquerda *Oligoryzomys* sp. nova A e na direita *Oligoryzomys* sp. nova B.

Figura 4.35. Crânios em vista ventral, na esquerda *Oligoryzomys* sp. nova A e na direita *Oligoryzomys* sp. nova B.

Figura 4.36. Mandíbulas esquerdas em vista lateral, em cima *Oligoryzomys* sp. nova A e em baixo *Oligoryzomys* sp. nova B. Destaque para o processo capsular do incisivo inferior que ultrapassa a altura da incisura da mandíbula em *Oligoryzomys* sp. nova B.

CONCLUSÕES

A tabela 4.11 traz um resumo da comparação entre as espécies de *Oligoryzomys* estudadas. Foram reconhecidas 24 espécies organizadas em 6 grupos de espécies. Aqui não foram estudadas ou encontradas evidências das seguintes espécies reconhecidas por Carleton e Musser (2005): *O. arenalis*, *O. brendae*, *O. griseolus*, *O. victus* e *O. destructor*.

As análises da morfologia externa revelaram padrões de coloração que se diferenciaram quanto à coloração dorsal, coloração ventral e à presença de manchas na região gular. Em geral o padrão de coloração dorsal se mostrou muito semelhante entre as espécies variando de castanho-amarelado, castanho-alaranjado a castanho-avermelhado.

A comparação morfológica do crânio revelou aspectos muito semelhantes quanto à forma, padrão de circulação carotídea e ausência de cristas em todas as espécies. Dentre os caracteres interespecíficos mais divergentes estão a forma e o tamanho do forame incisivo, dilatação do vômer, forma e orientação do forame magno, aspectos da região interorbital e da mandíbula.

As análises morfométricas confirmaram as hipóteses de espécies estabelecidas *a priori*, a partir da confirmação de cariótipos espécie-específicos e dos grupos indicados pelas análises filogenéticas. Os representantes do grupo “*Nigripes*” apresentaram as maiores dimensões corporais e cranianas enquanto os representantes do grupo “*Microtis*” possuem as menores medidas cranianas. O fator tamanho foi encontrado como a principal diferença do crânio das espécies. A associação das informações de distribuição geográfica, dos dados cromossômicos, moleculares e de morfologia ajudaram a esclarecer questões sistemáticas e das relações filogenéticas entre as espécies de *Oligoryzomys*.

Tabela 4.11. Resumo da comparação dos caracteres citogenéticos, da morfologia externa, do crânio e distribuição geográfica que podem ser empregados na caracterização e diagnose das espécies de *Oligoryzomys*.

	Espécie	Pelagem	Forame incisivo	Borda supraorbital Região interorbital	Mandíbula	Forame magno	Distribuição	2n/NFa
Grupo Microtis	<i>O. microtis</i>	Dorso castanho mais amarelado, com aristiformes pretos predominando na região da cabeça e ventre grisalho bem esbranquiçado sem manchas	Forma de gota, não alcança o primeiro molar e o vômer aparece dilatado nos 2/3 anteriores	Borda supraorbital tênue e curvilínea com uma região interorbital estreita anteriormente	Processo capsular do incisivo inferior pouco dilatado, não ultrapassa a linha da incisura da mandíbula	Leve aspecto triangular e orientado ventralmente	Brasil: Amazônia, Acre, Rondônia e Mato Grosso Bolívia: Pando, Beni e La Paz Peru: Loreto e Ucayali	2n=62 e NFa=66 2n=64 e NFa=66 2n=64 e NFa=68 2n=64 e NFa=74 2n=64 e NFa=76 2n=66 e NFa=70 2n=68 e NFa=78
	<i>O. aff. microtis</i>	Não avaliada	Não avaliada	Não avaliada	Não avaliada	Não avaliada	Equador: Pastaza	2n=64 e NFa=66
	<i>O. fornesi</i>	Dorso castanho, salpicado de preto, de forma homogênea e ventre amarelo ocre claro, podendo ou não apresentar manchas amarelas na região gular e na porção mais caudal do ventre	Lenticular, normalmente alcança o primeiro molar e o vômer aparece dilatado ao longo de toda sua extensão	Bordas supraorbitais levemente cortantes e de forma triangular; suas margens convergem bruscamente caracterizando uma região interorbital estreita anteriormente	Processo capsular do incisivo inferior pouco dilatado, não ultrapassa a linha da incisura da mandíbula	Aspecto arredondado e orientado ventralmente	Argentina: Formosa Brasil: Goiás, Minas Gerais, São Paulo e Mato Grosso do Sul Paraguai: Caaguazú e Canendiyu	2n=62 e NFa=64
Grupo Longicaudatus	<i>O. longicaudatus</i>	Dorso castanho avermelhado, levemente salpicado de preto e ventre grisalho com manchas nas regiões gular e caudal	Lenticular, normalmente alcança o primeiro molar e o vômer aparece dilatado ao longo de toda sua extensão	Borda supraorbital não cortante e de forma levemente triangular Região interorbital mais estreita anteriormente	Processo capsular do incisivo inferior pouco desenvolvido e crista massetérica inferior bem evidente	Aspecto arredondado e orientado ventralmente	Chile: Regiões Mediterrânea e Floresta Temperada Sul da Argentina	2n=56 e NFa=66

							Continua...
Grupo Fulvescens	<i>O. magellanicus</i>	Não avaliada	Não avaliada	Não avaliada	Não avaliada	Não avaliada	Chile: Região da Patagônia 2n=54 e NFa=66
	<i>O. flavescens</i>	Dorso castanho amarelado, muito salpicado de preto de forma homogênea e o ventre é creme com a base mais escura, podendo ou não ocorrer manchas na região gular	Forma de gota, normalmente alcança o bordo anterior do primeiro molar e o vômer aparece dilatado nos 2/3 anteriores	Borda supraorbital tênue e pouco curvilínea com uma região interorbital mais estreita medialmente	Processo capsular do incisivo inferior pouco desenvolvido e crista massetérica inferior não evidente	Aspecto arredondado e orientado ventralmente	Argentina: Buenos Aires, Córdoba, Jujuy e Tucuman Brasil: Minas Gerais, Espírito Santo, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul Uruguai 2n=64 e NFa=66 2n=66 e NFa=68 2n=66 e NFa=70
	<i>O. aff. flavescens</i>	Não avaliada	Não avaliada	Não avaliada	Não avaliada	Não avaliada	Bolívia: La Paz, Chuquisaca, Cochabamba e Tarija 2n=66 e NFa=72 2n=68 e NFa=68
	<i>O. fulvescens</i>	Dorso alaranjado, levemente salpicado de preto e ventre grisalho esbranquiçado	Lenticular, não alcança o primeiro molar e o vômer aparece dilatado ao longo de toda sua extensão	Bordas supraorbitais levemente cortantes e de forma triangular; região interorbital estreita anteriormente	Processo capsular do incisivo inferior pouco desenvolvido e crista massetérica inferior não evidente	Aspecto triangular e orientado dorsalmente	Bolívia: La Paz e Cochabamba México, Costa Rica, Nicarágua e Panamá 2n=60 e NFa=74
	<i>O. vegetus</i>	Não avaliado	Forma de gota, pode ou não alcançar o primeiro molar e o vômer aparece dilatado na metade anterior	Borda supraorbital não cortante e curvilínea com região interorbital mais estreita medialmente	Processo capsular do incisivo inferior desenvolvido e crista massetérica inferior não evidente	Aspecto arredondado e orientado ventralmente	Panamá 2n=54 e NFa=68

Grupo Messorius	<i>O. messorius</i>	Dorso cinza escuro, com leves tons castanhos e ventre acinzentado, levemente grisalho (jovem)	Lenticulado, máximo de abertura na região mediana, ultrapassa o primeiro molar e o vômer é dilatado nos 2/3 anteriores	Bordas supraorbitais pouco divergentes, constrição da região interorbital localizada anteriormente	Processo capsular do incisivo inferior não desenvolvido	Aspecto triangular e mais orientado dorsalmente	Brasil: Roraima	Continua... 2n=56 e NFa=58
	<i>Oligoryzomys</i> sp. E	Dorso alaranjado, levemente salpicado de preto, flanco levemente mais claro que o dorso e ventre esbranquiçado, o mais claro dentre as espécies analisadas, sem manchas e com a base grisalha	Gota alongada com o máximo de abertura na porção posterior, não ultrapassa a borda anterior do primeiro molar e o vômer aparece dilatado nos 2/3 anteriores	Bordas supraorbitais pouco divergentes, constrição da região interorbital acentuada medialmente	Processo capsular do incisivo inferior dilatado, porém não ultrapassa a linha da incisura da mandíbula	Aspecto levemente triangular e mais orientado dorsalmente	Brasil: Amapá Suriname: Nickerie	2n=66 e NFa=74
	<i>O. rupestris</i>	Dorso castanho alaranjado, região da cabeça levemente mais escura; flanco mais claro que o dorso, com redução de pêlos aristiformes e ventre amarelado com a base cinza clara	Forma lenticular, com a região mediana mais dilatada, pode ou não alcançar o nível do primeiro molar e o vômer aparece dilatado nos 2/3 anteriores		Processo capsular do incisivo inferior pouco dilatado, não ultrapassa a linha da incisura da mandíbula	Arredondado e mais orientado ventralmente	Brasil: Campos rupestres da Bahia e Goiás	2n=44-46 e NFa=52-53

	<i>O. moojeni</i>	Dorso alaranjado, o mais claro dentre todas espécies estudadas, ventre creme com a base grisalha, sem manchas	Gota alongada, não alcança o nível do primeiro molar e o vômer é dilatado nos 2/3 posteriores		Processo capsular do incisivo inferior pouco dilatado	Arredondado e mais orientado dorsalmente	Brasil: Minas Gerais, Goiás e Tocantins	2n=70 e NFa=74
	<i>Oligoryzomys</i> sp. A	Não avaliada	Não avaliada	Não avaliada	Não avaliada	Não avaliada	Bolívia: La Paz e Cochabamba	Não avaliada
	<i>Oligoryzomys</i> sp. B	Não avaliada	Não avaliada	Não avaliada	Não avaliada	Não avaliada	Venezuela: Sucre e Cojedes	Não avaliada
	<i>Oligoryzomys</i> sp. C	Não avaliada	Não avaliada	Não avaliada	Não avaliada	Não avaliada	Suriname: Nickerie, Commewijne, Zanderij	2n=60 e NFa=72
	<i>Oligoryzomys</i> sp. D	Não avaliada	Não avaliada	Não avaliada	Não avaliada	Não avaliada	Venezuela: Amazonas	Não avaliada
Grupo Nigripes	<i>O. nigripes</i>	Dorso castanho alaranjado pouco salpicado de preto, região do flanco com uma faixa castanha amarelada bem delimitada e ventre cinza bem claro com uma mancha evidente na região gular	Lenticular, normalmente alcança o bordo anterior do primeiro molar e o vômer aparece dilatado nos 2/3 anteriores	Borda supraorbital não cortante e curvilínea com região interorbital estreita ao longo da série molar	Processo capsular do incisivo inferior pouco dilatado, não ultrapassa a linha da incisura da mandíbula	Aspecto arredondado e orientado no sentido póstero-ventral	Brasil: Minas Gerais, Espírito Santo, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná, Santa Catarina, Rio Grande do Sul, Mato Grosso do Sul e Distrito Federal Paraguai, Uruguai e nordeste da Argentina	2n=61 a 62 e NFa=78 a 82
	<i>O. aff. nigripes</i>	Não avaliada	Não avaliada	Não avaliada	Não avaliada	Não avaliada	Brasil: Bahia	2n=62, NFa=78
	<i>O. stramineus</i>	Dorso alaranjado, levemente salpicado de preto, com a região do focinho mais escura e levemente	Lenticular, normalmente alcança o bordo anterior do primeiro molar e o vômer	Bordas supraorbitais levemente cortantes e curvilíneas; região interorbital mais	Processo capsular do incisivo inferior pouco dilatado, não ultrapassa a linha da	Aspecto levemente triangular e orientado no sentido póstero-	Brasil: Goiás e Pernambuco	2n=52 e NFa=68

		amarelada, flanco levemente mais claro que o dorso e ventre creme muito claro, com a base levemente grisalha e sem manchas	aparece dilatado nos 2/3 anteriores	estreita anteriormente	incisura da mandíbula	ventral	
	<i>O. chacoensis</i>	Dorso castanho avermelhado muito salpicado de preto, flanco gradualmente mais claro que o dorso, e ventre branco com a base grisalha, pode apresentar uma mancha tênue na região gular	Lenticular, normalmente alcança o primeiro molar e o vômer aparece dilatado nos 2/3 anteriores	Borda supraorbital não cortante e curvilínea com região interorbital estreita medialmente	Processo capsular do incisivo inferior pouco dilatado	Aspecto triangular e orientado ventralmente	Argentina: Jujuy e Tucuman Bolívia: Santa Cruz Brasil: Mato Grosso do Sul Paraguai Continua...
G. Andinus	<i>O. andinus</i>	Não avaliado	Não avaliado	Não avaliado	Não avaliado	Não avaliado	Bolívia: Chuquisaca, Cochabamba, Santa Cruz e Tarija Peru: Ancash 2n=60 e NFa=70 e 71
	<i>O. aff. andinus</i>	Não avaliada	Não avaliada	Não avaliada	Não avaliada	Não avaliada	Bolívia: Tarija 2n=58 e NFa=72
Incertae sedis	<i>O. delicatus</i> (pode-se tratar de <i>Oligoryzomys</i> sp. B)	Não avaliado	Não avaliado	Não avaliado	Não avaliado	Não avaliado	Venezuela: Cojedes, Miranda, e Sucre Trinidade e Tobago 2n=60 e NFa=72
	<i>O. aff. delicatus</i>	Dorso castanho alaranjado, com poucos aristiformes e ventre creme, sem manchas	Gota, com o máximo de abertura na porção posterior, não	Bordas supraorbitais divergentes e constrição da região interorbital	Processo capsular do incisivo inferior não dilatado.	Levemente arredondado, mais orientado dorsalmente	Brasil: Pará Não avaliado

		ultrapassa a borda anterior do primeiro molar; vômer dilatado nos 2/3 anteriores	na posição mediana. Margens supraorbitais levemente cortantes				
<i>Oligoryzomys</i> sp. n A	Dorso castanho, com presença de muitos pêlos aristiformes e ventre acinzentado, apenas com as pontas dos pêlos brancas, não possui manchas na região gular	Gota, com o máximo de abertura na porção posterior, pode ou não ultrapassar a borda anterior do primeiro molar; vômer dilatado nos 2/3 anteriores	Bordas supraorbitais pouco divergentes e constrição da região interorbital comprida, ao longo da série molar	Processo capsular do incisivo inferior dilatado, porém não ultrapassa a linha da incisura da mandíbula	Levemente triangular, mais orientado dorsalmente	Brasil: Ceará	Não avaliado
<i>Oligoryzomys</i> sp. n B	Dorso alaranjado, com poucos pêlos aristiformes e ventre creme a creme claro, pode apresentar leve mancha apenas na região gular	Lenticular, com o máximo de abertura na região mediana, normalmente alcança o primeiro molar; vômer dilatado até a região posterior	Bordas supraorbitais levemente divergentes e constrição da região interorbital mais acentuada medialmente	Processo capsular do incisivo inferior muito dilatado ultrapassando a linha da incisura da mandíbula	Aspecto arredondado, mais orientado ventralmente	Brasil: Ceará	Não avaliado

Referências bibliográficas

- Anderson, S. 1997. Mammals of Bolivia, Taxonomy and Distribution. Bulletin of the American Museum of Natural History 231:1-652.
- Andrades-Miranda J., Oliveira, L. F. B., Lima-Rosa, C. A. V., Nunes, A. P., Zanchin, N. I. T., Mattevi, M. S. 2001. Chromosome studies of seven species of *Oligoryzomys* (Rodentia: Sigmodontinae) from Brazil. Journal of Mammalogy 82:1080-1091.
- Aniskin, V. M., Volobouev, V. T. 1999. Comparative chromosome banding of two South-American species of rice rats of the genus *Oligoryzomys* (Rodentia, Sigmodontinae). Chromosome Research 7:557-562.
- Bonvicino, C. R., Langguth, A., Lindbergh, S. M., Paula, A. C. 1997. An elevational gradient study of small mammals at Caparaó National Park, South eastern Brazil. Mammalia 61:547-560.
- Bonvicino, C. R., Weksler, M. 1998. A new species of *Oligoryzomys* (Rodentia, Sigmodontinae) from northeastern and central Brazil. Zeitschrift fur Säugetierkunde 63:90-103.
- Brum-Zorrilla, N., Fronza, T. G., Wainberg, R., Vidal-Rioja, L., Zwirner, N. 1988. *Oryzomys flavescens* and *O. delticola* chromosomes (Rodentia, Cricetidae) from Uruguay and Argentina. Caryologia 41:275-288.
- Cabrera, A. 1961. Catálogo de los mamíferos da América del Sur. II (Sirenia-Parissodactyla- Artiodactyla- Lagomorpha- Rodentia- Cetacea). Revista del Museo Argentino de Ciencias Naturales "Bernardino Rivadavia": Ciencias Naturales. v.4, p.308-732.
- Carleton, M. D., Musser G. G. 1989. Systematic studies of oryzomyine rodents (Muridae, Sigmodontinae): a synopsis of *Microryzomys*. Bulletin of the American Museum of Natural History 191:1-83.
- Carleton, M. D., Musser, G. G. 1995. Systematic Studies of Oryzomyine Rodents (Muridae, Sigmodontinae) - Definition and Distribution of *Oligoryzomys vegetus* (Bangs, 1902). Proceedings of the Biological Society of Washington 108(2):338-369.

- Carmignotto, A. P. 2004. Pequenos mamíferos terrestres do bioma Cerrado: padrões faunísticos locais e regionais. Tese de doutorado. São Paulo, São Paulo, Brasil.
- Dickerman, A. W., Yates, T. L. 1995. Systematics of *Oligoryzomys*: protein-electrophoretic analyses. *Journal of Mammalogy* 76:172-188.
- Dinerstein, E., Olson, D. M., Graham, D. J., Webster, A. L., Primm, S. A., Bookbinder, M. P., Ledec, G. 1995. Ecoregions of Latin America and the Caribbean (inset map). *In: A Conservation Assessment of the Terrestrial Ecoregions of Latin America and the Caribbean*, The World Bank, Washington, DC.
- Espinosa, M. B., Reig, O. A. 1991. Cytogenetics and karyosystematics of South American oryzomyine rodents (Cricetidae, Sigmodontinae). III. Banding karyotypes of Argentinian *Oligoryzomys*. *Sonderdruck aus Zeitschrift für Säugetierkunde* 56:306-317.
- Francés, J., D'Elía, G. 2006. *Oligoryzomys delticola* es sinónimo de *O. nigripes* (Rodentia, Cricetidae, Sigmodontinae). *Mastozoología Neotropical* 13:123-131.
- Furtado, V. V. 1981. Diversidade cromossômica em roedores das famílias Cricetidae e Caviidae de Pernambuco, Brasil. PhD Thesis. Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.
- Gallardo, M. H., Palma, E. 1990. Systematic of *Oryzomys longicaudatus* (Rodentia: Muridae) in Chile. *Journal of Mammalogy* 71(3):333-342.
- Gallardo, M. H., Patterson, B. D. 1985. Chromosomal differences between two nominal subspecies of *Oryzomys longicaudatus* Bennett. *Mammalian Chromosomes Newsletter* 25:49-53.
- Gardner, A. L., Patton, J. L. 1976. Karyotypic variation in oryzomyine rodents with comments on chromosomal evolution in Neotropical cricetine complex. *Occasional Papers Louisiana State University Museum of Zoology* 49:1-48.
- Gonzalez-Iltig, R. E., Theiler, G. R., Gardenal, C. N. 2002. A contribution to the subgeneric Systematics of *Oligoryzomys* (Rodentia, Muridae) from Argentina

by means of PCR-RFLP patterns of mitochondrial DNA. *Biochemical Systematics and Ecology* 30:23-33.

Haynie, M. L., Brant, J. G., McAliley, L. R., Carrera, J. P., Revelez, M. A., Parish, D. A., Viteri, X., Jones, C., Phillips, C. J. 2006. Investigations in a natural corridor between two national parks in Central Ecuador: results from the sowell expedition, 2001. *Occasional papers Museum of Texas Tech University* 263:1-16.

Hershkovitz, P. 1962. Evolution of neotropical cricetine rodents (Muridae) with special reference to the phyllotine group. *Fieldiana Zoology* 46:1-524.

IBGE. 1993. Mapa de vegetação do Brasil. Rio de Janeiro, Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 1p.

Ibish, P. L., Beck, S. G., Gerkmann, B., Carretero, A. 2003. Ecoregiones y ecosistemas. *In: Biodiversidad: la riqueza de Bolivia, estado de conocimiento y conservación* (Ibisch, P. L., Mérida, G. eds.), Santa Cruz de la Sierra: Editorial FAN. Pp. 47–88.

Kasahara, S., Yonenaga-Yassuda, Y. 1984. A progress report of cytogenetic data on Brazilian rodents. *Revista Brasileira de Genética* 7:509-533.

Kiblicky, P. 1969. The chromosomes of two species of the genus *Oryzomys* (Rodentia: Cricetidae). *Experientia* 25:1338-1339.

Lima, J. F. S., Bonvincino, C. R., Kasahara, S. 2003. A new karyotype of *Oligoryzomys* (Sigmodontinae, Rodentia) from central Brazil. *Hereditas* 139:1-6.

Massoia, E. 1973. Descripción de *Oryzomys fornesi*, nueva especie y nuevos datos sobre algunas especies y subespecies argentinas del subgénero *Oryzomys* (*Oligoryzomys*) (Mammalia – Rodentia– Cricetidae). *Revista de Investigaciones Agropecuarias, INTA, Serie 1, Biología y Producción Animal* 10:21-37.

- Miranda, G. B., Oliveira, L. F. B., Andrades-Miranda, J., Langguth, A., Callegari-Jacques S. M., Mattevi, M. S. 2009. Phylogenetic and Phylogeographic Patterns in Sigmodontine Rodents of the Genus *Oligoryzomys*. *Journal of Heredity* 100(3):309-321.
- Musser, G. G., Carleton, M. D. 1993. Family Muridae. *In: Mammal species of the world: a taxonomic and geographic reference*. 2nd ed. (Wilson, D. E., Reeder D. M. eds.), Smithsonian Institution Press, Washington, D.C. Pp. 501-755.
- Musser, G. G., Carleton, M. D. 2005. "Superfamily Muroidea". *In: Mammal Species of the World, Third Edition* (Wilson, D. E., Reeder, D. M. eds.), The Johns Hopkins University Press. Pp. 894-1531.
- Myers, P., Carleton, M. D. 1981. The species of *Oryzomys* (*Oligoryzomys*) in Paraguay and the identity of Azara's "*rat sixième ou rat à tarse noir*". *Miscellaneous Publications Museum of Zoology University of Michigan* 161:1-41.
- Myers, P., Lundrigan, B., Tucker, P. K. 1995. Molecular phylogenetics of oryzomyine rodents: the genus *Oligoryzomys*. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 4:372-382.
- Nei, M. 1987. *Molecular evolutionary genetics*. Columbia Univ. Press, New York.
- Olds, N., Anderson, S. 1987. Notes on Bolivian mammals 2. Taxonomy and distribution of rice rats of the genus *Oligoryzomys*. *In: Studies in Neotropical mammalogy: essays in honor of Philip Hershkovitz* (Patterson, B. D., TIMM, R. M. eds.), Fieldiana Zoology, New Series, Chicago, 39:261-281.
- Osgood, W. H. 1914. Mammals of an expedition across northern Peru. *Fieldiana Zoology* 10(12):143-185.
- Osgood, W. H. 1943. The mammals of Chile. *Field Museum of Natural History, Zoology Series* 30:1-268.
- Palma, R. E. 1987. Sistemica evolutiva del gnero *Oryzomys* Baird en Chile (Rodentia: Cricetidae). Tese de mestrado, Universidad Austral de Chile, Valdivia.

- Palma, R. E., Rivera–Milla, E., Salazar–Bravo, J., Torres–Pérez, F., Pardiñas, U. F. J., Marquet, P. A., Spotorno, A. E., Meynard, A. P., Yates, T. L. 2005. Phylogeography of *Oligoryzomys longicaudatus* (Rodentia: Sigmodontinae) in temperate South America. *Journal of Mammalogy* 86:191-200.
- Pardiñas, U. F. J., Abba, A. M., Merino, M. L. 2004. Micromamíferos (Didelphimorphia y Rodentia) del sudoeste de la provincia de Buenos Aires (Argentina): taxonomía y distribución. *Mastozoología Neotropical* 11:211-232.
- Patton, J. L., da Silva, M. N. F., Malcolm, J. R. 2000. Mammals of the Rio Juruá and the evolutionary and ecological diversification of Amazonia. *Bulletin of the American Museum of Natural History* 244:1-305.
- Perini, M. V., Weimer, T., Callegari–Jacques, S. M., Mattevi, M. S. 2004. Biochemical polymorphisms and genetic relationships in rodents of the genera *Oryzomys* and *Oligoryzomys* (Sigmodontinae) from Brazil. *Biochemical Genetics* 42:317-329.
- Raymond, M., Rousset, F. 1995. An exact test for population differentiation. *Evolution* 49:1280-1283.
- Rivera, P. C., González-Iltig, R. E., Rossi-Fraire, H. J., Levis, S., Gardenal, C.N. 2007. Molecular identification and phylogenetic relationships among the species of the genus *Oligoryzomys* (Rodentia, Cricetidae) present in Argentina, putative reservoirs of hantaviruses. *Zoologica Scripta* 36:231-239.
- Sbalqueiro, I. J., Mattevi, M. S., Oliveira, L. F. B., Solano, M. J. V. 1991. B chromosome system in populations of *Oryzomys flavescens* (Rodentia, Cricetidae) from southern Brazil. *Acta Theriologica* 36:193-199.
- Schneider, S., Roessli, D., Excoffier, L. 2000. Arlequin ver. 2000: a software for population genetics data analysis. Genetics and Biometry Laboratory, University of Geneva, Geneva, Switzerland.
- Tajima, F. 1989. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics* 123:585-595.
- Thomas O. 1901. On a collection of mammals from the Kanuku Mountains, British Guiana. *Annals and Magazine of Natural History* 7(8):139-154.

- Trott, A. I., Callegari-Jacques, S. M., Oliveira, L. F. B., Langguth, A., Mattevi, M. S. 2007. Genetic diversity and relatedness within and between species of the genus *Oligoryzomys* (Rodentia, Sigmodontinae). *Brazilian Journal of Biology* 67:631–637.
- Voss, R. S. 1988. Systematics and ecology of Ichthyomyine rodents (Muroidea): patterns of morphological evolution in a small adaptive radiation. *Bulletin of the American Museum of Natural History* 188(2):260-493.
- Weksler, M. 2006. Phylogenetic relationships of oryzomine rodents (Muroidea: Sigmodontinae): separate and combined analyses of morphological and molecular data. *Bulletin of the American Museum of Natural History* 296:1-149.
- Weksler, M., Bonvicino, C. R. 2005. Taxonomy of pigmy rice rats genus *Oligoryzomys* Bangs, 1900 (Rodentia, Sigmodontinae) of the Brazilian Cerrado, with the description of two new species. *Arquivos do Museu Nacional* 63:113-130.

