**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”
Centro de Energia Nuclear na Agricultura**

**Variação geográfica e filogeografia de *Sooretamys angouya* (Fischer, 1814)
(Cricetidae: Sigmodontinae)**

Elisandra de Almeida Chiquito

Dissertação apresentada para obtenção do título
de Mestre em Ciências. Área de concentração:
Ecologia Aplicada

**Piracicaba
2010**

Elisandra de Almeida Chiquito
Bacharel em Ciências Biológicas

**Variação geográfica e filogeografia de *Sooretamys angouya* (Fischer, 1814)
(Cricetidae: Sigmodontinae)**

Orientador:
Prof. Dr. **ALEXANDRE REIS PERCEQUILLO**

Dissertação apresentada para obtenção do título
de Mestre em Ciências. Área de concentração:
Ecologia Aplicada

**Piracicaba
2010**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP

Chiquito, Elisandra de Almeida

Variação geográfica e filogeografia de *Sooretamys angouya* (Fischer, 1814) (Cricetidae: Sigmodontinae) / Elisandra de Almeida Chiquito. - - Piracicaba, 2010.
164 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2010.
Bibliografia.

1. América do Sul 2. Biodiversidade 3. Biogeografia 4. Filogenia 5. Rodentia I. Título

CDD 639.9
C541v

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer ao meu orientador, Alexandre Percequillo, que com muita paciência me transmitiu um pouco do seu precioso conhecimento sobre os roedores, sobre biogeografia, sobre evolução e, mais que isso, sempre me incentivou a dar um passo a mais fazendo com que aprendêssemos juntos também.

Agradeço ao comitê de orientação, Erika Hingst-Zaher e Guillermo D'Elía pelas importantes sugestões e considerações.

Aos curadores das coleções que visitei pelo Brasil pela permissão e aos técnicos dessas coleções pela atenção: Mário de Vivo e Juliana Gualda, do MZUSP em São Paulo; Gilda Tebet, do MHNCI em Curitiba; Sérgio Althoff, da FURB em Blumenau; Maurício Graipel e Jorge Cherém, da UFSC em Florianópolis e Alexandre Cristhoff e Eduardo Coelho, do MCNU, em Canoas.

Quero agradecer também a todas as pessoas que me cederam alíquotas de tecido para análises moleculares, Cibele Bonvicino, Sérgio Althoff, Alexandre Christoff, Guillermo D'Elía, Gilda Tebet, Mário de Vivo e Edmundo Grisard.

Com muito carinho agradeço ao Dr. João Morgante por abrir as portas do LABEC e à Dra. Caroline Cotrim Aires que, com uma boa vontade que só ela tem, me ensinou todos os procedimentos de bancada, desde a extração de DNA até as sequências. Agradeço da mesma forma Ana Carolina Pavan que me acompanhou o tempo todo nas bancadas do LABEC e Gisele Dantas que sempre tentava “ajeitar” meus PCRs. E aos demais alunos do LABEC, agradeço por sempre estarem disponíveis a me ajudar.

Agradeço à Siu Mui Tsai por apostar em novas áreas e permitir que eu continuasse os procedimentos laboratoriais de biologia molecular nas dependências do Laboratório de Biologia Celular e Molecular, no CENA. Também agradeço a José Elias Gomes por dar todo o suporte técnico no BIOMOL/CENA.

Sou grata a Marcelo Weksler, Gustavo Miranda e Diego Jung por sempre serem atenciosos em responder minhas questões moleculares e também a Felipe Grazziotin me deu uma super aula de análises filogenéticas moleculares, fundamental nas análises dos meus dados.

Obrigada aos amigos e companheiros de laboratório: Joyce Prado, Ricardo Bovendorp, Claudia Rodrigues, Gustavo Libardi, Giovanna Montingelli e Pamela Brennand, cada um por uma questão especial, mas a todos pela troca de idéias que influenciaram muito na elaboração desse trabalho.

Também reservo um espaço especial para agradecer a todos que me hospedaram durante minha estadia nos museus: Patrícia, D. Maria e D. Cida em Curitiba; Paula Fernanda, Thiago Loboda, João Paulo Capretz, Valter Campos e Patrícia Portes em São Paulo; e Ivi Villar, em Florianópolis.

Agradeço também à Silvia Zinsly, bibliotecária da ESALQ, por ter me atendido com tanta rapidez e atenção.

Agora, gostaria de exprimir meu profundo agradecimento e carinho às pessoas que são meu apoio.

Agradeço a minha irmã, Elisângela, pelo exemplo, sempre.

Muito obrigada do fundo do meu coração aos meus pais, Yvone e Sidinei, que são meu suporte, pela educação que me deram, sem ela não seria possível alcançar esse degrau que alcanço hoje. Agradeço a eles também pelo amor e por compreenderem meus momentos de ausência e, à minha mãe, pela notável frase: “crio meus filhos pro mundo, não pra mim”. É isso aí, mãe!!!!

Muito obrigada ao meu amado companheiríssimo, Xande, por seu amor, incentivo e compreensão em todas as horas, também por um dia, no meu primeiro semestre de graduação, ter me dito uma frase: “Você conhece o modelo de refúgios?” Viu no que deu?

Agradeço a todos que colaboraram de alguma forma para o desenvolvimento desse trabalho, obrigada!

Esse trabalho foi desenvolvido com apoio financeiro (bolsa de mestrado) da FAPESP, processo 2007/05859-9.

SUMÁRIO

RESUMO.....	7
ABSTRACT.....	9
1 INTRODUÇÃO.....	11
1.1 A TRIBO ORYZOMYINI: O GÊNERO <i>SOORETAMYS</i>	11
1.2 VARIAÇÃO GEOGRÁFICA MORFOLÓGICA.....	12
1.3 FILOGEOGRAFIA.....	14
1.4 OBJETIVOS.....	16
2 DESENVOLVIMENTO.....	19
2.1 MATERIAL E MÉTODOS.....	19
2.1.1 COLEÇÕES EXAMINADAS.....	19
2.1.2 AMOSTRAS: MAPEAMENTO E AGRUPAMENTOS.....	20
2.1.3 ANÁLISE DE VARIAÇÃO MORFOMÉTRICA.....	21
2.1.4 ANÁLISES DE VARIAÇÃO MOLECULAR.....	24
2.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	30
2.2.1 DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DE <i>SOORETAMYS ANGOUYA</i>	30
2.2.2 ANÁLISES MORFOLÓGICAS E MORFOMÉTRICAS.....	32
2.2.3 TAXONOMIA DO GÊNERO <i>SOORETAMYS</i>	57
REFERÊNCIAS.....	65
APÊNDICES.....	77
ANEXOS.....	89

RESUMO

Variação geográfica e filogeografia de *Sooretamys angouya* (Fisher, 1814) (Rodentia, Cricetidae)

Estudos taxonômicos e sistemáticos têm freqüentemente utilizado mais de uma ferramenta a fim de acessar, além da biodiversidade, a história evolutiva e biogeográfica. Comumente, o que temos são abordagens morfológicas e moleculares unidas, muitas vezes, corroborando uma a outra, resultando no reconhecimento de novos táxons de Oryzomyini, inclusive supraespecíficos, e nos seus padrões filogenéticos. Inserido nesse cenário, *S. angouya* já foi alvo de estudos taxonômicos e biogeográficos, no entanto, a vasta distribuição geográfica e a amplitude de habitats que *S. angouya* ocupa sugerem a possibilidade de existência de algum grau de variação intraespecífica, o que torna a espécie um ótimo modelo para um estudo de variação geográfica e filogeográfica. Meu objetivo foi analisar qualitativa e quantitativamente as amostras de *S. angouya* ao longo da sua distribuição a fim de avaliar a existência de variação em nível morfológico e molecular. A metodologia de agrupamentos de localidades próximas e/ou pertencentes a uma mesma unidade geográfica foi empregada a fim de incrementar o número amostral. As análises morfométricas e morfológicas foram conduzidas em indivíduos adultos de acordo com o desgaste dos molares e de ambos os sexos. Os caracteres morfométricos consistiram em cinco dimensões corpóreas e 18 crânio-dentárias. As normalidades uni e multivariada dos dados foram testadas através dos testes de Kolmogorov-Smirnov e Kurtose de Mardia, respectivamente. A análise de variação geográfica baseou-se em diagramas Dice-Leraas e Análises Discriminantes. A análise qualitativa da morfologia foi realizada com base em caracteres de pelagem e crânio-dentários. As análises moleculares foram conduzidas com um fragmento de 675 pb do gene mitocondrial do Citocromo b de 48 indivíduos. As árvores foram construídas pelos métodos de Máxima Verossimilhança, Máxima Parcimônia e Neighbour-Joining. Foi também conduzida uma análise da rede de haplótipos e calculadas as estatísticas básicas. A distribuição geográfica de *S. angouya* é limitada pelas localidades Conceição do Mato Dentro, MG, ao norte; Arroio Grande, RS, ao sul; Venda Nova, ES, a leste e Isla El Chapetón, no Rio Paraná em Entre Ríos, Argentina, abrangendo toda a região costeira do Espírito Santo ao Rio Grande do Sul e adentrando ao interior. As análises morfométricas mostraram que existe uma discreta diminuição nos valores médios do comprimento craniano e corpóreo no sentido norte-sul e mais acentuada no sentido leste-oeste. No entanto, a amostra proveniente do Paraguai, extremo oeste da distribuição, apresenta crânios tão longos, porém mais robustos, e dimensões corpóreas maiores que a amostra de Boracéia e Casa Grande, em SP. Qualitativamente, aspectos crânio-dentários e corpóreos não exibiram variação relacionada com a geografia, embora variem dentro da espécie. Foi obtido um alinhamento de 675 pb do Cit b de 48 indivíduos de *S. angouya* provenientes de ES, RJ, SC, RS e Paraguai. As quatro análises de variação molecular conduzidas não mostraram haver uma clara estruturação geográfica dos haplótipos, exceto por um subclado suportado por altos valores de *bootstrap* onde estão contidos quatro haplótipos exclusivamente paraguaios, da região da bacia do rio Tebicuary. Concluiu-se que existe variação geográfica em *S. angouya* e que esta pode ter sido gerada por eventos recentes.

Palavras-chave: Oryzomyini; América do sul; Biogeografia; Citocromo b

ABSTRACT

Geographic variation and phylogeography of *Sooretamys angouya* (Fisher, 1814) (Rodentia, Cricetidae)

Taxonomic and systematic studies have often used more than one tool to recover information on biodiversity, but also on the biogeography and evolutionary history. Commonly, morphological and molecular approaches are used together, sometimes corroborating each other, resulting in the recognition of new *Oryzomyini* taxa, including supraespecifics level, throughout phylogenetic patterns. *Sooretamys angouya* exhibits a wide geographic distribution and occupy a large range of habitats, which suggests the possibility of some degree of intraspecific variation, which makes the species an excellent model for geographic variation and phylogeographic studies. The goal of this study was to analyze qualitatively and quantitatively the samples of *S. angouya* throughout its distribution, and to evaluate the existence of variation in morphological and molecular level. I pooled nearby localities and / or those localities included in a single geographic in order to increase the sample size. The morphological and morphometric analysis were conducted on adults males and females, according to the patterns of molar wear. The morphometric characters employed were five external body measurement from museum labels and 18 cranial and tooth measurements. The univariate and multivariate normality of data were tested using the Kolmogorov-Smirnov and Mardia's kurtosis tests, respectively. The analysis of geographic variation was based on Dice-Leraas diagrams and Discriminant Analysis. The qualitative analysis of morphology was based on characters of pelage and skull-dental. Molecular analysis was conducted with a fragment of 675 bp of mitochondrial cytochrome b gene of 48 individuals. The trees were constructed by the methods of Maximum Likelihood, Maximum Parsimony and Neighbour-Joining. It has also conducted a network analysis of haplotypes and calculated basic statistics. The geographical distribution of *S. angouya* is limited by the localities Conceição do Mato Dentro, Minas Gerais, north, Arroyo Grande, RS, south, Venda Nova, ES, east and Isla El Chapetón, Rio Parana in Entre Rios, Argentina, covering the entire coastal region of Espírito Santo to Rio Grande do Sul and into the interior. Morphometric analysis showed that there is a slight reduction in mean body length and head north to the south and steeper in the east-west. However, the sample from Paraguay, the westernmost collection localities, exhibit long and robust skulls, apparently larger than the sample Boracéia- Casa Grande, SP. Qualitatively, dental and cranial features exhibited no tangible variation linked to geography, although they vary within species. We obtained an alignment of 675 bp of Cyt b from 48 individuals of *S. angouya* from ES, RJ, SC, Brazil and Paraguay. The four molecular analysis of variance conducted have not shown a clear geographic structure of haplotypes, except for one subclade supported by high bootstrap values which are contained only four haplotypes Paraguayans, the region's river basin Tebicuary. It was concluded that there is geographic variation in *S. angouya* and that this may have been generated by recent events.

Keywords: *Oryzomyini*; South America; Biogeography; Cytochrome b

1 INTRODUÇÃO

1.1 A TRIBO ORYZOMYINI: O GÊNERO *SOORETAMYS*

A tribo Oryzomyini, composta por 30 gêneros e aproximadamente 125 espécies (WEKSLER et al., 2006; PERCEQUILLO et al., no prelo; WEKSLER E PERCEQUILLO, in prep.), é a tribo mais diversa e amplamente distribuída dentro da subfamília Sigmodontinae, ocorrendo desde o sudeste dos Estados Unidos até a Terra do Fogo, no extremo sul da América do Sul. Ocupa todos os biomas presentes na região de ocorrência e a maioria das espécies apresenta hábito terrestre, embora existam representantes escansoriais, arborícolas e semi-aquáticos (MUSSEER et al., 1998; WEKSLER, 2006; WEKSLER et al., 2006,).

A grande diversidade aliada a inúmeros problemas de reconhecimento de espécies e definição dos táxons tem gerado uma intensa atividade relacionada à taxonomia e sistemática desta tribo (CARLETON E MUSSEER, 1989; WEKSLER, 1996; MUSSEER et al., 1998; PERCEQUILLO, 1998; LANGGUTH E BONVICINO, 2002; PERCEQUILLO, 2003; WEKSLER et al., 2006; PERCEQUILLO et al. 2008; PERCEQUILLO et al., no prelo; entre outros). Nesse contexto, estudos taxonômicos morfológicos e moleculares têm contribuído para o conhecimento mais aprofundado da diversidade do grupo e resultado no reconhecimento de novos táxons, inclusive do grupo do gênero (BONVICINO E MOREIRA, 2001; WEKSLER 2006, WEKSLER et al., 2006; PARDIÑAS, 2008, PERCEQUILLO et al., 2008, DE LA SANCHA et al. 2009). Exemplos disso são os dez gêneros descritos por Weksler e colaboradores (2006), o gênero extinto *Carletonomys* descrito por Pardiñas (2008) e as novas espécies *Cerradomys marinhui* (BONVICINO, 2003), *C. scotti* e *C. maracajuensis* (LANGGUTH E BONVICINO, 2002), *C. langguthi* e *C. vivoi* (PERCEQUILLO et al., 2008), *Hylaeamys acritus* (EMMONS E PATTON, 2005), *H. tatei* (MUSSEER et al., 1998), *Euryoryzomys emmonsae* (MUSSEER et al., 1998).

O gênero *Sooretamys* é um táxon monotípico que abriga atualmente a espécie *S. angouya*. Esta espécie foi descrita originalmente por Fischer (1814), sob o gênero *Mus* e foi um dos primeiros táxons descritos na tribo Oryzomyini. A distribuição geográfica conhecida para *S. angouya* abrange a costa Atlântica do Brasil, do Espírito Santo ao sul do Rio Grande do Sul, incluindo as ilhas do Mar Virado e de Santa Catarina. Na direção oeste, a distribuição alcança a província de Formosa, na Argentina e a porção leste do Paraguai (PERCEQUILLO, 1998). Os

tipos de vegetação presentes dentro da área de abrangência são Matas de Dunas Litorâneas, Florestas Pluviais, Floresta de Araucária, Floresta Subtropical Decídua e Mesofítica e Florestas Secas a Semi-úmidas (PERCEQUILLO, 1998). Pardini e Umetsu (2006) detectaram a associação dessa espécie com florestas secundárias devido à grande disponibilidade de recursos alimentares para espécies generalistas.

A vasta distribuição geográfica e a amplitude de habitats que *Sooretamys angouya* ocupa sugere a existência de variação intraespecífica. Todavia, as informações que existem acerca da variação geográfica dessa espécie, em nível morfológico ou molecular, são baseadas em amostras que não representam a espécie como um todo, pois estão restritas a um número relativamente baixo de espécimes e localidades (ver THOMAS, 1924; PERCEQUILLO, 1998; MIRANDA et al., 2007). Nesse sentido, o problema central desse estudo é avaliar a existência de variação em *S. angouya* e em que níveis ela se expressa, seja sexual, etário e/ou geográfico, tanto em nível morfológico quanto molecular. Esse problema é levantado a partir de evidências históricas de variação associadas a esta espécie (p.ex., subespécies descritas por Thomas, 1924) e também através de evidências moleculares de padrões de variação em outros grupos distribuídos pela Floresta Atlântica (COSTA, 2003; LEITE, 2003; PELLEGRINO et al; 2005; LARA et al., 2005; GRAZZIOTIN et al., 2006).

1.2 VARIAÇÃO GEOGRÁFICA MORFOLÓGICA

Estudos de variação geográfica visam diagnosticar, avaliar e descrever a variação dos caracteres ao longo do espaço geográfico, sendo que o reconhecimento de padrões de variação geográfica é de suma importância para o estabelecimento de hipóteses biogeográficas (MAYR, 1977). Segundo Mayr (1977), são raras as espécies que apresentam completa ausência de variação geográfica e, caso isso ocorra, a explicação pode derivar de alguns fatores ou da combinação deles, como a área total da espécie ser tão pequena que não há oportunidade para variação geográfica, os meios de dispersão serem tão amplos que a espécie é praticamente panmítica ou ainda possuir fenótipo ou genótipo estáveis e, além disso, Mayr (1977) afirma que a variação geográfica da espécie é consequência inevitável da variação geográfica do ambiente. Em adição, o mesmo autor expõe as evidências da natureza adaptativa da variação geográfica: a) variação geográfica de caracteres fisiológicos onde as variações não são simplesmente morfológicas, mas também aparecem em inúmeras características adaptativas de habitat, ecologia

e fisiologia; b) leis ecogeográficas as quais são generalizações empíricas que descrevem o paralelismo existente entre variação morfológica e características do ambiente físico e c) variação geográfica de adaptação ao substrato a qual é evidente em animais com coloração críptica, não só entre espécies, mas também entre populações de uma mesma espécie que habitam substratos distintos pode ocorrer diferença na coloração que confere a qualidade críptica.

Gould e Johnston (1972) analisam a causa da variação geográfica sob outras perspectivas mais taxonômicas, além da associação com variáveis ambientais. A primeira trata da correspondência existente entre proximidade geográfica e similaridade fenética, ou seja, os indivíduos de amostras mais próximas geograficamente são mais semelhantes entre si do que se comparado com amostras mais distantes. A segunda perspectiva se dá acerca da associação de caracteres na distinção fenética buscando um caráter ou um conjunto pequeno de caracteres que permita simplificar a variação existente em uma gama maior de caracteres, ou seja, num espaço multivariado, um conjunto de caracteres pode informar mais sobre a variação do que os caracteres individualmente.

Um exemplo clássico de estudo de variação geográfica em roedores orizomíneos foi desenvolvido por Musser e colaboradores (1998). Nesse trabalho, os autores abordaram as duas perspectivas consideradas por Gould e Johnston (1972) e analisaram todas as formas associadas ao então chamado grupo de espécies *Oryzomys* “capito”, (hoje representado pelos gêneros *Hylaeamys*, *Euryoryzomys* e *Transandinomys*) e a variação relacionada à geografia foi uma constante em muitos dos casos. Por exemplo, em *Hylaeamys megacephalus*, espécie associada à bacia amazônica, os autores encontraram dois grupos, morfológica e morfometricamente, distintos para a porção leste e oeste da Amazônia (atualmente alocados em duas espécies distintas, *H. megacephalus* e *H. perenensis*, respectivamente; PATTON et al., 2000); já em *Transandinomys bolivaris*, que ocorre na América Central e na porção norte trans-andina, não encontraram variação significativa ao longo da distribuição geográfica, exceto por amostras provenientes da Colômbia, onde os indivíduos são, em média, maiores que os das demais localidades. Em *Zygodontomys brunneus*, Voss (1991) relatou que os espécimes provenientes da região do Vale do Rio Patía, na Colômbia, são menores que os da região do Vale do Rio Cauca, também na Colômbia. Fica visível, então, que a variação interespecífica é uma constante dentre os roedores sigmodontíneos e que essa variação pode, então, ser indício de uma diversidade

taxonômica maior que a reconhecida até o presente (p.ex., no gênero *Nephelomys*; PERCEQUILLO, 2003).

Nesse mesmo contexto, *Sooretamys angouya*, também tem sido alvo de estudos taxonômicos e biogeográficos. Thomas (1924), baseado na coloração da pelagem e em algumas dimensões corpóreas e cranianas, reconheceu a existência de três raças geográficas associadas à *Oryzomys ratticeps* (sinônimo júnior de *S. angouya*). A primeira, *O. r. ratticeps*, caracterizada por apresentar tamanho menor, coloração marrom acinzentada, menos amarelado que as outras formas, habita Santa Catarina, Rio Grande do Sul e Misiones (Argentina); *O. r. tropicius*, exibe tamanho semelhante à *O. r. ratticeps*, com coloração geral marrom amarelada com a porção ventral definitivamente mais amarelada e habita os Estados de São Paulo e Paraná; e *O. r. paraganus*, com tamanho “decididamente” maior que as demais subespécies, coloração também marrom amarelada porém mais viva e brilhante que *O. r. tropicius*, habita o Paraguai (THOMAS, 1924). Em sua revisão do gênero *Oryzomys* lato sensu, Percequillo (1998) analisou 159 espécimes de *S. angouya* provenientes de localidades argentinas, paraguaias e brasileiras, num transecto de sentido norte-sul, e não encontrou variação geográfica significativa, contudo, reconheceu que os espécimes de localidades mais ao leste apresentam dimensões cranianas maiores, mas não reconheceu as subespécies descritas por Thomas (1924) como válidas e atribuiu essa decisão ao fato de que existem espécimes no leste da distribuição da espécie tão grandes quanto o único exemplar do Paraguai analisado por ele. Os resultados obtidos por Thomas (1924) e por Percequillo (1998) fornecem indícios da existência de variação dentro de *S. angouya*, embora os padrões encontrados pelos autores não sejam concordantes.

1.3 FILOGEOGRAFIA

Acessar a diversidade de uma maneira mais refinada é um dos objetivos de utilizar marcadores moleculares em estudos taxonômicos e de sistemática combinados a outras abordagens (PATTON et al., 2000; WEKSLER et al., 2006). No entanto, quando se trata de estudos intraespecíficos, existia uma lacuna considerável entre as abordagens moleculares, que utilizavam somente termos e conceitos originais da genética de populações, e abordagens sistemáticas, na qual eram incluídos somente caracteres morfológicos ou comportamentais, não havendo ligação alguma entre as duas áreas (AVISE et al., 1987, WAKELEY, 2003). Diante desse cenário, Avise et al., (1987) propõem então uma ponte que permita a conexão entre essas

duas formas de abordar a variação intraespecífica, a filogeografia. O marcador molecular escolhido para tal tarefa é o DNA mitocondrial que apresenta as propriedades de ser matrilinear, não possuir herança recombinante, ter um ritmo de evolução rápido e apresentar um vasto polimorfismo intraespecífico.

Filogeografia foi, então, definida por Avise (2000) como os “...estudos dos princípios e processos que governam a distribuição geográfica de linhagens genealógicas, incluindo aquelas no nível intraespecífico” (AVISE, 2000). Dessa forma, a filogeografia permite o reconhecimento de padrões geográficos de estruturação de linhagens a partir de metodologias filogenéticas. Segundo Wakeley (2003), a sobreposição existente entre a filogeografia e a teoria coalescente (mais rica em abordagens demográficas) é crescente.

Com base na definição acima, cinco padrões filogeográficos teóricos podem ser reconhecidos (AVISE et al., 1987): descontinuidades filogenéticas e separação espacial, descontinuidades filogenéticas e ausência de separação espacial, continuidade filogenética e separação espacial, continuidade filogenética e ausência de separação espacial e, por último, continuidade filogenética e separação espacial parcial. Em cada um desses padrões, questões históricas, filogenéticas e geográficas são abordadas de forma diferente, explicando assim cada um deles.

Padrões de variação genética que não obedecem a gradientes geográficos, segundo Templeton et al. (1995), podem estar explicados por se tratar de uma população panmítica e dessa forma não responder à eventos de expansão ou fragmentação, por a amostragem ser inadequada tanto em número de indivíduos quanto em localização geográfica das populações amostradas ou variação genética insuficiente nas populações amostradas.

Os grupos que ocorrem na Floresta Atlântica já foram alvo de diversos estudos filogeográficos. Costa et al. (2003) verificaram que a variação existente nas seqüências do gene do citocromo b (cit-b) em *Gracilinanus microtarsus* (Marsupialia, Didelphidae) sugere uma forte diferenciação entre as amostras de Minas Gerais e de São Paulo. Em *Deltamys kempii* (Cricetidae, Sigmodontinae) provindos do Rio Grande do Sul, Uruguai e Argentina, existe uma variação entre as seqüências do cit-b que não está relacionada com alguma barreira atual, mas sim com as transgressões marinhas pleistocênicas (MONTES et al., 2008). Miranda et al. (2007) verificaram os padrões de variação geográfica para os genes do cit-b e IRBP em três oryzomyíneos: *Euryoryzomys russatus*, *Hylaeamys megacephalus* e *S. angouya*. Os clados das reconstruções

filogenéticas de *Hylaeamys megacephalus* correspondem a regiões geográficas distintas, Cerrado e regiões norte e sul da Amazônia, diferentemente das reconstruções filogenéticas de *E. russatus* e *S. angouya*, onde há sobreposição na disposição geográfica dos clados.

No caso de répteis, os rios da Mata Atlântica exercem forte influência na variação geográfica. É o caso do complexo de espécies *Gymnodactylus darwinii* (Gekkonidae, Squamata), na qual análises com DNA mitocondrial revelaram que a formação de ramos nas árvores coincide com os grandes rios da Mata Atlântica: São Francisco, Jequitinhonha, Paraguaçu, Doce e Paraíba (PELLEGRINO et al., 2005). Outro exemplo é o complexo de espécies *Bothrops jararaca* (Serpentes: Viperidae), que se distribui pela Floresta Atlântica da Bahia ao Rio Grande do Sul. Esse complexo apresenta uma diferenciação, com dados de cit-b, entre as amostras da região Sudeste e as da região Sul, sugerindo que a barreira se encontra próxima ao rio Paranapanema (GRAZZIOTIN et al., 2006).

A Floresta Atlântica, por sua extensão e relevo, permite que as principais teorias de diversificação em florestas úmidas sejam aplicadas, como exposto por Lara et al. (2005). Lara e colaboradores (2005) resumem e discutem as hipóteses geradoras de variação, tanto por especiação alopátrida (refúgios pleistocênicos, rios como barreiras e isolamento por montanhas) quanto parapátrida (gradientes ecológicos) com relação à diversidade de roedores presente nesse bioma. De acordo com esses autores a hipótese dos refúgios pleistocênicos podem ser fontes de diversificação entre populações de espécies amplamente distribuídas; que a hipótese de rios como barreira está contida na hipótese de isolamento por montanha, a qual é fonte de diversificação para no mínimo dois gêneros de pequenos mamíferos (*Marmosops* e *Trinomys*) e; que a hipótese de diversificação por gradiente ecológico não parece ser consistente para a Floresta Atlântica, provavelmente por falta de dados. Dessa forma, evidencia-se a carência por estudos biogeográficos que incluam espécies distribuídas na Floresta Atlântica para que seja possível um melhor entendimento das forças que regem a diversificação nesse ambiente.

1.4 OBJETIVOS

Com base no acima exposto, este estudo pretende dissecar a variação existente em *S. angouya* dentro e entre populações a fim de entender sua história evolutiva na Floresta Atlântica. Para tanto, pretendo atualizar a distribuição geográfica de *S. angouya*. Em segundo lugar, irei analisar qualitativa e quantitativamente as amostras ao longo da distribuição da espécie a fim de

verificar a existência de variação morfológica; em caso da presença de variação, verificar a existência de padrões e definir as unidades geográficas que os representem. Em seguida, diagnosticar e descrever os padrões de divergência genética e da estrutura filogeográfica dos haplótipos do gene mitocondrial do cit-b ao longo da distribuição de *S. angouya* e, caso exista variação, verificar se essas coincidem ou não com os padrões morfométricos encontrados e formular hipóteses acerca da história biogeográfica deste grupo na Floresta Atlântica. Finalmente, irei atualizar a taxonomia, a fim de refletir os padrões naturais reconhecidos.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 MATERIAL E MÉTODOS

2.1.1 COLEÇÕES EXAMINADAS

FURB – Fundação Universidade Regional de Blumenau, Blumenau, SC;

GD - Material colecionado por Guillermo D'Elía;

LABMAQ - Laboratório de Mamíferos Aquáticos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC;

MACNBR - Museo Nacional de Ciencias Naturales Bernardino Rivadavia, Buenos Aires, Argentina;

MAM - Material colecionado por Meika Alessandra Mustrangi;

MCNU – Museu de Ciências Naturais da Universidade Luterana do Brasil, Canoas, RS;

FZB - Museu de Ciências Naturais, Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS;

MCZ - Museum of Comparative Zoology, Harvard University, Cambridge, Massachusetts, Estados Unidos;

MHNCI - Museu de Historia Natural Capão da Imbuia, Curitiba, PR;

MLP - Museo La Plata, La Plata, Argentina;

MNRJ - Museu Nacional do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ;

MPEG - Museu Paraense Emílio Goeldi, Belém, PA;

MVZ - Museum of Vertebrate Zoology, University of California, Berkeley, California, Estado Unidos;

MZUSP - Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP;

BMNH - The Natural History Museum, Londres, Inglaterra;

USNM - National Museum of Natural History, Smithsonian Institution, Washington D. C., Estados Unidos;

RP - Material colecionado pela Dra. Renata Pardini;

UFMG - Laboratório de Mastozoologia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG;

UFPb - Departamento de Ecologia e Sistemática, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB;

UFRGS - Departamento de Genética, Universidade Federal do Rio Grande do Sul,
Porto Alegre, RS;

UMMZ - Museum of Zoology, University of Michigan, Ann Arbor, Michigan,
Estados Unidos.

2.1.2 AMOSTRAS: MAPEAMENTO E AGRUPAMENTOS

As localidades de coleta dos espécimes examinados foram organizadas em um índice de localidades que se encontra no apêndice A. Algumas coordenadas já se encontravam disponíveis em Percequillo (1998, 2003); as coordenadas das demais localidades foram obtidas através da etiqueta de tombo do espécime e de índices de localidades como Paynter (1985, 1989) e Paynter e Traylor (1991), além de outras fontes, como o Global Gazetteer V.2.1, do Serviço Geológico do Brasil, órgão do Ministério de Minas e Energia; GEONet Names Service da National Geospatial-Intelligence Agency; e Map of Hispanic America (AGS, 1945).

Musser (1968) e Vanzolini (1970) utilizaram um método de detecção de variação geográfica através da confecção de transectos. O método consiste em agrupar localidades próximas a fim de aumentar o número amostral e traçar isolinhas conectando-as, norteando, assim, as análises geográficas. O motivo de usar agrupamentos de localidades, e não somente as localidades, fundamenta-se, principalmente em aumentar o número amostral, o que permite incluir nas análises localidades com um número amostral baixo. Os critérios utilizados para agrupar as localidades prioritariamente foi distância entre as amostras, mas a presença de barreiras como vales, serras e rios foram considerados em conjunto. As análises geográficas foram realizadas empregando essa metodologia e algumas localidades foram agrupadas a buscando atingir o mínimo de cinco espécimes por agrupamento e tornar as análises mais robustas.

Os agrupamentos serão chamados cada um pelo seu nome, seguido pela numeração em algarismos romanos, que corresponde a um sentido geográfico e somente serão utilizados nas análises morfométricas e morfológicas.

2.1.3 ANÁLISE DE VARIAÇÃO MORFOMÉTRICA

Os caracteres quantitativos são referentes a dimensões externas (corpóreas) e internas (crânio-dentárias). As dimensões corpóreas foram extraídas diretamente da etiqueta do espécime. Como essas medidas foram feitas em campo por diferentes coletores, não foram usadas em análises estatísticas devido à imprecisão das mesmas; estas dimensões foram empregadas apenas para caracterizar as amostras. As medidas de comprimento são todas dadas em milímetros (mm) e a de massa em gramas (g); são elas:

- comprimento total do corpo (CTC);
- comprimento da cabeça e corpo (CC);
- comprimento da cauda (CA);
- comprimentos do pé com garra (CPG);
- comprimento da orelha (O).

Quando o valor de CC não foi fornecido originalmente na etiqueta, este foi obtido subtraindo o valor de CA de CTC.

As 18 dimensões crânio-dentárias (figura 1) extraídas, também dadas em milímetros (mm), são baseadas em Percequillo et al. 2008 e foram obtidas com o uso de um paquímetro digital com precisão de décimos de milímetro. Segue a definição das variáveis crânio-dentárias:

- comprimento total do crânio (CTO): da extremidade anterior do nasal à porção posterior do occipital;
- comprimento côndilo-incisivo (CCI): da maior curvatura do incisivo superior à superfície articular do côndilo occipital do mesmo lado do crânio;
- comprimento do diastema (CDI): da base da coroa do primeiro molar superior à face interna da base do incisivo superior do mesmo lado do crânio;
- comprimento da série molar (CSM): da face anterior do primeiro molar superior à face posterior do terceiro molar superior;
- largura do primeiro molar (LM1): largura do primeiro molar superior medido na altura do protocone;
- comprimento do forâmen incisivo (CFI): maior comprimento interno desse forâmen;
- largura do forâmen incisivo (LFI): maior largura interna desse forâmen;
- largura do interparietal (LIP): maior largura do interparietal;

- comprimento do interparietal (CIP); maior comprimento do interparietal;
- largura do rosto 2 (LR2): medida na superfície externa do forâmen nasolacrimal;
- comprimento do nasal (CNA): da extremidade anterior do nasal à sutura naso-frontal;
- comprimento da ponte palatal (CPP): medido da parte posterior do forâmen incisivo à parte anterior da fossa mesoptergóidea;
- altura da caixa craniana (ACC): medida da sutura eseno-occipital à sutura fronto-parietal;
- menor largura interorbital (LIO): menos distancia através dos frontais na fossa orbital;
- largura zigomática (LZI): maior distância externa dos arcos zigomáticos;
- largura da placa zigomática (LPZ): a menor distância entre as margens anterior e posterior da raiz zigomática inferior;
- comprimento côndilo-zigomático (CCZ): menor distância entre o ponto mais posterior do côndilo occipital e o ponto mais posterior do bordo superior da reentrância zigomática;
- comprimento da fossa orbital (CFO): maior medida da fossa orbital entre as raízes esquamosal e maxilar do arco zigomático.