Capítulo 5

**FILOGEOGRAFIA DO GÊNERO *OLIGORYZOMYS* BANGS 1900
(RODENTIA: CRICETIDAE): MODELOS DE EXPANSÃO E INVASÃO
NA REGIÃO NEOTROPICAL**

RESUMO

Uma vez conhecidas as espécies e as suas distribuições procurou-se, neste capítulo, reconstruir a história biogeográfica do gênero *Oligoryzomys*. Fizeram parte da amostra nesta etapa 40 indivíduos de *O. nigripes*; 37 indivíduos de *O. andinus*; 36 indivíduos de *O. flavescens*; 16 indivíduos de *O. fulvescens*; e 64 indivíduos de *O. microtis*. Foram testadas as hipóteses sobre a estabilidade demográfica de diferentes populações, de diferentes espécies de *Oligoryzomys*, usando sequências do gene mitocondrial citocromo b (1140 pb) e do íntron 7 do beta-fibrinogênio (610 pb). Foram realizadas Análises de Variância Molecular para as espécies nas quais os cálculos de F_{ST} apresentaram variações entre as populações. Além disso, calculou-se a distribuição *mismatch* para a investigação da história demográfica das populações. Utilizou-se dois testes estatísticos capazes de inferir a neutralidade dos alelos presentes na população: D de Tajima e F_s de Fu. Para responder questões relacionadas ao tempo de divergência das espécies e da formação da estrutura populacional foi empregado o método de inferência coalescente usando o programa Beast. Nesta etapa foram usadas sequências de todas espécies de *Oligoryzomys* disponíveis. Os resultados mostraram, para a maioria das populações, uma alta diversidade haplotípica contrastando com uma baixa diversidade nucleotídica para os dois marcadores estudados. Este resultado pode indicar a ocorrência recente de um ou mais eventos de estrangulamento genético, diversificação recente, ou pressão seletiva. A maior aceleração da diversificação de *Oligoryzomys* ocorreu durante o final do Mioceno e Plioceno. Estes dados em conjunto indicam que a cronologia da divergência genética em *Oligoryzomys* pode ter sido resultado de vários eventos geológicos. Os dados apresentados

aqui sugerem uma hipótese de especiação de *Oligoryzomys* muito mais complexa do que a proposta em trabalhos anteriores.

ABSTRACT

Now that the species and their distributions are known, this chapter aims to reconstruct the biogeographical history of the genus *Oligoryzomys*. The sample consisted of: 40 individuals of *O. nigripes*, 37 individuals of *O. andinus*, 36 individuals of *O. flavescens*, 16 individuals of *O. fulvescens*, and 64 individuals of *O. microtis*. The demographic stability hypotheses on different populations of different *Oligoryzomys* species were tested, using mitochondrial cytochrome b gene (1140 bp) and intron 7 of beta-fibrinogen (610 bp) sequences.. Analyses of Molecular Variance were carried out only for those species which F_{ST} calculations showed variation between populations. Furthermore, we calculated the mismatch distribution for the investigation of population's demographic history. Two statistical tests were used to infer the neutrality of the alleles present in the population: Tajima's D and Fu's F_s . To answer questions related to the time of divergence of the species and the formation of the population's structure, coalescent inference was used using the program Beast. During this step, all available sequences of the all *Oligoryzomys* species were used. Results showed that, for most populations, there is a high haplotype diversity contrasted with low nucleotide diversity for both markers studied. This result may indicate the recent occurrence of one or more genetic bottleneck event, recent diversification, or selective pressure. The most acceleration of *Oligoryzomys* diversification occurred during the Miocene and Pliocene.

These data together indicate that the chronology of *Oligoryzomys* genetic divergence may have been the result of several geological events. The present data suggest a more complex hypothesis of speciation in *Oligoryzomys* than proposed in previous works.

INTRODUÇÃO

Filogeografia

A ecologia molecular pode ser considerada como a interface entre a genética, ecologia e biologia de população. Como tal, inclui estudos sobre estrutura genética da população, tamanho efetivo populacional, fluxo de genes, história da população e demografia.

Além das abordagens de genética de populações utilizando marcadores moleculares, a ecologia molecular também utiliza genes e filogenias de espécies para o estudo dos processos com efeitos no nível de população. A análise e a interpretação das distribuições das linhagens requerem, normalmente, um conhecimento extensivo de genética molecular, genética de populações, etologia, demografia, biologia evolutiva, paleontologia, geologia e geografia histórica (Avise, 2000). A filogeografia é vista como a ponte entre a genética de populações e a sistemática filogenética (Avise *et al.*, 1987; Avise, 2000), pois, baseada em traços de genes dos organismos, procura interpretar o modo pelo qual os processos demográficos históricos da população possam ter deixado marcas nas distribuições geográficas contemporâneas das populações/espécies. Compreender a distribuição dos alelos em uma gama de espécies é fundamental para os ecologistas moleculares, porque permite fazer inferências sobre como a história influenciou a distribuição espacial desses genes específicos.

A maioria das populações, senão todas, apresentam algum nível de estruturação genética que pode ser devida a uma variedade de causas não-excludentes. Até mesmo a enguia europeia (*Anguilla anguilla*), muitas vezes considerada como exemplo clássico de uma população panmítica, uma vez que todos os indivíduos migram para a reprodução no Mar dos Sargaços, tem

mostrado uma estrutura geográfica (Wirth e Bernatchez, 2001). As barreiras físicas, os processos históricos e as histórias de vida (por exemplo, sistema de cruzamento) podem gerar uma estrutura genética de populações (Ahonen *et al.*, 2009; De-Lucas *et al.*, 2009; Fitzpatrick *et al.*, 2009). Além disso, como a distribuição geográfica das espécies é tipicamente mais extensa do que a capacidade de dispersão de um indivíduo, as populações são muitas vezes geneticamente diferenciadas por causa do isolamento por distância, ou seja, populações próximas tendem a ser geneticamente mais similares do que as populações mais distantes.

A quantidade de alelos trocados entre as populações é indicativo da estrutura genética de uma espécie, portanto, compreender o fluxo de genes e seus efeitos são fundamentais para as pesquisas de genética populacional, ecologia de populações e biologia da conservação. A migração homogeneiza as frequências alélicas entre populações e determina os efeitos relativos da seleção e deriva genética. O fluxo alto de genes impede a fixação de adaptação local, ou seja, de alelos que seriam favorecidos em condições locais e, portanto, impede também o processo de especiação (Barton e Hewitt, 1985). Por outro lado, o fluxo gênico introduz novos polimorfismos nas populações, aumenta o tamanho efetivo da população e, conseqüentemente, pode aumentar a resistência nos casos de mudanças aleatórias nas frequências alélicas, isso gera novas combinações de genes em que a seleção pode, potencialmente, agir.

As estimativas de diferenciação da população também são cruciais na biologia da conservação, onde são frequentemente necessárias para compreender se as populações estão geneticamente isoladas de outras, e em caso afirmativo, em que medida. O conhecimento da estrutura de uma população pode proporcionar orientações valiosas para estratégias de

conservação e gestão (por exemplo: Avise, 1992; Avise, 1998; Driscoll, 1998; Holland, 2000; Curtis e Taylor, 2003; Ruggiero *et al.*, 2002; Crompton *et al.*, 2008).

Começando com Wahlund (1928) os geneticistas perceberam que o levantamento de dados genéticos pode revelar informações sobre a subdivisão de populações. Wright (1931; 1943) introduziu as estatísticas F como uma forma de utilizar os dados de frequências alélicas de diferentes localidades geográficas para quantificar a subdivisão populacional e estimar o fluxo gênico. Atualmente, pesquisas em genética usam sequências de DNA para obterem informações sobre as relações evolutivas entre as espécies. Consequentemente, estão disponíveis as informações sobre as mudanças do alelo ao longo do tempo evolutivo, bem como no espaço geográfico. Esta informação temporal pode ser usada para entender tanto a distribuição espacial da variação alélica atual, quanto a relação entre a estrutura e a história da população utilizando uma árvore de haplótipos.

Os métodos filogenéticos podem ser usados para inferir árvores e estimativa de padrões de relacionamento entre os haplótipos, enfocando o histórico das relações de linhagens genéticas. Ao comparar a árvore filogenética com a estrutura geográfica dos dados, pode-se inferir os padrões históricos da subdivisão da população e compreender os padrões de distribuição atual das espécies estudadas. Avise e colaboradores (Avise *et al.*, 1979; 1987) utilizaram árvores de haplótipos como suas ferramentas analíticas primárias. Os primeiros estudos filogeográficos faziam inferências qualitativas a partir de uma sobreposição visual da árvore de haplótipos em cima de um mapa das localidades amostradas. Como o conhecimento amadureceu, houve um reconhecimento geral de que as inferências feitas estavam sujeitas a várias

fontes de erro, e numa próxima fase do desenvolvimento da filogeografia intraespecífica procurou-se integrar novas estatísticas sobre a estrutura da população para se obter inferências mais sólidas.

As características genéticas da população, as análises da estrutura populacional e da história demográfica podem fornecer informações sobre os processos que conduziram aos padrões observados de variação genética (Emerson *et al.*, 2001). Martínez *et al.* (2006) mostraram, por exemplo, como as comparações de haplótipos e diversidade de nucleotídeos podem revelar fatos sobre a demografia histórica de uma população. A estrutura genética pode ser medida em diferentes níveis:

- nível individual: heterozigotidade/ homozigotidade
- população local: diversidade alélica e genotípica (F_{is})
- entre as populações: distribuição de frequências alélicas em subpopulações (F_{st})

Todas estas estatísticas F podem coletivamente descrever a estrutura populacional. É possível explicar a estrutura da população com o aumento periódico das forças que ocorrem em cada geração de fluxo gênico (sistema de acasalamento, a deriva, o potencial de dispersão, etc.). No entanto, há processos que são ocasionais, como os acontecimentos históricos que também têm consequências importantes na estrutura genética da população. Por exemplo, a fragmentação do habitat pode diminuir o fluxo de genes e causar o aumento de endogamia, enquanto que uma expansão pode aumentar o fluxo de genes e diminuir a endogamia. Outras mudanças recorrentes do tamanho da população incluem efeito gargalo, eventos fundador, e o crescimento da população.

Ao se detectar um padrão de variação genética, a preocupação principal é interpretar como esse padrão foi desenhado, neste caso deve-se levar em considerações às forças evolutivas envolvidas e os fatores históricos, onde uma não exclui a outra.

As equações da genética de populações são geralmente utilizadas para descrever o estado de equilíbrio, onde as condições serão o estado ideal. Dentre os pressupostos originais de populações em equilíbrio são considerados que a população precisa ser infinitamente grande no sentido de eliminar a deriva genética; reproduzir-se aleatoriamente; ter um número de fêmeas igual ao número de machos; e não estar sujeita a evolução como seleção natural, mutações ou migração.

O que se mede em populações reais são os resultados de ambos os processos: atuais e históricos, que não estão necessariamente em equilíbrio. Assim, deve-se tomar cuidado na interpretação dos dados obtidos, especialmente em relação aos parâmetros das estatísticas F , que são incapazes de distinguir entre ambas as fontes de estrutura genética.

Por exemplo, suponha-se que uma população foi fragmentada em duas ou mais subpopulações e que a partir desta experiência não ocorra mais nenhum fluxo de gene entre elas. Se elas tivessem uma descendência recente compartilhada, a população poderia ainda mostrar alguma similaridade genética que renderia um estimativa de $F_{st} < 1$, erroneamente, pois implica na interpretação de uma existência de fluxo gênico. O mesmo pode ocorrer se uma população expande seu alcance sobre uma grande área sobrepondo a área de uma espécie ancestral. As novas populações podem manter por algum tempo uma similaridade genética com os entes originais, como resultado de ancestralidade compartilhada recente, e não de fluxo gênico real. Um cuidado

especial deve ser exercido quando os valores de F_{st} são utilizadas para inferir número de migrantes (N_m) entre as populações e, conseqüentemente, os valores de fluxo gênico.

Se, as análises da variação molecular entre as populações e grupos de populações são úteis para examinar os padrões de estrutura geográfica, o desafio então é, determinar quais são os melhores métodos para responder as perguntas em mãos. A utilização de múltiplas abordagens incluindo inferência filogenética, análise de clados agrupados, medidas de diversidade genética e métodos baseados em coalescência parecem ser a forma mais adequada para a elucidação não só da estrutura geográfica, mas também da história evolutiva que produziu tal estrutura (Durand *et al.*, 1999; Bernatchez, 2001; Tarjuelo *et al.*, 2001; Althoff e Pellmyr, 2002; Daniels *et al.*, 2007; Anducho-Reyes *et al.*, 2008).

A teoria coalescente

A teoria coalescente tem sido descrita como “o mais significativo progresso em genética populacional teórica nas duas últimas décadas do século passado” (Fu e Li, 1999). A coalescência foi formalmente introduzida por Kingman em 1982 mostrando a essência da relação entre o tamanho da população e a ancestralidade. Kingman (1982) mostrou que a união das linhagens antepassadas é descrita por um processo matemático, o qual ele chamou de processo coalescente. O coalescente é um modelo estocástico que aproxima as relações ancestrais entre os genes. A teoria coalescente descreve a ascendência genética de uma amostra e usa isso para fazer previsões sobre os padrões de variação genética (Wakeley, 2008).

A idéia geral é que, uma amostra de n seqüências de DNA podem ser seguidos para trás ao longo do tempo a um ponto onde somente $n-1$ seqüências existiram. Nesse ponto, duas das seqüências n originais "se uniram" em uma.

Estes $n-1$ sequências depois coalescem para $n-2$, então $n-3$, e assim por diante, até que todas as sequências n na amostra original possam ser rastreadas até um antepassado comum, referido como o mais recente ancestral comum (MRCA).

Os métodos baseados em teoria coalescente permitem estimativas dos tamanhos das populações, tanto atuais como os passados, diretamente a partir de dados genéticos. O tamanho efetivo da população (N_e) está relacionado com a taxa de deriva genética e endogamia, e é útil por exemplo quando se investiga a possibilidade do cruzamento entre Neandertais e os primeiros seres humanos (Serre *et al.*, 2004), ou quando se olha para os padrões de variação genética (Hare *et al.*, 2002).

É consenso que a maioria das mutações são deletérias, uma pequena parte são neutras e apenas uma fração destas devem ser vantajosas. Quando uma mutação neutra ocorre, em geral, ela não provoca variação na aptidão do indivíduo. Conhecer os processos estocásticos neutros nas populações são importantes para questões metodológicas da ciência, pois, permitem comparar os resultados teóricos preditos por modelos neutros com modelos que incluem seleção. Assim é possível verificar qual dos dois se adequam melhor às observações. O modelo neutro funciona como uma hipótese nula (Graur e Li, 2000; Donnelly *et al.*, 2001) para o paradigma selecionista.

Por exemplo, é possível simular a evolução de um gene (genealogias ou matrizes de genes) e testar as hipóteses alternativas dentro da história da população (Knowles, 2001; Carstens *et al.*, 2004). Em seguida, as genealogias simuladas podem ser comparadas com as filogenias inferidas a partir da sequência de dados para avaliar qual hipótese melhor se ajusta aos dados (Knowles 2001; Carstens *et al.*, 2004).

A abordagem retrospectiva da teoria coalescente contrasta com a abordagem via genética populacional clássica (Ewens, 1990), em que os principais objetivos estão em prever mudanças nas frequências dos alelos ao longo do tempo e descrever padrões de variação genética de uma população. É importante notar, no entanto, que muitos resultados bem conhecidos podem ser obtidos tanto pela abordagem clássica ou pela abordagem coalescente. Ainda assim, o coalescente, com a sua estreita ligação com a amostra, fornece um quadro mais intuitivo e eficiente do que a teoria clássica para fazer inferências sobre a genética e demografia das populações (Wakeley, 2008).

No entanto, o teste a priori de hipóteses em um quadro estatístico rigoroso permanece ainda em sua infância, principalmente, pela falta de conhecimento nesta área (Knowles e Maddison, 2002) e pela estocasticidade do processo coalescente (Edwards e Beerli, 2000; Knowles e Maddison, 2002; Hudson e Turelli, 2003). Mesmo com a triagem aleatória de uma linhagem há uma elevada probabilidade de grandes populações com uma história recente compartilhada serem geneticamente semelhantes. Além disso, devido à estocasticidade coalescente, a mesma história da população pode resultar em diferentes padrões genealógicos em loci diferentes. Inversamente, uma árvore de um único gene também pode ser coerente com as múltiplas histórias da população, levando à inferências falsas se a variação no processo coalescente não é avaliada. Portanto, o desafio para os pesquisadores é incorporar essa variabilidade no processo coalescente, no processo mutacional e da amostragem de linhagens ao testar hipóteses alternativas concorrentes sobre a história da população.

O grupo biológico e as hipóteses

Os roedores do gênero *Oligoryzomys* compreendem, aproximadamente, 30 espécies que habitam campos abertos, florestas úmidas e ambientes secundários, desde o México até o Sul da América do Sul; desde os Andes, a oeste da América do Sul, até a costa Atlântica ao leste (Presente trabalho).

A partir dos resultados observados nesse trabalho observou-se que apenas 3 espécies do gênero possuem distribuições mais abrangentes: *O. nigripes* que ocorre na Mata Atlântica, Campos Sulinos e Cerrado do Brasil, Paraguai e Argentina; *O. microtis* do bioma Amazônico do Brasil, Peru e Bolívia; e *O. flavescens* dos campos de Altitude do Brasil, Uruguai, Argentina. As outras espécies ocorrem apenas em áreas muito restritas. Por exemplo, no Cerrado são encontradas 3 espécies endêmicas: *O. fornesi*, *O. moojeni* e *O. rupestris*; na Caatinga ocorre *O. stramineus*; no Chaco do Brasil, Paraguai e Bolívia ocorre *O. chacoensis*; na Costa Pacífica Sul ocorrem *O. longicaudatus* e *O. magellanicus*; nas montanhas Andinas ocorrem *O. aff. flavescens*, *O. andinus*, *O. aff. andinus* e *Oligoryzomys* sp. A; nos enclaves da Amazônia ocorrem *O. messorius* e 4 espécies que não puderam ser associadas a nomes específicos; na Costa Rica e Panamá ocorrem *O. vegetus* e *O. fulvescens*; no México ocorre *O. fulvescens*.

A ampla distribuição do gênero e o alto grau de endemismo da maioria das suas espécies, associados a sua história filogeográfica, podem ajudar a esclarecer a origem e diversificação de *Oligoryzomys*.

A data e a forma como os murídeos entraram na América do Sul e quando ocorreu a radiação dos sigmodontíneos são ainda controversos na literatura. O debate principal está centrado em dois pontos, o primeiro é se a entrada ocorreu antes da formação do Istmo do Panamá (chegada precoce) ou depois (tardia) e

o segundo é se a maior diversificação ocorreu ao Norte ou ao Sul da América. Duas hipóteses tentam explicar a origem destes roedores na América do Sul.

A primeira hipótese sugere uma invasão tardia baseada em evidências fósseis e postula que a diferenciação da maioria dos gêneros sigmodontíneos ocorreu na América do Norte (Patterson e Pascual, 1968; 1972). Posteriormente, (Plioceno Superior) após a formação do Istmo do Panamá, os sigmodontíneos alcançaram a América do Sul através da América Central, já como um grupo complexo e diversificado. Ao atingir a América do Sul, o grupo teria sofrido uma diversificação ampla em nível específico.

A hipótese alternativa (Savage, 1974; Reig, 1978; 1984; 1986) sugere que os sigmodontíneos são mais antigos na América do Sul do que proposto por Patterson e Pascual (1968; 1972). Seus ancestrais teriam alcançado o continente no princípio do Mioceno, através dejangadas naturais, e aqui ao invadirem novas regiões e nichos ecológicos disponíveis passaram a sofrer uma série de radiações adaptativas, em níveis genéricos e específicos. Segundo estes autores, o espaço de tempo decorrido entre o Plioceno Superior e o Recente, postulado na primeira hipótese, seria insuficiente para abranger o alto grau de diferenciação local, o grande número de endemismos e a distribuição atual dos Sigmodontinae sul americanos.

Segundo Iturralde-Vinent e MacPhee (1999), a origem dos murídeos data de antes da formação do Istmo do Panamá, quando a América do Sul ainda estava isolada de outros continentes.

Steppan *et al.* (2004) listou os quatro modelos de hipóteses mais difundidos propostos na literatura que tentam explicar a origem e diversificação dos sigmodontíneos: a diversificação e chegada tardia na América do sul (Simpson, 1950), o que tornaria os sigmodontíneos uma irradiação adaptativa;

diversificação na América do Norte seguida pela chegada tardia de uma ou muitas linhagens (> 20; Patterson e Pasqual, 1972) ou um número moderado (6 a 8; Baskin, 1986); diversificação na América do Sul após uma chegada precoce, há mais de 20 Mya (Herskovitz, 1972; Savage, 1974); ou uma diversificação maior na América do Sul depois da chegada de um pequeno número de linhagens entre 5 a 7 Mya, durante um período de baixa do nível do mar (Marshall, 1979). Assim, os vários modelos diferem em números de linhagens que invadiram a América do Sul, o local e a data da radiação: muitas linhagens (20 a 40, Patterson e Pasqual, 1972), algumas ($\approx$ 2 a 5, Marshall, 1979; 6 a 12, Baskin, 1986), uma ou algumas (tardia, Simpson, 1950; precoce, Herskovitz, 1972).

Os registros dos primeiros sigmodontíneos fósseis na América do Sul ocorreram na Formação de Cerro Azul da Argentina, datando do Mioceno (Verzi e Montalvo, 2008), estes registros apoiam as hipóteses da chegada precoce dos cricetídeos levantadas por Herskovitz (1966), Reig (1978), Marshall (1979), Reig (1980) e Engel *et al.* (1998).

Steppan *et al.* (2004) basearam-se em múltiplos genes nucleares e sugeriram que a explicação mais plausível para tamanha especiação e divergência morfológica seria uma irradiação adaptativa, com a dispersão de uma única linhagem na América do Sul seguida por uma diversificação rápida.

Baseados nesta interpretação, Steppan *et al.* (2004) sugerem que um ancestral *Oryzomyia* atingiu a América do Sul há cerca de 6 Mya, antes da formação de uma ponte terrestre contínua. Estes dados corroboram a hipótese de Marshall (1979), que propôs o modelo de menor nível do mar e a invasão oportuna dos roedores na América do Sul. Os dados moleculares obtidos por

Steppan *et al.* (2004) mostraram evidências de um modelo autóctone de grande irradiação sul-americana.

Devido a ampla distribuição geográfica e o alto nível de endemismos, espera-se que os padrões de diversificação de *Oligoryzomys* tenham sido influenciados por processos históricos. Até o momento, a ampla distribuição do gênero *Oligoryzomys* foi pouco explorada e somente duas hipóteses foram propostas para explicar a origem e distribuição do grupo.

Reig (1984; 1986) especulou que a área de diferenciação original dos orizominos estaria localizada nos Andes do Equador, Colômbia e Venezuela. Seus ancestrais, os proto-orizominos, teriam alcançado a costa noroeste da América do Sul por meio de jangadas naturais e teriam se dispersado rapidamente nas terras altas que emergiam no Mioceno inferior. O levantamento subsequente da Cordilheira dos Andes na fase miocena orogênica teria aumentado a heterogeneidade dos ambientes andinos, promovendo a diferenciação da linhagem orizomina ancestral em adaptação aos habitats diferentes da selva montanhosa. Num mesmo momento, outros orizominos teriam se diversificado em adaptação à habitats de elevações mais baixas, invadindo as terras baixas a noroeste dos Andes, e posteriormente regiões mais baixas meridionais. Segundo Reig (1986) é provável que dentro deste processo tenha-se originado o táxon *Oligoryzomys*, adaptado às pradarias baixas e com tendência a uma alimentação herbívora.

Miranda *et al.* (2009) sugeriram, baseados nas análises filogenéticas e na significativa correlação genético-geográficas encontrada, que o ponto de origem de *Oligoryzomys* foi o norte dos Andes e que eles teriam ocupado primeiramente a Amazônia e Cerrado e mais tarde as regiões mais ao sul e leste da América do

Sul. No entanto, o número e a distribuição dos táxons analisados por Miranda *et al.* (2009) neste trabalho foram restritos.

Nos dois casos relatados acima, as hipóteses que tentam explicar a especiação de *Oligoryzomys* são baseadas em idéias de centro de origem e rotas de dispersão dos organismos, no entanto, a plausibilidade destas hipóteses são muito controversas quanto a sua fundamentação teórica (Coyne e Orr, 2004; Gavrillets, 2004), além de ser muito difícil testá-las empiricamente (McNutt e Bonneville, 2000).

Uma alternativa mais simples é baseada em processos vicariantes. Neste caso, as especiações são resultados do interrompimento do fluxo gênico que, eventualmente, são causados por mudanças climáticas ou físicas na superfície da terra. Dentre elas estão as mudanças geológicas, de temperatura, do nível do mar, dos cursos de rios etc., que levam ao isolamento e conseqüentemente ao endemismo. De acordo com o processo vicariante espera-se encontrar um paralelo entre a história das relações biológicas à história geológica da Terra.

Neste capítulo foram incluídas populações cobrindo a maior parte das espécies de *Oligoryzomys*, o que permitiu investigar os endemismos em diferentes locais da Região Neotropical. *Oligoryzomys* é um gênero que ocupa principalmente áreas abertas como os campos do cerrado, campos de altitude, campos rupestris, enclaves de savanas amazônicas, e mesmo quando está associado à áreas de florestas, como na Mata Atlântica, os animais são coletados em bordas de matas, capoeiras ou zonas agrícolas e na Floresta Amazônica está sempre associado às vegetações das beiras dos rios e quase não há registros de coletas dentro da floresta densa. Dentro desse contexto, espera-se que *Oligoryzomys*, por suas características generalistas e habitantes de áreas abertas, tenha aproveitado o corredor de savana que existiu na

América do Sul durante o Mioceno e Plioceno para ocupar grande parte da América do Sul e depois com a formação do Istmo do Panamá puderam alcançar a América Central e o Sul da América do Norte, seu limite máximo de distribuição ao norte. Além disso, quando houve a expansão das florestas durante os ciclos glaciais, as populações ficaram isoladas, como no modelo de especiação alopátrica, onde é previsto a diminuição de fluxo gênico entre as populações, esses isolamentos foram responsáveis pelos padrões de especiação e endemismos observados atualmente.

Para que esta hipótese seja corroborada precisa-se primeiramente testar se *Oligoryzomys* é um gênero autóctone da América do Sul; segundo testar se antes da formação do istmo do Panamá já haviam representantes do gênero na América do Sul; e por fim comparar as datações obtidas aos eventos geológicos conhecidos na formação do relevo e paisagem da América do Sul e de retração e expansão das florestas que ocorreram durante o Mioceno, Plioceno e Pleistoceno.

Para abordar estas hipóteses foram testadas a estabilidade demográfica das populações, calculados os descritores de variabilidade molecular e realizados testes de neutralidade, todos no programa Arlequin. Além disso, para estimar os tempos de divergência dos principais clados foram usadas técnicas de datação molecular Bayesiana no programa BEAST (Bayesian Evolutionary Analysis Sampling Trees). O BEAST é o único *software* que, simultaneamente, estima filogenia, idade entre nós e as taxas de substituição. Finalmente, buscou-se traçar uma congruência entre os eventos de vicariância dos clados e as mudanças na história geológica da América do Sul para reconstruir a história biogeográfica desse grupo tão diverso.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostra X Hipóteses

Padrões da história demográfica

Fizeram parte desta etapa a amostra de 40 indivíduos de *O. nigripes*, representantes de 40 haplótipos; 37 indivíduos de *O. andinus*, representantes de 29 haplótipos; 36 indivíduos de *O. flavescens*, representantes de 28 haplótipos; 16 indivíduos de *O. fulvescens* representantes de 9 haplótipos; e 64 indivíduos de *O. microtis*, representantes de 41 haplótipos. O Apêndice 3 traz a lista dos indivíduos sequenciados usados nas análises e suas respectivas localidades.

Foram testadas as hipóteses sobre a estabilidade demográfica de diferentes populações, de diferentes espécies de *Oligoryzomys*, usando sequências do gene mitocondrial citocromo b e do íntron 7 do beta-fibrinogênio, em um teste exato de diferenciação populacional (Raymond e Rousset, 1995), que testa a hipótese da distribuição aleatória dos indivíduos entre os pares de populações, como descrito em Raymond e Rousset (1995) e Goudet et al. (1996). Este teste de diferenciação exata para todas as populações é análogo ao teste exato de Fisher, como em uma tabela de contingência dois-por-dois, no entanto, esse teste possibilita a construção de uma tabela estendida que engloba todas as populações e haplótipos observados. Então, todos os estados potenciais da tabela de contingência são exploradas com em uma cadeia de Markov. Durante a aleatorização entre os estados da cadeia de Markov é estimada a probabilidade de observar um quadro mais ou menos parecido à configuração da amostra observada, sob a hipótese nula de panmixia. Se a proporção esperada for menor ou igual ao observado na tabela de contingência o valor de P será significativo.

Para o teste exato de diferenciação populacional (Raymond e Rousset, 1995), foram quantificados, através do programa Arlequin versão 3.1 (Excoffier *et al.*, 2005) os seguintes descritores de variabilidade molecular: número de sítios segregantes, diversidade haplotípica e diversidade nucleotídica (Rogers e Harpending, 1992).

A fim de aprofundar as explorações sobre as possibilidades de expansão demográfica em clados regionais distinguidos pelas análises filogenéticas, dois outros testes foram realizados: (i) teste de distribuição *mismatch* e (ii) testes de neutralidade seletiva, ambos com o software Arlequin 3.01. O primeiro, distribuição *mismatch*, prevê que populações em equilíbrio demográfico tem distribuições multimodais, enquanto que uma distribuição unimodal sugere uma expansão demográfica recente (Rogers e Harpending, 1992). Para clados que apresentaram indícios de expansão, foram comparadas as somas dos desvios quadrados (SSD) entre o observado e o esperado para testar a hipótese de uma expansão gradual (Schneider e Excoffier, 1999), um valor de P significativo rejeita o ajuste dos dados para o modelo expansão (veja o tópico Distribuição *mismatch* no capítulo 2 para detalhes). Já o segundo, testes estatísticos de Tajima (1989) e Fu (1997) avaliam se houve crescimento histórico da população com predições de valores de D e Fs significativos e negativos (veja o tópico Testes de neutralidade no capítulo 2 para detalhes).

Estrutura genética da população

Para determinar se as populações estão estruturadas como previsto por cada uma das hipóteses obtidas pelas árvores filogenéticas foram realizadas análises de variância molecular (AMOVA), como implementado no Arlequin, que permitem calcular a porcentagem de variância dentro e entre populações. Se o

valor da AMOVA for maior dentro das populações do que entre, indica-se falta de estruturação geográfica. Nesta etapa foram calculados os valores somente dos grupos de espécies que previamente indicaram diferenças entre suas populações pelos cálculos de F_{ST} .

As estruturas populacionais foram definidas para cada grupo de espécie / hipótese, de acordo com as relações obtidas nas análises filogenéticas. Foram usadas as distâncias de Tamura e Nei, para calcular a distância entre os pares. Transições e transversões receberam o mesmo peso. A significância estatística dos componentes de variância foi avaliada utilizando os procedimentos não paramétricos de permutação descritas por Excoffier et al. (1992), que consiste em permutação de haplótipos entre os indivíduos, entre populações, ou entre grupos de populações. Após cada rodada da permutação, pode-se recalcular todas estas estatísticas para obter a sua distribuição nula. Dependendo da estatística testada, e dada a concepção hierárquica, diferentes tipos de permutações são executadas. No âmbito deste processo, a suposição de normalidade habitual na análise dos testes de variância não é mais necessário, nem é necessário assumir a igualdade de variância entre as populações ou grupos de populações, ao invés disso, apenas o grande número de permutações (1000 ou mais) é necessário para se obter alguma precisão sobre a probabilidade final.

Tempo de Divergência

Foi usada uma abordagem coalescente Bayesiana para inferir a demografia histórica de cada região, como implementado no programa BEAST v1.4.8 (Drummond e Rambaut, 2007). Simulações da Cadeia de Markov foram executadas sob o modelo HKY, usando como opção do modelo de substituição de nucleotídeo “gamma and invariant sites”. Cada análise foi executada três

vezes para 30 milhões de iterações. Os arquivos de log das três corridas por amostra foram então combinadas usando o software LOGCOMBINER, sendo descartadas os primeiros 10 milhões de iterações de cada executado como *burn-in* e os resultados foram apresentados combinados para o log (60 milhões de iterações). A eficácia do tamanho da amostra foi avaliada segundo os parâmetros do software TRACER v1.4. As inferências em relação ao tempo de expansão e o tempo para o mais recente ancestral comum (MRCA), foi implementado por um relógio molecular relaxado usando como ponto de calibração o surgimento do táxon *Sigmodon* datado em pelo menos 12,5 Mya (Steppan *et al.*, 2004). Os operadores foram ajustados conforme sugerido pelo programa (Drummond e Rambaut, 2007). Nesta fase foram usadas sequências de todas espécies disponíveis na nossa amostra, com exceção apenas da espécie *Oligoryzomys* sp. B, pois, o seu número de pares de bases era menor (780 pb) do que para o restante das espécies (1140 pb).

RESULTADOS

Estrutura das populações e parâmetros genéticos das populações

A análise descritiva da diversidade genética, baseada em sequências com 610 pb do íntron 7 do beta fibrinogênio (FGB) mostraram, para a maioria das populações, uma alta diversidade haplotípica contrastando com uma baixa diversidade nucleotídica (Tabela 5.1). Apenas a população de *O. microtis*, proveniente do Equador (n=8), apresentou baixas diversidades tanto haplotípica quanto nucleotídica, devido à ausência de sítios segregantes na amostra.

O. microtis foi a única espécie que apresentou evidência de uma estrutura geográfica das suas populações, revelada por uma diferença haplotípica significativa (Tabela 5.1).

Em relação às sequências do gene mitocondrial citocromo b (1143 pb) foi observada, para todas as populações, uma alta diversidade haplotípica contrastando com uma baixa diversidade nucleotídica (Tabela 5.2).

Quanto à estrutura genética observada em *O. flavescens*, *O. andinus* e *O. nigripes* a diversidade haplotípica não mostrou diferenças significativas entre suas populações (Tabela 5.2), indicando que se trata de uma população só. Por outro lado, *O. aff. flavescens* e *O. microtis* mostraram diferenças haplotípicas entre as populações como indicado pelo valor de P significativo (Tabela 5.2).

Tabela 5.1. Dados da análise descritiva da diversidade genética obtida para as populações de *O. andinus*, *O. chacoensis*, *O. fornesi*, *O. vegetus*, *O. fulvescens*, *O. nigripes*, *O. microtis* e *O. flavescens*, baseados em sequências do íntron 7 do beta fibrinogênio. Apenas as populações de *O. microtis* apresentaram diferenças significativas para o teste exato de diferenciação populacional, destacado em **negrito** na tabela.

Espécies	População	N	S	H	DH	DN	P
<i>O. fornesi</i>	Brasil	6	1	2	0,333	0,00055	-
<i>O. vegetus</i>	Panamá	16	2	3	0,508	0,00114	-
<i>O. chacoensis</i>	Bolívia	5	4	3	0,700	0,00264	-
<i>O. fulvescens</i>	México	6	5	4	0,867	0,00387	-
<i>O. nigripes</i>	Brasil	11	17	10	0,982	0,00804	-
<i>O. andinus</i>	Chuquisaca	15	3	5	0,771	0,00186	0,4562
	Santa Cruz	7	4	4	0,810	0,00220	
<i>O. aff. andinus</i>	Tarija/Argentina	10	20	7	0,911	0,00775	-
<i>O. microtis</i>	St. Cruz	5	10	5	1,000	0,00717	0,0009
	Pando	12	15	11	0,985	0,00706	
	Beni	15	16	12	0,919	0,00645	
	La Paz	8	9	7	0,964	0,00536	
<i>O. flavescens</i>	ES-RS	6	4	4	0,867	0,00387	0,5062
	Argentina	8	11	8	1,000	0,00740	
<i>O. aff. flavescens</i>	Bolívia	25	14	24	0,997	0,00782	

N= número de sequências; S= número de sítios segregantes; H= número de haplótipos; DH= diversidade haplotípica; DN= diversidade nucleotídica. valor significativo de $P < 0,05$.

Tabela 5.2. Dados da análise descritiva da diversidade genética obtida para as populações de *O. andinus*, *O. aff. andinus*, *O. fulvescens*, *O. nigripes*, *O. microtis*, *O. aff. flavescens* e *O. flavescens*, baseados em sequências do gene mitocondrial citocromo b. Chu= Chuquisaca; Coc= Cochabamba; St= Santa Cruz; ES= Espírito Santo; SP= São Paulo; RS= Rio Grande do Sul. Apenas as populações de *O. microtis* apresentaram diferenças significativas para o teste exato de diferenciação populacional, destacado em negrito na tabela.

Espécies	População	N	S	H	DH	DN	P
<i>O. andinus</i>	Chu-Coch-St. Cruz	29	37	23	0,98030	0,01052	-
<i>O. aff. andinus</i>	Tarija	8	15	6	0,89286	0,00761	-
<i>O. fulvescens</i>	México	14	28	7	0,75824	0,03614	-
<i>O. microtis</i>	Peru	4	5	3	0,83333	0,00479	0,0003
	Pando	16	29	13	0,96667	0,01194	
	Beni	25	56	17	0,96333	0,01216	
	La Paz	10	16	6	0,77778	0,00575	
<i>O. aff. microtis</i>	Equador	9	1	2	0,38889	0,00070	-
<i>O. nigripes</i>	Bahia	3	32	3	1,00000	0,04491	0,4256
	ES-SP-RS	37	109	37	1,00000	0,02742	
<i>O. nigripes</i>	ES	15	110	15	1,00000	0,03586	0,3979
	SP	8	52	8	1,00000	0,02230	
	RS	4	29	4	1,00000	0,02110	
<i>O. flavescens</i>	ES-RS	6	20	6	1,00000	0,01040	0,252
	Argentina	5	45	5	1,00000	0,02921	
<i>O. aff. flavescens</i>	St. Cruz	11	18	4	0,67273	0,00504	0,0053
	Chu	5	13	5	1,00000	0,00767	
	La Paz	2	1	2	1,00000	0,00124	
	Tarija	7	7	6	0,95238	0,00660	

N= número de sequências; S= número de sítios segregantes; H= número de haplótipos; DH= diversidade haplotípica; DN= diversidade nucleotídica. valor significativo de $P < 0,05$.

As análises de variância molecular, a partir das sequências do gene mitocondrial citocromo b mostraram: para *O. aff. flavescens* e *O. andinus* uma porcentagem maior de variação dentro da população, do que entre as populações (Tabelas 5.3 e 5.4, respectivamente); para *O. microtis* observou-se uma maior variação entre os grupos, com valor baixo entre populações dentro dos grupos considerados (Tabela 5.5)

Tabela 5.3. Análise de variância molecular – AMOVA (Excoffier *et al.*, 1992) para as populações de *O. aff. flavescens*. Os grupos de populações foram: Beni, Santa Cruz, Chuquisaca, La Paz, Peru, Cochabamba e Tarija.

Fonte de variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Componentes de variância	Porcentagem de variação
Entre populações – dentro de grupos	6	3,96	0.05871	11.79
Dentro de populações	23	10,107	0.43944	88.21
Total	39	14,067	0.49815	

Tabela 5.4. Análise de variância molecular – AMOVA (Excoffier *et al.*, 1992) para as populações de *O. andinus*. Os grupos de populações Chuquisaca, Cochabamba e Santa Cruz.

Fonte de variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Componentes de variância	Porcentagem de variação
Entre populações – dentro de grupos	2	11,021	0.24311	5.61
Dentro de populações	21	85.938	4.09226	94.39
Total	23	96.958	4.33537	

Tabela 5.5. Análise de variância molecular – AMOVA (Excoffier *et al.*, 1992) para as populações de *O. microtis*. Os grupos de populações foram Brasil, Chuquisaca, Peru, Pando, Beni e La Paz e Santa Cruz.

Fonte de variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Componentes de variância	Porcentagem de variação
Entre grupos	3	244,109	11,77371	73,75
Entre populações – dentro de grupos	4	29,367	0,62904	3,89
Dentro de populações	37	132,054	3,56903	22,36
Total	44	405,350	15,96368	

Testes de neutralidade

As estatísticas D de Tajima e Fs de Fu visaram testar a aderência dos dados observados à teoria neutra da evolução molecular. Em relação aos cálculos obtidos a partir da matriz de sequências do íntron 7 do beta fibrinogênio não foi detectado nenhum valor significativo. Para as sequências do Cyt b *O. nigripes* e *O. vegetus* apresentaram valores negativos significativamente diferentes de zero para os cálculos do D de Tajima e *O. microtis* mostrou valores negativos muito perto da significância (Tabela 5.6). Os resultados do teste Fs de Fu revelaram valores negativos e diferentes de zero para *O. nigripes*, *O. microtis*, *O. aff. flavescens* e *O. andinus* (Tabelas 5.6).

Valores não diferentes de zero significam aderência à neutralidade. Valores positivos diferentes de zero indicam que a diversidade nucleotídica observada é mais dependente de alelos de alta frequência, um indicativo da ocorrência de seleção balanceada ou subdivisão populacional e existência de um número de alelos de frequência intermediária maior do que o esperado. Já valores negativos significativamente diferentes de zero indicam uma prevalência de polimorfismos raros na amostra, indicando uma alta diversidade haplotípica com baixa diversidade nucleotídica. Isto pode ocorrer tanto devido a seleção positiva neste gene ou em uma região próxima (efeito carona), quanto devido a uma expansão demográfica recente.

Tabela 5.6. Valores obtidos para os testes de neutralidade D de Tajima e Fs de Fu para as sequências do gene mitocondrial citocromo b das espécies de *Oligoryzomys* e suas respectivas populações. Os valores significativos estão em negrito.

Espécies	Populações	N	D Tajima (P-valor)	Fs de Fu (P-valor)
<i>O. vegetus</i>	Panamá	16	-1.467 (0.048)	17.743 (1,000)
<i>O. fulvescens</i>	México	13	0.062 (0.577)	22.064 (1,000)
<i>O. nigripes</i>	Brasil	40	-1.579 (0.0290)	-3.675 (0.046)
<i>O. microtis</i>	Bolívia	37	-1.406 (0.059)	-17.213 (0,000)
<i>O. aff. microtis</i>	Equador	9	0.156 (0.766)	19.758 (1.000)
<i>O. flavescens</i>	Arge-Brasil	12	-0,598 (0,295)	-1,72 (0,115)
<i>O. aff. flavescens</i>	Bolívia	30	-1,126 (0,1310)	-6,592 (0,016)
<i>O. andinus</i>	Bolívia	24	-1,03 (0,1210)	-8,444 (0,000)
<i>O. aff. andinus</i>	Tarija	11	0,652 (0,7960)	-0,753 (0,290)

Distribuição Mismatch

A figura 5.1 mostra os gráficos da distribuição *mismatch* com os valores simulados e os observados segundo a hipótese de expansão populacional. Dentre as espécies que apresentaram indícios de expansão populacional, com uma curva unimodal (aquelas onde há concordância entre os valores esperados e observados) estão: *O. andinus*, *O. aff. andinus*, *O. aff. flavescens*, *O. aff. microtis*, *O. vegetus* e *O. nigripes*.

As curvas de *O. chacoensis* e *O. microtis* do Peru mostraram uma distribuição onde não há semelhanças entre os valores esperados e observados, esse comportamento pode ter sido influenciado pelo tamanho da amostra, pequena nesses dois casos.

O. microtis e *O. flavescens* mostraram distribuições multimodais, esse tipo de distribuição indicam populações em equilíbrio demográfico.

Figura 5.1. Distribuição *Mismatch* dos haplótipos encontrados nas populações. A) *O. andinus* de Chuquisaca, Cochabamba e Santa Cruz (em cima) e *O. aff. andinus* Tarija (em baixo). B) *O. aff. flavescens* da Bolívia (em cima) e *O. flavescens* do Brasil-Argentina (em baixo). C) *O. microtis* do Equador (em cima), do Peru (no meio) e da Bolívia (em baixo). D) *O. vegetus* (em cima), *O. nigripes* (no meio) e *O. chacoensis* (em baixo).

Análise de coalescência – BEAST

A topologia da árvore sugerida pelo Beast mostrou diferença em relação à topologia da máxima verossimilhança (capítulo 4) no rearranjo do grupo “*Messorius*”. Aqui *O. messorius* apareceu como grupo irmão das espécies *O. fulvescens* e *O. vegetus*. Nas análises de máxima verossimilhança apenas *O. fulvescens* e *O. vegetus* formam o clado nomeado como “*Fulvescens*”, enquanto *O. messorius* forma um clado com *O. moojeni*, *O. rupestris*, *Oligoryzomys* sp. A, *Oligoryzomys* sp. C, *Oligoryzomys* sp. D e *Oligoryzomys* sp. E.

Apesar disto, ao longo deste texto foi mantida a nomenclatura dos grupos adotada no capítulo 4, com o intuito de não confundir os leitores adotando nomes diferentes para os grupos de espécie. Sendo assim, aqui o grupo “*Fulvescens*” é composto por *O. messorius*, *O. fulvescens* e *O. vegetus* e o grupo “*Messorius*” é composto por *O. rupestris*, *O. moojeni*, *Oligoryzomys* sp. A, *Oligoryzomys* sp. C, *Oligoryzomys* sp. D e *Oligoryzomys* sp. E.

Com base na calibração proposta por Steppan *et al.* (2004), *Oligoryzomys* foi separado do seu grupo irmão no Mioceno Tardio, ca. 9 Mya (Figura 5.2). Ainda durante o Mioceno, entre 8,5 e 5,7 Mya, *Oligoryzomys* veio sofrendo mais divergências que podem ter sido as responsáveis pelo padrão da distribuição atual das espécies do gênero (Figuras 5.3 e 5.4). O grupo “*Longicaudatus*” se separou dos demais grupos há ca. de 6,3 Mya, depois ocorreu a separação do grupo “*Nigripes*” há ca. 5,7 Mya, mais tarde se separaram o grupo “*Fulvescens*” há ca. 4,9 Mya (Figura 5.4), e por fim os grupos “*Messorius*” e “*Andinus*” há ca. 3,9 Mya (Figura 5.5). Possíveis fatores históricos causais serão apresentados na discussão e são ilustrados nas figuras 5.3 à 5.5.

Em uma interpretação geral, as estimativas de tempo indicaram que: o surgimento do gênero ocorreu durante o Mioceno; a maior aceleração da

diversificação de *Oligoryzomys* foi durante o Plioceno, com a divergência da maioria das espécies; apenas as espécies que habitam os enclaves amazônicos se diversificaram durante o Pleistoceno (Figura 5.5).

A tabela 5.7 fornece as estimativas de erro dessas datas.

Tabela 5.7. Estimativas do tempo de divergência para os nós principais de *Oligoryzomys*. Os valores médios do tempo de divergência e os maiores e menores intervalos de confiança (95%). Inferidas utilizando o programa BEAST, as estimativas são apresentados em milhões de anos. Consulte a figura 5.2 para conferir a correspondências dos clados.

Clado	Tempo de divergência	95% HPD lower	95% HPD upper
<i>Sigmodon</i>	11,8	10,9	12,8
<i>Oligoryzomys</i>	8,9	7,1	10,2
<i>Microtis</i>	8,5	7,8	9,9
<i>Flavescens</i>	6,3	5,4	7,7
<i>Nigripes</i>	5,7	4,0	6,9
<i>Fulvescens-</i>	4,9	3,3	5,8
<i>Messorius -Andinus</i>	3,9	2,6	4,9

Figura 5.2. Cronograma, em milhões de anos antes do presente, da diversificação das espécies de *Oligoryzomys*. Datação e relações filogenéticas obtidas no programa BEAST e árvore editada no programa FigTree. Os táxons terminais foram colapsados e estão representados por cores diferentes. Os números na árvore indicam a idade de separação do nós, as estimativas do erro referentes às datações encontram-se na tabela 5.7.

Figura 5.3. Esquema do evento de separação dos grupos “*Microtis*” e “*Longicaudatus*” datado durante o Mioceno há cerca de 8,5 Mya. As áreas sombreadas em verde e marrom correspondem, respectivamente, a distribuição atual do grupo “*Microtis*” e “*Longicaudatus*”.

Figura 5.4. Esquema do evento de separação dos demais grupos em relação ao clado “*Longicaudatus*” datado durante o final do Mioceno, há cerca de 6,3 Mya, representada pela linha tracejada em marrom. Logo em seguida a diferenciação do grupo “*Nigripes*” entre o fim do Mioceno e início do Plioceno, há cerca de 5,7 Mya, indicada pela linha tracejada em azul e a consequente separação do grupo “*Fulvescens*”, na América Central, durante o Plioceno, há cerca de 4,9 Mya. As áreas sombreadas em tons de marrom correspondem à distribuição atual do grupo “*Longicaudatus*”. Em cinza, a distribuição de *O. nigripes* se sobrepondo às distribuições de *O. flavescens* em marrom claro e *O. chacoensis* em laranja. As áreas sombreadas em verde e rosa e azul representam a distribuição de *O. aff. nigripes*, *O. stramineus* e *O. messorius*, respectivamente. Na América Central as distribuições atuais de *O. vegetus*, em vermelho e *O. fulvescens* em amarelo. Note que a área em amarelo na América do Sul correspondem os indivíduos classificados como *O. fulvescens* coletados na Bolívia.

Figura 5.5. Esquema do evento de separação das espécies do grupo “*Andinus*” e espécies do grupo “*Messorius*” datado durante o Plioceno, há cerca de 3,9 Mya, representada pela seta em roxo. Em seguida, há cerca de 2,9 Mya, a separação do clado contendo *O. rupestris* e *Oligoryzomys* sp. A, do clado com *O. moojeni*, *Oligoryzomys* sp. C, *Oligoryzomys* sp. D e *Oligoryzomys* sp. E, representada pela linha tracejada em vermelho. O único evento de especiação datado para o Pleistoceno, há cerca de 1,6 Mya envolve a diferenciação das espécies dos enclaves amazônicos, representada no esquema pela linha tracejada em vermelho.

DISCUSSÃO

Padrão da estrutura genética da população

Em todas populações de *Oligoryzomys* foram observados níveis baixos de variação de nucleotídeos tanto para o gene citocromo b, que é conhecido como um marcador altamente polimórfico em outros vertebrados (Avice, 1994), quanto para o beta fibrinogênio.

O gene mitocondrial citocromo b mostrou-se mais polimórfico do que o íntron 7 do beta fibrinogênio, isto é esperado uma vez que o genoma mitocondrial possui taxa evolutiva mais rápida que o DNA nuclear. No entanto, para os dois genes, em geral, foi observado que os haplótipos iguais são compartilhados entre os indivíduos das mesmas localidades e há poucos haplótipos comuns compartilhados entre as populações, caracterizando uma alta variabilidade intra e interpopulacional. A presença de muitos haplótipos exclusivos entre as populações justifica os altos índices de diversidade haplotípica.

A alta diversidade haplotípica contrastando com uma baixa diversidade nucleotídica indica o excesso de alelos raros e pode refletir: (i) que as populações sofreram uma divergência muito rápida associada, provavelmente, a uma expansão demográfica influenciada por eventos históricos recentes; (ii) a ocorrência recente de um ou mais eventos de estrangulamento genético seguido de expansão populacional, diversificação recente, ou pressão seletiva; (iii) uma árvore com diversos ramos curtos e com baixo suporte; (iv) diversas politomias; (v) haplótipos provenientes de localidades bastante diferentes dentro de um mesmo clado, conhecido como árvore em estrela. Como as árvores obtidas aqui mostraram divergências entre os ramos apoiadas por altos valores de *bootstrap* e os clados sugeridos pelas hipóteses filogenéticas mostraram táxons terminais

de localidades próximas, podem ser descartadas as hipóteses 3, 4 e 5. Isto sugere que as duas primeiras hipóteses são mais aplicáveis aos processos de diferenciação nas populações estudadas.

O padrão de variação obtido segundo os descritores genéticos fornecem evidências de que as populações de *Oligoryzomys* vêm passando por uma rápida expansão na história recente. Em primeiro lugar, um excesso de haplótipos foi observado na amostra total e, em cada subpopulação. Além disso, foram encontradas grandes proporções de sítios variantes únicos nas populações. Por fim, o número baixo de haplótipos compartilhados entre as populações e as proporções de haplótipos exclusivos chamam a atenção para *O. nigripes*, *O. microtis*, *O. flavescens*, *O. aff. flavescens*, *O. andinus*, *O. aff. andinus* e *O. chacoensis*. Enquanto que para *O. fulvescens* e *O. vegetus* o número de haplótipos compartilhados é maior.

Os resultados da AMOVA sugeriram valores maiores de variação dentro das populações do que entre elas, esse padrão pode ser explicado pelo alto número de haplótipos distintos presentes dentro das populações.

Os resultados das distribuições *mismatch* e os valores obtidos nos testes de neutralidade (D de Tajima e F_s de Fu negativo e significativo), analisados de forma associada, indicaram um padrão esperado e coincidente para as populações de *O. nigripes*, *O. aff. flavescens* e *O. andinus*. Estes grupos se encaixam nos modelos previstos por estes dois testes sugerindo que, potencialmente, estas populações passaram por um gargalo e seguem por um período recente de expansão populacional.

Olhando para os dados obtidos até agora, é interessante notar que em relação aos cariótipos as duas espécies andinas *O. aff. flavescens* e *O. andinus*, apresentaram formas variantes muito parecidas, mas que de alguma forma, hoje

parecem estar isoladas conforme revelaram os dados de F_{ST} e a classificação em clados filogenéticos distintos.

Pode-se prever que um ou mais eventos passados tenham atingido esses dois táxons. A área da distribuição geográfica que eles se encontram é praticamente a mesma, os registros de campo mostram que em várias localidades amostradas eles ocorrem em simpatria. E a distribuição do seu grupo irmão também é parecida, as terras mais baixas que chegam a alcançar o noroeste da Argentina. Espera-se que esses grupos tenham permanecido isolados e agora, conforme os dados indicam estão em expansão.

Expansões demográficas recentes já haviam sido sugeridas em estudos anteriores com roedores neotropicais (Engel *et al.*, 1998; Smith e Patton, 1999) e pequenos mamíferos da América do Sul (Vivo e Carmignotto, 2004).

A diferenciação dos clados *O. andinus* de *O. aff. andinus* e *O. flavescens* de *O. aff. flavescens*, datam há ca. de 2,9 e 2,4 Mya, respectivamente. As ações de eventos geológicos criados por um período que coincide com o rápido soerguimento Andino entre 5 e 2 Mya são associadas a diferenciação rápida da floresta montana que deu origem a um conjunto de espécies de terras altas (Gregory-Wodzicki, 2000). Nesse cenário, pode ter ocorrido condições de múltiplas invasões das terras altas com subsequente diferenciação, independentes para os dois clados, vindas do seu grupo irmão, que se encontram nas terras mais baixas. Pode ser que o que estamos presenciando agora é uma diferenciação gradual em plena expansão, no sentido das terras mais baixas (evidenciada pela presença dos grupos basais nestas áreas) para as regiões Andinas. Tanto os representantes do clado *O. andinus* e *O. aff. andinus*, quanto do clado *O. flavescens* de *O. aff. flavescens* são encontrados em simpatria nas localidades mais baixas, como no noroeste da Argentina, por

exemplo, e nestes casos, duas hipóteses poderiam tentar explicar tais diferenciações: a primeira sugestão é a diferenciação cromossômica exibida por estes táxons, que pode ter ocorrido mesmo com as espécies em simpatria, e a inviabilidade genética entre as duas novas formas impediu o fluxo de genes; Outra hipótese é de especiação parapátrica na qual a partir das terras baixas houve a invasão de um novo nicho (florestas montanas) com subsequente diferenciação via seleção natural nestes dois clados. Observe que nas explicações alopátricas onde são previstos o isolamento reprodutivo, a especiação ocorre de forma indireta e as mudanças genéticas são os principais produtos da separação. Em vez disso, em ambas as hipóteses levantadas aqui para explicar a evolução de *O. aff. flavescens* e *O. andinus* nas terras altas (simpatria e parapatria), a seleção natural favorece diretamente características fenotípicas e as mudanças genéticas são subprodutos que aumentam a adaptação (Coyne e Orr, 2004).

Para *O. nigripes* as interpretações podem ser parecidas, mas no caso desta espécie deve-se levar em consideração variações cromossômicas que não estão bloqueando o fluxo de genes e uma área de ocorrência do lado oposto da América do Sul. As populações das espécies *O. nigripes* não mostraram valores de P significativos quanto à distribuição dos seus haplótipos, indicando que as populações destas espécies não possuem uma estruturação geográfica e os haplótipos estão distribuídos aleatoriamente ao longo da distribuição.