A menção aos caracteres corpóreos e crânio-dentários daqui para frente será feita utilizando as abreviaturas definidas nesta seção.

As análises morfométricas foram restritas aos caracteres crânio-dentários e as dimensões corpóreas receberam um tratamento descritivo.

Os programas computacionais utilizados para as análises estatísticas e elaboração dos gráficos foram SPSS 13.0 *for Windows*, Statistica 8.0, Systat 12 e R *version 2.9.2*.

ANÁLISES NÃO-GEOGRÁFICAS: NORMALIDADE, IDADE E SEXO. Essas análises foram restritas aos caracteres quantitativos uma vez que os caracteres qualitativos só foram analisados em indivíduos adultos.

Inicialmente, a normalidade das amostras foi testada através do teste univariado de Kolmogorov-Smirnov ($\alpha=0,05$) para cinco amostras, as melhores em termos de número de indivíduos e representatividade de classes etárias e sexo com significância de 5%. Adicionalmente, foi aplicado um teste de normalidade multivariado, Curtose de Mardia ($\alpha=0,05$), para todos os espécimes que fazem parte das análises geográficas, sem a subdivisão por agrupamentos (MANLY, 2008).

Constatada a normalidade, os indivíduos das mesmas amostras foram separados em classes etárias relativas a fim de eliminar do estudo a possibilidade variação ontogenética. Essas classes são baseadas na erupção e desgaste dos molares superiores (VOSS, 1991). Foram identificadas quatro classes etárias relativas (figura 2) cujas descrições se encontram detalhadas em Percequillo, 1998, podendo haver classes intermediárias, eventualmente. Foi empregada análise de variância (ANOVA) seguida de Teste de Tukey com nível de significância de 5% para verificar a existência de diferença significativa entre as classes etárias.

Verificada a diferenciação etária, foi empregado teste *t* de Student para amostras independentes com intervalo de confiança de 95%, somente para os espécimes estatisticamente adultos a fim de verificar a existência de diferença significativa entre os sexos em algum dos caracteres.

ANÁLISES GEOGRÁFICAS. Inicialmente, foram feitos diagramas “Dice-Leraas” (média $\pm$ intervalo de confiança de 95%) para todos os transectos, seguindo um contínuo geográfico. Estas análises univariadas foram conduzidas de forma a buscar descontinuidades ao longo do espaço geográfico.

Em um segundo momento, foram feitas análises multivariadas, empregando os dados logaritmizados. Em primeiro lugar, foi feita uma análise de componentes principais (PCA) empregando matriz de covariância. As PCAs foram realizadas somente com as dimensões que se apresentaram significativamente correlacionadas, segundo o teste de correlação de Pearson ao nível de 0,01 (1%). Dessa forma, foram excluídas as dimensões LIP, CIP e LIO. A existência de correlação entre as variáveis, na PCA, é necessária para que essas sejam adequadamente representadas pelo pequeno número de componentes principais (CP), ao quais as variáveis originais se reduzirão (MANLY, 2008). Em seguida foram feitas análises discriminantes (AD) por agrupamentos. É válido ressaltar que somente os indivíduos que apresentaram todas as variáveis participaram das análises multivariadas, sendo assim, o número amostras de cada análise (n), será fornecido nos resultados e nas tabelas correspondentes.

Posteriormente, os caracteres corpóreos externos foram tratados de forma descritiva, em cada agrupamento.

2.1.4 ANÁLISES DE VARIAÇÃO MOLECULAR

DA AMOSTRAGEM À OBTENÇÃO DAS SEQUÊNCIAS. As análises de variação molecular foram realizadas a partir de sequências do gene mitocondrial do citocromo b. Foram analisadas 48 sequências desse gene de *S. angouya* providas de 27 localidades (figura 3). Dessas 48 sequências, 18 são provenientes do banco de dados do GenBank® (tabela 1), o restante das amostras foram adquiridas no presente estudo e são oriundas de vouchers depositados nas seguintes coleções zoológicas: Museu de Ciências Naturais da ULBRA (MCNU), Canoas, RS; Museu de História Natural Capão da Imbuia (MHNCI), Curitiba, PR; Universidade Regional de Blumenau (FURB), Blumenau, SC e University of Michigan Museum of Zoology (UMMZ), Ann Arbor, EUA. Além dessas coleções, algumas amostras foram doadas por seus coletores: Guillermo D'Elía (GD), Cibele Rodrigues Bonvicino (CRB) e Emerson Vieira (EM).

As extrações foram realizadas no Laboratório de Biologia Evolutiva e Conservação de Vertebrados do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo (LABEC). O processo de extração de DNA a partir de alíquotas de tecido hepático foi realizado de duas formas. A primeira se deu por meio do *kit* Charge Switch GDNA Mini Tissue, da Invitrogen™, seguindo o protocolo da empresa e a segunda, por meio de protocolo de extração com acetato de amônia, utilizado no LABEC (apêndice B).

A partir da fase de amplificação, os procedimentos foram realizados no Laboratório de Biologia Celular e Molecular (BIOMOL), no Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA), Universidade de São Paulo (USP), em Piracicaba, São Paulo. Os oligonucleotídeos iniciadores (*primers*) utilizados na amplificação, MVZ05, *light strand*, (5' CGAAGCTTGATATGAAAACCATCGTTG 3') e MVZ16, *heavy strand*, (5' AAATAGGAARTATCAYTCTGGTTTTRAT 3'), foram desenhados por Smith e Patton (1993) para roedores sigmodontíneos da América do Sul. Miranda et al. (2007) utilizaram o mesmo par de iniciadores e obtiveram um fragmento de 801 pares de base (pb), no entanto, o fragmento conseguido com segurança no presente trabalho foi de aproximadamente 700 pb, variando em cada indivíduo. A sequência do iniciador MVZ05, com início na base 14115 do genoma mitocondrial, se encontra localizada no gene anterior ao Citocromo b (Cit b), o NADH 6 (LEWIN, 2004), na posição 14115. Já o iniciador MVZ16 se posiciona na base 14940, dentro do Cit b (figura 4).

A amplificação do gene do Citocromo b (Cit b) foi realizada através do método da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR, do inglês *Polimerase Chain Reaction*), sob as seguintes condições:

- *Buffer* [10] pmol, 2,5 μ L;
- $MgCl_2$ [50] mM, 1,0 μ L;
- dNTP's [10] mM, 0,25 μ L;
- Primer MVZ 05 [10] moles/ μ L, 0,50 μ L;
- Primer MVZ 16 [10] moles/ μ L, 0,50 μ L;
- Taq DNA Polimerase Platinum[®], 0,20 μ L;
- DNA, 1 μ L;
- Água milliQ, completar para um total de 25 μ L.

A reação foi conduzida seguindo o seguinte programa de termociclagem:

1. 7 min a 94 °C;
2. 30 seg a 97 °C;
3. 45 seg a 52,5 °C;
4. 1 min e 10 seg a 72 °C;
5. voltar ao passo 2 por 39 vezes;
6. 10 min a 72 °C;
7. 4°C até a retirada do produto.

A fim de verificar se o tamanho do fragmento de DNA amplificado corresponde ao desejado e estimar a concentração do produto de PCR, foi realizada eletroforese em gel de agarose com base no padrão *low mass* cujos tamanhos dos fragmentos são conhecidos.

A purificação do produto de PCR foi feita com o *kit* UltraClean[™] PCR Clean-up[™], da MoBio Laboratories, Inc., segundo o protocolo sugerido pelo fabricante.

A reação de seqüenciamento foi realizada com o DYEnamic[™] ET Dye Terminator Kit (MegaBACE[™]), segundo o protocolo:

- *Buffer* 2,5x, 2 μ L;
- DYEnamic, 2 μ L;
- Produto PCR, 1 μ L;
- *Primer*, 0,5 μ L (aqui são feitas uma mistura para cada *primer*);

- Água milliQ, completar para 10 μ L.

O programa da PCR de seqüenciamento consiste em:

1. 20 seg a 95 °C;
2. 15 seg a 52,5 °C (temperatura de anelamento);
3. 1 min a 60 °C;
4. retornar ao passo 1 por 30 vezes.

Após a conclusão da reação de seqüenciamento, foi realizada a precipitação dos fragmentos de DNA, segundo o protocolo comumente utilizado no Laboratório de Biologia Celular e Molecular/CENA, que se encontra a seguir:

1. Adicionar 2 μ L de Tampão Acetato de Sódio/EDTA (1,5 M de acetato de Sódio + 0,25 M de EDTA), suspender em vórtex, adicionar 80 μ L de etanol 100% e suspender em vórtex novamente;
2. Centrifugar a 12000 rotações por minuto (rpm), por 15 minutos, a temperatura ambiente;
3. Descartar o sobrenadante (o líquido, totalmente) com micropipeta (P200). Não deixar a ponteira tocar o precipitado (Obs. colocar os tubos na microcentrífuga virados com a dobradiça para fora);
4. Adicionar 150 μ L de etanol 70% para lavar (diluir o etanol em água ultrapura imediatamente antes de usar). Suspender em vórtex e centrifugar a 12000 rpm, por 5 minutos, a temperatura ambiente;
5. Descartar o sobrenadante (totalmente) com micropipeta (P200 e P10);
6. Secar no concentrador de DNA por 5-10 minutos, a 45 ou 30 °C;
7. Embrulhar os microtubos ou a placa em papel alumínio para não haver contato com a luz;
8. Caso as amostras não sejam seqüenciadas imediatamente, armazená-las no *freezer* a -20 °C por no máximo três semanas;
9. Caso as amostras sejam imediatamente seqüenciadas no ABI 3100, ressuspender em 10 μ L de Hi-Di Formamide (tirá-las do freezer durante a secagem do DNA), agitar no vórtex e dar um pulso na microcentrífuga a 14000 rpm.

Os fragmentos terminais foram lidos em seqüenciador automático ABI Prism 3100 Genetic Analyzer (Applied Biosystems) e foram testados frente às amostras já disponibilizadas no GenBank (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) a fim de avaliar a correspondência entre as amostras aqui analisadas e aquelas já avaliadas em outros estudos

As fitas consenso foram geradas pelo *software* DNASTar[®] após a conferência dos picos dos cromatogramas com as bases lidas pelo seqüenciador, no programa Chromas Lite 2.01. O alinhamento foi realizado no *software* BioEdit Sequence Alignment Editor com o aplicativo ClustalW Multiple Alignment. Depois de alinhadas, as seqüências foram reduzidas a 675 pares de base (pb), eliminando possíveis incertezas. Esse corte se fez necessário, como medida de segurança, devido a diferença entre o tamanho dos fragmentos gerados no presente trabalho e os disponibilizado no GenBank.

QUALIDADE E INFORMAÇÃO DAS SEQÜÊNCIAS. A qualidade dos dados foi verificada através da verificação de perda de informação por saturação. Para isso, foi elaborado um gráfico entre o número de transições e transversões *versus* a distância de Kimura no programa DAMBE, partindo da premissa que mudanças do tipo transição são mais freqüentes que as do tipo transversão (SCHNEIDER, 2007).

Para avaliar se as seqüências eram informativas, primeiramente, foram determinados os haplótipos e, em seguida, confeccionadas as estatísticas básicas, ambos no programa DnaSP (ROZAS et al., 2003). Haplótipo é toda a seqüência que difere em pelo menos um nucleotídeo, quando comparada com as demais. Os índices calculados foram:

- Número de sítios segregantes (s): sítio segregante (ou polimórfico) é o sítio com diferentes nucleotídeos em alelos amostrados independentemente (GILLESPIE, 1998);
- Número de haplótipos (k): toda seqüência que possui no mínimo um sítio polimórfico é chamada de haplótipo, dessa forma, foram contabilizadas cada tipo de seqüência, ou cada haplótipo;
- Deversidade haplotípica (HD): resume a informação sobre o número e a freqüência de diferentes alelos em um *locus*, independentemente das relações entre as seqüências (AVISE, 2000).

RECONSTRUÇÕES FILOGENÉTICAS E ANÁLISES FILOGEOGRÁFICAS. Filogenia, de acordo com Amorim (2002), é a história evolutiva de um grupo que inclui as relações de parentesco entre táxons ancestrais em vários níveis e os táxons descendentes. Thornton e Kolaczowski (2005) sugerem que reconstruções filogenéticas baseadas em dados moleculares devem ser realizadas sob uma abordagem “pluralista e crítica” o que vem permitir uma interpretação mais robusta dos

resultados. Com base nisso, quatro metodologias foram empregadas: Rede de haplótipos, Máxima Parcimônia (MP), Máxima Verossimilhança (MV), Neighbour-Joining (NJ). A unidade de análise nas reconstruções filogenéticas foram os haplótipos. Em todos os métodos empregados, a confiança nas topologias foi testada através do teste de *bootstrap* para 10000 réplicas (FELSENSTEIN, 1985). É válido lembrar que inferências filogenéticas baseadas em um gene reconstroem a história evolutiva desse determinado gene.

- Rede de haplótipos

A rede de haplótipos foi construída com o programa Network 4.5.1.6 (www.fluxus-engineering.com) empregando o algoritmo de *median-joining* (BANDELT et al., 1999). A rede de haplótipos permite a visualização de quantos e quais nucleotídeos são responsáveis pela formação de um determinado grupo de haplótipos, sendo, nesse sentido, uma análise mais visual.

- Máxima Parcimônia (MP)

O método de MP consiste na escolha da árvore mais simples, ou seja, com menos número de passos, ou mutações, que represente a história evolutiva de um determinado grupo. O fundamento desse método em análises moleculares está na idéia de que os eventos de substituição nucleotídica que geram condições finais iguais devem ser minimizados por serem menos prováveis. No entanto, nem todo sítio que apresenta mutação são úteis, só são parcimoniosamente informativos os sítios que apresentarem mutação em um determinado sítio em mais de uma sequência incluída na análise (MIYAKI et al., 2001). A análise foi conduzida no programa MEGA 4.0.2 (TAMURA et al., 2007).

- Máxima Verossimilhança (MV)

O método da MV (FELSENSTEIN, 1981; HUELSENBECK E CRANDALL, 1997) consiste em estimar a probabilidade em um conjunto de dados representar um processo que realmente ocorreu, com base em um determinado modelo evolutivo. Com relação à sequências de DNA, esse método calculará a probabilidade de aquelas sequências terem sido geradas seguindo as premissas do modelo escolhido. É modelo evolutivo mais adequado, então, que possibilitará o cálculo das probabilidades de substituição entre os sítios e o comprimento dos ramos da árvore estimada (PEREIRA et al., 2001).

A escolha do modelo evolutivo que melhor descreve a evolução das seqüências se deu através da interface *online* do programa ModelTest (POSADA E CRANDALL, 1998; POSADA, 2006) que testa a adequação de 56 modelos de substituição nucleotídica.

As análises de MV foram conduzidas no programa PhyML 3.0 (GUINDON E GASCUEL, 2003) considerando o modelo selecionado.

- Neighbour-Joining (NJ)

Esse algoritmo de reconstrução filogenética é suportado primeiramente por uma matriz de distância par a par. O modelo de distância empregado aqui foi Kimura-2 parâmetros (KIMURA, 1980). Esse modelo de distância leva em consideração a maior probabilidade que existe entre ocorrer transição (troca de uma base pirimídica por outra pirimídica, o mesmo com purinas) do que transversão (troca de uma purina por uma pirimidina e vice-versa). Transições são mais freqüentes por dois motivos principais: mudam pouco a conformação da molécula de DNA já que as purinas tem dois anéis de carbono e as pirimidinas tem um, passando assim “despercebidas” pelo mecanismo de reparo da célula e; grande parte das transversões alteram o aminoácido a ser codificado, aumentando a probabilidade dessa substituição ser eliminada por seleção.

Explicado o modelo de distância eleito, o método de NJ é um algoritmo heurístico de reconstrução filogenética que consiste em procurar o par de vizinhos que minimize a soma total dos ramos da árvore, a partir de uma árvore completamente politômica. A vantagem desse método é principalmente não depender de taxas constantes de substituição (RUSSO et al., 2001).

A análise de NJ, assim como a MP, foi conduzida no programa MEGA 4.0.2 (TAMURA et al., 2007).