Para *O. nigripes* os valores de F_{ST} foram muito baixos entre as populações do Espírito Santo, São Paulo e Rio Grande do Sul, indicando a presença de fluxo gênico entre estas populações. Por outro lado, a população da Bahia mostrou valores de F_{ST} altos em relação às outras populações, mostrando-se isolada das populações mais ao sul. Estudos anteriores já haviam

mostrado esse padrão de isolamento das populações da Bahia, localizadas mais ao norte, em relação às populações mais ao sul. Carnaval *et al.* (2009), por exemplo, sugeriram a presença de áreas de refúgios na Mata Atlântica para anfíbios do gênero *Hypsiboas*, sendo que uma delas está localizada na Bahia e coincide com as áreas da amostra deste trabalho. No entanto, deve-se levar em consideração que o tamanho da amostra de *O. aff. nigripes* proveniente da Bahia é muito pequena, isso pode ter influenciado drasticamente nos valores obtidos pelo F_{ST} .

Relacionando novamente os dados da distribuição *mismatch* e os valores obtidos nos testes de neutralidade, encontra-se um resultado conflitante para *O. microtis* que, por um lado apresentou uma curva multimodal, características de populações em equilíbrio demográfico, e por outro valores de F_s de F_u negativos e significativos.

Em relação à estrutura das populações, parece haver uma tendência de diversidade genética para formação de grupos geográficos ao longo do gradiente latitude/longitude. Uma diversidade haplotípica alta foi observada em grupos de distribuição mais ao sul, oeste e leste, a medida que ao norte foram constatadas valores baixos da diversidade haplotípica para as populações das espécies *O. vegetus* e *O. fulvescens*, ambas distribuídas predominantemente na América Central, e *O. aff. microtis*, proveniente do Equador. As distribuições *mismatch* para *O. vegetus* e *O. aff. microtis* indicaram a presença de expansão para as suas populações.

O que poderia explicar a baixa diversidade nestes casos seriam causas do efeito fundador, isto é, o estabelecimento de uma nova população de indivíduos provenientes de uma população muito maior, ou de uma extrema redução no tamanho da população (ou seja, um gargalo em tamanho). Em

ambos os casos, os alelos presentes imediatamente após o evento fundador ou de estrangulamento podem alcançar altas frequências.

A baixa diversidade haplotípica poder estar relacionada ainda com outros acontecimentos provocados por processos como: deriva genética e aumento do endocruzamento. No entanto, não é fácil distinguir qual destes eventos é o responsável pelo padrão atual da distribuição da diversidade levando-se em consideração apenas os descritores de variabilidade genética.

Biogeografia e história evolutiva de *Oligoryzomys*

De acordo com as estimativas obtidas, *Oligoryzomys* trata-se de um gênero autóctone da América do Sul como sugerido por Reig (1984; 1986), se originou durante o Mioceno e a maioria das suas especiações ocorreram durante o Plioceno.

Vários eventos geoclimáticos que moldaram a região Neotropical serão tratados ao longo dessa discussão, principalmente com o intuito de criar um paralelo entre as especiações e as possíveis causas vicariantes durante a história evolutiva do grupo.

Dentre os eventos mais importantes que ocorreram nestes períodos estão o isolamento e a posterior ligação da América do Sul, a elevação dos Andes, o extenso sistema inundável da bacia Amazônica, a formação do Rio Orinoco, as mudanças de drenagens da Amazônia, os ciclos glaciais (seco/frio e úmido/quente) durante o Plioceno e Pleistoceno, a presença da Laguna Amazônica entre o Plio-Pleistoceno e a formação do Istmo do Panamá progressivamente até o Plioceno (Marroig e Cerqueira, 1997; Lundberg *et al.*, 1998).

A estimativa do tempo de divergência basal de todos *Oligoryzomys* alcançou ca. de 8,9 Mya. Entre 8,8 e 10 Mya é estimado o recuo do sistema de

inundação da bacia Amazônica (Lundberg et al., 1998). As reconstruções filogenéticas obtidas neste trabalho mostraram que as espécies *O. fornesi* e *O. microtis*, que estão enraizadas na base da árvore ocupam justamente áreas centrais da América do Sul: Cerrado e Amazônia, respectivamente.

A primeira diferenciação separou o clado “*Microtis*” contendo *O. fornesi* e *O. microtis* dos demais clados de *Oligoryzomys* e foi datada há ca. de 8,5 Mya (Figura 5.3). Santos et al. (2009) estudaram as diversificações em anfíbios amazônicos e também encontraram um padrão comum de descendência com: as linhagens basais localizadas na Bacia Amazônica; durante o mesmo período, no Mioceno, após a diminuição do sistema da bacia inundável; e em sequência, uma rápida irradiação na Amazônia datada há ca. de 8 Mya.

O clado “*Longicaudatus*”, que contém as espécies *O. flavescens*, *O. longicaudatus* e *O. aff. flavescens*, foi separado há ca. 6,3 Mya. A distribuição geográfica desse clado é interessante pela sua forma em U, atingindo o limite ao sul da distribuição do gênero, onde ocorre *O. longicaudatus* que está na posição mais basal, enquanto as outras duas espécies *O. flavescens* e *O. aff. flavescens* estão distribuídas do norte da Argentina em direção à leste e à oeste, respectivamente.

O evento vicariante que separou o clado *Longicaudatus* não é tão claro (Figura 5.3). Segundo Hoorn et al. (1995), nesta época ocorreram grandes transformações no oeste Amazônico, dentre elas o soerguimento da cordilheira leste dos Andes que causou mudanças no padrão de drenagem dos rios, um aumento da pluviosidade e condições para o desenvolvimento da floresta atual (Hooghiemstra e Van der Hammen, 1998).

Pardiñas et al. (2002) relacionou as várias mudanças climáticas à composição das comunidades de pequenos mamíferos no sul do América do Sul

a partir do Mioceno até ao Holoceno. As implicações ecológicas destas mudanças na estrutura taxonômica das comunidades não ficou totalmente esclarecida, mas os autores acabaram atribuindo o padrão da distribuição atual das espécies de pequenos mamíferos às mudanças climáticas e seus efeitos sobre a vegetação.

As próximas divergências foram a separação do grupo “*Nigripes*” há ca. 5,7 Mya, sendo que mais tarde se separaram o grupo “*Fulvescens*” há ca. 4,9 Mya (Figura 5.4), e por fim os grupos “*Messorius*” e “*Andinus*” há ca. 3,9 Mya (Figura 5.5).

Os representantes de *Oligoryzomys* são claramente habitantes de áreas abertas e um ponto interessante observado foi que a partir da diferenciação do clado *Longicaudatus* os resultados mostram que a diversidade resultou de especiações repetidas em áreas adjacentes, a partir do corredor do Chaco (clado *Nigripes*) e dos Andes (clado *Andinus*). Foi encontrado também um padrão de colonização da América Central (clado *Fulvescens*), dos enclaves de áreas abertas da Amazônia e dos campos rupestris (clado *Messorius*).

Moroni (2004) propôs que a sub-região do Chaco ocupa o norte e centro da Argentina, o sul da Bolívia, as porções ocidentais e centrais do Paraguai e Uruguai e o centro e nordeste do Brasil. Evidências de um corredor de savanas ou uma formação diagonal aberta levou à hipótese de que no início do Plioceno *Oligoryzomys* estava amplamente distribuído na América do Sul, num cenário proporcionado por estas formações de áreas abertas.

A separação do clado *Nigripes* datada há ca. de 5,7 Mya que contem *O. chacoensis*, *O. stramineus*, *O. aff. nigripes* e *O. nigripes* (Figura 5.4), pode estar relacionado com o isolamento criado por elementos bióticos da Floresta Atlântica, a distribuição das espécies deste clado coincide com as áreas

ocupadas pela mata costeira, onde as espécies se concentraram não dentro das matas, mas nas áreas abertas mantidas isoladas pela expansão da floresta.

O soerguimento da cordilheira leste pode ter causado a separação das espécies da América Central pertencentes ao grupo “*Fulvescens*”, datada por volta de 5 Mya, já que fechou a conexão entre o oeste Amazônico e o extremo noroeste da América do Sul (Hoorn et al., 1995).

Os resultados obtidos sugerem que a partir do noroeste Amazônico houve a dispersão do grupo *Fulvescens* em toda a América Central, antes do encerramento final da Ponte Panamenha no Plioceno, há aproximadamente 3,5 Mya (Briggs, 1994; Taylor, 1991). Santos et al. (2009) encontraram resultados semelhantes da invasão da América Central de um grupo de anfíbios.

O grupo *Andinus*, encontrado nos Andes da Bolívia e Peru se separou das espécies de distribuição mais em direção à leste (*O. rupestris* e *O. moojeni*) e norte (*Oligoryzomys* sp. C, *Oligoryzomys* sp. D e *Oligoryzomys* sp. E) há ca. de 3,9 Mya. *O. rupestris* e *Oligoryzomys* sp. A foram separadas de *O. moojeni* e *Oligoryzomys* sp. C, *Oligoryzomys* sp. D e *Oligoryzomys* sp. E há ca. de 2,9 Mya e a separação de *O. moojeni* das espécies dos enclaves amazônicos *Oligoryzomys* sp. C, *Oligoryzomys* sp. D e *Oligoryzomys* sp. E foi há ca. de 2,3 Mya.

As distribuições desses clados são evidentemente alopátricos. *Andinus* na região andina, em relação aos seus clados irmãos que estão nas terras mais baixas. Neste caso, a barreira está intervindo com a separação de habitats de baixa ou de alta altitude criados com o soerguimento dos Andes. Estas diferenças e disjunções do planalto / planície são, portanto, melhores explicadas por vicariância ao invés de dispersões de longas distâncias independentes.

Podem também estar relacionadas a exploração de nichos adjacentes (baixa x alta altitude) com subsequente especiação (Parapátrica ou Alopátrica).

Aqui, um resultado conflitante, confuso e difícil de ser explicado é o clado formado por *O. rupestris* e *Oligoryzomys* sp. A. A única semelhança que pode ser citada entre as duas é quanto a semelhança do seu habitat, apesar de separadas por uma longa distância, as duas ocorrem em formações de áreas abertas e em altas altitudes. A espécie do Brasil pode ser encontrada nos campos rupestris da Chapada dos Veadeiros (Goiás) e da Chapada Diamantina (Bahia), a espécie da Bolívia, *Oligoryzomys* sp. A, ocorre nos Bosques Secos de La Paz e Cochabamba. Uma possibilidade é que ambas espécies representam a distribuição relictual de uma espécie de matas de altitudes que teve sua distribuição fragmentada devido a mudanças climáticas assim como a formação da depressão a leste dos Andes devido aos eventos tectônicos dos últimos 20 milhões de anos.

Dentre as espécies que ocorrem nos enclaves amazônicos: *Oligoryzomys* sp. C, *Oligoryzomys* sp. D e *Oligoryzomys* sp. E, estão como as únicas diferenciações que ocorreram durante o Pleistoceno, entre 1,6 e 1,5 Mya. Pela localização espera-se que a fauna desta região tenha sido suscetível às alterações das expansões das florestas devidos aos ciclos glaciais ficando isoladas nas áreas abertas.

Com base em estudos do paleoambiente e da paleovegetação foi proposto que durante o Pleistoceno haviam grandes áreas abertas no centro-oeste da América do Sul que poderiam ter sido dominadas por pastagens, enquanto os planaltos à oeste e leste eram ocupados por Florestas menos densas do que as atuais (Patterson e Pascual, 1972; Rancy, 1999; MacFadden, 2000; Colinvaux *et al.*, 2000). Esses resultados geológicos combinados com as

datas recentes encontradas para a divergência entre espécies dos enclaves, sugerem que as alterações climáticas postuladas para o Pleistoceno (Haffer, 1969; 1993; 1997) realmente influenciaram a distribuição espacial das florestas e estas datas coincidem com a diversificação das espécies deste clado, sugerindo que as mudanças na distribuição das florestas e áreas abertas afetaram, no passado, os processos evolutivos de especiação e distribuição das formas específicas encontradas hoje entre *Oligoryzomys* sp. C, *Oligoryzomys* sp. D e *Oligoryzomys* sp. E.

Estes períodos em conjunto indicam que a cronologia da divergência genética em *Oligoryzomys* pode ter sido o resultado de vários eventos geológicos e climáticos, que vem ocorrendo desde o Mioceno em uma história contínua de diversificação. Os dados apresentados aqui sugerem uma hipótese de especiação de *Oligoryzomys* muito mais complexa do que a proposta por Miranda *et al.* (2009).

Miranda *et al.* (2009), baseados nas análises filogenéticas e autocorrelações significativas entre os locais de coleta e distância genética, sugeriram um gradiente genético indicando uma acentuada tendência para a distribuição de *Oligoryzomys* no sentido norte-sul da América do Sul. Os autores apoiaram fortemente a hipótese de que o gênero se originou a partir do norte dos Andes, tendo primeiramente ocupado as terras da Amazônia e Cerrado, para depois preencher as regiões mais meridionais da América do Sul. Esta proposta também foi apoiada pela maior variabilidade entre espécies apresentada pelo grupo Amazônia-Cerrado, em comparação com os níveis mais baixos de diversidade genética observada no grupo Pampa-andino.

Segundo nossos dados, não há evidências que o gênero tenha se originado no norte dos Andes, a divergência de *Oligoryzomys* do seu grupo

irmão, que este sim habita o noroeste andino, foi datada em 8,9 Mya. E a primeira separação observada para o clado *Microtis* sugere que o grupo tenha se diferenciado a partir das terras baixas que hoje são ocupadas pela Amazônia e Cerrado. Outro resultado que não se encaixa na hipótese de Miranda *et al.* (2009) é a ocupação mais recente dos clados que estão na região mais ao Sul, pelo contrário, o que os resultados sugerem foi que estas porções mais meridionais já estavam ocupadas desde 6,3 Mya e este clado se mostrou grupo irmão dos demais clados da distribuição.

Referências Bibliográficas

- Ahonen, H., Harcourt, R. G. Stow, A. J. 2009. Nuclear and mitochondrial DNA reveals isolation of imperilled grey nurse shark populations (*Carcharias taurus*). *Molecular Ecology* 18:4409-4421.
- Althoff, D. M., Pellmyr, O. 2002. Examining genetic structure in a bogus yucca moth: a sequential approach to phylogeography. *Evolution* 56:1632-1643.
- Anducho-Reyes, M. A., Cognato, A. I., Hayes, J. L., Zúñiga, G. 2008. Phylogeography of the bark beetle *Dendroctonus mexicanus* Hopkins (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 49:930-940.
- Avice, J. C. 1992. Molecular population structure and the biogeographic history of a regional fauna: A case history with lessons for conservation biology. *Oikos* 63:62-76.
- Avice, J. C. 1994. *Molecular Markers, Natural History and Evolution*. Chapman and Hall, New York.
- Avice, J. C. 1998. Conservation genetics in the marine realm. *The American Genetic Association* 89:377-382.
- Avice, J. C. 2000. *Phylogeography: the history and formation of species*. Harvard University Press, Cambridge, MA.

- Awise, J. C., Giblin-Davidson, C., Laerm, J., Patton, J. C., Lansman, R. A. 1979. Mitochondrial DNA clones and matriarchal phylogeny within and among geographic populations of the pocket gopher, *Geomys pinetis*. Proceedings of the National Academy of Sciences USA 76:6694-6698.
- Awise, J. C., Arnold, J., Ball, R. M., Bermingham, E., Lamb, T., Neigel, J., Reeb, C. A., Saunders, N. C. 1987. Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. Annual Review of Ecology and Systematics 18:489-522.
- Barton, N. H., Hewitt, G. M. 1985. Analysis of hybrid zones. Annual Review of Ecology and Systematics 16:113-148.
- Baskin, J. A. 1986. The Late Miocene radiation of neotropical sigmodontine rodents in North America. *In: Vertebrates, phylogeny and philosophy. A tribute to George Gaylord Simpson* (Flanagan, K. M., Lillegraven, J. A., Simpson, G. A. eds.), Contributions to Geology, University of Wyoming, Special Paper 3. Pp. 287-303.
- Bernatchez, L. 2001. The evolutionary history of brown trout (*Salmo trutta* L.) inferred from phylogeographic, nested clade, and mismatch analyses of mitochondrial DNA variation. Evolution 55:351-379.
- Briggs, J. C. 1994. The genesis of Central America: Biology versus geophysics. Global Ecology Biogeography 4:169-172.
- Carnaval, A. C., Hickerson, M. J., Haddad, C. F. B., Rodrigues, M. T., Moritz, C. M. 2009. Stability predicts genetic diversity in the Brazilian Atlantic Forest hotspot. Science 323:785-789.
- Carson, H. L. 1983. Chromosomal sequences and interisland colonizations in Hawaiian *Drosophila*. Genetics 103:465-482.
- Carstens, B. C., Stevenson, A. L., Degenhardt, J. D., Sullivan, J. 2004. Testing nested phylogenetic and phylogeographic hypotheses in the *Plethodon vandykei* species group. Systematic Biology 53:781-792.

- Clegg, S. M., Degnan, S. M., Kikkawa, J., Moritz, C., Estoup, A. 2002. Genetic consequences of sequential founder events by an island-colonizing bird. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 99:8127-8132.
- Coyne, J. A., Orr, H. A. 2004. *Speciation*. Sinauer Associates, Sunderland, MA.
- Colinvaux, P. A., De Oliveira, P. E., Bush, M. B. 2000. Amazonian and Neotropical plant communities on glacial time scales: The failure of the aridity and refuge hypotheses. *Quaternary Science Reviews* 19:141-69.
- Coyne J. A., Orr, H. A. 2004. *Speciation*. Sunderland, MA: Sinauer Associates Inc.
- Crompton, A. E., Obbard, M. E., Petersen, S. D., Wilson, P. J. 2008. Population genetic structure in polar bears (*Ursus maritimus*) from Hudson Bay, Canada: Implications of future climate change. *Biological Conservation* 141:2528-2539.
- Curtis, J. M. R., Taylor, E. B. 2003. The genetic structure of coastal giant salamanders (*Dicamptodon tenebrosus*) in a managed forest. *Biological Conservation* 115:45-54
- Daniels, S. R., Hofmeyr, M. D., Henen, B. T., Crandall, K. A. 2007. Living with the genetic signature of Miocene induced change: Evidence from the phylogeographic structure of the endemic angulate tortoise *Chersina angulata*. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 45:915-926.
- De-Lucas, A. I., González-Martínez, S. C., Vendramin, G. G., Hidalgo, E., Heuertz, M. 2009. Spatial genetic structure in continuous and fragmented populations of *Pinus pinaster* Aiton. *Molecular Ecology* 18:4564-4576.
- Donnelly, P., Joyce, P., Nordborg, M. 2001. Likelihoods and simulation methods for a class of non-neutral population genetics models. *Genetics* 159:853-867.
- Driscoll, C. 1998. A characterization of microsatellite loci variation in *Panthera leo*, *Acinonyx jubatus*, and *Felis concolor*. MSc Thesis, Hood College, Frederick, Maryland.
- Drummond, A. J., Rambaut, A. 2007. BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC Evolutionary Biology* 7:214.

- Durand, J. D., Persat, H., Bouvet, Y. 1999. Phylogeography and postglacial dispersion of the chub (*Leuciscus cephalus*) in Europe. *Molecular Ecology* 8:989-997.
- Edwards, S. V., Beerli, P. 2000. Perspective: gene divergence, population divergence, and the variance in coalescence time in phylogeographic studies. *Evolution* 54:1839-1854.
- Emerson, B. C., Paradis, E., Thebaud, C. 2001. Revealing demographic histories of species using DNA sequence data. *Trends in Ecology & Evolution* 16:707-716.
- Engel, S. R., Hogan, K. M., Taylor, J. F., Davis, S. K. 1998. Molecular systematics and paleobiogeography of the South American sigmodontine rodents. *Molecular Biology and Evolution* 15:35-49.
- Ewens, W. J. 1990. Population genetics theory - the past and the future. *In: Mathematical and Statistical Development of Evolutionary Theory* (Lessard, S. ed.), Kluwer Academic, Dordrecht. Pp. 177-227.
- Excoffier, L., Laval G., Schneider, S. 2005. ARLEQUIN ver. 3.0: an integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online*, 1:47–50.
- Fitzpatrick, S. H., Brasileiro, C. A., Haddad, C. F., Zamudio, K. R. 2009. Geographical variation in genetic structure of an Atlantic Coastal Forest frog reveals regional differences in habitat stability. *Molecular Ecology* 18:2877-2896.
- Fu, Y. X. 1997. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics*, 147:913-925.
- Fu, Y. X., Li, W. H. 1999. Coalescing into the 21st Century: An Overview and Prospects of Coalescent Theory. *Theoretical Population Biology* 56:1-10.
- Graur, D., Li, W. H. 2000. Molecular phylogenetics. *In: Fundamentals of Molecular Evolution* (Graur, D., Li, W. H. eds.), Sinauer Associates, Sunderland.

- Gavrilets, S. 2004. Fitness landscapes and the origin of species. Princeton, NJ: Princeton University Press.
- Gregory-Wodzicki KM: Uplift history of the Central and Northern Andes: A review. Geological Society of America Bulletin 2000, 112:1091-1105.
- Haffer, J. 1969. Speciation in Amazonian forest birds. Science 165:131-137.
- Haffer, J. 1993. Time's cycle and time's arrow in the history of Amazonia. Biogeographica 69:15-45.
- Haffer, J. 1997. Alternative models of vertebrate speciation in Amazonia: an overview. Biodiversity Conservation 6:451-477.
- Hare, M. P., Cipriano, S., Palumbi, S. 2002. Genetic evidence on the demography of speciation in allopatric dolphin species. Evolution 56(4):804-816
- HersHKovitz, P. 1966. Mice, land bridges and Latin American faunal interchange. *In: Ectoparasites of Panama* (Wenzel R. I., Tipton, V. J. eds.), Field Museum of Natural History, Chicago, Illinois. Pp. 725-751.
- HersHKovitz, P. 1972. The recent mammals of the Neotropical region: a zoogeographic and ecology review. *In: Evolution, mammals and southern continents* (Keast, A., Erk, F. C., Glass, B. eds.), State University of New York, Albany. Pp. 311-431.
- Holland, B. S. 2000. Genetics of marine invasions. Hydrobiologia 420:63-71.
- Hollocher, H., 1996 Island hopping in *Drosophila*: patterns and processes. Philosophical Transactions of the Royal Society B 351:735-743.
- Hooghiemstra, H., van der Hammen, T. 1998. Neogene and Quaternary development of the Neotropical rainforest: the forest refugia hypothesis and a literature overview. Earth Science Reviews 44:147-183.
- Hoorn, C., Guerrero, J., Sarmiento, G. A., Lorente, M. A. 1995. Andean tectonics as a cause for changing drainage patterns in Miocene northern South America. Geology 23:237-240.

- Hudson, R. R., Turelli, M. 2003. Stochasticity overrules the “three-times rule”: genetic drift, genetic draft, and coalescence times for nuclear loci versus mitochondrial DNA. *Evolution* 57:182-190.
- Iturralde-Vinent, M. A., MacPhee, R. D. E. 1999. Paleogeography of the Caribbean region: implications for cenozoic biogeography. *Bulletin of the American Museum of Natural History* 238:1-95.
- Kingman, J. F. C. 1982. The coalescent. *Stochastic Processes and their Applications* 13:245-248.
- Knowles, L. L. 2001. Did the Pleistocene glaciations promote divergence? Tests of explicit refugial models in montane grasshoppers. *Molecular Ecology* 10:691-701.
- Knowles, L. L., Maddison, W. P. 2002. Statistical phylogeography. *Molecular Ecology* 11:2623-2635.
- Lundberg, J. G., Marshall, L. G., Guerrero, J. 1998. The stage of Neotropical fish diversification: a history of tropical South American rivers. *In: Phylogeny and Classification of Neotropical Fishes* (Malabarba, L. R., Reis, R. E., Vari, R.P., Lucena, Z. M. S., Lucena, C. A. S. eds) Edipucrs, Porto Alegre, Brazil. Pp. 13-48.
- MacFadden, B. J. 2000. Cenozoic mammalian herbivores from the Americas: reconstructing ancient diets and terrestrial communities. *Annual Review of Ecology and Systematics* 31:33-59.
- Marroig, G., Cerqueira, R. 1997. Plio–Pleistocene South American history and the Amazon lagoon hypothesis: a piece in the puzzle of Amazonian diversification. *Journal of Comparative Biology* 2:104-119.
- Marshall, L. G. 1979. A model for paleobiogeography of South American cricetine rodents. *Paleobiology* 5:126-132.
- Martínez, P., González, E. G., Castilho, R. Zardoya, R. 2006. Genetic diversity and historical demography of Atlantic bigeye tuna (*Thunnus obesus*). *Molecular Phylogenetic and Evolution* 39:404-416,

- Miranda, G. B., Oliveira, L. F. B., Andrades-Miranda, J., Langguth, A., Callegari-Jacques S. M., Mattevi, M. S. 2009. Phylogenetic and Phylogeographic Patterns in Sigmodontine Rodents of the Genus *Oligoryzomys*. *Journal of Heredity* 100(3):309-321.
- Morrone, J. J. 2006. Biogeographic areas and transition zones of Latin America and the Caribbean Islands based on panbiogeographic and cladistic analyses of the entomofauna. *Annual Review of Entomology* 51:467-94.
- Pardiñas, U. F. J., D'Elía, G., Ortiz, P. E. 2002. Sigmodontinos fósiles (Rodentia, Muroidea, Sigmodontinae) de América del Sur: estado actual de su conocimiento y prospectiva. *Mastozoología Neotropical* 9:209-252.
- Patterson, B., Pascual, R. 1968. Evolution of mammals on southern continents. V. The fossil mammal fauna of South America. *Quarterly Review of Biology* 43:409-51.
- Patterson, B., Pascual, R. 1972. The fossil mammal fauna of South America. *In*: Evolution, mammals, and southern continents (Keast, A., Erk, F. C., Glass, B. eds.), State University of New York Press, Albany. Pp. 247-309.
- Rancy, A. 1999. Fossil mammals of the Amazon as a portrait of a Pleistocene environment. *In*: Mammals of the Neotropics, the Central Neotropics, vol. 3, Ecuador, Peru, Bolivia, Brazil (Eisenberg, J. F., Redford, K. H. eds.), The University of Chicago Press, Chicago and London. Pp. 20-26.
- Reig, O. A. 1978. Roedores cricetideos del Plioceno Superior de la Provincia de Buenos Aires (Argentina). *Museu Municipal de Ciencias Naturales "Lorenzo Scaglia"* 1:1-161.
- Reig, O. A. 1980. A new fossil genus of South American cricetid rodents allied to *Wiedomys*, with an assessment of the Sigmodontinae. *Journal of Zoology (London)* 192:257-281.
- Reig, O. A. 1984. Distribuição geográfica e historia evolutiva dos roedores muroideos sulamericanos (Cricetidae: Sigmodontinae). *Revista Brasileira de Genética* 7:333-365.

- Reig, O. A. 1986. Diversity patterns and differentiation of high Andean rodents. In: High Altitude tropical biogeography (Vuilleumier, F., Monasterio, M. eds.), Oxford University Press. Pp. 404-440.
- Rogers, A. R., Harpending, H. 1992. Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences. *Molecular Biology and Evolution* 9:552-569.
- Ruggiero, M. V., Turk, R., Procaccini, G. 2002. Genetic identity and homozygosity in North-Adriatic populations of *Posidonia oceanica*: an ancient, post-glacial clone? *Conservation Genetics* 3:71-74.
- Savage, J. M. 1974. The isthmian link and the evolution of Neotropical Mammals. *Contr. Sc. Natural History of the Museum of Los Angeles County*. 260:1-51.
- Santos, J. C., Coloma, L. A., Summers, K., Caldwell, J. P., Ree, R., Cannatella, D. C. 2009. Amazonian amphibian diversity is primarily derived from Late Miocene Andean lineages. *PLOS Biology* 7:448-461.
- Schneider, S., Excoffier, L. 1999. Estimation of past demographic parameters from the distribution of pairwise differences when the mutation rates vary among sites: application to human mitochondrial DNA. *Genetics* 152:1079-1089.
- Serre, D., Langaney, A., Chech, M., Teschler-Nicola, M., Paunovic, M., Menecier, P., Hofreiter, M., Possnert, G., Paabo, S. 2004. No evidence of Neandertal mtDNA contribution to early modern humans. *PLoS Biology* 2(3):313-317.
- Simpson, G. G. 1950. History of the fauna of Latin America. *American Scientist* 38:361-389.
- Smith, M. F., Patton, J. L. 1999. Phylogenetic relationships and the radiation of sigmodontine rodents in South America: evidence from cytochrome *b*. *Journal of Mammalian Evolution* 6:89-128.
- Steppan, S. J., Adkins, R. M., Anderson, J. 2004. Phylogeny and divergence-date estimates of rapid radiations in muroid rodents based on multiple nuclear genes. *Systematic Biology* 53(4):533-553.

- Tajima, F. 1989. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics* 123:585-595.
- Tarjuelo, I., Posada, D., Crandall, K., Pascual, M., Turon, X. 2001. Cryptic species of *Clavelina* (Ascidacea) in two different habitats: harbours and rocky littoral zones in the northwestern Mediterranean. *Marine Biology* 139:455-462.
- Taylor, D. W. 1991. Paleobiogeographic relationships of Andean angiosperms of Cretaceous to Pliocene age. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 88:69–84.
- Verzi, D. H., Montalvo, C.I. 2008. The oldest South American Cricetidae (Rodentia) and Mustelidae (Carnivora): Late Miocene faunal turnover in central Argentina and the Great American Biotic Interchange. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 267:284-291.
- Vincek, V., O'hUigin, C., Satta, Y., Takahata, N., Boag, P. T. 1997. How large was the founding population of Darwin's finches? *Proceedings of the Royal Society of London Serie B* 264:111-118.
- Vivo, M., Carmignotto, A. P. 2004 Holocene vegetation change and the mammal faunas of South America and Africa. *Journal of Biogeography* 31:943-957.
- Wahlund, S. 1928. Zusammensetzung von Populationen und Korrelationsercheinungen von Standpunkt der Verebnungslehre aus betrachtet. *Hereditas* 11:65-106.
- Wakeley, J. 2008. *Coalescent Theory: An Introduction*. Roberts & Company Publishers, Greenwood Village, Colorado.
- Wirth, T., Bernatchez, L. 2001. Genetic evidence against panmixia in the European eel. *Nature* 409:1037-1040.
- Wright, S. 1931. Evolution in Mendelian populations. *Genetics* 16:97-159.
- Wright, S. 1943. Isolation by distance. *Genetics* 28:114-138.

Apêndice 1. Janela do programa BioEdit com uma amostra dos alinhamentos do gene mitocondrial citocromo b (nesta página) e do íntron 7 do beta fibrinogênio (próxima página).

BioEdit Sequence Alignment Editor - [C:\Users\Roberta\Documents\Alineamentos_desktop_outubro\betaetaali\ALIBABRIL.phy]

File Edit Sequence Alignment View Accessory Application RNA World Wide Web Options Window Help

201 total sequences

Mode: Select / Slide Selection: 0 Position: 20: lga404 96 Sequence Mask: None Numbering Mask: None Start ruler at: 1

Scroll speed: slow fast

10 20 30 40 50 60 70 80 90 100 110 120

236cbt6792 CAGTCTTGGCTCCTATTTTAAAGTCCTCACTAAATCATTCAGCATCATGAGTGTAACCTAAACATTATAAGCAACTGCCCATATTGGGTACTTAAGGTGTACCCGTGCTTGAACGCCATATGTATCC

49108.seq CAGTCTTGGCTCCTATTTTAAAGTCCTCACTAAATCATTCAGCATCATGAGTGTAACCTAAACATTATAAGCAACTGCCCATATTGGGTACTTAAGGTGTACCCGTGCTTGAACGCCATATGTATCC

ac984 CAGTCTTGGCTCCTATTTTAAAGTCCTCACTAAATCATTCAGCATCATGAGTGTAACCTAAACATTATAAGCAACTGCCCATATTGGGTACTTAAGGTGTACCCGTGCTTGAACGCCATATGTATCC

cbf6735.se CAGTCTTGGCTCCTATTTTAAAGTCCTCACTAAATCATTCAGCATCATGAGTGTAACCTAAACATTATAAGCAACTGCCCATATTGGGTACTTAAGGTGTACCCGTGCTTGAACGCCATATGTATCC

cell1.seq CAGTCTTGGCTCCTATTTTAAAGTCCTCACTAAATCATTCAGCATCATGAGTGTAACCTAAACATTATAAGCAACTGCCCATATTGGGTACTTAAGGTGTACCCGTGCTTGAACGCCATATGTATCC

fp234 CAGTCTTGGCTCCTATTTTAAAGTCCTCACTAAATCATTCAGCATCATGAGTGTAACCTAAACATTATAAGCAACTGCCCATATTGGGTACTTAAGGTGTACCCGTGCTTGAACGCCATATGTATCC

fx240 CAGTCTTGGCTCCTATTTTAAAGTCCTCACTAAATCATTCAGCATCATGAGTGTAACCTAAACATTATAAGCAACTGCCCATATTGGGTACTTAAGGTGTACCCGTGCTTGAACGCCATATGTATCC

lem09.seq CAGTCTTGGCTCCTATTTTAAAGTCCTCACTAAATCATTCAGCATCATGAGTGTAACCTAAACATTATAAGCAACTGCCCATATTGGGTACTTAAGGTGTACCCGTGCTTGAACGCCATATGTATCC

lem12.seq CAGTCTTGGCTCCTATTTTAAAGTCCTCACTAAATCATTCAGCATCATGAGTGTAACCTAAACATTATAAGCAACTGCCCATATTGGGTACTTAAGGTGTACCCGTGCTTGAACGCCATATGTATCC

lem13.seq CAGTCTTGGCTCCTATTTTAAAGTCCTCACTAAATCATTCAGCATCATGAGTGTAACCTAAACATTATAAGCAACTGCCCATATTGGGTACTTAAGGTGTACCCGTGCTTGAACGCCATATGTATCC

lem24.seq CAGTCTTGGCTCCTATTTTAAAGTCCTCACTAAATCATTCAGCATCATGAGTGTAACCTAAACATTATAAGCAACTGCCCATATTGGGTACTTAAGGTGTACCCGTGCTTGAACGCCATATGTATCC

lg131 CAGTCTTGGCTCCTATTTTAAAGTCCTCACTAAATCATTCAGCATCATGAGTGTAACCTAAACATTATAAGCAACTGCCCATATTGGGTACTTAAGGTGTACCCGTGCTTGAACGCCATATGTATCC

lg137 CAGTCTTGGCTCCTATTTTAAAGTCCTCACTAAATCATTCAGCATCATGAGTGTAACCTAAACATTATAAGCAACTGCCCATATTGGGTACTTAAGGTGTACCCGTGCTTGAACGCCATATGTATCC

lg214.seq CAGTCTTGGCTCCTATTTTAAAGTCCTCACTAAATCATTCAGCATCATGAGTGTAACCTAAACATTATAAGCAACTGCCCATATTGGGTACTTAAGGTGTACCCGTGCTTGAACGCCATATGTATCC

lg228.seq CAGTCTTGGCTCCTATTTTAAAGTCCTCACTAAATCATTCAGCATCATGAGTGTAACCTAAACATTATAAGCAACTGCCCATATTGGGTACTTAAGGTGTACCCGTGCTTGAACGCCATATGTATCC

lga1363 CAGTCTTGGCTCCTATTTTAAAGTCCTCACTAAATCATTCAGCATCATGAGTGTAACCTAAACATTATAAGCAACTGCCCATATTGGGTACTTAAGGTGTACCCGTGCTTGAACGCCATATGTATCC

lga1365 CAGTCTTGGCTCCTATTTTAAAGTCCTCACTAAATCATTCAGCATCATGAGTGTAACCTAAACATTATAAGCAACTGCCCATATTGGGTACTTAAGGTGTACCCGTGCTTGAACGCCATATGTATCC

lga1367 CAGTCTTGGCTCCTATTTTAAAGTCCTCACTAAATCATTCAGCATCATGAGTGTAACCTAAACATTATAAGCAACTGCCCATATTGGGTACTTAAGGTGTACCCGTGCTTGAACGCCATATGTATCC

lga183 CAGTCTTGGCTCCTATTTTAAAGTCCTCACTAAATCATTCAGCATCATGAGTGTAACCTAAACATTATAAGCAACTGCCCATATTGGGTACTTAAGGTGTACCCGTGCTTGAACGCCATATGTATCC

lga404 CAGTCTTGGCTCCTATTTTAAAGTCCTCACTAAATCATTCAGCATCATGAGTGTAACCTAAACATTATAAGCAACTGCCCATATTGGGTACTTAAGGTGTACCCGTGCTTGAACGCCATATGTATCC

lga413 CAGTCTTGGCTCCTATTTTAAAGTCCTCACTAAATCATTCAGCATCATGAGTGTAACCTAAACATTATAAGCAACTGCCCATATTGGGTACTTAAGGTGTACCCGTGCTTGAACGCCATATGTATCC

lga417 CAGTCTTGGCTCCTATTTTAAAGTCCTCACTAAATCATTCAGCATCATGAGTGTAACCTAAACATTATAAGCAACTGCCCATATTGGGTACTTAAGGTGTACCCGTGCTTGAACGCCATATGTATCC

lga462 CAGTCTTGGCTCCTATTTTAAAGTCCTCACTAAATCATTCAGCATCATGAGTGTAACCTAAACATTATAAGCAACTGCCCATATTGGGTACTTAAGGTGTACCCGTGCTTGAACGCCATATGTATCC

lga469 CAGTCTTGGCTCCTATTTTAAAGTCCTCACTAAATCATTCAGCATCATGAGTGTAACCTAAACATTATAAGCAACTGCCCATATTGGGTACTTAAGGTGTACCCGTGCTTGAACGCCATATGTATCC

lga56 CAGTCTTGGCTCCTATTTTAAAGTCCTCACTAAATCATTCAGCATCATGAGTGTAACCTAAACATTATAAGCAACTGCCCATATTGGGTACTTAAGGTGTACCCGTGCTTGAACGCCATATGTATCC

lga575 CAGTCTTGGCTCCTATTTTAAAGTCCTCACTAAATCATTCAGCATCATGAGTGTAACCTAAACATTATAAGCAACTGCCCATATTGGGTACTTAAGGTGTACCCGTGCTTGAACGCCATATGTATCC

lga797 CAGTCTTGGCTCCTATTTTAAAGTCCTCACTAAATCATTCAGCATCATGAGTGTAACCTAAACATTATAAGCAACTGCCCATATTGGGTACTTAAGGTGTACCCGTGCTTGAACGCCATATGTATCC

lga798 CAGTCTTGGCTCCTATTTTAAAGTCCTCACTAAATCATTCAGCATCATGAGTGTAACCTAAACATTATAAGCAACTGCCCATATTGGGTACTTAAGGTGTACCCGTGCTTGAACGCCATATGTATCC

lga800 CAGTCTTGGCTCCTATTTTAAAGTCCTCACTAAATCATTCAGCATCATGAGTGTAACCTAAACATTATAAGCAACTGCCCATATTGGGTACTTAAGGTGTACCCGTGCTTGAACGCCATATGTATCC

lga807 CAGTCTTGGCTCCTATTTTAAAGTCCTCACTAAATCATTCAGCATCATGAGTGTAACCTAAACATTATAAGCAACTGCCCATATTGGGTACTTAAGGTGTACCCGTGCTTGAACGCCATATGTATCC

lga810 CAGTCTTGGCTCCTATTTTAAAGTCCTCACTAAATCATTCAGCATCATGAGTGTAACCTAAACATTATAAGCAACTGCCCATATTGGGTACTTAAGGTGTACCCGTGCTTGAACGCCATATGTATCC

lga825 CAGTCTTGGCTCCTATTTTAAAGTCCTCACTAAATCATTCAGCATCATGAGTGTAACCTAAACATTATAAGCAACTGCCCATATTGGGTACTTAAGGTGTACCCGTGCTTGAACGCCATATGTATCC

lga889 CAGTCTTGGCTCCTATTTTAAAGTCCTCACTAAATCATTCAGCATCATGAGTGTAACCTAAACATTATAAGCAACTGCCCATATTGGGTACTTAAGGTGTACCCGTGCTTGAACGCCATATGTATCC

lga916 CAGTCTTGGCTCCTATTTTAAAGTCCTCACTAAATCATTCAGCATCATGAGTGTAACCTAAACATTATAAGCAACTGCCCATATTGGGTACTTAAGGTGTACCCGTGCTTGAACGCCATATGTATCC

lga918 CAGTCTTGGCTCCTATTTTAAAGTCCTCACTAAATCATTCAGCATCATGAGTGTAACCTAAACATTATAAGCAACTGCCCATATTGGGTACTTAAGGTGTACCCGTGCTTGAACGCCATATGTATCC

m4745.seq CAGTCTTGGCTCCTATTTTAAAGTCCTCACTAAATCATTCAGCATCATGAGTGTAACCTAAACATTATAAGCAACTGCCCATATTGGGTACTTAAGGTGTACCCGTGCTTGAACGCCATATGTATCC

nk101522.s CAGTCTTGGCTCCTATTTTAAAGTCCTCACTAAATCATTCAGCATCATGAGTGTAACCTAAACATTATAAGCAACTGCCCATATTGGGTACTTAAGGTGTACCCGTGCTTGAACGCCATATGTATCC

nk101524.s CAGTCTTGGCTCCTATTTTAAAGTCCTCACTAAATCATTCAGCATCATGAGTGTAACCTAAACATTATAAGCAACTGCCCATATTGGGTACTTAAGGTGTACCCGTGCTTGAACGCCATATGTATCC

nk101526.s CAGTCTTGGCTCCTATTTTAAAGTCCTCACTAAATCATTCAGCATCATGAGTGTAACCTAAACATTATAAGCAACTGCCCATATTGGGTACTTAAGGTGTACCCGTGCTTGAACGCCATATGTATCC

Apêndice 2. Amostra dos animais estudados no capítulo 3 desta tese. O apêndice foi organizado de acordo com o Departamento Boliviano, seguido pelo nome da espécie e o seu respectivo numero de tombo.. Estão relacionados os animais que possuem dados cariotípicos (2n e NFa) e/ou sequências do gene mitocondrial citocromo b (Cyt b), seus respectivos números de tombo, sexo e dados dos pontos da coleta. ND= não definido. Por fim, estão os animais incluídos na amostra que fizeram parte do grupo externo, animais cujas sequências são provenientes do GenBank e animais provenientes de outras localidades, que não da Bolívia.

Espécies	Número	2n	NFa	Cyt b	Sexo	Departamento	LOCALIDADE	País	LatS	LongW
<i>Oligoryzomys aff. flavescens</i>	NK13148	66	68	não	F	BENI	RIO TIJAMUCHI, 240 M	BOLÍVIA	15,13	65,60
<i>Oligoryzomys aff. flavescens</i>	NK13168	ND	ND	sim	F	BENI	RIO TIJAMUCHI, 240 M	BOLÍVIA	15,13	65,60
<i>Oligoryzomys microtis</i>	NK13145	64	74	sim	M	BENI	RIO TIJAMUCHI, 240 M	BOLÍVIA	15,13	65,60
<i>Oligoryzomys microtis</i>	NK13309	68	78	não	F	BENI	1 KM SW ESTACION BIOLOGICA DEL BENI, TOTAISAL, 300 M	BOLÍVIA	15,80	66,56
<i>Oligoryzomys microtis</i>	NK13324	66	70	sim	M	BENI	1 KM SW ESTACION BIOLOGICA DEL BENI, TOTAISAL, 300M	BOLÍVIA	15,80	67,56
<i>Oligoryzomys microtis</i>	NK13346	64	76	não	M	BENI	45 KM N YACUMA, 400 M	BOLÍVIA	15,10	67,01
<i>Oligoryzomys microtis</i>	NK13352	66	70	não	F	BENI	45 KM N YACUMA, 400 M	BOLÍVIA	15,10	67,01
<i>Oligoryzomys microtis</i>	NK13355	66	70	não	F	BENI	45 KM N YACUMA, 400 M	BOLÍVIA	15,10	67,01
<i>Oligoryzomys microtis</i>	NK13370	66	70	não	F	BENI	45 KM N YACUMA, 400 M	BOLÍVIA	15,10	67,01
<i>Oligoryzomys microtis</i>	NK13394	64	74	sim	M	BENI	51 KM N YACUMA, 400M	BOLÍVIA	15,10	67,01
<i>Oligoryzomys microtis</i>	NK13425	ND	ND	sim	M	BENI	3 KM S RURRENABAQUE, 365 M	BOLÍVIA	14,25	67,32
<i>Oligoryzomys microtis</i>	NK102045	ND	ND	sim	F	BENI	2.4 KM S DE TOTAISAL	BOLÍVIA	14,54	66,19
<i>Oligoryzomys microtis</i>	NK102098	ND	ND	sim	M	BENI	PUESTO MILITAR CASARABE 5.5 KM S DE CASARABE BY RO	BOLÍVIA	14,48	64,11
<i>Oligoryzomys microtis</i>	NK102143	ND	ND	sim	F	BENI	1.8 KM NE DE CASARABE	BOLÍVIA	14,48	64,11
<i>Oligoryzomys aff. flavescens</i>	NK21639	ND	ND	sim	F	CHUQUISACA	12 KM N & 11 KM E DE TARABUCO, 2450 M	BOLÍVIA	19,04	64,49
<i>Oligoryzomys aff. flavescens</i>	NK21955	ND	ND	sim	M	CHUQUISACA	2 KM E DE CHUHUYACO, 1200 M	BOLÍVIA	19,43	63,15
<i>Oligoryzomys andinus</i>	NK21325	60	72	sim	F	CHUQUISACA	2 KM SW DE MONTEAGUDO, 1130 M	BOLÍVIA	19,49	63,58
<i>Oligoryzomys andinus</i>	NK21326	60	72	não	M	CHUQUISACA	2 KM SW DE MONTEAGUDO, 1130 M	BOLÍVIA	19,49	63,58
<i>Oligoryzomys andinus</i>	NK21395	60	72	não	F	CHUQUISACA	2 KM SW DE MONTEAGUDO, 1130 M	BOLÍVIA	19,49	63,58
<i>Oligoryzomys andinus</i>	NK21396	60	72	sim	F	CHUQUISACA	2 KM SW DE MONTEAGUDO, 1130 M	BOLÍVIA	19,49	63,58
<i>Oligoryzomys andinus</i>	NK21592	60	72	não	F	CHUQUISACA	12 KM N & 11 KM E DE TARABUCO, 2450 M	BOLÍVIA	19,04	64,49

<i>Oligoryzomys andinus</i>	NK21626	60	72	não	F	CHUQUISACA	12 KM N & 11 KM E DE TARABUCO, 2450 M	BOLÍVIA	19,04	64,49
<i>Oligoryzomys andinus</i>	NK21650	60	72	não	F	CHUQUISACA	12 KM N & 11 KM E DE TARABUCO, 2450 M	BOLÍVIA	19,04	64,49
<i>Oligoryzomys andinus</i>	NK21665	60	72	sim	M	CHUQUISACA	9 KM BY ROAD N DE PADILLA, 2000 M	BOLÍVIA	19,18	64,22
<i>Oligoryzomys andinus</i>	NK21667	66	72	sim	M	CHUQUISACA	9 KM BY ROAD N DE PADILLA, 2000 M	BOLÍVIA	19,18	64,22
<i>Oligoryzomys andinus</i>	NK21677	60	72	não	M	CHUQUISACA	9 KM BY ROAD N DE PADILLA, 2000 M	BOLÍVIA	19,18	64,22
<i>Oligoryzomys andinus</i>	NK21703	60	72	sim	M	CHUQUISACA	RIO LIMON	BOLÍVIA	19,33	64,08
<i>Oligoryzomys andinus</i>	NK21829	60	72	não	F	CHUQUISACA	RIO LIMON	BOLÍVIA	19,33	64,08
<i>Oligoryzomys andinus</i>	NK21830	60	72	não	M	CHUQUISACA	RIO LIMON	BOLÍVIA	19,34	64,09
<i>Oligoryzomys andinus</i>	NK21831	60	72	não	M	CHUQUISACA	RIO LIMON	BOLÍVIA	19,33	64,08
<i>Oligoryzomys andinus</i>	NK21832	60	71	não	F	CHUQUISACA	RIO LIMON	BOLÍVIA	19,33	64,08
<i>Oligoryzomys andinus</i>	NK21833	60	72	sim	M	CHUQUISACA	RIO LIMON	BOLÍVIA	19,33	64,08
<i>Oligoryzomys andinus</i>	NK21834	60	72	não	M	CHUQUISACA	RIO LIMON	BOLÍVIA	19,33	64,08
<i>Oligoryzomys andinus</i>	NK21835	60	72	sim	M	CHUQUISACA	RIO LIMON	BOLÍVIA	19,34	64,09
<i>Oligoryzomys andinus</i>	NK21836	60	72	não	M	CHUQUISACA	RIO LIMON	BOLÍVIA	19,33	64,08
<i>Oligoryzomys andinus</i>	NK21937	60	71	sim	M	CHUQUISACA	2 KM E DE CHUHUYACO, 1200 M	BOLÍVIA	19,43	63,15
<i>Oligoryzomys aff. flavescens</i>	NK12019	66	68	sim	M	COCHABAMBA	28 KM BY ROAD W DE COMARAPA, 2800 M	BOLÍVIA	17,55	64,34
<i>Oligoryzomys aff. flavescens</i>	NK22872	66	68	sim	F	COCHABAMBA	TINKURSIRI, 17KM E DE TOTORA	BOLÍVIA	17,45	65,02
<i>Oligoryzomys aff. flavescens</i>	NK22879	66	68	não	M	COCHABAMBA	TINKURSIRI, 17KM E DE TOTORA	BOLÍVIA	17,45	65,02
<i>Oligoryzomys aff. flavescens</i>	NK25002	ND	ND	sim	F	COCHABAMBA	7.5 KM SE DE RODEO	BOLÍVIA	17,39	65,05
<i>Oligoryzomys aff. flavescens</i>	NK25003	ND	ND	sim	F	COCHABAMBA	7.5 KM SE DE RODEO	BOLÍVIA	17,39	65,05
<i>Oligoryzomys aff. flavescens</i>	NK25015	ND	ND	sim	F	COCHABAMBA	7.5 KM SE DE RODEO	BOLÍVIA	17,39	65,05
<i>Oligoryzomys aff. flavescens</i>	NK25016	ND	ND	sim	F	COCHABAMBA	7.5 KM SE DE RODEO	BOLÍVIA	17,39	65,05
<i>Oligoryzomys aff. flavescens</i>	NK30504	66	68	sim	F	COCHABAMBA	12.5KM N COLOMI, P 3200M	BOLÍVIA	17,14	65,53
<i>Oligoryzomys aff. flavescens</i>	NK30505	66	68	não	M	COCHABAMBA	12.5KM N COLOMI, P 3200M	BOLÍVIA	17,14	65,53
<i>Oligoryzomys aff. flavescens</i>	NK30506	66	68	não	M	COCHABAMBA	POSEIDON LAGUNA DE CORAMI 12.5 KM N DE CALOMI	BOLÍVIA	17,14	65,53
<i>Oligoryzomys aff. flavescens</i>	NK30533	66	68	não	M	COCHABAMBA	16.5 KM NW DE COLOMI	BOLÍVIA	17,13	65,57
<i>Oligoryzomys aff. flavescens</i>	NK30537	66	68	não	M	COCHABAMBA	16.5 KM NW DE COLOMI	BOLÍVIA	17,13	65,57
<i>Oligoryzomys aff. flavescens</i>	NK30548	66	68	sim	F	COCHABAMBA	16.5 KM NW DE COLOMI	BOLÍVIA	17,13	65,57
<i>Oligoryzomys aff. flavescens</i>	NK30549	66	68	sim	M	COCHABAMBA	16.5KM NW COLOMI 3500M	BOLÍVIA	17,13	65,27

<i>Oligoryzomys aff. flavescens</i>	NK30550	66	68	sim	M	COCHABAMBA	16.5KM NW COLOMI 3500M	BOLÍVIA	17,13	65,27
<i>Oligoryzomys andinus</i>	NK22846	60	72	não	F	COCHABAMBA	TINKURSIRI, 17KM E DE TOTORA	BOLÍVIA	17,45	65,02
<i>Oligoryzomys andinus</i>	NK22848	60	71	não	F	COCHABAMBA	TINKURSIRI, 17KM E DE TOTORA	BOLÍVIA	17,45	65,02
<i>Oligoryzomys andinus</i>	NK22878	60	72	sim	F	COCHABAMBA	TINKURSIRI, 17KM E DE TOTORA	BOLÍVIA	17,45	65,02
<i>Oligoryzomys andinus</i>	NK22889	60	71	sim	M	COCHABAMBA	TINKURSIRI, 17KM E DE TOTORA	BOLÍVIA	17,45	65,02
<i>Oligoryzomys sp. A</i>	NK29800	ND	ND	sim	M	COCHABAMBA	CORANI	BOLÍVIA	17,16	65,54
<i>Oligoryzomys sp. A</i>	NK30285	ND	ND	sim	M	COCHABAMBA	4.4 KM BY ROAD N TABLES MONTE RIO JATUA MAYU	BOLÍVIA	21,29	64,55
<i>Oligoryzomys aff. flavescens</i>	NK25579	66	68	não	M	LA PAZ	LA RESERVA, 840 M	BOLÍVIA	15,44	67,31
<i>Oligoryzomys aff. flavescens</i>	NK25653	68	68	não	F	LA PAZ	LA RESERVA, 840 M	BOLÍVIA	15,44	67,31
<i>Oligoryzomys aff. flavescens</i>	NK25720	66	ND	sim	M	LA PAZ	LA RESERVA, 840 M	BOLÍVIA	15,44	67,31
<i>Oligoryzomys aff. flavescens</i>	NK25866	66	68	sim	M	LA PAZ	MINA LOURDES	BOLÍVIA	16,19	67,58
<i>Oligoryzomys fulvescens</i>	NK25814	ND	ND	sim	M	LA PAZ	RIO ACEROMARCA, 2990 M	BOLÍVIA	16,19	67,53
<i>Oligoryzomys microtis</i>	NK13485	62	66	sim	F	LA PAZ	RIO BENI, 250 M	BOLÍVIA	14,21	67,34
<i>Oligoryzomys microtis</i>	NK13604	66	70	sim	M	LA PAZ	RIO MADIDI, 8 KM FROM MOUTH, 240 M	BOLÍVIA	13,21	68,07
<i>Oligoryzomys microtis</i>	NK13605	ND	ND	sim	M	LA PAZ	RIO MADIDI, 8 KM FROM MOUTH, 240 M	BOLÍVIA	13,21	68,07
<i>Oligoryzomys microtis</i>	NK25572	ND	ND	sim	M	LA PAZ	LA RESERVA, 840 M	BOLÍVIA	15,44	67,31
<i>Oligoryzomys microtis</i>	NK25654	ND	ND	sim	M	LA PAZ	LA RESERVA, 840 M	BOLÍVIA	15,44	67,31
<i>Oligoryzomys sp. A</i>	NK116513	ND	ND	sim	M	LA PAZ	PARQUE NACIONAL COTAPATA, ESTACION BIOLOGICA TUNQU	BOLÍVIA	16,25	67,58
<i>Oligoryzomys microtis</i>	NK13728	66	70	não	M	PANDO	OPPOSITE HAMBURGO, RIO BENI, WEST BANK	BOLÍVIA	11,20	67,02
<i>Oligoryzomys microtis</i>	NK13775	64	68	sim	F	PANDO	AGUA DULCE, 160 M	BOLÍVIA	11,01	66,12
<i>Oligoryzomys microtis</i>	NK13777	64	68	não	F	PANDO	AGUA DULCE, 160 M	BOLÍVIA	11,01	66,12
<i>Oligoryzomys microtis</i>	NK13862	64	68	sim	M	PANDO	RIO MADRE DE DIOS, 160 M	BOLÍVIA	10,59	66,19
<i>Oligoryzomys microtis</i>	NK13888	66	70	não	M	PANDO	BELLA VISTA, 170 M	BOLÍVIA	11,23	67,12
<i>Oligoryzomys microtis</i>	NK13913	66	70	sim	M	PANDO	INDEPENDENCIA	BOLÍVIA	11,26	67,34
<i>Oligoryzomys microtis</i>	NK13914	64	76	sim	M	PANDO	INDEPENDENCIA	BOLÍVIA	11,26	67,34
<i>Oligoryzomys microtis</i>	NK13915	66	70	sim	F	PANDO	INDEPENDENCIA	BOLÍVIA	11,26	67,34
<i>Oligoryzomys microtis</i>	NK13962	ND	ND	sim	M	PANDO	ISLA GARGANTUA 180M	BOLÍVIA	12,23	68,35
<i>Oligoryzomys microtis</i>	NK13970	64	74	não	M	PANDO	ISLA GARGANTUA 180M	BOLÍVIA	12,23	68,35
<i>Oligoryzomys microtis</i>	NK13973	ND	ND	sim	M	PANDO	ISLA GARGANTUA 180M	BOLÍVIA	12,23	68,35