INFERÊNCIAS DEMOGRÁFICAS. Dentro do escopo da genética de populações, apenas uma abordagem foi aplicada nesse estudo:

- Distribuições *Mismatch*

As distribuições *Mismatch* foram calculadas no programa Arlequin v. 3.11 (EXCOFFIER et al., 2005). Esse método é construído pela contagem de diferenças nucleotídicas (ou restrição) entre pares de seqüências e, com base nos padrões de curva obtidos pode-se

fazer inferências acerca da história demográfica das populações (ROGERS E HARPENDING, 1992). De acordo com Rogers e Harpending (1992) curvas multimodais indicam equilíbrio e curvas uni ou bimodais indicam expansão recente.

2.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Esta seção se inicia com a apresentação da distribuição geográfica de *S. angouya* bem como os habitats em que esta espécie ocorre. Em seguida, apresento os resultados referentes às abordagens morfológicas e morfométricas: avalio os fatores não geográficos, idade e sexo, que podem influenciar na variação morfométrica intraespecífica. Tendo eliminado essas possíveis fontes de variação, conduzi a análise geográfica, de forma qualitativa e quantitativa, sob dois pontos de vista: através de agrupamentos ao longo de toda a distribuição geográfica da espécie, o que permite estabelecer um sentido geográfico às análises, e através de agrupamentos baseados na hipótese taxonômica proposta Thomas (1924), que reconheceu três entidades (subespécies) distintas para a espécie. Em um segundo momento, apresento as análises de variação geográfica baseadas no gene mitocondrial do citocromo b, através de amostras distribuídas por toda a abrangência geográfica da espécie. Finalmente, apresento as discussões acerca dos padrões geográficos encontrados, e, por fim, um sumário taxonômico baseado nesses padrões de variação.

2.2.1 DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DE *SOORETAMYS ANGOUYA*

Com base em todos os registros levantados no presente estudo, foi organizada uma lista de localidades que é fornecida no apêndice A; esta lista está organizada de forma alfabética de países, Estados ou departamentos e localidades. A figura 5 fornece o mapa geral da distribuição da espécie com os pontos de registro e as figuras 6, 7 e 8 fornecem os mapas detalhados, com os números de cada localidade amostral de acordo com a lista de localidades apresentada no apêndice A.

As localidades de coleta de *S. angouya* (figura 5) estão limitadas por Conceição do Mato Dentro, MG ao norte; por Arroio Grande, RS ao sul; e Paraná, província de Entre Ríos, na Argentina a oeste. O registro mais ao leste é o município de Venda Nova, ES, porém, ao sul desta, a distribuição é limitada pelo Oceano Atlântico, ocorrendo em toda a costa da região Sul e Sudeste, embora haja registro em ilhas continentais, tais como Santa Catarina, no Estado de Santa

Catarina, e do Mar Virado, no Estado de São Paulo. Mesmo tendo sido registrada entre as latitudes 31 e 32°S no extremo sul do Brasil e na Argentina, não há registro para a espécie no Uruguai.

Percequillo (no prelo) considera que a abrangência geográfica de *S. angouya* ao sul do Brasil é limitada pela localidade de Capão do Leão, em Mostardas, RS, mas os resultados do presente estudo apontam para um aumento dessa área ao sul, com o registro da ocorrência da espécie em Arroio Grande, RS, localidade essa no extremo sul do Estado do Rio Grande do Sul.

Com relação aos habitats, a localidade tipo de *S. angouya* “2,7 km por estrada ao N de San Antonio, Misiones, Paraguai” está situada em grandes zonas alagadiças e inundáveis de acordo com a dinâmica de cheias dos rios Paraná e Paraguai, com altitudes que variam de 48 a 333 metros e apresenta diversas fitofisionomias relacionadas a essa dinâmica: brejos, pântanos com vegetação herbácea e arbustiva, bosques em solos saturados e inundados, bosques semicaducifólios de porte médio a baixo e savana (MUSSE et al., 1998). A espécie está associada também às florestas maduras com altura que podem atingir 20 metros e às florestas de bambu, como registrado por Olmos (1991) na Serra de Paranapiacaba. Alho (1982) associa a presença da espécie ao Cerrado, à Floresta Atlântica, à Floresta Mista de Araucária e às Pradarias do sul do Brasil. Tanto Musser et al. (1998) quanto Alho (1982) associam a presença da espécie também aos ambientes savânicos, contudo, essa posição está equivocada de acordo com as localidades examinadas por Percequillo (1998) e as apresentadas neste estudo (ver apêndice A).

As localidades registradas no presente estudo, por Percequillo (1998) e por Teta et al. (2007) mostram que a ocorrência da espécie está associada a ambientes florestais ou arbustivos e/ou com grande disponibilidade de água, como é o caso das planícies inundáveis do Paraguai. Jayat et al. (2006) sugerem que a distribuição da espécie é contínua ao longo das matas de galeria dos rios Paraná, Paraguai e tributários. Essa sugestão é acatada no presente estudo por haver um registro nas margens do rio Paraná em Paraná, na província de Entre Ríos, e ausência de registro na margem desse rio na porção sul da província de Corrientes, ao norte da província de Entre Ríos e na província de Santa Fé, sendo que é conhecida a presença de florestas semi-caducifólias ao longo das margens do Rio Paraná e afluentes (EVA, 2000).

Com relação à altitude, *S. angouya* ocorre desde o nível do mar, p. ex. Torres, RS, até próximo dos 1600 metros na região de Itanhandú, MG, apresentando uma ampla variação altitudinal.

O único registro fóssil conhecido para essa espécie provém de Lagoa Santa, MG, espécime coletado durante as expedições de Lund por essa região (AVILA-PIRES, 1960). Algumas expedições recentes foram realizadas à Lagoa Santa, mas não há registro atual de *S. angouya* para essa localidade (PERCEQUILLO, com. pess.) o que sugere que tenha ocorrido extinção local.

2.2.2 ANÁLISES MORFOLÓGICAS E MORFOMÉTRICAS

DEFINIÇÃO DOS AGRUPAMENTOS. Com base na distribuição das amostras (Figura 5), foram definidos 15 agrupamentos (Tabela 2, Figura 9). A definição dos agrupamentos se deu de acordo com unidades geográficas naturais sempre que possível, tais como bacias hidrográficas, áreas com fitofisionomias semelhantes, entre outros (MUSSER, 1968; VANZOLINI, 1970). Alguns agrupamentos representam municípios ou regiões geográficas: Sul de Minas e Oeste de Santa Catarina, por exemplo. Musser (1968) sugere o uso de agrupamentos de localidades a fim de se obter amostras maiores, servindo como unidades geográficas nas análises estatísticas.

As numerações presentes nos mapas e nas tabelas que se referem aos agrupamentos correspondem à mesma numeração apresentada na lista de localidades (Apêndice A).

VARIAÇÃO NÃO-GEOGRÁFICA: IDADE E SEXO. Os testes de variação não-geográfica, exceto a normalidade multivariada, foram aplicados nos agrupamentos com maior número amostral. O teste de normalidade univariada Kolmogorov-Smirnov foi aplicado em cinco agrupamentos: Boracéia Casa Grande (II), Cotia-Piedade (IV), Alto Parapanema (V), Bacia do Itajaí-Açú (VII) e Bacia do Tebicuary (XV). A única variável que não apresentou distribuição normal, de acordo com o teste de Kolmogorov-Smirnov foi a largura do forâmen incisivo (LFI) na amostra Bacia do Tebicuary (XV) com $Z=2,552$ ($p= 0,000$). Como nas demais quatro amostras testadas essa variável apresentou normalidade na distribuição, optou-se por não excluí-la das análises. Os valores do índice de Kolmogorov-Smirnov (Z) se encontram na tabela 3. O teste de normalidade multivariada, Curtose de Mardia, foi aplicado para todos os espécimes envolvidos nas análises geográficas, uni e multivariadas, como uma única amostra, cujo coeficiente foi de 355,798 ($p=0,317$), indicando assim a normalidade multivariada dos dados.

Com relação à variação ontogenética, os testes foram conduzidos nas duas amostras com maior número de exemplares: Boracéia-Casa Grande (II) e Cotia-Piedade (IV). De acordo com os

resultados da ANOVA e do teste de Tukey (Tabelas 4 e 5), as classes etárias 3 e 4 não diferem estatisticamente entre si, em ambos os agrupamentos e para todas as variáveis analisadas. Dessa forma, os espécimes com idade relativa 3 e 4 foram considerados adultos para a realização dos demais testes estatísticos.

A análise de variação sexual foi aplicada para as amostras: Boracéia-Casa Grande (II), Cotia-Piedade (IV), Alto Paranapanema (V), Alto Iguaçu (VI), Bacia do Itajaí-Açú (VII), Bacia do Tramandaí (VIII), Bacia do Taquari-Antas (IX) e Bacia do Tebicuary (XV). Nove das 18 variáveis apresentaram diferença estatística entre os sexos diante do teste-*t* para igualdade das médias em cinco das oito amostras (tabela 6): na amostra Cotia-Piedade, as dimensões LIP e LIO apresentaram diferença ($p=0,024$ e $0,037$, respectivamente), em Alto Paranapanema, a variável CPP foi diferente entre os sexos ($p=0,019$); na amostra Bacia do Itajaí-Açú, três variáveis, CSM, ACC e LPZ, apresentaram diferenças significativas ($p=0,045$, $0,01$ e $0,07$, respectivamente); na Bacia do Tramandaí, a variável CFO foi estatisticamente diferente entre os sexos ($p=0,019$), em Taquari-Antas, LR2 ($p=0,004$) e em Bacia do Tebicuary, no Paraguai, CIP ($p=0,037$) e LR2 ($p=0,031$).

Em *Zygodontomys* (Sigmodontinae) existe uma variação no tamanho da região rostral relacionada ao sexo, porém não é significativa quando comparada à variação geográfica (VOSS et al., 1990; VOSS, 1991; VOSS E MARCUS, 1992). Estudos conduzidos com outros roedores orizomíneos também acusaram ausência de dimorfismo sexual no tamanho craniano (BRANDT E PESSOA, 1994; PERCEQUILLO et al., 2008; BRENNAND, 2010; PRADO E PERCEQUILLO, em prep.). Em *S. angouya* uma mesma variável não apresentou diferença significativa entre os sexos em mais de uma amostra, não revelando assim padrões de diferenciação em um caráter ou uma região craniana de acordo com os sexos. Dessa forma, considera-se que não há variações nas dimensões cranianas relacionadas à idade e ao sexo nas amostras aqui avaliadas.

De acordo com os presentes resultados e com resultados obtidos na literatura, foi possível agrupar as classes etárias de 3 e 4, que configuram indivíduos adultos, e os sexos para as análises geográficas.

VARIAÇÃO GEOGRÁFICA. Esta seção visa verificar a existência de padrões morfológicos (caracteres qualitativos) e/ou morfométricos (caracteres quantitativos) que estejam relacionados à geografia da distribuição da espécie.

A definição dos caracteres qualitativos a serem avaliados se deu de acordo com a diagnose do gênero presente em Weksler et al. (2006). Alguns caracteres, onde há reconhecida variação intraespecífica, foram priorizados na análise de variação, como p.ex. coloração da pelagem (THOMAS, 1924). Já para outros, a importância foi detectada durante a análise dos espécimes, como a complexidade das perfurações posterlaterais palatinas. Abaixo, segue a descrição da variação de cada caráter entre as 15 amostras, precedido pelo número de espécimes analisados para cada caráter. Em adição, cada caráter está relacionado a uma figura onde é mostrada a proporção dos estados em cada caráter ao longo da distribuição da espécie.

Coloração dorsal (n=106, figura 10): a pelagem dorsal apresenta coloração heterogênea, de aparência salpicada, devido à diferença de cor entre os três tipos de pêlo: viliformes, setiformes e aristiformes. Os pêlos viliformes apresentam coloração mais pálida com tonalidades de castanho e cinza; os setiformes apresentam tonalidades de castanho na porção apical, e acinzentadas na porção basal (2/3 do comprimento do pêlo); já os aristiformes apresentam coloração que variam do amarelo ao laranja-avermelhado na porção apical do pêlo. As diferentes proporções entre setiformes e aristiformes resultam em uma coloração geral ora mais amarelada, ora mais castanho ou cinza. Em geral, as amostras de Minas Gerais e São Paulo (I a V) apresentaram coloração dorsal que varia de castanho-acinzentado a castanho-amarelado, com o predomínio de castanho-acinzentado; as amostras do leste do Paraná e de Santa Catarina variaram entre tons de castanho-amarelado e castanho-alaranjado; tonalidades mais intensas de castanho-amarelados foram verificadas nas amostras do Rio Grande do Sul e do sudoeste do Paraná. A coloração castanho-amarelada está presente na maioria das amostras (12 das 15 amostras), exceto no Sul de Minas onde a amostragem está restrita a um exemplar e em Riacho Grande onde predomina tonalidades acinzentadas e em Misiones, Argentina onde não houve amostragem relacionada à coloração dorsal.

Coloração ventral (n=107, figura 11): embora no ventre os três tipos de pêlos também estejam presentes, a coloração destes proporciona à região ventral uma coloração mais homogênea que a dorsal, dessa forma, a coloração do ventre foi avaliada pelo seu aspecto geral. A pelagem ventral pode apresentar uma coloração branca ou creme puro, passando por uma

coloração grisalha, na qual a base do pêlo é acinzentada (aproximadamente 1/3) e a porção apical branco, creme ou alaranjado, até uma coloração grisalha mais escura, na qual os 2/3 basais dos pêlos são cinza e apenas o 1/3 apical apresenta coloração branco, creme ou alaranjado. Entre os agrupamentos, destaca-se que a coloração alaranjado-grisalha é mais freqüente entre os agrupamentos do Sul de São Paulo, Paraná e Santa Catarina. Padrões de branco ou creme puros foram registrados somente nas amostras do Alto Paranapanema (V) e da Bacia do Tebicuary (XV), no Paraguai. Uma coloração mais escura foi observada somente na amostra de Cotia-Piedade, em dois indivíduos.

Coloração da cauda (n=98, figura 12): a cauda foi avaliada de acordo com a existência de diferença entre a coloração da porção ventral e da dorsal. Embora ambas as partes sejam castanho, uma leve despigmentação na coloração ventral foi registrada. Em geral, a cauda não apresenta diferenças evidentes entre a coloração da porção dorsal e da porção ventral, contudo, em algumas amostras de São Paulo, em Misiones e na Bacia do Tebicuary, existem alguns registros de cauda levemente bicolor, sendo a porção ventral e proximal da cauda um pouco mais clara que o restante, no entanto, com baixa freqüência (cinco levemente bicolores em 93 não-bicolores, 5,1%). As amostras que apresentaram indivíduos com cauda levemente bicolor foram: Cotia-Piedade (IV; 1:8); Alto Paranapanema (V; 2:16); Misiones, Argentina (XIV; 1:1) e Bacia do Tebicuary, Paraguai (XV; 1:7).

Comprimento dos tufos ungueais (n=67, figura 13): em geral, os tufos ungueais em *S. angouya* sempre são longos e densos. Contudo, três estados puderam ser reconhecidos: tufos mais curtos que as garras, tão longos quanto as garras e mais longos que as garras. Entre as amostras de Santa Catarina (VI, VII e XIII), Rio Grande do Sul (X) e Paraguai (XV) há predominância de tufos tão longos quanto as garras. Porém, as amostras Alto Iguaçu e Bacia do Tebicuary, no Paraguai também possuem indivíduos com tufos mais curtos na proporção de 50% e 25% respectivamente. Tufos mais longos que as garras são encontrados nas amostras de São Paulo e do Paraná. Contudo, a predominância nas amostras da porção norte da distribuição é tufos mais curtos que as garras, assumindo uma proporção de 86%.

Coloração dos pés (n=76, figura 13): a coloração da porção dorsal dos pés em *S. angouya* é ditada pela proporção entre pêlos brancos e castanhos, podendo uma das duas cores estar praticamente ausente. Nesse caso, foram reconhecidos cinco padrões de coloração: pés com pêlos brancos, pêlos castanhos, pêlos predominantemente brancos, pêlos predominantemente castanhos

e pêlos castanhos com o ápice branco. Um padrão geográfico na variação desse caráter não é aparente; entretanto, pés predominantemente brancos estão presentes em todas as amostras, exceto em I. Pés completamente castanhos só ocorrem na amostra Boracéia-Casa Grande (II) e pés completamente brancos só estão presentes em três amostras do nordeste da distribuição: Boracéia-Casa Grande (II), Cotia-Piedade (IV) e Alto-Paranapanema (V).

Comprimento do forâmen incisivo (n=62, figura 15): esse caráter, variável dentro da tribo Oryzomyini (WEKSLER et al., 2006), foi tratado aqui nas análises quantitativas (variável comprimento do forâmen incisivo, CFI). Todavia, o grau de penetração da margem posterior do forâmen incisivo entre as séries molares é bastante informativo e variável dentro desta espécie (embora exista uma correlação entre o CFI e a penetração do forâmen entre as séries molares, nem sempre forâmens incisivos longos penetram entre as séries molares). Foram reconhecidos dois estados em *Sooretamys angouya* para a borda posterior do forâmen: não alcança o alvéolo do M1, e alcança e/ou ultrapassa o alvéolo de M1. Na porção mais interior da distribuição há predominância de forâmens incisivos que alcançam ou ultrapassam o alvéolo do M1. Já nas amostras mais periféricas, como Sul de Minas (I), Bacia do Tramandaí (VIII) e Bacia do Tebicuary (XV), o forâmen não alcança o alvéolo do M1; contudo, esses dados são facilmente falseáveis, uma vez que a amostragem nessas localidades é mais baixa.

Perfurações posterolaterais palatinas (n=115, figura 16): as perfurações posterolaterais palatinas são estruturas presentes em todos os orizomíneos, mas seu padrão de complexidade é importante na diagnose de vários gêneros, como *Nectomys*, *Cerradomys*, *Aegialomys* e *Sooretamys*, entre outros. Em *Hylaeamys* elas são variáveis em tamanho, número e morfologia (MUSSER et al., 1998; WEKSLER et al., 2006) e algum nível de variação também foi observada em *Sooretamys angouya*. Foram avaliadas, separadamente, a complexidade das perfurações e a profundidade das fossas onde estão inseridas (ver próximo item). Os estados reconhecidos para as perfurações posteroalterais palatinas foram: uma única perfuração, perfuração dupla ou complexa. Estão presentes predominantemente de forma complexa em todas as amostras, exceto em I-Sul de Minas onde só há um exemplar analisado com perfuração dupla. Perfurações simples estão presentes em baixa frequência nos agrupamentos Cotia-Piedade (IV; 1:14) e Oeste de Santa Catarina(XIII; 1:17).

Profundidade das perfurações posterolaterais palatinas (n=114, figura 17): neste item, foi avaliada a profundidade da fossa em que as perfurações se inserem, as quais podem ser rasas,

médias ou profundas. Predominantemente, as fossas são profundas, exceto pelas amostras Sul de Minas (I; 1:1), Alto Paranapanema (V; 5:13), Bacia do Tramandaí (VIII; 1:3), Noroeste do Rio Grande do Sul (X; 1:2) e Ponta Grossa (XI; 2:4). Fossas rasas são mais raras e ocorrem nas amostras Cotia-Piedade (IV; 1:14), Alto Paranapanema (V, 3:13), Bacia do Itajaí-Açú (VII; 2:16), Bacia do Taquari-Antas (IX; 1:9), Ponta Grossa (XI; 2:4) e Oeste de Santa Catarina (XIII; 3:17).

Flexo anteromediano no anterocone do M1 (n=107, figura 18): esse caráter trata da existência ou não de um sulco raso localizado dorso-ventralmente no anterocone do M1. Hensel (1872), na descrição de *Hesperomys ratticeps*, fez alusão à presença dessa estrutura dividindo a parte anterior do M1 em duas partes; no entanto, como a descrição foi baseada em um espécime jovem (MUSSER, 1998), poderia haver a possibilidade de a presença desse caráter estar relacionada com a variação ontogenética. Weksler e colaboradores (2006), na descrição do gênero *Sooretamys*, relatam que não há um sulco (flexo anteromediano) que divide o anterocone do M1 em dois cônules, um lingual e outro labial. A análise da variação das amostras aqui analisadas permite inferir que a estrutura encontrada em *Sooretamys angouya* não é um flexo anteromediano propriamente dito, mas sim um sulco raso que não atinge a profundidade de um flexo. A presença desse caráter somente não foi detectada na amostra Baixo Iguaçu (XII). Nas amostras Sul de Minas (I), Noroeste do Rio Grande do Sul (X) e Bacia do Tebicuary (XV), esse caráter está presente na totalidade dos espécimes analisados; nas amostras Cotia-Piedade (IV) e Bacia do Taquari-Antas (IX) ocorre em 50% dos espécimes analisados; e no restante das amostras, a maioria dos espécimes não apresenta esse caráter.

Número de ilhas de esmalte no M1 (n=83, figura 19): esse e o próximo caráter têm por objetivo avaliar a complexidade dos molares nas amostras. As ilhas usualmente presentes em *S. angouya* são anterofosseta (apenas no M1), parafosseta, mesofosseta, metafosseta, posterofosseta. Quando há uma ilha adicional, essa se localiza lateralmente à mesofosseta, formando uma segunda mesofosseta medial. A maior complexidade do M1 pode ser observada nas amostras de Santa Catarina e sul do Paraná. Particularmente, nas amostras VII-Bacia do Itajaí-Açú e XIII-Oeste de Santa Catarina foram observadas até três ilhas adicionais, ainda que em baixa frequência (1:10 e 1:13, respectivamente). As amostras de São Paulo (II, III, IV e V) e Ponta Grossa (XI), mostraram complexidade menor, com nenhuma ou apenas uma ilha adicional.

Número de ilhas de esmalte no M2 (n=84, figura 20): as amostras do norte (Minas Gerais e São Paulo) e do sul da distribuição (Rio Grande do Sul e Paraguai) parecem apresentar o M2 menos complexo, com a presença de nenhuma ou apenas uma ilha adicional. Já as amostras do Paraná e Santa Catarina apresentam uma complexidade maior, podendo apresentar três ilhas adicionais nas amostras Alto Iguaçu (VI) e Oeste de Santa Catarina (XIII). No entanto, exceto as amostras VI e VII do leste de Santa Catarina, todas apresentam a mesofosseta mais uma ilha em grande proporção.

As análises estatísticas univariadas dos caracteres quantitativos foram conduzidas com todas as 18 variáveis a fim de reconhecer o comportamento de cada uma entre as amostras. Já as análises multivariadas foram conduzidas utilizando as variáveis correlacionadas de acordo com o sugerido por Manly (2008). Quando as variáveis originais são correlacionadas positiva ou negativamente, os componentes principais resultantes da PCA representam as variáveis originais de uma forma mais verossímil (MANLY, 2008). A existência de correlação, verificada através da Correlação de Pearson para $p < 0,05$ (tabela 7), foi constatada entre 15 das 18 variáveis originais: CTO, CCI, CDI, CSM, LM1, CFI, LFI, LR2, CNA, CPP, ACC, LZI, LPZ, CCZ e CFO.

Os diagramas Dice-Leraas executados para todos os agrupamentos e todas as 18 variáveis revelaram padrões clinais de variação em maior parte das variáveis. A seguir são descritos os padrões de variação nas dimensões crânio-dentárias.

CTO, CDI, CCI, CFI, CNA, CPP, CCZ e CFO (figura 21): estas variáveis compartilham um claro padrão de variação geográfica. Analisando as amostras da porção mais norte da distribuição (Sul de Minas Gerais) em direção ao Sul (Rio Grande de Sul) e ao Sudoeste (Argentina e Paraguai), é possível perceber uma variação clinal consistente, com a diminuição dos valores médios para estas oito variáveis relacionadas ao eixo ântero-posterior do crânio de norte para o sul/sudoeste. A única quebra neste padrão geral é uma abrupta descontinuidade entre as amostras do oeste de Santa Catarina e Argentina, em relação à amostra do leste do Paraguai; nessas variáveis as amostras de Bacia do Tebicuary (XV) e de Boracéia-Casa Grande (II) são as que apresentam crânios mais longos, com valores médios muito semelhantes entre si, de acordo com o Teste-*t* de Student aplicado para ambas as amostras: CTO ($t = -0,005$, $p = 0,996$), CDI ($t = -0,192$, $p = 0,849$), CCI ($t = 0,949$, $p = 0,348$), CFI ($t = -1,375$, $p = 0,176$), CNA ($t = 0,069$, $p = 0,946$),

CPP ($t=1,775$, $p=0,083$), CCZ ($t=1,188$, $p=0,241$) e CFO ($t=-0,091$, $p=0,928$). Por outro lado, a amostra com menores valores para estas variáveis foi Oeste de Santa Catarina.

LFI, LR2, ACC, LZI e LPZ (figura 22): essas variáveis apresentaram variação semelhante àquela descrita para as variáveis acima, com o padrão geral de variação com as amostras mais ao sul e mais ao interior menores, em média. A diferença ocorre no sentido de que os indivíduos da amostra paraguaia são maiores que os das demais, inclusive quando comparada a amostra Boracéia-Casa Grande (II). Nesse caso, as médias obtidas para Bacia do Tebicuary (XV) são significativamente maiores que as obtidas para Boracéia-Casa Grande (II): LFI ($t=-3,881$, $p=0,000$), LR2 ($t=-2,639$, $p=0,012$), LZI ($t=-1,917$, $p=0,063$) e LPZ ($t=-3,625$, $p=0,001$), apesar de em LZI a significância do teste ter excedido $\alpha=0,05$, o valor de p ainda foi pequeno, dando indícios da existência de diferença entre as duas amostras para esta medida. Diante disso, o que se tem é que o comprimento do crânio entre essas amostras é muito semelhante, no entanto, no Paraguai, o crânio é mais robusto, porque apresenta larguras maiores que em Boracéia-Casa Grande. Uma vez apresentando crânios mais robustos, consequentemente a musculatura masseterica é também mais desenvolvida na amostra do Paraguai.

CSM (figura 23): variação em mosaico, as amostras com maiores médias foram Alto Iguaçu (VI) e Baixo Iguaçu (XII) e as com menores foram Cotia-Piedade (IV) e Noroeste do Rio Grande do Sul (X). Nesse caso, não há um padrão geográfico geral que guie a variação nesse caráter. Para essa variável, a amostra Bacia do Tebicuary, no Paraguai, obteve a terceira maior média e ainda assim a quebra entre essa e a amostra vizinha Misiones (XIV), na Argentina, se manteve.

LM1 (figura 24): para esta variável foi observada uma variação em mosaico: a amostra com maiores dimensões para essa variável é Riacho Grande (III), em São Paulo, e as com menores são Noroeste do Rio Grande do Sul (X) e Oeste de Santa Catarina (XIII), embora a amostra Alto Paranapanema, no sul de São Paulo, também tenha apresentados dimensões pequenas. Para esse caráter, a amostra Bacia do Tebicuary (XV), no Paraguai, possui uma das menores médias, contrariando os padrões anteriores, mas se manteve maior que as amostras Oeste de Santa Catarina (XIII) e Misiones (XIV), na Argentina, que é a mais próxima do Paraguai.

LIP (figura 25): variação em mosaico, o agrupamento com maior média foi XI-Ponta Grossa. Já os agrupamentos com os menores valores médios para essa variável foram Boracéia-

Casa Grande (II), Bacia do Tramandaí (VIII) e Misiones (XIII), na Argentina, apesar de as amostras Sul de Minas (I), as do leste de São Paulo (II, III e IV), Oeste de Santa Catarina (XIII) e Bacia do Tebicuary (XV), no Paraguai também terem apresentado valores pequenos para essa dimensão.

CIP (figura 26): esta variável apresentou uma variação não informativa, em mosaico. A maior média para esse caráter está em Riacho Grande (III), enquanto as menores médias foram registradas para os agrupamentos Bacia do Tramandaí (VIII) e Oeste de Santa Catarina (XIII). Esse caráter, embora seja direcionado antero-posteriormente, está relacionado à caixa craniana, a qual apresenta uma taxa de crescimento menor que a porção rostral do crânio em roedores sigmodontíneos (VOSS, 1991). Dessa forma, essa dimensão não se enquadrou ao padrão encontrado nas demais variáveis de comprimento. Contudo, de acordo com as maiores e menores médias, mantêm-se a idéia de que as amostras da parte sul da distribuição tendem a ser menores que as da porção norte, exceto por Bacia do Tebicuary (XV).

LIO (figura 27): assim como as anteriores, esta variável apresentou uma variação em mosaico. As amostras que apresentaram as maiores médias foram III-Riacho Grande, leste de São Paulo; VI-Alto Iguaçu, XI-ponta Grossa e XII-Baixo Iguaçu localizadas na região sul do Paraná e nordeste de Santa Catarina, e XV-Bacia do Tebicuary. As menores médias foram registradas em II-Boracéia Casa Grande e XIV-Misiones, Argentina.

Em resumo, um mesmo padrão geral foi observado em 13 das 18 variáveis analisadas e, mais particularmente, entre algumas amostras alguns padrões também foram evidenciados. Essas particularidades ocorrem entre as amostras do Rio Grande do Sul (VIII, IX e X) e entre as da porção oeste da distribuição, XIII, XIV e XV. Além desses casos, também se torna de suma importância uma comparação mais aprofundada entre as amostras Boracéia Casa Grande (II) e Bacia do Tebicuary (XV), devido à grande semelhança entre as medidas de comprimento craniano e a grande distância geográfica entre elas.

No caso das amostras do Rio Grande do Sul, entre as amostras Bacia do Tramandaí (VIII), situada mais a leste, Bacia do Taquari-Antas (IX) e Noroeste de Rio Grande do Sul (X), ocorre uma clina decrescente entre diversas variáveis relacionadas tanto ao comprimento quanto à largura do crânio, são elas: CTO, CDI, CCI, CSM, LM1, LFI, CFI, CNA, CPP, LZI, LPZ e CCZ. Ou seja, há um decréscimo no tamanho geral do crânio no sentido leste-oeste entre as amostras da porção mais ao sul da distribuição da espécie.

Já entre as amostras da porção oeste, XIII-Oeste de Santa Catarina (XIII), Misiones, Argentina (XIV) e Bacia do Tebicuary (XV), ocorre o oposto do Rio Grande do Sul: há um incremento no tamanho geral do crânio, uma variação clinal, no sentido leste-oeste. As dimensões que apresentam esse padrão são: CTO, CDI, CCI, LM1, LFI, CFI, CNA, CPP e CCZ, coincidentes com a clina do Rio Grande do Sul, e LR2, ACC e CFO.

A análise de componentes principais entre todas as amostras revelou que três primeiros componentes principais explicam um total de 75,19% da variação, sendo que o primeiro resume somente 56,32% e os demais 10,51% e 8,36%, respectivamente (tabela 8). A figura 28 exibe a dispersão dos escores entre os três primeiros componentes principais e, como se pode observar, há uma grande sobreposição entre as amostras, não havendo uma clara distinção de grupos. As variáveis de maior significância para o primeiro componente principal são CDI, CFI e LPZ, já para o segundo componente são CFI, LFI e CPP e para o terceiro componente são LPZ, LFI e CPP. Dessa forma, pode-se afirmar que as variáveis mais significantes em 75% da variação encontrada na análise de componentes principais são CDI, CFI, LFI, CPP e LPZ.

A análise discriminante entre todos os agrupamentos mostrou que a variável que mais contribui para a variação entre os agrupamentos, nas quatro primeiras funções canônicas discriminantes, é CCZ, com fortes autovalores nessas funções (tabela 9). Na primeira função discriminante, que contribui para 36,71% da variação, CCI e CCZ são as variáveis que explicam a maior parte da variação. A dispersão dos autovalores para as duas primeiras funções canônicas discriminantes (figura 29) mostra que não há grande resolução na distinção entre os grupos, exceto pela amostra Bacia do Tebicuary (XV), que é muito distinta. Essa pode ser uma evidência que, mesmo que haja sobreposição entre as dimensões das amostras Boracéia-Casa Grande e Bacia do Tebicuary, no Paraguai, os espécimes paraguaios podem diferir também na forma, em conjunto com o tamanho, como pode ser observado ao longo do eixo da segunda função canônica discriminante e como já foi evidenciado pelas análises univariadas. Ao longo da terceira função discriminante não houve definição de grupos, exceto entre as amostras Oeste de Santa Catarina e Bacia do Tebicuary. Para que o comportamento dos autovalores da primeira função discriminante se tornasse mais claro, uma vez que o fator tamanho aparentemente explica parte da variação entre as amostras, foram confeccionados dois gráficos de barras de erro (figura 30). O primeiro (figura 30a) abrange os agrupamentos I a X, formando um transecto no sentido norte-sul, o segundo (figura 30b), abrange os agrupamentos I a V e XII a XV, dando origem a um transecto

no sentido leste-oeste (a amostra Ponta Grossa (XI) foi excluída do gráfico, mas não das análises, porque a grande variação existente dentro da amostra tornou seu intervalo de confiança grande a ponto de mascarar a variação entre as demais amostras). Analisando essas figuras, percebe-se que há uma diminuição no tamanho dos indivíduos nos sentidos de norte a sul e de norte a oeste da distribuição geográfica de *Sooretamys angouya*. As amostras Sul de Minas e Boracéia-Casa Grande assumem médias dos escores entre 0,5 e 1. As amostras Riacho Grande (III), Cotia-Piedade (IV), Alto Paranapanema (V), Alto Iguçú (VI), Bacia do Itajaí-Açú (VII), Bacia do Tramandaí (VIII), Bacia do Taquari-Antas (IX), Noroeste do Rio Grande do Sul (X), Ponta Grossa (XI), Baixo Iguaçu (XII) e Misiones, na Argentina (XIV) apresentam certa similaridade entre as médias dos escores, entre 0 e -1 e, a menor média é registrada na amostra Oeste de Santa Catarina (XIII), aproximadamente de -2,5. Contudo, a oeste da amostra Oeste de Santa Catarina, as dimensões cranianas voltam a ser maiores, atingindo seu máximo na amostra do extremo oeste da distribuição, Bacia do Tebicuary (XV), com média superior às amostras do leste, com escores ao redor de 2, aproximadamente. Esses resultados são semelhantes àqueles obtidos nas análises univariadas os quais apontam para uma redução no tamanho do crânio do norte ao sul da distribuição e para uma distinção da amostra paraguaia.