<i>Oligoryzomys microtis</i>	NK13993	64	74	não	M	PANDO	ISLA GARGANTUA 180M	BOLÍVIA	12,23	68,35
<i>Oligoryzomys microtis</i>	NK14049	ND	ND	sim	F	PANDO	ISLA GARGANTUA 180M	BOLÍVIA	12,23	68,35
<i>Oligoryzomys microtis</i>	NK14252	62	66	não	F	PANDO	LA CRUZ, 170 M	BOLÍVIA	11,24	67,13
<i>Oligoryzomys microtis</i>	NK14257	64	ND	não	M	PANDO	LA CRUZ, 170 M	BOLÍVIA	11,24	67,13
<i>Oligoryzomys microtis</i>	NK14258	62	66	não	M	PANDO	LA CRUZ, 170 M	BOLÍVIA	11,24	67,13
<i>Oligoryzomys microtis</i>	NK14296	64	ND	sim	M	PANDO	LA CRUZ, 170 M	BOLÍVIA	11,24	67,13
<i>Oligoryzomys microtis</i>	NK14297	64	ND	não	F	PANDO	LA CRUZ, 170 M	BOLÍVIA	11,24	67,13
<i>Oligoryzomys microtis</i>	NK14298	64	68	não	F	PANDO	LA CRUZ, 170 M	BOLÍVIA	11,24	67,13
<i>Oligoryzomys microtis</i>	NK14315	64	76	sim	M	PANDO	LA CRUZ, 170 M	BOLÍVIA	11,24	67,13
<i>Oligoryzomys microtis</i>	NK14333	64	68	não	M	PANDO	RIO MADRE DE DIOS, LEFT BANK, 170M	BOLÍVIA	11,12	66,18
<i>Oligoryzomys microtis</i>	NK14334	64	68	sim	M	PANDO	LEFT BANK FIO MADRE DE DIOS	BOLÍVIA	11,12	66,18
<i>Oligoryzomys microtis</i>	NK14343	64	76	não	M	PANDO	REMANSO, 160 M	BOLÍVIA	10,56	66,18
<i>Oligoryzomys microtis</i>	NK14344	64	76	não	F	PANDO	REMANSO, 160 M	BOLÍVIA	10,56	66,18
<i>Oligoryzomys microtis</i>	NK14346	62	66	não	F	PANDO	REMANSO, 160 M	BOLÍVIA	10,56	66,18
<i>Oligoryzomys microtis</i>	NK14349	64	ND	não	F	PANDO	REMANSO, 160 M	BOLÍVIA	10,56	66,18
<i>Oligoryzomys microtis</i>	NK14350	64	ND	não	F	PANDO	REMANSO, 160 M	BOLÍVIA	10,56	66,18
<i>Oligoryzomys aff. flavescens</i>	NK12095	66	68	não	M	SANTA CRUZ	1 KM N AND 8 KM W DE COMARAPA 2450 M	BOLÍVIA	17,55	64,34
<i>Oligoryzomys aff. flavescens</i>	NK12096	66	68	não	M	SANTA CRUZ	1 KM N AND 8 KM W DE COMARAPA 2450 M	BOLÍVIA	17,55	64,34
<i>Oligoryzomys andinus</i>	NK12119	60	72	sim	F	SANTA CRUZ	1 KM N AND 8 KM W DE COMARAPA 2450 M	BOLÍVIA	17,56	64,35
<i>Oligoryzomys andinus</i>	NK22820	ND	ND	sim	M	SANTA CRUZ	2KM NE QUINE	BOLÍVIA		
<i>Oligoryzomys chacoensis</i>	NK21019	58	74	sim	F	SANTA CRUZ	SANTA ROSA DE LA ROCA, 0250 M	BOLÍVIA	15,50	61,27
<i>Oligoryzomys chacoensis</i>	NK21275	58	74	sim	M	SANTA CRUZ	CERRO ITAHUATICUA	BOLÍVIA	19,48	63,13
<i>Oligoryzomys fulvescens</i>	NK12121	ND	ND	sim	M	SANTA CRUZ	1 KM N AND 8 KM W DE COMARAPA 2450 M	BOLÍVIA	17,55	64,34
<i>Oligoryzomys microtis</i>	NK12145	64	76	não	M	SANTA CRUZ	6 KM N BUEN RETIRO, 300 M	BOLÍVIA	17,13	63,38
<i>Oligoryzomys microtis</i>	NK12335	64	74	não	F	SANTA CRUZ	4 KM N, 1 KM W SANTIAGO DE CHIQUITOS, 700 M	BOLÍVIA	18,18	59,36
<i>Oligoryzomys microtis</i>	NK12397	ND	ND	sim	F	SANTA CRUZ	4 KM N, 1 KM W SANTIAGO DE CHIQUITOS, 700 M	BOLÍVIA	18,18	59,36
<i>Oligoryzomys microtis</i>	NK12968	66	70	sim	M	SANTA CRUZ	10 KM N SAN RAMON, 250 M	BOLÍVIA	14,24	63,11
<i>Oligoryzomys microtis</i>	NK13059	66	70	não	M	SANTA CRUZ	6 KM BY ROAD W ASCENCION, 240 M	BOLÍVIA	15,43	63,09
<i>Oligoryzomys microtis</i>	NK13079	68	78	não	F	SANTA CRUZ	6 KM BY ROAD W ASCENCION, 240 M	BOLÍVIA	15,43	63,09

<i>Oligoryzomys microtis</i>	NK13080	64	76	não	M	SANTA CRUZ	6 KM W (BY ROAD) ASCENSION, 240 M	BOLÍVIA	15,44	63,10
<i>Oligoryzomys microtis</i>	NK13115	66	70	não	M	SANTA CRUZ	6 KM W (BY ROAD) ASCENSION, 240 M	BOLÍVIA	15,45	63,11
<i>Oligoryzomys microtis</i>	NK13116	66	70	não	F	SANTA CRUZ	6 KM W (BY ROAD) ASCENSION, 240 M	BOLÍVIA	15,46	63,12
<i>Oligoryzomys microtis</i>	NK14003	ND	ND	sim	M	SANTA CRUZ	4.5 KM N, 1.5 KM E CERRO AMBORO, RIO PITASAMA, 620 M	BOLÍVIA	15,43	63,09
<i>Oligoryzomys aff. andinus</i>	NK23732	58	72	sim	M	TARIJA	3 KM SE. DE CUYAMBUYO, 900 M	BOLÍVIA	22,16	64,33
<i>Oligoryzomys aff. andinus</i>	NK23746	58	72	não	M	TARIJA	4 KM SE. DE CUYAMBUYO, 900 M	BOLÍVIA	22,16	64,33
<i>Oligoryzomys aff. andinus</i>	NK23751	58	72	sim	M	TARIJA	5 KM SE. DE CUYAMBUYO, 900 M	BOLÍVIA	22,16	64,33
<i>Oligoryzomys aff. andinus</i>	NK23754	58	72	não	M	TARIJA	3 KM SE DE CUYAMBUYO	BOLÍVIA	22,16	64,33
<i>Oligoryzomys aff. andinus</i>	NK23789	58	72	não	M	TARIJA	3 KM SE DE CUYAMBUYO	BOLÍVIA	22,16	64,33
<i>Oligoryzomys aff. andinus</i>	NK23912	58	72	não	M	TARIJA	5 KM NNW DE ENTRE RIOS 1600 M	BOLÍVIA	21,29	64,12
<i>Oligoryzomys aff. andinus</i>	NK23913	58	72	sim	M	TARIJA	5 KM N NW YENTRE RIO	BOLÍVIA	21,28	64,12
<i>Oligoryzomys aff. andinus</i>	NK23953	58	72	sim	M	TARIJA	5 KM N NW YENTRE RIO	BOLÍVIA	21,28	64,12
<i>Oligoryzomys aff. andinus</i>	NK23954	58	72	não	F	TARIJA	5 KM N NW YENTRE RIO	BOLÍVIA	21,28	64,12
<i>Oligoryzomys aff. andinus</i>	NK23956	58	72	não	M	TARIJA	5 KM N NW YENTRE RIO	BOLÍVIA	21,28	64,12
<i>Oligoryzomys aff. andinus</i>	NK23957	58	72	sim	M	TARIJA	5 KM N NW YENTRE RIO	BOLÍVIA	21,28	64,12
<i>Oligoryzomys aff. flavescens</i>	NK23643	66	68	sim	M	TARIJA	4.5 KM E ISCAYACHI, RIO TAMAYAPO	BOLÍVIA	21,29	64,55
<i>Oligoryzomys aff. flavescens</i>	NK23653	68	68	não	M	TARIJA	1 KM E DE TUCUMILLA	BOLÍVIA	21,27	64,49
<i>Oligoryzomys aff. flavescens</i>	NK23655	68	68	sim	M	TARIJA	1 KM E DE TUCUMILLA	BOLÍVIA	21,27	64,49
<i>Oligoryzomys aff. flavescens</i>	NK23666	66	72	sim	M	TARIJA	1 KM. E. DE TUCUMILLA 2500 M	BOLÍVIA	21,27	64,49
<i>Oligoryzomys aff. flavescens</i>	NK23666	ND	ND	sim	M	TARIJA	3 KM. E. DE TUCUMILLA 2500 M	BOLÍVIA	21,27	64,49
<i>Oligoryzomys aff. flavescens</i>	NK23691	68	68	não	F	TARIJA	2 KM. E. DE TUCUMILLA 2500 M	BOLÍVIA	21,27	64,49
<i>Oligoryzomys aff. flavescens</i>	NK23694	66	68	não	M	TARIJA	4.5 KM E DE ISCAYACHI	BOLÍVIA	21,29	64,55
<i>Oligoryzomys aff. flavescens</i>	NK23767	66	72	sim	F	TARIJA	3 KM SE. DE CUYAMBUYO, 900 M	BOLÍVIA	22,16	64,33
<i>Oligoryzomys aff. flavescens</i>	NK23768	66	68	não	M	TARIJA	3 KM SE DE CUYAMBUYO	BOLÍVIA	22,16	64,33
<i>Oligoryzomys aff. flavescens</i>	NK23778	66	68	não	F	TARIJA	4 KM SE DE CUYAMBUYO	BOLÍVIA	22,17	64,34
<i>Oligoryzomys aff. flavescens</i>	NK23781	66	72	não	M	TARIJA	3 KM SE DE CUYAMBUYO	BOLÍVIA	22,16	64,33
<i>Oligoryzomys aff. flavescens</i>	NK23792	66	68	não	M	TARIJA	3 KM SE DE CUYAMBUYO	BOLÍVIA	22,16	64,33
<i>Oligoryzomys aff. flavescens</i>	NK23916	66	72	não	M	TARIJA	5 KM NNW DE ENTRE RIOS 1600 M	BOLÍVIA	21,29	64,12
<i>Oligoryzomys aff. flavescens</i>	NK23917	66	72	não	M	TARIJA	5 KM NNW DE ENTRE RIOS 1600 M	BOLÍVIA	21,29	64,12

<i>Oligoryzomys aff. flavescens</i>	NK23965	66	ND	sim	M	TARIJA	5 KM N NW YENTRE RIO	BOLÍVIA	21,28	64,12
<i>Oligoryzomys andinus</i>	NK23364	60	72	sim	F	TARIJA	1 KM S DE CAMATINDY	BOLÍVIA	21,05	63,23
<i>Oligoryzomys andinus</i>	NK23398	60	71	não	M	TARIJA	TAPECUA	BOLÍVIA	21,26	63,55
<i>Oligoryzomys andinus</i>	NK23780	60	72	sim	F	TARIJA	3 KM SE. DE CUYAMBUYO, 900 M	BOLÍVIA	22,16	64,33
<i>Oligoryzomys andinus</i>	NK23955	60	71	sim	M	TARIJA	5 KM N NW YENTRE RIO	BOLÍVIA	21,28	64,12
<i>Oligoryzomys chacoensis</i>	NK23355	ND	ND	sim	F	TARIJA	1 KM S. DE CAMATINDY, 650 M	BOLÍVIA	21,01	63,23
<i>Oligoryzomys chacoensis</i>	NK25093	ND	ND	sim	F	TARIJA	3 KM WNW CARAPARI 850 M	BOLÍVIA	21,48	63,47
<i>Oligoryzomys chacoensis</i>	NK25096	ND	ND	sim	F	TARIJA	4 KM WNW CARAPARI 850 M	BOLÍVIA	21,48	63,47
<i>Oligoryzomys chacoensis</i>	NK25187	ND	ND	sim	M	TARIJA	5 KM W DE ESTANCIA BOLIVAR	BOLÍVIA	22,03	63,34
<i>Oligoryzomys fornesi</i>	LGA807	62	64	sim		SÃO PAULO	ESTAÇÃO ECOLÓGICA ÁGUAS DE SANTA BARBARA	BRASIL	22,47	42,58
<i>Oligoryzomys fornesi</i>	LGA810	62	64	sim		SÃO PAULO	ESTAÇÃO ECOLÓGICA ÁGUAS DE SANTA BARBARA	BRASIL	22,47	42,58
<i>Oligoryzomys fornesi</i>	LGA825	62	64	sim		SÃO PAULO	ESTAÇÃO ECOLÓGICA ÁGUAS DE SANTA BARBARA	BRASIL	22,47	42,58
<i>Oligoryzomys aff. flavescens</i>	DE513	ND	ND	sim				ARGENTINA		
<i>Oligoryzomys aff. flavescens</i>	GENBANK		DQ826010							
<i>Oligoryzomys longicaudatus</i>	SQ390	ND	ND	sim				ARGENTINA		
<i>Oligoryzomys longicaudatus</i>	SQ374	ND	ND	sim				ARGENTINA		
<i>Oligoryzomys messorius</i>	GENBANK		DQ826027			RORAIMA	ILHA DO MEL	BRASIL		
<i>Oligoryzomys microtis</i>	GENBANK		AY439000							
<i>Oligoryzomys nigripes</i>	GENBANK		DQ826004							
<i>Oligoryzomys sp. D</i>	GENBANK		DQ826025			AMAPÁ	TARTARUGALZINHO	BRASIL		
<i>Oligoryzomys stramineus</i>	GENBANK		DQ826026			GOIÁS		BRASIL		
GRUPOS EXTERNOS										
<i>Cerradomys langguth</i>	LEM09	50		sim		PERNAMBUCO	PARQUE NACIONAL DO CATIMBAU	BRASIL	8,36	37,09
<i>Neacomys subspinosus</i>	CBF6735	ND	ND	sim		LA PAZ	LA RESERVA	BOLÍVIA	15,44	67,31
<i>Microryzomys minutus</i>	NK40594	ND	ND	sim		LA PAZ	LA RESERVA	BOLÍVIA	15,44	67,31

Apêndice 3. Relação da amostra dos animais sequenciados para o gene mitocondrial citocromo b e para o íntron 7 do beta-fibrinogênio. O apêndice foi organizado de acordo com o País, seguido do Departamento/Estado e do nome da espécie.

Amostra Cyt b	Amostra Beta-Fib	ESPÉCIE	LOCALIDADE	DEPARTAMENTO/ESTADO	PAÍS	Lat	Long
OL986	OL986	<i>Oligoryzomys aff. andinus</i>			ARGENTINA		
	OR22496	<i>Oligoryzomys chacoensis</i>			ARGENTINA		
CBT6792	CBT6792	<i>Oligoryzomys flavescens</i>			ARGENTINA		
CE11	CE11	<i>Oligoryzomys flavescens</i>			ARGENTINA		
OF513	OF513	<i>Oligoryzomys flavescens</i>			ARGENTINA		
TK49102	TK49102	<i>Oligoryzomys flavescens</i>	CORDOBA		ARGENTINA	31,47	62,53
TK49106	TK49106	<i>Oligoryzomys flavescens</i>	CORDOBA		ARGENTINA	31,47	62,53
	TK49108	<i>Oligoryzomys flavescens</i>			ARGENTINA		
2633FI		<i>Oligoryzomys fornesi</i>			ARGENTINA		
SQ390		<i>Oligoryzomys longicaudatus</i>			ARGENTINA		
SQ394	SQ394	<i>Oligoryzomys longicaudatus</i>			ARGENTINA		
	SQ374	<i>Oligoryzomys longicaudatus</i>			ARGENTINA		
	SQ378	<i>Oligoryzomys longicaudatus</i>			ARGENTINA		
	SQ379	<i>Oligoryzomys longicaudatus</i>			ARGENTINA		
	SQ393	<i>Oligoryzomys longicaudatus</i>			ARGENTINA		
	RORO040	<i>Oligoryzomys nigripes</i>			ARGENTINA		
AK07752		<i>Oligoryzomys fulvescens</i>	CAYO		BELIZE	17,05	88,56
NK13168	NK13168	<i>Oligoryzomys flavescens</i>	RIO TIJAMUCHI, 240 M	BENI	BOLIVIA	15,02	67,19
NK102045	NK102045	<i>Oligoryzomys microtis</i>	2.4 KM S DE TOTAISAL	BENI	BOLIVIA	14,54	66,19
NK102098	NK102098	<i>Oligoryzomys microtis</i>	PUESTO MILITAR CASARABE 5.5 KM S DE CASARABE BY RO	BENI	BOLIVIA	14,53	64,25
NK102128		<i>Oligoryzomys microtis</i>	PUESTO MILITAR CASARABE 5.5 KM S DE CASARABE BY RO	BENI	BOLIVIA	14,52	64,28

NK102143	NK102143	<i>Oligoryzomys microtis</i>	1.8 KM NE DE CASARABE	BENI	BOLIVIA	14,51	64,29
NK102200	NK102200	<i>Oligoryzomys microtis</i>	4.5 KM N DE SAN PABLO	BENI	BOLIVIA	15,14	63,54
NK102250	NK102250	<i>Oligoryzomys microtis</i>	ESTANCIA SAN MARCOS 6 KM W DE ASCENSION	BENI	BOLIVIA	15,53	63,11
NK10250		<i>Oligoryzomys microtis</i>	4.5 KM N DE SAN PABLO	BENI	BOLIVIA	15,14	63,54
NK102957		<i>Oligoryzomys microtis</i>	LA PAZ	BENI	BOLIVIA		
NK11827		<i>Oligoryzomys microtis</i>	ESTANCIA CACHUELA ESPERANZA, 300 M	BENI	BOLIVIA	16,47	63,14
NK11863	NK11863	<i>Oligoryzomys microtis</i>	ESTANCIA CACHUELA ESPERANZA, 0300 M	BENI	BOLIVIA	16,47	63,14
NK1189PB		<i>Oligoryzomys microtis</i>	BENI	BENI	BOLIVIA	16,47	63,14
NK12053	NK12053	<i>Oligoryzomys microtis</i>	BENI	BENI	BOLIVIA		
NK12146	NK12146	<i>Oligoryzomys microtis</i>	6 KM N DE BUEN RETIRO, 0300 M	BENI	BOLIVIA	17,13	63,38
NK12336		<i>Oligoryzomys microtis</i>	4 KM N E 1 KM W DE SANTIAGO DECHIKUITOS, 700 M	BENI	BOLIVIA	18,18	59,36
NK12339		<i>Oligoryzomys microtis</i>	BENI	BENI	BOLIVIA	18,18	59,36
NK12397	NK12397	<i>Oligoryzomys microtis</i>	4 KM N E 1 KM W DE SANTIAGO DECHIKUITOS, 0700 M.	BENI	BOLIVIA	18,18	59,36
NK12968	NK12968	<i>Oligoryzomys microtis</i>	10 KM N SAN RAMON, 250 M	BENI	BOLIVIA	15,43	63,09
NK13141		<i>Oligoryzomys microtis</i>	RIO TIJAMUCHI, 240 M	BENI	BOLIVIA	15,13	65,6
NK13145	NK13145	<i>Oligoryzomys microtis</i>	RIO TIJAMUCHI, 240 M	BENI	BOLIVIA	15,13	65,6
NK13324	NK13324	<i>Oligoryzomys microtis</i>	1 KM SW ESTACION BIOLOGICA DEL BENI, TOTAISAL, 300M	BENI	BOLIVIA	15,8	66,56
NK13350		<i>Oligoryzomys microtis</i>	45 KM N YACUMA, 400 M	BENI	BOLIVIA	15,1	67,01
NK13354	NK13354	<i>Oligoryzomys microtis</i>	45 KM N YACUMA, 400 M	BENI	BOLIVIA	15,1	67,01
NK13394	NK13394	<i>Oligoryzomys microtis</i>	45 KM N YACUMA, 400 M	BENI	BOLIVIA	15,1	67,01
NK13425		<i>Oligoryzomys microtis</i>	3 KM S RURRENABAQUE, 365 M	BENI	BOLIVIA	14,25	67,32
NK13426	NK13426	<i>Oligoryzomys microtis</i>	3 KM S RURRENABAQUE, 365 M	BENI	BOLIVIA	14,25	67,32
NK13531	NK13531	<i>Oligoryzomys microtis</i>	RIO BENI, 250 M	BENI	BOLIVIA	14,25	67,32
NK14003	NK14003	<i>Oligoryzomys microtis</i>	4.5 KM N, 1.5 KM E CERRO AMBORO, RIO PITASAMA, 620M	BENI	BOLIVIA	17,43	68,38
NK14430	NK14430	<i>Oligoryzomys microtis</i>	BOCA DEL RIO BIATA 170M	BENI	BOLIVIA	11,44	66,47
	NK102061	<i>Oligoryzomys microtis</i>	4 KM S DE TOTAISAL	BENI	BOLIVIA	14,55	66,19

	TK102098	<i>Oligoryzomys microtis</i>	BENI	BENI	BOLIVIA	14,53	64,26
	NK102258	<i>Oligoryzomys microtis</i>	ESTANCIA SAN MARCOS 6 KM W DE ASCENSION	BENI	BOLIVIA	15,53	63,11
	NK11806	<i>Oligoryzomys microtis</i>	ESTANCIA CACHUELA ESPERANZA, 300 M.	BENI	BOLIVIA	16,47	63,14
NK21496	NK21496	<i>Oligoryzomys aff. flavescens</i>	2 KM SW DE MONTEAGUDO, 1130 M	CHUQUISACA	BOLIVIA	19,49	63,58
NK21536	NK21536	<i>Oligoryzomys aff. flavescens</i>	11 KM N & 16 KM W DE PADILLA, 2050 M	CHUQUISACA	BOLIVIA	19,12	64,27
NK21639	NK21639	<i>Oligoryzomys aff. flavescens</i>	12 KM N, 11 KM E TARABUCO	CHUQUISACA	BOLIVIA	19,4	64,49
NK21667		<i>Oligoryzomys aff. flavescens</i>	9 KM BY ROAD W PADILLA	CHUQUISACA	BOLIVIA	19,18	64,22
NK21955	NK21955	<i>Oligoryzomys aff. flavescens</i>	2 KM E DE CHUHUAYACO, 1200 M	CHUQUISACA	BOLIVIA	19,43	63,51
NK21325	NK21325	<i>Oligoryzomys andinus</i>	2 KM SW DE MONTEAGUDO, 1130 M	CHUQUISACA	BOLIVIA	19,49	63,58
NK21396	NK21396	<i>Oligoryzomys andinus</i>	2 KM SW DE MONTEAGUDO, 1130 M	CHUQUISACA	BOLIVIA	19,49	63,58
NK21432	NK21432	<i>Oligoryzomys andinus</i>	2 KM SW DE MONTEAGUDO, 1130 M	CHUQUISACA	BOLIVIA	19,49	63,58
NK21533	NK21533	<i>Oligoryzomys andinus</i>	9 KM BY ROAD W DE PADILLA	CHUQUISACA	BOLIVIA	19,18	64,22
NK21550	NK21550	<i>Oligoryzomys andinus</i>	4 KM N DE TARABUCO, 3250 M.	CHUQUISACA	BOLIVIA	19,8	64,56
NK21636	NK21636	<i>Oligoryzomys andinus</i>	12 KM N, 11KM E TARABUCO	CHUQUISACA	BOLIVIA	19,4	64,49
NK21637	NK21637	<i>Oligoryzomys andinus</i>	12 KM N, 11KM E TARABUCO	CHUQUISACA	BOLIVIA	19,4	64,49
NK21647	NK21647	<i>Oligoryzomys andinus</i>	12 KM N & 11 KM E DE TARABUCO, 2450 M	CHUQUISACA	BOLIVIA	19,4	64,49
NK21665	NK21665	<i>Oligoryzomys andinus</i>	9 KM BY ROAD N DE PADILLA, 2000 M	CHUQUISACA	BOLIVIA	19,18	64,22
NK21703	NK21703	<i>Oligoryzomys andinus</i>	RIO LIMON	CHUQUISACA	BOLIVIA	19,33	64,8
NK21833	NK21833	<i>Oligoryzomys andinus</i>	RIO LIMON	CHUQUISACA	BOLIVIA	19,33	64,8
NK21835	NK21835	<i>Oligoryzomys andinus</i>	CHUQUISACA	CHUQUISACA	BOLIVIA	19,33	64,8
NK21880		<i>Oligoryzomys andinus</i>	RIO LIMON, 1300 M	CHUQUISACA	BOLIVIA	19,33	64,8
NK21883	NK21883	<i>Oligoryzomys andinus</i>	RIO LIMON	CHUQUISACA	BOLIVIA	19,33	64,8
NK21937		<i>Oligoryzomys andinus</i>	2 KM E CHUHUAYACU	CHUQUISACA	BOLIVIA	19,43	63,51
NK21958	NK21958	<i>Oligoryzomys andinus</i>	2 KM E CHUHUAYACU	CHUQUISACA	BOLIVIA	19,43	63,51
	NK21952	<i>Oligoryzomys andinus</i>	CHUQUISACA	CHUQUISACA	BOLIVIA	19,43	63,51
NK22872		<i>Oligoryzomys aff. flavescens</i>	TINKUSIRI, 17KM E TORTORA	COCHABAMBA	BOLIVIA	17,45	65,02

NK25002	NK25002	<i>Oligoryzomys aff. flavescens</i>	7.5 KM SE DE RODEO	COCHABAMBA	BOLIVIA	17,4	65,35
NK25003	NK25003	<i>Oligoryzomys aff. flavescens</i>	7.5 KM SE DE RODEO	COCHABAMBA	BOLIVIA	17,4	65,35
NK25016		<i>Oligoryzomys aff. flavescens</i>	7.5 KM SE DE RODEO	COCHABAMBA	BOLIVIA	17,4	65,35
NK25024	NK25024	<i>Oligoryzomys aff. flavescens</i>	7.5 KM SE DE RODEO	COCHABAMBA	BOLIVIA	17,4	65,35
NK30504	NK30504	<i>Oligoryzomys aff. flavescens</i>	12.5KM N COLOMI, P 3200 M	COCHABAMBA	BOLIVIA	17,14	65,53
NK30534	NK30534	<i>Oligoryzomys aff. flavescens</i>	12.5KM N COLOMI, P 3200 M	COCHABAMBA	BOLIVIA	17,13	65,27
NK30535	NK30535	<i>Oligoryzomys aff. flavescens</i>	12.5KM N COLOMI, P 3200 M	COCHABAMBA	BOLIVIA	17,13	65,27
NK30549	NK30549	<i>Oligoryzomys aff. flavescens</i>	12.5KM N COLOMI, P 3200 M	COCHABAMBA	BOLIVIA	17,13	65,27
NK30550	NK30550	<i>Oligoryzomys aff. flavescens</i>	12.5KM N COLOMI, P 3200 M	COCHABAMBA	BOLIVIA	17,13	65,27
NK30606	NK30606	<i>Oligoryzomys aff. flavescens</i>	CORANI	COCHABAMBA	BOLIVIA	17,12	65,52
	NK12051	<i>Oligoryzomys aff. flavescens</i>	28 KM W (BY ROAD) COMARAPA	COCHABAMBA	BOLIVIA	17,55	64,4
	NK25001	<i>Oligoryzomys aff. flavescens</i>	7.5 KM SE DE RODEO	COCHABAMBA	BOLIVIA	17,4	65,35
	NK25015	<i>Oligoryzomys aff. flavescens</i>	7.5 KM SE DE RODEO	COCHABAMBA	BOLIVIA	17,4	65,35
NK22889	NK22889	<i>Oligoryzomys andinus</i>	TINKUSIRI, 17KM E TOTORA	COCHABAMBA	BOLIVIA	17,45	65,02
NK22898		<i>Oligoryzomys andinus</i>	TINKUSIRI, 17KM E TOTORA	COCHABAMBA	BOLIVIA	17,45	65,02
NK12121	NK12121	<i>Oligoryzomys fulvescens</i>	1 KM N AND 8 KM W DE COMARAPA 2450 M.	COCHABAMBA	BOLIVIA	17,55	64,37
	NK12145	<i>Oligoryzomys microtis</i>	6 KM N BUEN RETIRO, 300 M	COCHABAMBA	BOLIVIA	17,13	63,38
NK29800	NK29800	<i>Oligoryzomys sp. A</i>	CORANI	COCHABAMBA	BOLIVIA	17,12	65,52
NK25654	NK25654	<i>Oligoryzomys aff. flavescens</i>	LA RESERVE	LA PAZ	BOLIVIA	15,44	67,31
NK25814	NK25814	<i>Oligoryzomys aff. flavescens</i>	RIO ACEROMARCA, 2990 M	LA PAZ	BOLIVIA	16,19	67,53
NK25866	NK25866	<i>Oligoryzomys aff. flavescens</i>	MINA LOURDES	LA PAZ	BOLIVIA	16,19	67,58
NK13447	NK13447	<i>Oligoryzomys microtis</i>	RIO BENI, 250 M	LA PAZ	BOLIVIA	14,21	76,43
NK13449		<i>Oligoryzomys microtis</i>	RIO BENI, 250 M	LA PAZ	BOLIVIA	14,21	76,43
NK13492	NK13492	<i>Oligoryzomys microtis</i>	RIO BENI, 250 M	LA PAZ	BOLIVIA	14,21	76,43
NK13581	NK13581	<i>Oligoryzomys microtis</i>	RIO BENI, 250 M	LA PAZ	BOLIVIA	14,21	76,43
NK13604	NK13604	<i>Oligoryzomys microtis</i>	RIO MADIDI, 8 KM FROM MOUTH, 240 M	LA PAZ	BOLIVIA	13,21	68,07

NK13605	NK13605	<i>Oligoryzomys microtis</i>	RIO MADIDI, 8 KM FROM MOUTH, 240 M	LA PAZ	BOLIVIA	13,21	68,07
NK13609	NK13609	<i>Oligoryzomys microtis</i>	RIO MADIDI, 8 KM FROM MOUTH, 240 M	LA PAZ	BOLIVIA	13,21	68,07
NK13611	NK13611	<i>Oligoryzomys microtis</i>	RIO MADIDI, 8 KM FROM MOUTH, 240 M	LA PAZ	BOLIVIA	13,21	68,07
NK25572		<i>Oligoryzomys microtis</i>	LA RESERVA, 840 M	LA PAZ	BOLIVIA	15,44	67,31
	NK25558	<i>Oligoryzomys microtis</i>	LA RESERVA, 840 M	LA PAZ	BOLIVIA	15,44	67,31
NK116513	NK116513	<i>Oligoryzomys sp. A</i>	PARQUE NACIONAL COTAPATA, ESTACION BIOLOGICA	LA PAZ	BOLIVIA	16,12	67,52
NK13775		<i>Oligoryzomys microtis</i>	AGUA DULCE, 160 M	PANDO	BOLIVIA	11,1	66,12
NK13826		<i>Oligoryzomys microtis</i>	AGUA DULCE, 160 M	PANDO	BOLIVIA	11,1	66,12
NK13836	NK13836	<i>Oligoryzomys microtis</i>	RIO MADRE DE DIOS, AGUA DULCE	PANDO	BOLIVIA	10,59	66,19
NK13862	NK13862	<i>Oligoryzomys microtis</i>	RIO MADRE DE DIOS, 160 M	PANDO	BOLIVIA	10,59	66,19
NK13913	NK13913	<i>Oligoryzomys microtis</i>	INDEPENDENCIA	PANDO	BOLIVIA	11,26	67,33
NK13914	NK13914	<i>Oligoryzomys microtis</i>	INDEPENDENCIA	PANDO	BOLIVIA	11,26	67,33
NK13915	NK13915	<i>Oligoryzomys microtis</i>	INDEPENDENCIA	PANDO	BOLIVIA	11,26	67,33
NK13942		<i>Oligoryzomys microtis</i>	PANDO	PANDO	BOLIVIA	12,23	68,35
NK13962	NK13962	<i>Oligoryzomys microtis</i>	ISLA GARGANTUA.180 M	PANDO	BOLIVIA	12,23	68,35
NK13973	NK13973	<i>Oligoryzomys microtis</i>	ISLA GARGANTUA.180 M	PANDO	BOLIVIA	12,23	68,35
NK14049	NK14049	<i>Oligoryzomys microtis</i>	ISLA GARGANTUA 180M	PANDO	BOLIVIA	12,23	68,35
NK14052	NK14052	<i>Oligoryzomys microtis</i>	ISLA GARGANTUA 180M	PANDO	BOLIVIA	12,23	68,35
NK14146		<i>Oligoryzomys microtis</i>	PANDO	PANDO	BOLIVIA	12,23	68,35
NK14257	NK14257	<i>Oligoryzomys microtis</i>	LA CRUZ 170M	PANDO	BOLIVIA	11,24	67,13
NK14315	NK14315	<i>Oligoryzomys microtis</i>	LA CRUZ, 170 M	PANDO	BOLIVIA	11,24	67,13
NK14334	NK14334	<i>Oligoryzomys microtis</i>	LEFT BANK FIO MADRE DE DIOS, 11 DEG	PANDO	BOLIVIA	11,12	66,01
NK12086	NK12086	<i>Oligoryzomys aff. flavescens</i>	21 KM BY ROAD W DE COMARAPA, 2800 M.	ST. CRUZ	BOLIVIA	17,51	64,37
NK12119	NK12119	<i>Oligoryzomys andinus</i>	1 KM N AND 8 KM W DE COMARAPA 2450 M	ST. CRUZ	BOLIVIA	17,55	64,37
NK21275	NK21275	<i>Oligoryzomys andinus</i>	CERRO ITAHUATICUA	ST. CRUZ	BOLIVIA	19,48	67,13
NK21280	NK21280	<i>Oligoryzomys andinus</i>	CERRO ITAHUATICUA, 810 M	ST. CRUZ	BOLIVIA	19,48	67,13

NK22816	NK22816	<i>Oligoryzomys andinus</i>	2KM NE QUINE	ST. CRUZ	BOLIVIA	18,05	64,2
NK22820	NK22820	<i>Oligoryzomys andinus</i>	2KM NE QUINE	ST. CRUZ	BOLIVIA	18,05	64,2
NK22966	NK22966	<i>Oligoryzomys andinus</i>	SANTA ROSA DE LA ROCA, 0250 M.	ST. CRUZ	BOLIVIA	18,2	64,13
NK11548		<i>Oligoryzomys chacoensis</i>	2 KM E HUANCAROMA	SANTA CRUZ	BOLIVIA	17,4	67,28
NK12290		<i>Oligoryzomys chacoensis</i>	4 KM S E 24 KM E OF SAN JOSE DECHQUITOS, 400M	ST. CRUZ	BOLIVIA	17,52	60,31
NK21019	NK21019	<i>Oligoryzomys chacoensis</i>	SANTA ROSA DE LA ROCA, 0250 M.	ST. CRUZ	BOLIVIA	15,5	61,27
	NK102187	<i>Oligoryzomys chacoensis</i>	4.5 KM N DE SAN PABLO	ST. CRUZ	BOLIVIA	15,14	63,54
NK23732		<i>Oligoryzomys aff. andinus</i>	3 KM SE. DE CUYAMBUYO, 900 M,	TARIJA	BOLIVIA	22,16	64,33
NK23751	NK23751	<i>Oligoryzomys aff. andinus</i>	3 KM SE. DE CUYAMBUYO, 900 M	TARIJA	BOLIVIA	22,16	64,33
NK23913	NK23913	<i>Oligoryzomys aff. andinus</i>	5 KM N NW YENTRE RIO	TARIJA	BOLIVIA	21,28	64,12
NK23953	NK23953	<i>Oligoryzomys aff. andinus</i>	5 KM N NW YENTRE RIO	TARIJA	BOLIVIA	21,28	64,12
NK23957	NK23957	<i>Oligoryzomys aff. andinus</i>	5 KM N NW YENTRE RIO	TARIJA	BOLIVIA	21,28	64,12
NK30795	NK30795	<i>Oligoryzomys aff. andinus</i>	TAPECUA	TARIJA	BOLIVIA	21,26	63,55
NK30800	NK30800	<i>Oligoryzomys aff. andinus</i>	TAPECUA	TARIJA	BOLIVIA	21,26	63,55
NK23636	NK23636	<i>Oligoryzomys aff. flavescens</i>	4.5 KM E ISLAYACHI, RIO TAMAYAPO	TARIJA	BOLIVIA	21,29	64,55
NK23643		<i>Oligoryzomys aff. flavescens</i>	4.5 KM E ISLAYACHI, RIO TAMAYAPO	TARIJA	BOLIVIA	21,29	64,55
NK23666		<i>Oligoryzomys aff. flavescens</i>	1 KM. E. DE TUCUMILLA 2500 M.	TARIJA	BOLIVIA	21,27	64,49
NK23767	NK23767	<i>Oligoryzomys aff. flavescens</i>	3 KM SE. DE CUYAMBUYO, 900 M	TARIJA	BOLIVIA	22,16	64,33
NK23793	NK23793	<i>Oligoryzomys aff. flavescens</i>	3 KM SE DE CUYAMBUYO	TARIJA	BOLIVIA	22,16	64,33
NK23964		<i>Oligoryzomys aff. flavescens</i>	5 KM N NW YENTRE RIO	TARIJA	BOLIVIA	21,28	64,12
NK23965	NK23965	<i>Oligoryzomys aff. flavescens</i>	5 KM N NW YENTRE RIO	TARIJA	BOLIVIA	21,28	64,12
	NK23655	<i>Oligoryzomys aff. flavescens</i>	1 KM E DE TUCUMILLA	TARIJA	BOLIVIA	21,27	64,49
	NK23950	<i>Oligoryzomys aff. flavescens</i>	5 KM N NW YENTRE RIO	TARIJA	BOLIVIA	21,28	64,12
NK23364		<i>Oligoryzomys andinus</i>	1 KM S DE CAMATINDY	TARIJA	BOLIVIA	21	63,23
NK23457		<i>Oligoryzomys andinus</i>	TARIJA	TARIJA	BOLIVIA		
NK23780	NK23780	<i>Oligoryzomys andinus</i>	3 KM SE. DE CUYAMBUYO, 900 M	TARIJA	BOLIVIA	22,16	64,33

NK23955	NK23955	<i>Oligoryzomys andinus</i>	5 KM N NW YENTRE RIO	TARIJA	BOLIVIA	21,28	64,12
	NK23363	<i>Oligoryzomys andinus</i>	1 KM S DE CAMATINDY	TARIJA	BOLIVIA	21,29	64,55
	NK23427	<i>Oligoryzomys andinus</i>	TAPECUA	TARIJA	BOLIVIA	21,26	63,55
NK23355	NK23355	<i>Oligoryzomys chacoensis</i>	1 KM S. DE CAMATINDY, 650 M	TARIJA	BOLIVIA	21	63,23
NK25093	NK25093	<i>Oligoryzomys chacoensis</i>	3 KM WNW CARAPARI 850 M	TARIJA	BOLIVIA	21,48	63,47
NK25096	NK25096	<i>Oligoryzomys chacoensis</i>	3 KM WNW CARAPARI 850 M	TARIJA	BOLIVIA	21,48	63,47
NK25097	NK25097	<i>Oligoryzomys chacoensis</i>	3 KM WNW DE CARAPARI	TARIJA	BOLIVIA	21,48	63,47
NK25126	NK25126	<i>Oligoryzomys chacoensis</i>	3 KM WNW DE CARAPARI	TARIJA	BOLIVIA	21,48	63,47
NK25161		<i>Oligoryzomys chacoensis</i>	ESTANCIA BOLIVAR	TARIJA	BOLIVIA	21,38	62,34
NK25164	NK25164	<i>Oligoryzomys chacoensis</i>	ESTANCIA BOLIVAR	TARIJA	BOLIVIA	21,38	62,34
NK25187	NK25187	<i>Oligoryzomys chacoensis</i>	5 KM W DE ESTANCIA BOLIVAR	TARIJA	BOLIVIA	21,37	62,34
NK25195		<i>Oligoryzomys chacoensis</i>	5 KM W DE ESTANCIA BOLIVAR	TARIJA	BOLIVIA	21,37	62,34
NK23035	NK23035	<i>Oligoryzomys andinus</i>	5.5 KM NNE DE VALLEGRANDE BY ROAD	COCHABAMBA	BOLIVIA	18,28	64,08
NK30285	NK30285	<i>Oligoryzomys sp. A</i>	4.4 KM BY ROAD N TABLES MONTE RIO JATUA MAYU	COCHABAMBA	BOLIVIA	17,04	66
	TK40105	<i>Oligoryzomys aff. flavescens</i>			PERU		
DQ826025		<i>Oligoryzomys sp. E</i>	TARTARUGALZINHO	AMAPA	BRASIL	1,17	50,48
CIT813		<i>Oligoryzomys nigripes</i>	UNA	BAHIA	BRASIL	15,16	39,04
CIT838		<i>Oligoryzomys nigripes</i>	UNA	BAHIA	BRASIL	15,16	39,04
LG214	LG214	<i>Oligoryzomys rupestris</i>	CHAPADA DIAMANTINA	BAHIA	BRASIL	12,28	41,16
LG228	LG228	<i>Oligoryzomys rupestris</i>	CHAPADA DIAMANTINA	BAHIA	BRASIL	12,28	41,16
LEM10		<i>Oligoryzomys stramineus</i>	PN CATIMBAU BUIQUE	PERNAMBUCO	BRASIL	8,37	37,09
LEM12	LEM12	<i>Oligoryzomys stramineus</i>	PN CATIMBAU BUIQUE	PERNAMBUCO	BRASIL	8,37	37,09
LEM13	LEM13	<i>Oligoryzomys stramineus</i>	PN CATIMBAU BUIQUE	PERNAMBUCO	BRASIL	8,37	37,09
LEM24	LEM24	<i>Oligoryzomys stramineus</i>	PN CATIMBAU BUIQUE	PERNAMBUCO	BRASIL	8,37	37,09
LGA551		<i>Oligoryzomys fomesi</i>	CIA BRASÍLIA	DISTRITO FEDERAL	BRASIL	16	47,57
LGA575	LGA575	<i>Oligoryzomys fomesi</i>	CIA BRASÍLIA	DISTRITO FEDERAL	BRASIL	16	47,57

LGA546	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	CIA BRASÍLIA	DISTRITO FEDERAL	BRASIL	16	47,57
LGA582	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	CIA BRASÍLIA	DISTRITO FEDERAL	BRASIL	16	47,57
LGA981	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	DOMINGOS MARTINS	ESPÍRITO SANTO	BRASIL	20,24	41,01
LGA992	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	DOMINGOS MARTINS	ESPÍRITO SANTO	BRASIL	20,24	41,01
LGA108	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	EBSL SANTA TERESA	ESPÍRITO SANTO	BRASIL	19,53	40,4
LGA113	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	EBSL SANTA TERESA	ESPÍRITO SANTO	BRASIL	19,53	40,4
LGA114	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	EBSL SANTA TERESA	ESPÍRITO SANTO	BRASIL	19,53	40,4
LGA122	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	EBSL SANTA TERESA	ESPÍRITO SANTO	BRASIL	19,53	40,4
LGA125	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	EBSL SANTA TERESA	ESPÍRITO SANTO	BRASIL	19,53	40,4
LGA126	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	EBSL SANTA TERESA	ESPÍRITO SANTO	BRASIL	19,53	40,4
LGA160	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	EBSL SANTA TERESA	ESPÍRITO SANTO	BRASIL	19,53	40,4
LGA183	LGA183 <i>Oligoryzomys nigripes</i>	EBSL SANTA TERESA	ESPÍRITO SANTO	BRASIL	19,53	40,4
LGA393	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	EBSL SANTA TERESA	ESPÍRITO SANTO	BRASIL	19,53	40,4
LGA45	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	EBSL SANTA TERESA	ESPÍRITO SANTO	BRASIL	19,53	40,4
LGA55	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	EBSL SANTA TERESA	ESPÍRITO SANTO	BRASIL	19,53	40,4
LGA56	LGA56 <i>Oligoryzomys nigripes</i>	EBSL SANTA TERESA	ESPÍRITO SANTO	BRASIL	19,53	40,4
LGA57	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	EBSL SANTA TERESA	ESPÍRITO SANTO	BRASIL	19,53	40,4
LGA58	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	EBSL SANTA TERESA	ESPÍRITO SANTO	BRASIL	19,53	40,4
LGA63	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	EBSL SANTA TERESA	ESPÍRITO SANTO	BRASIL	19,53	40,4
LGA64	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	EBSL SANTA TERESA	ESPÍRITO SANTO	BRASIL	19,53	40,4
LGA65	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	EBSL SANTA TERESA	ESPÍRITO SANTO	BRASIL	19,53	40,4
LGA1329	<i>Oligoryzomys flavescens</i>	PARQUE NACIONAL DO CAPARAÓ	ESPÍRITO SANTO	BRASIL	20,28	41,49
LGA1354	<i>Oligoryzomys flavescens</i>	PARQUE NACIONAL DO CAPARAÓ	ESPÍRITO SANTO	BRASIL	20,28	41,49
LGA1362	<i>Oligoryzomys flavescens</i>	PARQUE NACIONAL DO CAPARAÓ	ESPÍRITO SANTO	BRASIL	20,28	41,49
LGA1364	<i>Oligoryzomys flavescens</i>	PARQUE NACIONAL DO CAPARAÓ	ESPÍRITO SANTO	BRASIL	20,28	41,49
LGA1365	LGA1365 <i>Oligoryzomys flavescens</i>	PARQUE NACIONAL DO CAPARAÓ	ESPÍRITO SANTO	BRASIL	20,28	41,49

LGA1367	LGA1367	<i>Oligoryzomys flavescens</i>	PARQUE NACIONAL DO CAPARAÓ	ESPÍRITO SANTO	BRASIL	20,28	41,49
LGA1454		<i>Oligoryzomys nigripes</i>	PARQUE NACIONAL DO CAPARAÓ	ESPÍRITO SANTO	BRASIL	20,28	41,49
LGA916	LGA916	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	PARQUE NACIONAL DO CAPARAÓ	ESPÍRITO SANTO	BRASIL	20,3	41,42
LGA918B	LGA918	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	PARQUE NACIONAL DO CAPARAÓ	ESPÍRITO SANTO	BRASIL	20,3	41,42
LGA982		<i>Oligoryzomys nigripes</i>	PARQUE NACIONAL DO CAPARAÓ	ESPÍRITO SANTO	BRASIL	20,3	41,42
	LGA1363	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	PARQUE NACIONAL DO CAPARAÓ	ESPÍRITO SANTO	BRASIL	20,28	41,49
LGA493		<i>Oligoryzomys fornesi</i>	PN GRANDE SERTÃO VEREDAS	MINAS GERAIS	BRASIL	15,23	45,54
LGA462	LGA462	<i>Oligoryzomys moojeni</i>	PN GRANDE SERTÃO VEREDAS	MINAS GERAIS	BRASIL	15,23	45,54
LGA469	LGA469	<i>Oligoryzomys moojeni</i>	PN GRANDE SERTÃO VEREDAS	MINAS GERAIS	BRASIL	15,23	45,54
LGA500		<i>Oligoryzomys moojeni</i>	PN GRANDE SERTÃO VEREDAS	MINAS GERAIS	BRASIL	15,23	45,54
	LG131	<i>Oligoryzomys flavescens</i>	RIO DE JANEIRO	RIO DE JANEIRO	BRASIL	22,47	43,58
	LG137	<i>Oligoryzomys flavescens</i>	RIO DE JANEIRO	RIO DE JANEIRO	BRASIL	22,47	43,58
AC10		<i>Oligoryzomys flavescens</i>	RIO GRANDE DO SUL	RIO GRANDE DO SUL	BRASIL	30,58	54,4
	AU10	<i>Oligoryzomys flavescens</i>	RIO GRANDE DO SUL	RIO GRANDE DO SUL	BRASIL	30,58	54,4
FP234	FP234	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	DOM PEDRITO	RIO GRANDE DO SUL	BRASIL	30,58	54,4
FP240	FP240	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	DOM PEDRITO	RIO GRANDE DO SUL	BRASIL	30,58	54,4
LGA404	LGA404	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	MAQUINÉ	RIO GRANDE DO SUL	BRASIL	29,41	50,12
LGA413	LGA413	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	MAQUINÉ	RIO GRANDE DO SUL	BRASIL	29,41	50,12
LGA417	LGA417	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	MAQUINÉ	RIO GRANDE DO SUL	BRASIL	29,41	50,12
	AC984	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	RIO GRANDE DO SUL	RIO GRANDE DO SUL	BRASIL	29,42	50,11
LGA822		<i>Oligoryzomys nigripes</i>	EE AGUAS DE SANTA BARBARA	SÃO PAULO	BRASIL	22,48	48,57
LGA800	LGA800	<i>Oligoryzomys fornesi</i>	EE AGUAS DE SANTA BARBARA	SÃO PAULO	BRASIL	22,48	48,57
LGA807	LGA807	<i>Oligoryzomys fornesi</i>	EE AGUAS DE SANTA BARBARA	SÃO PAULO	BRASIL	22,48	48,57
LGA810	LGA810	<i>Oligoryzomys fornesi</i>	EE AGUAS DE SANTA BARBARA	SÃO PAULO	BRASIL	22,48	48,57
LGA825	LGA825	<i>Oligoryzomys fornesi</i>	EE AGUAS DE SANTA BARBARA	SÃO PAULO	BRASIL	22,48	48,57
	LGA797	<i>Oligoryzomys fornesi</i>	EE AGUAS DE SANTA BARBARA	SÃO PAULO	BRASIL	22,48	48,57

LGA798	<i>Oligoryzomys fornesi</i>	EE AGUAS DE SANTA BARBARA	SÃO PAULO	BRASIL	22,48	48,57
CIT119	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	IGUAPE	SÃO PAULO	BRASIL	24,41	47,34
CIT121	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	IGUAPE	SÃO PAULO	BRASIL	24,41	47,34
CIT124	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	IGUAPE	SÃO PAULO	BRASIL	24,41	47,34
CIT125	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	IGUAPE	SÃO PAULO	BRASIL	24,41	47,34
CIT758	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	IGUAPE	SÃO PAULO	BRASIL	24,41	47,34
CIT764	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	IGUAPE	SÃO PAULO	BRASIL	24,41	47,34
CIT769	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	IGUAPE	SÃO PAULO	BRASIL	24,41	47,34
CIT772	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	IGUAPE	SÃO PAULO	BRASIL	24,41	47,34
CIT811	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	IGUAPE	SÃO PAULO	BRASIL	24,41	47,34
LGA888	<i>Oligoryzomys fornesi</i>	SERRA GERAL DO TOCANTINS	TOCANTINS	BRASIL	10,53	46,42
LGA889	LGA889 <i>Oligoryzomys fornesi</i>	SERRA GERAL DO TOCANTINS	TOCANTINS	BRASIL	10,53	46,42
LGA820	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	EE AGUAS DE SANTA BARBARA	SÃO PAULO	BRASIL	22,48	48,57
LSU4745	<i>Oligoryzomys vegetus</i>		CATARGO	COSTA RICA	9,45	83,41
TK104090	TK104090 <i>Oligoryzomys microtis</i>		PASTAZA	ECUADOR	1,37	77
TK104102	TK104102 <i>Oligoryzomys microtis</i>		PASTAZA	ECUADOR	1,37	77
TK104161	TK104161 <i>Oligoryzomys microtis</i>		PASTAZA	ECUADOR	1,37	77
TK104163	TK104163 <i>Oligoryzomys microtis</i>		PASTAZA	ECUADOR	1,37	77
TK104323	TK104323 <i>Oligoryzomys microtis</i>		PASTAZA	ECUADOR	1,37	77
TK104326	<i>Oligoryzomys microtis</i>		PASTAZA	ECUADOR	1,37	77
TK104328	TK104328 <i>Oligoryzomys microtis</i>		PASTAZA	ECUADOR	1,37	77
TK104329	TK104329 <i>Oligoryzomys microtis</i>		PASTAZA	ECUADOR	1,37	77
TK104192	<i>Oligoryzomys microtis</i>		TUNGURAHUA PROVINCE	ECUADOR	1,21	78,18
	TK104092 <i>Oligoryzomys microtis</i>		TUNGURAHUA PROVINCE	ECUADOR	1,21	78,18
ROM95211	ROM95211 <i>Oligoryzomys fulvescens</i>		CAMPECHE	MEXICO	18,26	89,57
ROM95212	<i>Oligoryzomys fulvescens</i>		CAMPECHE	MEXICO	18,26	89,57

ROM95928		<i>Oligoryzomys fulvescens</i>		CAMPECHE	MEXICO	18,26	89,57
ROM95931	ROM95931	<i>Oligoryzomys fulvescens</i>		CAMPECHE	MEXICO	18,26	89,57
ROM96401	ROM96401	<i>Oligoryzomys fulvescens</i>		CAMPECHE	MEXICO	18,26	89,57
ROM96215		<i>Oligoryzomys fulvescens</i>		TABASCO	MEXICO	21,28	102,5
ROM96126		<i>Oligoryzomys fulvescens</i>		TAMAULIPAS	MEXICO	24,1	98,51
ROM96127		<i>Oligoryzomys fulvescens</i>		TAMAULIPAS	MEXICO	24,1	98,51
AK04248		<i>Oligoryzomys fulvescens</i>		VERA CRUZ	MEXICO	19,09	96,45
ROM96523		<i>Oligoryzomys fulvescens</i>		YUCATAN	MEXICO	20,42	89,05
ROM96461		<i>Oligoryzomys fulvescens</i>			MEXICO		
ROM97613		<i>Oligoryzomys fulvescens</i>			MEXICO		
	ROM49211	<i>Oligoryzomys fulvescens</i>			MEXICO		
ROM43156		<i>Oligoryzomys fulvescens</i>			MEXICO		
	ROM113156	<i>Oligoryzomys fulvescens</i>			MEXICO		
ROM112192	ROM112192	<i>Oligoryzomys fulvescens</i>		RIVAS	NICARAGUA		
NK101532	NK101532	<i>Oligoryzomys vegetus</i>	LOS CUERNITOS	CORREGIMIENTO LA ENEA,	PANAMA	7,46	80,16
NK101603	NK101603	<i>Oligoryzomys vegetus</i>		EL COCAL	PANAMA	7,44	80,16
NK101522	NK101522	<i>Oligoryzomys vegetus</i>		LAS TABLAS	PANAMA	7,46	80,16
NK101526	NK101526	<i>Oligoryzomys vegetus</i>		LAS TABLAS	PANAMA	7,46	80,16
	NK101524	<i>Oligoryzomys vegetus</i>		LAS TABLAS	PANAMA	7,46	80,16
NK101588	NK101588	<i>Oligoryzomys vegetus</i>		LAS TABLAS	PANAMA	7,39	80,07
NK101596	NK101596	<i>Oligoryzomys vegetus</i>		LAS TABLAS	PANAMA	7,46	80,17
NK101552	NK101552	<i>Oligoryzomys vegetus</i>		POCRI	PANAMA	7,51	80,16
NK101562	NK101562	<i>Oligoryzomys vegetus</i>		POCRI	PANAMA	7,39	80,07
NK101566	NK101566	<i>Oligoryzomys vegetus</i>		POCRI	PANAMA	7,39	80,07
NK101568	NK101568	<i>Oligoryzomys vegetus</i>		POCRI	PANAMA	7,39	80,07
NK101572	NK101572	<i>Oligoryzomys vegetus</i>		POCRI	PANAMA	7,39	80,07