A fim de melhorar a resolução dos grupos morfométricos, em um segundo momento foi conduzida uma análise discriminante entre os agrupamentos Boracéia-Casa Grande, Bacia do Taquari-Antas, Oeste de Santa Catarina e Bacia do Tebicuary. A dispersão dos escores (figura 31) mostra que são formados quatro grupos distintos. A primeira função discriminante separa os agrupamentos Bacia do Taquari-Antas e Oeste de Santa Catarina, que assumem valores negativos, dos agrupamentos Boracéia-Casa Grande e Bacia do Tebicuary, que assumem valores positivos. Já a segunda função tem um maior poder discriminante entre os agrupamentos Boracéia-Casa Grande, que assume valores negativos, e Bacia do Tebicuary, com valores positivos. As variáveis que mais contribuíram para a variação na primeira função discriminante foram CCI e CTO, negativamente, e CCZ e CFI, positivamente. Já na segunda função, CTO e CCI contribuíram positiva e negativamente (ver tabela 10).

Verificada a existência de variação nas dimensões cranianas entre os agrupamentos, foi realizado o teste de Mantel, baseado em 999 repetições, buscando verificar se há associação entre essa variação e a distância geográfica entre as amostras. Para tanto, foi utilizada a matriz de distâncias morfométricas de Mahalanobis e a matriz de distâncias geográficas entre o centróide

de cada agrupamento, dois a dois. No entanto, o teste não encontrou correlação significativa entre as duas matrizes ($r=-0,002$, $p= 0,511$). Isso indica que amostras mais distantes entre si não são necessariamente mais diferentes quantitativamente, o que corrobora os resultados anteriores, principalmente os univariados e com relação às amostras Boracéia-Casa Grande (II) e Bacia do Tebicuary (XV). Gould e Johnston (1972) postulam que amostras mais distantes entre si acumulam mais diferenças que amostras mais próximas. No caso de *S. angouya*, essa regra não se aplicou, de acordo com o resultado do teste de Mantel. Isso porque, embora haja uma variação clinal no tamanho dos espécimes, a amostra de menores dimensões, Oeste de Santa Catarina (XIII) é distante geograficamente de Boracéia-Casa Grande (II), mas é relativamente próxima da amostra com maiores dimensões, Bacia do Tebicuary (XV).

Devido ao fato das medidas das dimensões externas terem sido realizadas freqüentemente em campo, com instrumentos distintos e por coletores diversos, essas variáveis não receberam abordagem estatística além dos parâmetros usados em estatística descritiva: média, desvio padrão, número amostral, mínimo e máximo. Isso porque o erro embutido nessas medições não pode ser mensurado. O que se observa, de acordo com a tabela 11, é que os indivíduos paraguaios são maiores no comprimento do corpo, inclusive quando se inclui a cauda, e também apresentam orelhas maiores e pés quase tão grandes quanto os dos indivíduos da amostra Sul de Minas (I). Em contraste, as menores dimensões foram registradas para as amostras da porção centro-oeste da região sul do Brasil: Bacia do Taquari-Antas (IX), Noroeste do Rio Grande do Sul (X), Ponta Grossa (XI), Oeste de Santa Catarina (XIII) e Misiones, Argentina (XIV). Vale ressaltar que os agrupamentos Riacho Grande (III) e Baixo Iguaçu (XII) não têm representantes com medidas externas, não sendo incluídos nestas comparações.

Thomas (1924) reconheceu três padrões de tamanho e coloração dentro da espécie, baseado em 31 exemplares, para as regiões de São Paulo e Paraná; Santa Catarina, Rio Grande do Sul e Misiones, Argentina; e Paraguai. De acordo com o autor, os espécimes paraguaios são definitivamente maiores que os das demais localidades e de coloração mais rica e brilhante que os vizinhos da região Sul do Brasil e Misiones. Já os espécimes da porção sul são menores e de coloração castanho-acinzentada, enquanto os espécimes de São Paulo e do Paraná apresentam tamanho mediano e coloração geral castanho-agrisalhado. Percequillo (1998) não reconheceu padrões (de coloração, morfológicos ou morfométricos) geográficos na variação encontrada por ele em *Sooretamys angouya*, com base em 159 espécimes. Os resultados do presente trabalho

mostram certa concordância com o padrão de variação descrito por Thomas (1924), que nomeou essa variação detectada no tamanho dos espécimes ao longo da geografia para algumas dimensões, ainda que tenha sido discreta nas análises univariadas e mais evidentes na análise discriminante. O comprimento do crânio é maior nas amostras Boraceia-Casa Grande (São Paulo) e Bacia do Tebicuary (Paraguai), porém, no Paraguai o crânio é mais robusto do que em São Paulo porque é também maior em determinadas dimensões de largura. Em termos qualitativos, não há um limite geográfico coincidente em todos os caracteres analisados no presente estudo, ou parte deles, que possa evidenciar a diferenciação entre as amostras, ou grupo de amostras. Como pode ser observado na análise de variação qualitativa, aspectos de coloração da pelagem são muito variáveis dentro da espécie e também dentro das amostras e dessa forma não foi identificada uma diferença substancial entre regiões geográficas.

Quantitativamente a variação está relacionada à geografia. A maioria das variáveis crânio-dentárias decresce no sentido norte-sul da distribuição geográfica da espécie. Já no sentido leste-oeste, as dimensões decrescem até a região oeste de Santa Catarina, a partir da qual crescem novamente em direção ao Paraguai, que se destaca com as maiores dimensões entre todas as amostras. Em exceção a este padrão de variação craniométrica estão as dimensões relacionadas à série molar (LM1 e CSM), ao interparietal (LIP e CIP) e à região interorbital (LIO). O mesmo padrão de variação nas dimensões cranianas foi encontrado nas dimensões corpóreas externas nas quais os maiores indivíduos se encontram no Paraguai e os menores na porção oeste do Sul do Brasil.

Embora as análises conduzidas aqui tenham sugerido uma concordância com a proposta de Thomas (1924), as amostras comparadas neste estudo apresentam certas distinções quanto àquelas estudadas por esse autor. Dessa forma, o presente estudo também buscou avaliar eventuais diferenças entre os táxons e não apenas entre as amostras. Entretanto, Thomas (1924) não deixou claros os limites geográficos de seus novos táxons, só menciona os Estados como limite: *O. r. ratticeps* ocorre no Rio Grande do Sul, em Misiones, Argentina, e em Santa Catarina; *O. r. tropicius* ocorre em São Paulo e no Paraná e *O. r. paraganus* ocorre no Paraguai. Com base nisso, os espécimes incluídos nessas análises são os provindos somente dos Estados mencionados na descrição das subespécies, embora hoje tenhamos amostras mais ao norte de São Paulo, no Rio de Janeiro e no Espírito Santo. Portanto, as amostras foram denominadas como: *tropicius*, correspondente geograficamente a *O. r. tropicius*, com amostras de São Paulo e Paraná; *ratticeps*,

correspondente a *O. r. ratticeps*, com todas as amostras de Santa Catarina, Rio Grande do Sul e Misiones, na Argentina; e *paraganus*, as amostras paraguaias.

Foram construídos diagramas Dice-Leraas a fim de se visualizar como cada variável craniodentária se comporta e alguns padrões foram reconhecidos:

CTO, CCI, CDI, CFI, CIP, CNA, CPP, ACC e LZI (figura 32): para essas dimensões, a amostra *ratticeps* apresenta dimensões menores; *paraganus*, maiores e *tropicius*, intermediárias. Em CTO, CCI, CIP, CPP e LZI a diferença entre *ratticeps* e *tropicius* é sutil, contudo, a diferença entre *Paraganus* e as demais amostras é sempre considerável nessas variáveis.

CSM, LFI, LR2, LIO, LPZ, CCZ e CFO (figura 33): para essas variáveis, o padrão é de dimensões maiores para *paraganus* e similaridade entre as amostras *ratticeps* e *tropicius*, igualmente menores.

LM1 e LIP (figura 34): as amostras se mantiveram constantes para essas variáveis.

A PCA mostra que os três primeiros componentes principais são responsáveis por 76,842% da variação encontrada entre esses táxons (tabela 12). A figura 35 mostra a dispersão dos autovalores entre esses três componentes da análise, dois a dois. Ao longo primeiro componente, referente ao tamanho dos espécimes, *paraganus* assume valores positivos e as outras duas amostras se sobrepõem entre -2 e 2. Os escores referentes ao material tipo, neótipo de *Oryzomys angouya*, holótipo de *O. ratticeps paraganus* e de *O. r. tropicius*, também assumiram valores positivos ao longo do primeiro componente o que fez com que se unissem aos escores referentes à *paraganus*. Através do segundo componente principal o que se observa é uma total sobreposição entre as três amostras. Já no terceiro componente, *paraganus* assume valores negativos e as demais amostras se sobrepõem entre -3 e 3. De uma forma geral, o primeiro e o terceiro componentes principais evidenciaram que *paraganus* se distingue de *ratticeps* e *tropicius*, mas não totalmente.

A análise discriminante mostrou que as variáveis mais influentes na variação são CCI (-2,690) e CDI (0,952) na primeira função discriminante, e CTO (-1,741) e CCI (1,877) na segunda função (tabela 13). De uma forma geral, quase não há sobreposição entre os indivíduos da forma de menor tamanho corpóreo, *ratticeps*, e da forma maior, *paraganus*. No entanto, os indivíduos de *tropicius*, de tamanho intermediário, se sobrepõem vastamente aos de *ratticeps* e mais discretamente aos *paraganus* (figura 36). Ao se considerar somente a primeira função

discriminante (figura 37), o que se tem são três grupos completamente distintos entre si, como sugere grande parte das variáveis crânio-dentárias individualmente.

Com relação às variáveis externas, a amostra *paraganus* é maior que as demais em todas as variáveis, porém *tropicius* apresenta os pés mais curtos que *ratticeps* (tabela 14). Os resultados corroboram em parte os obtidos por Thomas (1924). O grupo *paraganus* é distintivamente maior que as outras duas amostras, contudo, entre *ratticeps* e *tropicius* a variação de tamanho é sutil, inexistindo em algumas variáveis, o que faz com que as duas amostras se sobreponham quase que completamente na PCA.

Esses dois métodos de agrupamentos de localidades (diversos agrupamentos com localização mais pontual vs. poucos agrupamentos mais abrangentes geograficamente) possibilitaram dois resultados distintos acerca da variação morfométrica em *S. angouya*. O primeiro método, com 15 agrupamentos ao longo de toda a distribuição geográfica da espécie, possibilitou que fosse diagnosticada uma variação mais fina, com diferenças significativas entre agrupamentos próximos (p. ex. entre Oeste de Santa Catarina (XIII), Misiones, Argentina (XIV) e Bacia do Tebicuary (XV)) e suaves variações clinais (p. ex. entre os agrupamentos Cotia-Piedade (IV), Alto Paranapanema (V) e Alto Iguaçu (VI), ver figura 30). Já quando são considerados os agrupamentos definidos pelos táxons de Thomas (1924), essa variação mais fina é mascarada pela abrangência geográfica desses táxons, resultando em padrões diferentes e indicando até mesmo que são entidades distintas, pelo menos morfometricamente. Essa ambigüidade de resultados pode vir alertar sobre a importância de se delimitar agrupamentos *a priori*, pois serão esses agrupamentos os responsáveis por mascarar ou revelar algum padrão geográfico. Embora ambos os resultados tenham revelado padrões interessantes, interpretações taxonômicas e biogeográficas apenas serão tecidas após as análises biogeográficas, que não se baseará na delimitação de grupos *a priori*.

VARIAÇÃO MOLECULAR: CARACTERÍSTICAS DAS SEQUÊNCIAS. As análises do gene mitocondrial do cit b incluíram um fragmento de 675 pb de 48 indivíduos de *Sooretamys angouya* provenientes de 27 localidades distintas (ver figura 3). Quatro sequências provindas do GenBank apresentaram um sítio degenerado cada uma e, dessa forma, sem acesso aos cromatogramas, as análises subsequentes foram realizadas desconsiderando esses sítios, somando 671 pb. O conjunto de dados apresentou 54 sítios polimórficos, dos quais 24 são *singletons* e 30

são parsimoniosamente informativos. Dos sítios informativos, 23 apresentaram duas variantes e dois apresentaram três variantes, nenhum sítio foi encontrado com quatro. A diversidade nucleotídica (π) foi de 0,01437, com a média de diferenças par a par (k) de 9,640. A frequência de T, C, A e G foi, respectivamente, 28,4%, 29,1%, 28,7% e 13,9%, o que mostra o déficit de guanina reportado para cit b de mamíferos (IRWIN et al., 2001). A ausência de saturação nas substituições, que indica qualidade dos dados, pode ser observada no gráfico da figura 38 onde são plotados o número de transições e transverções *versus* a distância de Kimura. Foram reconhecidos 32 haplótipos (h) que resultaram numa diversidade haplotípica (H_d) de 0,974.

A lista dos haplótipos e dos vouchers incluídos no estudo, bem como suas localidades, é exibida na tabela 1.

VARIAÇÃO MOLECULAR: ANÁLISES FILOGEOGRÁFICAS. A rede de haplótipos não-enraizada (figura 39) permite o reconhecimento de três grandes grupos. No primeiro (G1) e no segundo (G2) grupos, a distribuição dos haplótipos não está relacionada à geografia, havendo uma sobreposição quase total da distribuição geográfica destes (figura 40). No entanto, os ancestrais hipotéticos desses dois grupos diferem entre si por cinco mutações. No G1, que exibe um formato estrelado, o haplótipo mais freqüente (H19) ocorre no Rio Grande do Sul e em São Paulo e não é o responsável por originar os demais haplótipos. O haplótipo ancestral de todos os outros pertencentes ao G1 é H11 que contém indivíduos de Santa Catarina e Rio Grande do Sul. Exceto H11 e H19, os demais haplótipos são exclusivos de localidades específicas. Embora G1 tenha apresentado certa coesão, o H22, proveniente do Rio de Janeiro e H27, do Rio Grande do Sul, se mostraram distantes de H11 por sete e cinco mutações, respectivamente, tão ou mais distantes que G1 e G2. Dentro do G2 não há grandes divergências, os haplótipos diferem entre si apenas por uma mutação, exceto H30 (dois passos) e H31 (quatro passos). O único grupo cujos haplótipos estão contidos na mesma região geográfica é G3, localizado na bacia do rio Tebicuary, no Paraguai. Nesse grupo, o número de haplótipos é menor em comparação aos outros grupos, porém ocorrem em maior frequência. Embora a maioria das amostras do Paraguai tenha exibido relação com a geografia, os haplótipos H14 do Paraguai e H23 do Espírito Santo, exibiram afinidade em apenas uma mutação, o que impediu que H14 se agrupasse aos demais haplótipos da bacia do Tebicuary. Mesmo que esses dois haplótipos tenham se agrupado, eles se divergem por três e quatro passos do ancestral hipotético comum.

A escolha dos grupos externos a ser utilizado nas análises de MV, MP e NJ foi baseada no clado D de Weksler (ver WEKSLER, 2006) e de acordo com a disponibilidade de seqüências no GenBank. Dessa forma, os grupos externos foram: *Cerradomys subflavus* (AF181274 BONVICINO E MOREIRA, 2001), espécie irmã mais próxima; *Nectomys squamipes* (AF181283 BONVICINO E MOREIRA, 2001); e *Aegialomys xanthaeolus* (EU579479 HANSON E BRADLEY, no prelo). As três análises foram conduzidas com teste de *bootstrap* para 10.000 réplicas.

O modelo evolutivo selecionado pelo ModelTest para a condução da análise de MV, com critério de AIC (Akaike Information Criterion), foi GTR+G, Modelo Geral de Reversão ao Longo do Tempo (do inglês, *General Time Reversible*) mais o parâmetro gama de distribuição. O modelo GTR considera a frequência dos nucleotídeos e a probabilidade de uma base ser substituída por outra, então para cada uma das possíveis mudanças, há uma probabilidade específica (PEREIRA et al., 2001).

Os três métodos de reconstrução filogenética (MV, MP e NJ) mostram resultados semelhantes ao obtido na rede de haplótipos e parcialmente congruentes entre si. As topologias obtidas mostram que um clado é mantido nas três abordagens, o clado A, que é subdividido em dois subclados, A1 e A2 (figuras 41, 42 e 43, respectivamente). O subclado A1 é formado por haplótipos do Rio Grande do Sul, leste e oeste de Santa Catarina e São Paulo e o subclado A2 é formado pelos haplótipos do Paraguai mais H23, do Espírito Santo. Um segundo clado, o clado B, composto por haplótipos do Rio Grande do Sul, leste e oeste de Santa Catarina, São Paulo e Rio de Janeiro, é mantido apenas nas análises de MP e NJ, mas não na análise de MV. Embora tenha havido certa congruência na formação de clados em todas as abordagens, os dois grandes clados principais, A e B, não foram bem suportados pelos valores de *bootstrap*, sendo que somente o clado B na análise de NJ teve valor de *bootstrap* maior que 50% (figura 43). Mas ainda assim, com base nas topologias, os resultados indicam que a distribuição geográfica de ambos os clados principais (A e B) são praticamente simpátricas, exceto pelo subclado A2, que contém os haplótipos do Paraguai. O fato de o clado A2 ser interno ao clado A indica que os haplótipos do leste do Brasil contidos em A (A1) são mais relacionados aos haplótipos do Paraguai (A2) do que aos demais haplótipos do leste do Brasil, ou seja, o clado B.

A disposição dos haplótipos na topologia das árvores não obedece a um padrão concordante com a geografia. Mas um caso particular deve ser considerado: quatro dos cinco

haplótipos do Paraguai, H13, H15 e H16, exclusivos de Paraguari e H21, de Ñeembucu, são suportados por altos valores de *bootstrap*, 95% na MV, 73% na MP e 99% na NJ. Esse fato não pode ser desprezado. Na seção anterior, que trata da morfologia e da morfometria, verificou-se que as dimensões que representam o comprimento e a robustez do crânio (13 de um total de 18 dimensões) apresentam variação relacionada à geografia. De acordo com os padrões obtidos, há uma redução nas dimensões cranianas de norte a sul (Minas Gerais a Rio Grande do Sul) e de leste a oeste até Santa Catarina (leste de São Paulo a oeste de Santa Catarina). Entre Santa Catarina, Misiones (Argentina) e porção leste do Paraguai, os crânios se tornam maiores e mais robustos, havendo uma quebra entre as amostras da Argentina e do Paraguai, onde os espécimes são significativamente maiores e mais robustos. Com relação à morfologia craniana, dentária e corpórea, não foi diagnosticada qualquer região geográfica que apresente o mesmo padrão, embora os caracteres variem dentro da espécie. Os resultados obtidos nas análises moleculares sugerem que existe certa concordância nos resultados alcançados na morfometria com relação ao Paraguai, revelando a existência de estruturação geográfica na espécie, embora haja um haplótipo do Paraguai (H14) que compartilhe mais mutações com o haplótipo do Espírito Santo (H23) do que com as demais amostras do G3.

Com relação ao haplótipo H23, Perini et al. (2004) verificaram por meio de polimorfismos bioquímicos, que esse mesmo indivíduo (UFPB335) é próximo, geneticamente, à populações do Rio Grande do Sul, mas o estudo não contemplou indivíduos das demais regiões de ocorrência da espécies.

Mais tarde, Miranda et al. (2007) empregaram genes mitocondriais e nucleares e estudaram a variação molecular em *S. angouya* nas mesmas regiões estudadas por Perini e colaboradores (2004) além de outras duas, Fazenda Intervalles, em São Paulo, e Teresópolis, no Rio de Janeiro. De acordo com os resultados de Miranda et al. (2007), a divergência genética observada em *S. angouya* é baixa, 0,88%, se comparada à de outros oryzomyíneos (4,53% em *Hylaeamys megacephalus* e 1,79% em *Euryoryzomys russatus*) e os marcadores moleculares (separados ou concatenados) não revelaram estruturação filogeográfica em *S. angouya*. Entretanto, no presente estudo a média da distância genética encontrada foi um pouco mais alta, 1,4% e, com relação á estruturação geográfica das populações os resultados obtidos no presente estudo contestam os obtidos por Miranda et al. (2007) porque há estruturação geográfica em *S. angouya* quando são comparadas as amostras do Brasil e do Paraguai.

Existe uma grande quantidade de estudos a respeito de estruturação geográfica em diversos gêneros de roedores sul-americanos: *Akodon* (PEARSON E SMITH, 1999; GEISE et al., 2001); *Oligoryzomys* (PERINI et al., 2004; PALMA et al., 2005 e MIRANDA et al., 2009); *Callomys* (ALMEIDA et al., 2007); *Euryoryzomys* e *Sooretamys* (PERINI et al., 2004; MIRANDA et al., 2007), *Abrothrix* (SMITH et al., 2001 e RODRIGUEZ-SERRANO et al., 2006); *Zygodontomys* (BONVICINO et al., 2009). Assim, a presença de estruturação geográfica já foi reportada em vários níveis.

Euryoryzomys macconnelli, estudado ao longo do rio Juruá, mostrou um padrão semelhante ao encontrado em *S. angouya*: diversidade haplotípica alta, divergência entre os haplótipos por poucas mutações, quatro no máximo, mas falta de estruturação geográfica ao contrário do que ocorre em *S. angouya* (PATTON et al., 1996). Baseados nesse padrão, Patton e colaboradores (1996) sugerem que a colonização de *E. macconnelli* na bacia do rio Juruá seja recente e, dessa forma, não houve tempo suficiente para as populações mais distantes acumularem diferenças. Esse padrão é contrário ao encontrado para o roedor equimídeo *Mesomys hispidus* no mesmo estudo: em *M. hispidus*, os autores encontraram forte estruturação geográfica, suportada por 23 mutações entre os dois principais haplogrupos, onde os autores sugerem que haja isolamento por distância. Essas diferenças entre as duas espécies os autores atribuem a uma combinação de fatores, como: diferença no tamanho das populações, propensão à extinção local e capacidade de recolonização e fluxo gênico.

Em duas espécies com distribuição andina do gênero *Abrothrix*, *A. olivaceus* e *A. xanthorhinus* (Rodentia) as análises apontam para ausência de diferença genética entre as duas espécies: *A. xanthorhinus* está sempre contido entre os haplótipos de *A. olivaceus*, sendo que as maiores divergências são observadas dentro de *A. olivaceus*, entre as populações do norte e do sul do Chile. Dessa forma, os autores concluem que as populações de *A. olivaceus* do norte do Chile estiveram isoladas por algum período de tempo e que as diferenças acumuladas no restante da distribuição ao sul foram causadas por um gradiente ecológico entre vegetações florestais e estépicas (SMITH et al., 2001). Além disso, devido às poucas seqüências divergentes acumuladas, como também ocorre em *E. macconnelli*, os autores sugerem que os eventos que moldaram os padrões morfológicos e moleculares são relativamente recentes.

Assim como acontece em *E. macconnelli* e em *A. olivaceus* e *A. xanthorhinus*, a variação molecular encontrada em *S. angouya* também parece ser resultante de eventos recentes e de uma

expansão rápida. Segundo Patton e colaboradores (1996) esse cenário pode ser inferido pelo compartilhamento de poucos haplótipos entre regiões distintas, como acontece com o H19, compartilhado por Rio Grande do Sul e São Paulo, e H11, compartilhado por Santa Catarina e Rio Grande do Sul, e pela maioria dos haplótipos serem restritos a localidades únicas.

VARIAÇÃO MOLECULAR: INFERÊNCIAS DEMOGRÁFICAS. Os resultados da distribuição Mismatch (figura 44) para todos os haplótipos formam uma curva bimodal com máximo de 21 diferenças entre haplótipos. O primeiro pico apresenta poucas diferenças entre pares de haplótipos, em baixa frequência. O segundo pico se comporta contrariamente ao primeiro, atingindo a frequência máxima e com diferenças entre pares de haplótipos que variam de seis a 21. De acordo com Slatkin e Hudson (1991), populações em expansão formam curvas unimodais e populações em equilíbrio, multimodais, na distribuição Mismatch. Smith et al (2001) afirmam que a mesma análise conduzida com populações que permaneceram isoladas uma da outra por um período de tempo também geram no mínimo dois picos.

A variação molecular no gene do *cit-b* em *S. angouya* resultou em dois padrões filogeográficos distintos de acordo com Avise et al. (1987). O primeiro padrão é caracterizado pela presença de descontinuidade filogenética entre haplogrupos alopátricos, ou seja, haplogrupos distantes geograficamente apresentam uma distância genética também grande. Esse padrão foi reconhecido entre as amostras brasileiras e a amostra do Paraguai. Avise (2000) explica esse arranjo filogeográfico por dois caminhos, não mutuamente exclusivos: barreiras de longo-prazo, extrínsecas, impediram a troca gênica fazendo com que populações conspecíficas formassem ramos distintos numa árvore filogenética intraespecífica ou há extinção de genótipos intermediários em espécies amplamente distribuídas, mas com baixa capacidade de dispersão e fluxo gênico. Observando os resultados obtidos, a primeira proposta faz mais sentido porque de acordo com Patton et al. (1996) a presença muitos haplótipos exclusivos de determinadas localidades na rede de haplótipos sugere que a extinção de genótipos seja rara ou ausente e essa proposta será retomada mais adiante. A história natural de *S. angouya* está sendo estudada em um projeto de doutoramento (Ricardo Bovendorp, sob orientação do Dr. Alexandre Percequillo) e a partir dos resultados deste, haverá informações acerca da área de vida domiciliar e a capacidade de dispersão da espécie. Essas informações, aliadas aos resultados aqui obtidos, permitirão avaliar o segundo padrão filogeográfico reconhecido por Avise (2000).

O segundo padrão descrito por Avise et al. (1987) representa populações que exibem descontinuidade filogenética mas são simpátricas. Esse padrão foi obtido entre os haplogrupos G1 e G2 na análise de rede de haplótipos (ver figura 40) bem como em todas as análises filogenéticas seguintes. Exceto pela amostras do Paraguai, os terminais dos dois clados obtidos por MV, MP e NJ são quase completamente sobrepostos geograficamente. Avise (2000) sugere que, na maioria dos casos, isso é consequência da existência de zona de contato secundário entre populações alopátricas e que os filogrupos divergiram em alopatria. Embora os haplogrupos G1 e G2 não sejam muito distantes ($K-2p=0,017$), a distribuição de Mismatch conduzida somente com os haplótipos pertencentes à esses grupos simpátricos (ver figura 45) manteve o padrão bimodal obtido anteriormente com todos os haplótipos. A partir disso, com base nas interpretações fornecidas por Avise (2000) e Smith et al. (2001), pode-se inferir que esses dois haplogrupos já estiveram isolados um do outro. O primeiro pico do gráfico representa as diferenças dentro de cada haplogrupo, com máximo de seis substituições nucleotídicas, e o segundo representa as diferenças entre os haplogrupos.

Em suma, as topologias das árvores indicaram estruturação genética, devido à distinção de um subclado do Paraguai (A2) interno aos haplótipos brasileiros (A). Unindo as topologias das árvores, a rede de haplótipos e a distribuição Mismatch, percebe-se que essa estruturação compreende dois padrões distintos. O primeiro padrão, simpátrico, é configurado pela sobreposição geográfica entre os clado B e o subclado A1; e, um segundo padrão, alopátrico, é caracterizado por os subclados A1 e A2 corresponderem às regiões geográficas distintas, leste e oeste do rio Paraná, respectivamente.

SUMÁRIO DA VARIAÇÃO. A direção das análises na busca de variações que respondam a geografia obedece tanto a um sentido longitudinal quanto latitudinal, dos 45° aos 57° de longitude O e dos 21 aos 30° de latitude S, quase a totalidade da distribuição conhecida para a espécie.

Os diversos marcadores utilizados nesse estudo (morfologia, morfometria e seqüências de cit-b) apontam para existência de variação dentro de *Sooretamys angouya*. Os resultados das análises morfométricas realizadas com os agrupamentos indicam um acentuado decréscimo nas dimensões cranianas no sentido leste-oeste, sendo quebrado pela amostra do Paraguai, e um decréscimo mais leve no sentido norte-sul. Esse padrão de variação de tamanho tende a recuperar

a hipótese de Thomas (1924), de que há diferenciação morfométrica entre as populações ao leste e ao oeste do rio Paraná. Dessa forma, quando são analisados grandes agrupamentos referentes à distribuição geográfica das três subespécies propostas por esse autor, essa tendência se torna mais evidente. Contudo, essa tendência não se repete nos caracteres morfológicos. Os caracteres analisados se mostraram polimórficos, mas sem relação com a geografia. Embora, em geral, o número de espécimes analisados tenha sido relativamente grande, o número amostral foi insuficiente em alguns agrupamentos, impedindo que algum padrão de fosse diagnosticado. As análises das seqüências do gene cit-b indicam que a história da espécie é relativamente recente devido ao pequeno número de mutações que separam os haplótipos, que a espécie se encontra em expansão e também que os espécimes paraguaios se mantiveram diferenciados, como nas análises morfométricas.

A variação no tamanho dos indivíduos de mesma espécie ou entre espécies estritamente relacionadas, quando essa variação obedece a um gradiente geográfico ou climático, pode ser explicada pela regra de Bergmann. De acordo com Mayr (1977) essa é a principal explicação ecogeográfica para o aumento de tamanho e de massa corpórea em latitudes mais altas e climas mais frios. Originalmente sua aplicação se dava para variações latitudinais e/ou de temperatura, mas Mayr (1977) expõe que, para regiões tropicais os padrões sugeridos pela regra de Bergmann podem ser encontrados também em variações altitudinais. Os resultados do presente estudo são contrários à proposta da Regra de Bergmann. Esse fato é comprovado quando se compara as amostras que apresentam os maiores e os menores indivíduos: Bacia do Tebicuary, no Paraguai e Oeste de Santa Catarina, que estão situadas na mesma latitude. Pode se observar que o tamanho dos indivíduos não aumenta com a diminuição da temperatura como dita a regra de Bergmann, pelo contrário, diminui. Embora o presente estudo não tenha tratado os fatores climáticos com refinamento, pode-se dizer que a região onde se localiza a amostra do Paraguai, nas planícies da bacia do Tebicuary, possui altitudes mais baixas (60 a 180 metros aproximadamente) e temperaturas mais altas do que na região Oeste de Santa Catarina, que é uma região serrana (altitudes entre 400 e 600 metros) e, portanto, mais fria, contrariando, dessa forma, o postulado por tal regra.

Quando se trata de barreiras extrínsecas ao fluxo gênico, as primeiras possibilidades que vêm à mente são barreiras físicas e vicariantes, como rios. Vários estudos já testaram a eficiência dos rios como barreira para roedores cricetídeos: rio Juruá (PATTON et al., 1994, 1996, 2000,

MUSSER et al., 1998; SILVA E PATTON, 1998), rios Tebicuary e Jejuí-Guazú (D'ELÍA, 2002) e rio Paraná (CÁCERES, 2007). Desses, o rio Juruá foi o único onde houve divergência entre haplótipos de ambas as margens: 7,29% para uma espécie do gênero *Oecomys* (Sigmodontinae) dentre as várias outras avaliadas nesta bacia (PATTON et al., 2000). Musser et al. (1998) abordaram essa questão com base em caracteres morfológicos avaliando o efeito do rio Juruá na variação geográfica de *Hylaeamys yunganus* e *H. megacephalus* (Sigmodontinae), mas no entanto, não encontraram diferenças significativas entre as populações de margens distintas. Gascon et al. (2000) tomaram como base a composição e a riqueza de espécies em comunidades de pequenos mamíferos a fim de testar o mesmo rio como barreira e detectaram que os parâmetros de similaridade de espécie “distância geográfica” e “tipo de habitat” são mais apropriados que a margem do rio da qual a comunidade proveio. D'Elía (2002), testando a eficiência de dois rios Paraguaio, Jejuí-Guazú e Tebicuary, como barreira para três espécies de roedores sigmodontíneos, *Callomys callosus*, *Hylaeamys megacephalus* e *Oligoryzomys nigripes*, em nenhuma das espécies houve compartilhamento de haplótipos por populações de uma mesma margem. Os dados do presente estudo não permitem testar o rio Paraná da mesma forma com que foi testado o rio Juruá porque as localidades de coleta próximas às margens são escassas. Entretanto, *S. angouya* exibe uma diferença de tamanho e de forma craniana entre as amostras a leste (Misiones, Argentina e Brasil) e a oeste (Paraguai) do rio Paraná além de não haver compartilhamento de haplótipos entre a porção leste e oeste do rio Paraná. Uma análise discriminante conduzida com essas duas grandes amostras revela essa diferença (ver figura 46 onde são plotados os escores da referida análise discriminante).

Talvez o rio Paraná por si só não tenha exercido um papel puramente vicariante em *S. angouya*, no entanto, é possível que o “tipo de habitat” o tenha. Patton e colaboradores (2000) discutem que os padrões de divergência mais profundos não foram encontrados entre as margens do rio Juruá, mas ao longo de sua bacia. Dessa forma, os autores concluem que não é o rio por si só o responsável pelas divergências, mas sim a evolução geológica e consequentemente da vegetação, o que resultou em padrões fitogeográficos distintos ao longo da bacia. Reportando essa hipótese para *S. angouya*, ela pode ser testada por meio da evolução das formações florestais na porção sul da América do Sul e de registros fósseis para a espécie. Os registros fósseis de *S. angouya* são datados de 13000 anos aproximadamente (AULER et al., 2006), o que corresponde às idades Lujanense e Platense, do final do Pleistoceno ao início do Holoceno, e são provenientes

de Lagoa Santa, MG (ÁVILA-PIRES, 1960). De acordo com Percequillo (1998), o registro fóssil de *Prothopitecus brasiliensis* em Lagoa Santa, o maior primata fóssil sul-americano conhecido, sugere que a vegetação dessa localidade tenha sido florestal. O fato é que não há registro atual de *S. angouya* para essa localidade, que hoje está inserida no Domínio dos Cerrados (AB'SABER, 1977) e cujas fitofisionomias são típicas desse domínio (GIULIETTI et al., 1987), sugerindo que tenha ocorrido extinção local de *S. angouya* em *Lagoa Santa*. O registro atual mais próximo a Lagoa Santa se localiza em Boca da Mata, no município de Conceição do Mato Dentro, MG, na Serra do Cipó (localidade 41), cuja fitofisionomia é florestal (GIULIETTI et al., 1987). Vivo e Carmignotto (2004) sugerem que houve um adensamento da vegetação entre o final do Pleistoceno e início do Holoceno, devido ao aumento da umidade, atingindo o ápice no início do Holoceno. Dessa forma, há 13.000 anos, o clima da região de Lagoa Santa era mais úmido, propiciando o estabelecimento de florestas úmidas onde hoje há vegetação savânica (DE OLIVEIRA et al., 2005). Essa evidência justifica a presença pretérita de *S. angouya*, uma espécie relacionada à ambientes úmidos principalmente florestais, em Lagoa Santa, hoje caracterizada por vegetação savânica. Em adição, como as condições climáticas do final do Pleistoceno-início do Holoceno permitiram o avanço da Floresta Atlântica no sentido do interior do Brasil, onde hoje é Cerrado, (DE OLIVEIRA et al., 2005; VIVO E CARMIGNOTTO, 2004), a distribuição geográfica de *S. angouya* poderia então ter sido mais ampla do que a conhecida hoje, ocupando porções mais interiores do Brasil e, talvez, ao norte da cabeceira da bacia do rio Paraná, uma vez que sua ocorrência é limitada à Floresta Atlântica.