NK101573	NK101573	<i>Oligoryzomys vegetus</i>		POCRI	PANAMA	7,39	80,07
NK101576	NK101576	<i>Oligoryzomys vegetus</i>		POCRI	PANAMA	7,39	80,07
NK101578		<i>Oligoryzomys vegetus</i>		POCRI	PANAMA	7,39	80,07
NK101579		<i>Oligoryzomys vegetus</i>		POCRI	PANAMA	7,39	80,07
TK22678		<i>Oligoryzomys microtis</i>		HUANUCO	PERU	9,44	75,34
TK53314	TK53314	<i>Oligoryzomys microtis</i>		LORETO , IQUITOS	PERU	4,13	74,13
TK53590	TK53590	<i>Oligoryzomys microtis</i>		LORETO , IQUITOS	PERU	4,13	74,13
TK53591	TK53591	<i>Oligoryzomys microtis</i>		LORETO , IQUITOS	PERU	4,13	74,13
TK10391		<i>Oligoryzomys sp. C</i>		COMMEWIJNE DISTRICT, MATAPICA	SURINAME	6	54,51
TK10142		<i>Oligoryzomys sp. C</i>		NICKERIE DISTRICT	SURINAME	2,02	56,08
TK21065		<i>Oligoryzomys sp. C</i>		PARA DISTRICT, ZANDERIJ	SURINAME	5,27	55,12
TK17584		<i>Oligoryzomys sp. C</i>			SURINAME		
TK10391		<i>Oligoryzomys sp. C</i>			SURINAME		
TK19227		<i>Oligoryzomys sp. B</i>			VENEZUELA		
AM257863		<i>Oligoryzomys sp. B</i>		DEPARTAMENTO SUCRE	VENEZUELA	10,25	63,29
HIDRA063		<i>Oligoryzomys sp. B</i>		ESTADO COJEDES	VENEZUELA	9,22	68,2
ROM107871		<i>Oligoryzomys sp. D</i>		AMAZONAS	VENEZUELA	9,2	68,25
DQ826020		<i>Oligoryzomys moojeni</i>	GENBANK	GOIAS	BRASIL		
CQ826025		<i>Oligoryzomys sp. E</i>	GENBANK	AMAPÁ			
BYU15215		<i>Oligoryzomys fulvescens</i>	GENBANK				
DQ826027		<i>Oligoryzomys messorius</i>	GENBANK	ILHA DO MEL	RORAIMA		BRASIL
AY439000		<i>Oligoryzomys microtis</i>	GENBANK	JURUA	AMAZONAS		BRASIL
AY275704		<i>Oligoryzomys longicaudatus</i>	GENBANK				
AY275703		<i>Oligoryzomys longicaudatus</i>	GENBANK				

ANIMAIS SEQUENCIADOS DO GRUPO EXTERNO						
AK10028		<i>Akodon toba</i>	IRACOUBO	Guiana Francesa		
LEM09	LEM09	<i>Cerradomys langguth</i>	BUIQUE PERNAMBUCO	Brasil	8,37	37,09
TK72389		<i>Sigmodon leucotis</i>	DURANGO	Mexico		
LGA890B		<i>Calomys tener</i>	SERRA GERAL DO TOCANTINS	Brasil	10,53	46,42
M6196		<i>Akodon sp.</i>				
NK14413	NK14413	<i>Oecomys bicolor</i>	BOCA DEL RIO BIATA, 170 M	Bolivia		
NK40594	NK40594	<i>Microryzomys minutus</i>	LA RESERVA	Bolivia	15,45	67,30
CBF6735	CBF6735	<i>Neacomys subspinosus</i>	TAPECUA 1500 M	Bolivia		

Apêndice 4. Lista dos animais incluídos nas comparações morfológicas. A primeira relação dos dados contém os animais que foram incluídos nos estudos estatísticos. Em segundo, as espécies incluídas apenas nas comparações morfológicas. Está organizado por espécie, seguido do número de tombo do museu, em ordem crescente.

N.MUSEU	ESPÉCIES	SEXO	IDADE	LOCALIDADE	ESTADO
MZUSP23026	<i>Oligoryzomys delicatus</i>	ND	3	BR 010, Km 87-94	PA
MZUSP23027	<i>Oligoryzomys delicatus</i>	ND	3	BR 010, Km 87-94	PA
MZUSP23030	<i>Oligoryzomys delicatus</i>	ND	3	BR 010, Km 87-94	PA
MZUSP23120	<i>Oligoryzomys delicatus</i>	ND	2	BR 010, Km 87-94	PA
MZUSP23134	<i>Oligoryzomys delicatus</i>	ND	1	BR 010, Km 87-94	PA
MZUSP23841	<i>Oligoryzomys delicatus</i>	F	3	BR 010, Km 87-94	PA
MZUSP24240	<i>Oligoryzomys delicatus</i>	ND	3	BR 010, Km 87-94	PA
MZUSP24241	<i>Oligoryzomys delicatus</i>	ND	2	BR 010, Km 87-94	PA
MZUSP24243	<i>Oligoryzomys delicatus</i>	M	2	BR 010, Km 87-94	PA
APC708	<i>Oligoryzomys fornesi</i>	M	2	PN Grande Sertão Veredas	MG
APC713	<i>Oligoryzomys fornesi</i>	M	2	PN Grande Sertão Veredas	MG
APC738	<i>Oligoryzomys fornesi</i>	F	2	PN Grande Sertão Veredas	MG
APC751	<i>Oligoryzomys fornesi</i>	M	4	PN Grande Sertão Veredas	MG
APC811	<i>Oligoryzomys fornesi</i>	ND	4	Brasília	DF
APC820	<i>Oligoryzomys fornesi</i>	ND	2	Brasília	DF
APC858	<i>Oligoryzomys fornesi</i>	ND	3	Brasília	DF
APC864	<i>Oligoryzomys fornesi</i>	ND	2	Brasília	DF
APC865	<i>Oligoryzomys fornesi</i>	ND	2	Brasília	DF
APC866	<i>Oligoryzomys fornesi</i>	ND	2	Brasília	DF
APC873	<i>Oligoryzomys fornesi</i>	ND	4	Brasília	DF

APC879	<i>Oligoryzomys fornesi</i>	ND	3	Brasília	DF
APC907	<i>Oligoryzomys fornesi</i>	M	2	PN Serra da Bodoquena	MS
APC959	<i>Oligoryzomys fornesi</i>	M	2	PN da Serra da Bodoquena	MS
APC981	<i>Oligoryzomys fornesi</i>	M	1	PN Serra da Bodoquena	MS
APC1006	<i>Oligoryzomys fornesi</i>	M	2	PN da Serra da Bodoquena	MS
APC1135	<i>Oligoryzomys fornesi</i>	F	2	Est. Ecol. Águas de STF. Bárbara	SP
APC1136	<i>Oligoryzomys fornesi</i>	F	2	Est. Ecol. Águas de STF. Bárbara	SP
APC1147	<i>Oligoryzomys fornesi</i>	F	2	Est. Ecol. Águas de STF. Bárbara	SP
APC1174	<i>Oligoryzomys fornesi</i>	M	4	Est. Ecol. Águas de STF. Bárbara	SP
APC1176	<i>Oligoryzomys fornesi</i>	M	4	Est. Ecol. Águas de STF. Bárbara	SP
APC1196	<i>Oligoryzomys fornesi</i>	ND	4	Serra Geral do Tocantins	TO
APC1216	<i>Oligoryzomys fornesi</i>	ND	2	Serra Geral do Tocantins	TO
CIAB1	<i>Oligoryzomys fornesi</i>	ND	3	Brasília	DF
CIAB2	<i>Oligoryzomys fornesi</i>	ND	2	Brasília	DF
CIAB3	<i>Oligoryzomys fornesi</i>	ND	3	Brasília	DF
CIAB4	<i>Oligoryzomys fornesi</i>	ND	2	Brasília	DF
CIAB5	<i>Oligoryzomys fornesi</i>	ND	3	Brasília	DF
MN21409	<i>Oligoryzomys fornesi</i>	M	4	Brasília	DF
MN21410	<i>Oligoryzomys fornesi</i>	M	2	Brasília	DF
MN21417	<i>Oligoryzomys fornesi</i>	M	3	Brasília	DF
MN21425	<i>Oligoryzomys fornesi</i>	M	4	Brasília	DF
MN22844	<i>Oligoryzomys fornesi</i>	M	2	Fazenda Tamboril, Formosa	GO
MN33633	<i>Oligoryzomys fornesi</i>	F	2		
MN34267	<i>Oligoryzomys fornesi</i>	M	3	Brasília	DF
MN61655	<i>Oligoryzomys fornesi</i>	M	1	Fazenda Sertão Formoso, Jaborandi	BA
MN66146	<i>Oligoryzomys fornesi</i>	ND	1	Fazenda Vão dos Bois, Teresina de Goiás	GO
APC948	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	M	4	PN Serra da Bodoquena	MS

MCN483	<i>Oligoryzomys flavescens</i>	M	2	Arroio Brunquitas, B. Pires	
MCN607	<i>Oligoryzomys flavescens</i>	F	2	Faz Chaleira Preta, Montenegro	RS
MCN611	<i>Oligoryzomys flavescens</i>	M	3	Faz Chaleira Preta, Montenegro	RS
MCN620	<i>Oligoryzomys flavescens</i>	M	2	Faz Chaleira Preta, Montenegro	RS
MCN621	<i>Oligoryzomys flavescens</i>	M	2	Faz Chaleira Preta, Montenegro	RS
MCN624	<i>Oligoryzomys flavescens</i>	M	1	Faz Chaleira Preta, Montenegro	RS
MCN1108	<i>Oligoryzomys flavescens</i>	F	4	Delta do Jacu, Norte da Ilha do Lage	RS
MCN1717	<i>Oligoryzomys flavescens</i>	M	4	Porto Alegre, Jardim Botânico	RS
MCNU120	<i>Oligoryzomys flavescens</i>	M	3	s/ localidade	RS
MCNU3	<i>Oligoryzomys flavescens</i>	F	2	São Jorge	RS
MCNU373	<i>Oligoryzomys flavescens</i>	F	3	Caroá	RS
MCNU378	<i>Oligoryzomys flavescens</i>	M	1	Santa Vitória das Palmas	RS
MCNU382	<i>Oligoryzomys flavescens</i>	M	2	Canela	RS
MCNU386	<i>Oligoryzomys flavescens</i>	F	2	Canela	RS
MCNU387	<i>Oligoryzomys flavescens</i>	M	1	BR116, Tapes	RS
MCNU390	<i>Oligoryzomys flavescens</i>	M	2	BR116, Tapes	RS
MCNU392	<i>Oligoryzomys flavescens</i>	F	3	BR116, Tapes	RS
MCNU394	<i>Oligoryzomys flavescens</i>	F	3	BR116, Tapes	RS
MCNU452	<i>Oligoryzomys flavescens</i>	F	1	Torres	RS
MCNU453	<i>Oligoryzomys flavescens</i>	F	1	Aratiba, Três Barras, Rio Uruguai	
MCNU454	<i>Oligoryzomys flavescens</i>	M	1	Torres	RS
MCNU456	<i>Oligoryzomys flavescens</i>	ND	4	Norte lagoa Itapeva, Torres	RS
MCNU461	<i>Oligoryzomys flavescens</i>	M	3	Torres	RS
MCNU482	<i>Oligoryzomys flavescens</i>	M	1	Maquiné	RS
MCNU527	<i>Oligoryzomys flavescens</i>	M	2	Morro Alto, Maquiné	RS
MCNU538	<i>Oligoryzomys flavescens</i>	M	2	Morro Alto, Maquiné	RS
MCNU679	<i>Oligoryzomys flavescens</i>	M	2	Maquiné	RS

MCNU680	<i>Oligoryzomys flavescens</i>	M	4	Morro Alto, Maquiné	RS
MN24612	<i>Oligoryzomys flavescens</i>	M	1	Buenos Aires, Campana, Delta Canal 16	Argentina
MN33624	<i>Oligoryzomys flavescens</i>	M	4	Bs. As. Punta Lara	Argentina
MN63116	<i>Oligoryzomys flavescens</i>	ND	3	Brejo da Lapa, Itamonte	MG
MN66151	<i>Oligoryzomys flavescens</i>	F	4	Brejo da Lapa, Itamonte	MG
MZUSP935	<i>Oligoryzomys microtis</i>	ND	2	Charuplaya	Beni, BO
MZUSP2537	<i>Oligoryzomys microtis</i>	ND	2	Ocobamba	Cuzco, PE
MZUSP20088	<i>Oligoryzomys microtis</i>	M	1	Santa Barbara	RO
MZUSP23844	<i>Oligoryzomys microtis</i>	F	1	Seringal Oriente	AC
MZUSP28399	<i>Oligoryzomys microtis</i>	ND	2	Utiariti, MT	MT
MN22846	<i>Oligoryzomys moojeni</i>	M		Fazenda Tamboril, Formosa	GO
APC705	<i>Oligoryzomys moojeni</i>	M	4	PN Grande Sertão Veredas	MG
APC717	<i>Oligoryzomys moojeni</i>	M	3	PN Grande Sertão Veredas	MG
APC779	<i>Oligoryzomys moojeni</i>	F	4	PN Grande Sertão Veredas	MG
MN50316	Parátipo <i>Oligoryzomys moojeni</i>	ND	1	PN Chapada dos Veadeiros	GO
MN50319	Parátipo <i>Oligoryzomys moojeni</i>	ND	2	PN Chapada dos Veadeiros	GO
MN50321	Parátipo <i>Oligoryzomys moojeni</i>	F	1	PN Chapada dos Veadeiros	GO
MN50378	Parátipo <i>Oligoryzomys moojeni</i>	F	4	PN Chapada dos Veadeiros	GO
APC979	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	M	3	PN Serra da Bodoquena	MS
APC1003	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	M	4	PN Serra da Bodoquena	MS
APC1187	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	M	3	Est. Ecol. Águas de STF. Bárbara	SP
MCN619	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	M	4	Faz Chaleira Preta, Montenegro	RS
MCN1786	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	M	4	Triunfo	RS
MCN1787	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	M	2	Triunfo	RS
MCN1847	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	M	4	Triunfo	RS
MCN1848	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	F	3	Triunfo	RS
MCN1849	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	F	3	Triunfo	RS

MCNU6	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	M	3	São Jorge	RS
MCNU40	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	F	2	Triunfo	RS
MCNU121	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	F	2	BR116, Tapes	RS
MCNU122	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	F	2	Barra do Ouro, Maquiné	RS
MCNU123	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	F	2	BR116, Tapes	RS
MCNU370	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	M	3	BR116, Tapes	RS
MCNU375	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	F	3	Est. Biol. Santa Lucia, Santa Teresa	ES
MCNU376	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	M	3	BR116, Tapes	RS
MCNU377	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	M	2	BR116, Tapes	RS
MCNU383	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	M	3	Viamão	RS
MCNU385	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	F	1	BR116, Tapes	RS
MCNU388	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	M	2	BR116, Tapes	RS
MCNU393	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	F	3	Rio Bococo, L. Pe. Vieira	RS
MCNU399	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	F	2	Domingos Martins	RS
MCNU400	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	M	4	Est. Biol. Santa Lucia, Santa Teresa	ES
MCNU450	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	F	4	Torres	RS
MCNU451	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	M	1	Norte Lagoa Itapuã, Torres	RS
MCNU455	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	F	4	Torres	RS
MCNU458	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	M	4	Torres	RS
MCNU459	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	M	4	Torres	RS
MCNU463	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	M	1	Torres	RS
MCNU470	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	M	1	Torres	RS
MCNU471	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	M	4	Torres	RS
MCNU473	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	M	2	Torres	RS
MCNU474	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	M	1	Torres	RS
MCNU475	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	F	4	Torres	RS
MCNU476	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	M	1	Torres	RS

MCNU477	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	M	4	Torres	RS
MCNU478	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	F	1	Torres	RS
MCNU531	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	F	3	Morro Alto, Maquiné	RS
MCNU534	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	M	1	Morro Alto, Maquiné	RS
MCNU666	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	M	1	Dom Pedrito	RS
MN21406	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	M	1	Brasília	DF
MN21412	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	M	3	Brasília	DF
MN21414	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	M	4	Brasília	DF
MN21415	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	M	3	Brasília	DF
MN21418	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	M	4	Brasília	DF
MN21420	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	M	1	Brasília	DF
MN21421	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	M	2	Brasília	DF
MN21422	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	M	1	Brasília	DF
MN21423	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	M	4	Brasília	DF
MN21427	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	M		Brasília	DF
MN22847	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	F	3	Faz Tamboril, Formosa	GO
MN24579	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	F	1	Buenos Aires, Campana, Canal 6	Argentina
MN24599	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	ND	2	Buenos Aires, Campana, Canal 6	Argentina
MN50542	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	M	2	Pamparrão, Sumidouro	RJ
MN55713	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	F	3	Km 68 da estrada Rio Nova Friburgo	RJ
MN55714	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	M	1	Km 68 da estrada Rio Nova Friburgo	RJ
MN55716	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	F	4	Mata do Paraíso, Viçosa	MG
MN55717	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	F	2	Mata do Paraíso, Viçosa	MG
MN55719	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	M	2	Mata do Paraíso, Viçosa	MG
MN61706	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	M	4	Porteira Verde, Sumidouro	RJ
MN61708	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	F	1	Pamparrão, Sumidouro	RJ
MN61710	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	M	1	Pamparrão, Sumidouro	RJ

MN61711	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	M	2	Sumidouro	RJ
MN61715	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	M	3	Sumidouro	RJ
MN61716	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	M	1	Escola Porteira Verde, Sumidouro	RJ
MN61717	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	M	2	Sumidouro	RJ
MN61718	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	M	4	Pamparrão, Sumidouro	RJ
MN61720	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	F	1	Bela Joana, Sumidouro	RJ
MN61723	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	M	3	Santa Cecília, Sumidouro	RJ
MN61727	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	M	3	Pamparrão, Sumidouro	RJ
MN61729	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	F	4	Pamparrão, Sumidouro	RJ
MN62216	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	M	2	Ilha Grande, Angra dos Reis	RJ
MN66071	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	ND	3	Sumidouro	RJ
MN66147	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	F	1	Fazenda Fortaleza, Pedreira	SP
MN66148	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	M	2	Nadir Figueiredo, Pedreira	SP
MN66149	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	F	4	Vieira, Teresópolis	RJ
MN66152	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	M	1	Fazenda São José, Rio Claro	SP
MN66153	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	M	3	Pedreira	SP
MN66154	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	M	4	Fazenda Jaraguá, Pedreira	SP
MN66155	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	M	3	Nadir Figueiredo, Pedreira	SP
MN66156	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	F	3	Fazenda Jaraguá, Pedreira	SP
MN66157	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	M	3	Fazenda Jaraguá, Pedreira	SP
MN66158	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	M	3	Fazenda Fortaleza, Pedreira	SP
MN66159	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	M	2	Fazenda Fortaleza, Pedreira	SP
MN66160	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	M	4	Fazenda Jaraguá, Pedreira	SP
MN66161	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	M	4	Fazenda Jaraguá, Pedreira	SP
MN66168	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	F	4	Fazenda Intervalos	SP
MN66169	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	ND	2	Fazenda São José, Rio Claro	SP
MN66201	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	ND	1	Clube Náutico	SP

MN66203	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	F	4	Nadir Figueiredo, Pedreira	SP
MN66204	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	M	4	Fazenda Jaraguá, Pedreira	SP
MN66206	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	M	2	Sumidouro	RJ
MN66209	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	M	4	Fazenda Intervalos	SP
MN66210	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	ND	2		
MN66211	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	ND	2		
MN66217	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	M	2	Fazenda Jaguari, Pedreira	SP
MN66218	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	M	1	Teresópolis	RJ
MZUSP1119	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	ND	2	Itararé-Localidade tipo de <i>O. eliurus</i>	SP
MZUSP1120	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	M	4	Itararé-Localidade tipo de <i>O. eliurus</i>	SP
MZUSP1122	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	ND	3	Itararé-Localidade tipo de <i>O. eliurus</i>	SP
MZUSP8835	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	M	4	Teodoro Sampaio, Serra do Diabo	SP
MZUSP8873	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	F	3	Teodoro Sampaio, Serra do Diabo	SP
MZUSP11423	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	M	2	Casa Grande	SP
MZUSP11429	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	F	3	Casa Grande	SP
MZUSP10623	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	M	4	Barra do Rio das Corujas	SP
MN50286	Holótipo de <i>Oligoryzomys rupestris</i>	F	1	PN Chapada dos Veadeiros	GO
MN50322	Parátipo <i>Oligoryzomys rupestris</i>	F	4	PN Chapada dos Veadeiros	GO
MN50323	Parátipo <i>Oligoryzomys rupestris</i>	M	2	PN Chapada dos Veadeiros	GO
MN50324	Parátipo <i>Oligoryzomys rupestris</i>	F	3	PN Chapada dos Veadeiros	GO
MN50326	Parátipo <i>Oligoryzomys rupestris</i>	M	2	PN Chapada dos Veadeiros	GO
MN50327	Parátipo <i>Oligoryzomys rupestris</i>	F	1	PN Chapada dos Veadeiros	GO
MN50328	Parátipo <i>Oligoryzomys rupestris</i>	ND	1	PN Chapada dos Veadeiros	GO
MZUSP27423	<i>Oligoryzomys rupestris</i>	F	4	Serra do Cipó	MG
MN34439	Holótipo de <i>Oligoryzomys stramineus</i>	M	3	Goiás	GO
MN46407	<i>Oligoryzomys stramineus</i>	F	1	Fazenda Vão dos Bois, Teresina de Goiás	GO
MN46411	<i>Oligoryzomys stramineus</i>	M	3	Fazenda Vão dos Bois, Teresina de Goiás	GO

MN46412	<i>Oligoryzomys stramineus</i>	M	3	Fazenda Vão dos Bois, Teresina de Goiás	GO
MN46413	<i>Oligoryzomys stramineus</i>	F	2	Fazenda Vão dos Bois, Teresina de Goiás	GO
MN46414	<i>Oligoryzomys stramineus</i>	M	3	Fazenda Vão dos Bois, Teresina de Goiás	GO
MN46417	<i>Oligoryzomys stramineus</i>	M	1	Fazenda Vão dos Bois, Teresina de Goiás	GO
MN46421	<i>Oligoryzomys stramineus</i>	M	1	Fazenda Vão dos Bois, Teresina de Goiás	GO
MN46430	<i>Oligoryzomys stramineus</i>	M	2	Fazenda Vão dos Bois, Teresina de Goiás	GO
MN46433	<i>Oligoryzomys stramineus</i>	M	2	Fazenda Vão dos Bois, Teresina de Goiás	GO
MN46435	<i>Oligoryzomys stramineus</i>	M	1	Fazenda Vão dos Bois, Teresina de Goiás	GO
MN46873	<i>Oligoryzomys stramineus</i>	ND	1	Fazenda Vão dos Bois, Teresina de Goiás	GO
MN134533	<i>Oligoryzomys stramineus</i>	ND	4	Anápolis	GO
COMPARAÇÕES MORFOLÓGICAS					
MN24644	<i>Oligoryzomys fulvescens</i>	M	1	San Salvador	El Salvador
MN33636	<i>Oligoryzomys longicaudatus</i>	M	2	Tuman- Dpto. Taji, C.S. Javier. Est. Biol. R. Schreiter	Chile
MN60732	<i>Oligoryzomys messorius</i>	ND	0	Serra do Mel	RR
MZUSP23845	<i>Oligoryzomys microtis</i>	M	4	Seringal Oriente	AC
MZUSP2000	<i>Oligoryzomys tenuipes</i>	F	1	Montanhas de Chama, Mérida, 2000m	Venezuela
MZUSP27171	<i>Oligoryzomys vegetus</i>	M	2	Cerro Azul	Panamá
MZUSP27172	<i>Oligoryzomys vegetus</i>	F	4	Cerro Azul	Panamá
MN60719	<i>Oligoryzomys</i> sp. E	ND	1	Fazenda São Bento, Tartarugalzinho, Amapá	AP
MN60720	<i>Oligoryzomys</i> sp. E	ND	1	Fazenda São Bento, Tartarugalzinho,	AP
MZUSP32639	<i>Oligoryzomys</i> sp.	F	3	Uruçui-Una	PI
MZUSP32640	<i>Oligoryzomys</i> sp.	M	3	Uruçui-Una	PI
MN15364	<i>Oligoryzomys</i> sp. n. A			Itapagé	CE
MN15370	<i>Oligoryzomys</i> sp. n. A			Itapagé	CE
MN15440	<i>Oligoryzomys</i> sp. n. A			Itapagé	CE
MN15441	<i>Oligoryzomys</i> sp. n. A			Itapagé	CE

MN15442	<i>Oligoryzomys sp. n. A</i>	Itapagé	CE
MN15443	<i>Oligoryzomys sp. n. A</i>	Itapipoca	CE
MN15444	<i>Oligoryzomys sp. n. A</i>	Itapipoca	CE
MN15445	<i>Oligoryzomys sp. n. A</i>	Itapipoca	CE
MN15446	<i>Oligoryzomys sp. n. A</i>	Itapipoca	CE
MN15447	<i>Oligoryzomys sp. n. A</i>	Itapagé	CE
MN15448	<i>Oligoryzomys sp. n. A</i>	Itapagé	CE
MN15449	<i>Oligoryzomys sp. n. A</i>	Itapagé	CE
MN15451	<i>Oligoryzomys sp. n. A</i>	Pacoti	CE
MN15452	<i>Oligoryzomys sp. n. A</i>	Pacoti	CE
MN15453	<i>Oligoryzomys sp. n. A</i>	Pacoti	CE
MN15454	<i>Oligoryzomys sp. n. A</i>	Pacoti	CE
MN15455	<i>Oligoryzomys sp. n. A</i>	Pacoti	CE
MN15456	<i>Oligoryzomys sp. n. A</i>	Pacoti	CE
MN18348	<i>Oligoryzomys sp. n. A</i>	São Benedito	CE
MN18351	<i>Oligoryzomys sp. n. A</i>	São Benedito	CE
MN18353	<i>Oligoryzomys sp. n. A</i>	Itapagé	CE
MN18354	<i>Oligoryzomys sp. n. A</i>	Itapagé	CE
MN18356	<i>Oligoryzomys sp. n. A</i>	Itapagé	CE
MN18357	<i>Oligoryzomys sp. n. A</i>	Itapagé	CE
IP999	<i>Oligoryzomys sp. n. A</i>	São Benedito	CE
IP1000	<i>Oligoryzomys sp. n. A</i>	São Benedito	CE
MN18323	<i>Oligoryzomys sp. n. B</i>	São Benedito	CE

MN18324	<i>Oligoryzomys sp. n. B</i>	São Benedito	CE
MN18325	<i>Oligoryzomys sp. n. B</i>	São Benedito	CE
MN18326	<i>Oligoryzomys sp. n. B</i>	São Benedito	CE
MN18327	<i>Oligoryzomys sp. n. B</i>	São Benedito	CE
MN18328	<i>Oligoryzomys sp. n. B</i>	São Benedito	CE
MN18329	<i>Oligoryzomys sp. n. B</i>	São Benedito	CE
MN18349	<i>Oligoryzomys sp. n. B</i>	São Benedito	CE
MN18350	<i>Oligoryzomys sp. n. B</i>	São Benedito	CE
MN18352	<i>Oligoryzomys sp. n. B</i>	São Benedito	CE
IP198	<i>Oligoryzomys sp. n. B</i>	Ipu	CE
IP324	<i>Oligoryzomys sp. n. B</i>	São Benedito	CE
IP1170	<i>Oligoryzomys sp. n. B</i>	São Benedito	CE
IP1180	<i>Oligoryzomys sp. n. B</i>	São Benedito	CE