Ainda sobre o efeito dos rios sobre a diversificação de *S. angouya*, as transgressões marinhas quaternárias mais bem conhecidas aumentaram o nível do mar em no máximo quatro metros. A chamada Penúltima Transgressão que ocorreu há 120.000 anos aproximadamente (Pleistoceno), aumentou o nível do mar em ± 2 metros e, a Última Transgressão, que ocorreu durante os últimos 7.000 anos (Holoceno), aumentou em no máximo quatro metros (SUGUIO et al., 1985). Suguio et al., (1985) também não mencionam a formação de bancos de sedimentos formados durante o abaixamento do nível do mar durante as transgressões para a bacia do Rio Paraná. De acordo com Lundberg et al. (1998) as transgressões marinhas holocênicas poderiam ter sido capazes de encerrar sistemas lacustres somente no curso inferior de rios como o Paraná. Diante desses dados, parece que essas transgressões marinhas não exerceram forte influência na diversificação de *S. angouya*, entre as margens do Rio Paraná. Além disso, o fato de ao longo do

curso do rio Paraná existir planícies inundáveis o torna semelhante ao rio Juruá, um rio de planície (LUNDBERG et al., 1998). Partindo do princípio que o Juruá não é efetivo para impedir o fluxo gênico entre populações de roedores sigmodontíneos, exceto para uma espécie do gênero *Oecomys*, penso que o Rio Paraná também não o seja.

Com base em todas as considerações anteriores e nos resultados morfológicos e filogenéticos obtidos, a hipótese de diversificação que levanto é que as formas ancestrais de *S. angouya* habitavam fisionomias florestais da porção leste do Brasil e que o adensamento da vegetação ocorrido no ótimo climático do Holoceno (VIVO E CARMIGNOTTO, 2004) pode ter possibilitado que populações se movessem através do rio Paraná, ao longo de um gradiente de sentido leste para oeste, e se estabelecessem na região leste do Paraguai, caracterizando assim um modelo de dispersão com fluxo gênico (PATTON et al., 1990; SMITH et al., 2001). Segundo Lara et al. (2005) esse padrão é resultado de uma única alteração de hábitat e os clados cujos haplótipos se distribuem por habitats semelhantes (no caso B e A1) são ancestrais. Dessa forma, essa hipótese é sustentada pelas topologias das reconstruções filogenéticas, onde o subclado que contém os haplótipos do Paraguai (A2) é irmão do subclado que contém haplótipos da margem leste do rio Paraná (clado A1) e ambos (clado A) são irmãos ao clado que também contém haplótipos da margem leste do rio Paraná (clado B, ver figuras 42 e 43), e é também suportada pelo fato de o único fóssil ser proveniente de Lagoa Santa, Minas Gerais. Esses resultados também se ajustam à proposta de Patton et al. (1990) para topologias que representam diferenciação com fluxo gênico (ver PATTON et al., 1990, pg. 359) segundo a qual os haplótipos que ocorrem no Paraguai (clado A2) são derivados das demais linhagens que habitam a porção leste do Brasil.

É essencial para o entendimento dos processos que levaram ao atual padrão de diversificação de *S. angouya* a inclusão de amostras moleculares de Misiones, Argentina, dos Estados do Espírito Santo e de Minas Gerais. Essas amostras são indispensáveis para elaborar uma hipótese mais robusta porque os espécimes de Misiones são os mais próximos geograficamente aos do Paraguai e habitam a porção leste do rio Paraná, e também porque o único haplótipo do Espírito Santo é mais estritamente relacionado aos haplótipos do Paraguai do que aos haplótipos da região Sudeste do Brasil.

2.2.3 TAXONOMIA DO GÊNERO *SOORETAMYS*

A amplitude de abordagens empregadas no presente estudo permitiu o entendimento mais robusto dos padrões de variação que exhibe o gênero *Sooretamys*. Segundo Padial e colaboradores (2009) somente uma abordagem integrativa, que combina várias fontes de evidência, proporciona a resposta necessária para o reconhecimento de espécies. Sites e Marshall (2004) fazem uma revisão dos principais conceitos de espécie circulantes na literatura, bem como seus objetivos e seus critérios operacionais a fim de que sejam testáveis, separando-os em duas categorias principais: métodos não-baseados em árvores filogenéticas, os quais se baseiam na avaliação do fluxo gênico; e métodos baseados em árvores filogenéticas, os quais delimitam espécies como linhagens históricas. A proposta de Sites e Marshall (2004) para delimitação de espécies tem sido aplicada por vários autores de áreas diversas, por exemplo, Patton et al. (2007), Hall (2010), Cadena e Cuervo (2010) e Meudt et al. (2009) na sistemática de mamíferos, répteis, aves e plantas, respectivamente. Embora Sites e Marshall (2004) tenham operacionalizado a delimitação de espécies, penso que um conjunto de caracteres morfológicos exclusivos é ponto de partida para se começar a reconhecer uma espécie nova. No caso do gênero *Sooretamys*, não houve amostra ou conjunto de amostras que se distinguíssem morfológicamente com exclusividade; pelo contrário, as variações encontradas nos caracteres morfológicos analisados parecem circular por toda a área de distribuição da espécie, embora em frequências distintas, não havendo sobreposição entre determinados padrões qualitativos.

Por outro lado, a questão da delimitação de subespécies deve ser avaliada com mais atenção. Patton et al. (2007) discorrem sobre quatro critérios para delimitação de subespécies: 1) representam “centros de diferenciação”, os quais são áreas geográficas com uniformidade de caracteres delimitadas por clinas acentuadas nos seus limites; 2) esses “centros” podem representar respostas evolutivas, não somente influência direta do ambiente ou ontogenética; 3) as unidades subespecíficas têm, portanto, uma base filogenética fundamental; e 4) o uso do trinômio, que indica diferenciação incompleta. Na tentativa de confrontar os resultados obtidos aos critérios de Patton e colaboradores (2007), o primeiro critério não se aplica à variação morfológica e morfométrica em *S. angouya*. Embora a amostra Bacia do Tebicuary (XV) apresente as maiores dimensões dentre todas as amostras, existe uma clina crescente (Figura 30) entre as amostras Oeste de Santa Catarina (XIII), Misiones, Argentina (XIV) e Bacia do Tebicuary, Paraguai (XV), o que não caracteriza uma clina acentuada entre a amostra Bacia do

Tebicuary e a amostra subsequente geograficamente. Com relação ao segundo critério, o qual atribui à população diferenciada a propriedade de unidade evolutiva, também não se aplica aos resultados porque embora a amostra Bacia do Tebicuary possa representar uma resposta evolutiva, as filogenias mostraram que nessa resposta está incluída uma amostra do Estado do Espírito Santo, que está geograficamente distante do Paraguai. Dessa forma, não há base filogenética que sustente a amostra Bacia do Tebicuary como uma entidade evolutiva à qual possa ser empregada a categoria de subespécie. De acordo com Mayr (1977) subespécie ou raça geográfica são, em muitos casos, artefatos taxonômicos que buscam refletir a variação intraespecífica existente. Entretanto, se essa variação estiver associada a isolamento geográfico, as populações que representam essa entidade taxonômica serão uma unidade evolutiva. Entre as amostras do leste do rio Paraná não parece haver ou ter havido isolamento geográfico que justifique a determinação das populações como unidades evolutivas tampouco variação suficiente para considerá-las subespécies distintas no sentido de artefato taxonômico. No entanto, os rios Paranaíba e Paraná atravessam a área geográfica de distribuição de *S. angouya* de norte a sul, subdividindo-a em duas “sub-áreas” (figura 47) coincidindo justamente com a quebra que há na variação morfométrica. Embora tenha sido diagnosticada essa divergência, será sustentada uma postura conservadora em relação à diversidade encontrada no gênero *Sooretamys* entre as populações do leste e do oeste do rio Paraná. Essa decisão é justificada por dois motivos principais: 1) não foram diagnosticados padrões morfológicos qualitativos que diferencie a amostra do Paraguai das demais e 2) a presença de um haplótipo do Estado do Espírito Santo em meio aos haplótipos do Paraguai sugere que a relação entre esses grupos deve ser mais explorada com o aumento de amostras de ambas as regiões além da inclusão de amostras moleculares da região de Misiones, na Argentina. Ainda que tenha sido mantida a atual diversidade taxonômica do gênero *Sooretamys*, essa decisão será definitiva somente após inclusão de novas amostras, mas, é importante salientar que os resultados do presente estudo, tanto morfométrica quanto molecular, mostram uma diferenciação dos indivíduos do Paraguai em relação às demais localidades.

Ainda que não tenham sido reconhecidos novos táxons, existem padrões de diversificação em *Sooretamys angouya* e a hipótese proposita nesse estudo, fonte dessa variação, é divergente dos padrões descritos na literatura para diversificação da fauna na Floresta Atlântica, que são majoritariamente baseados em vicariância (ver PELLEGRINO et al., 2005, GRAZZIOTIN et al.,

2006). A hipótese levantada no presente estudo se torna divergente das demais encontradas para fauna da Floresta Atlântica no sentido de que os padrões encontrados aqui não foram causados por eventos vicariantes, mas sim dispersivos.

***Sooretamys angouya* (Fischer, 1914)**

Mus angouya Fischer, 1814:71; localidade tipo não fornecida; baseado em Azara's (1801:86) "Rat troisième ou Rat Angouya"; localidade tipo "Paraguay leste do Río Paraguay, Departamento de Misiones, 2.7 km (by road) N of San Antonio," baseado na designação de Neótipo (Musser et al. 1998:300).

Mus ? buccinatus Illiger, 1815:70; *nomem nudum*.

M[us] buccinatus Olfers, 1818: 209; validação de *Mus buccinatus* Illiger 1815; baseado em Azara's (1801, 1802) "Rat Troisieme ou Rat Angouya" e "Del Anguyá," respectivamente.

Mus angouya Desmarest, 1819:62; baseado em Azara's (1801, 1802) "Rat Troisieme ou Rat Angouya" and "Del Anguyá," respectivamente; parte.

mus angouya: Desmarest, 1820:305; grafia subsequente incorreta de *Mus* Linnaeus.

Mus Anguya: Rengger, 1830:229; retificação injustificada de *Mus angouya* Fischer.

Mus (Holochilus) Anguya: Brandt, 1835:96; parte; combinação de nome e retificação injustificada de *Mus angouya* Fischer.

Hesperomys Anguya: Wagner, 1843:534; combinação de nome e retificação injustificada de *Mus angouya* Fischer.

Hesperomys leucogaster Wagner, 1845:147; localidade tipo "Ypanema" (= Floresta Nacional de Ipanema, 20 km NW Sorocaba, São Paulo, Brasil, 23°26'7"S 47°37'41"W, 701 m; L. P. Costa et al. 2003).

Hesperomys ratticeps Hensel, 1872:36, prancha 1, figs. 25a e 25b; prancha 2, figs. 15a e 15b; localidade tipo "Rio Grande do Sul, Brasil."

H[esperomys. (Oryzomys)] angouya: Thomas, 1884:448; combinação de nome.

Calomys rex Winge, 1888:50, prancha 3, fig. 8; localidade tipo "Rio das Velhas, Lagoa Santa, Minas Gerais, Brasil."

Hesperomys (Calomys) ratticeps: Ihering, 1893:15 (108); combinação de nome.

[Oryzomys] anguya: Trouessart, 1897:525; combinação de nome e retificação injustificada de *Mus angouya* Fischer.

[Oryzomys] ratticeps: Trouessart, 1897:525; combinação de nome.

[*Oryzomys (Oryzomys)*] *angouya*: Trouessart, 1904:420; combinação de nome e retificação injustificada de *Mus angouya* Fischer.

[*Oryzomys (Oryzomys)*] *ratticeps*: Trouessart, 1904:420; combinação de nome.

Oryzomys angouya: J. A. Allen, 1916:570; combinação de nome, referência à *Mus angouya* Desmarest, 1919; not *Mus angouya* Fischer 1814.

O[ryzomys]. *angouya*: Thomas, 1921:177; combinação de nome.

Oryzomys ratticeps ratticeps: Thomas, 1924:143; combinação de nome.

Oryzomys ratticeps tropicius Thomas, 1924:143; localidade tipo “Piquete, São Paulo, Brasil.”

Oryzomys ratticeps paraganus Thomas, 1924:144; localidade tipo “Sapucay, Paraguari, Paraguai.”

Oryzomys [(Oryzomys)] angouya: Tate, 1932:18; combinação de nome.

Oryzomys [(Oryzomys)] ratticeps ratticeps: Tate, 1932:18; combinação de nome.

Oryzomys [(Oryzomys)] ratticeps tropicius: Tate, 1932:18; combinação de nome.

Oryzomys [(Oryzomys)] ratticeps paraganus: Tate, 1932:18; combinação de nome.

Oryzomys buccinatus: Hershkovitz, 1955:660; combinação de nome.

[*Sooretamys*] *angouya*: Weksler, Percequillo, e Voss, 2006:23; primeiro uso da atual combinação de nome.

Localidade tipo: 2,7 km por Estrada ao N de San Antonio, Departamento de Misiones, Paraguai (localidade 181, figura 7)

Distribuição Geográfica: Distribui-se pela costa Atlântica da porção central do Espírito Santo ao sul do Rio Grande do Sul, atingindo o interior do pela região nordeste da Argentina e leste do Paraguai.

Diagnose: A coloração geral do dorso é castanho-acinzentado, castanho-amarelado ou castanho-alaranjado, que segue até os flancos. A coloração ventral varia de branco ou creme puro até branco, creme ou alaranjado grisalho, apresentando manchas nas regiões gular e axilar com pêlos totalmente unicolores. A cauda é usualmente unicolor, mas pode apresentar leve despigmentação na porção ventral-proximal, mais longa que o comprimento da cabeça e corpo combinados, e apresenta um pequeno tufo de pêlos na extremidade distal. Os tufos ungueais são longos, mas

nem sempre ultrapassam o ápice das garras. As vibrissas são longas, ultrapassam a base das orelhas, e usualmente são despigmentadas na porção apical. As orelhas são hirsutas.

O crânio é longo (CTO=39,39±1,93, n=214) e robusto, a extremidade proximal do nasal não ultrapassa o lacrimal. As perfurações posterolaterais do palato podem ser únicas ou múltiplas e estar inseridas em fossas rasas ou profundas. O forâmen incisivo é longo, podendo ultrapassar os alvéolos do M1. Um sulco anteromediano pode estar presente no anterocone do M1, mas não o divide em dois cônules distintos.

Cariótipo: Silva (1994) registrou dois cariótipos distintos para Iporanga, SP (localidade 156): número diplóide (2n) de 58 com número fundamental (NF) de 60 braços autossômicos e 2n=60 (NF=64). Andrades-Miranda e colaboradores (2000) encontraram, para o Rio Grande do Sul, também 2n=58 com NF=60.

Material examinado: **ARGENTINA:** Corrientes: **Departamento Ituzaingó:** Santa Tecla: Ruta Nacional 12, km 1287: MLP 110945. Formosa: **Departamento Pilcomayo:** Paso Pomelo, Parque Nacional Pilcomayo: MACNBR 20781. Misiones: **Departamento desconhecido:** 30 km de Puerto Bemberg, Rio Uruguay: MACNBR 49447. 60 km de Puerto Iguazú, Rio Iguazú: MACNBR 52. Junção dos Rios Iguazú e Alto Paraná, Puerto Aguirre: MCZ 18648. Misiones: MACNBR 49388. Rio Uruguay: MACNBR 19217. **Departamento General Belgrano:** Arroyo Uruguay: MACNBR 18885. **Departamento Azara:** Balneário de Azara: MPEG 22649. **Departamento Cainguás:** Dos de Mayo: MACNBR 15588. **Departamento San Pedro:** San Pedro: MACNBR 15451. Tobuna: MACNBR 54.15, 54.20, 54.29, 54.37, 54.47, 54.48, 54.49, 54.50, 54.57, 54.62 e 54.94. **BRASIL:** Espírito Santo: Hotel Fazenda Monte Verde, 24 km SE de Venda Nova: UFPb 334, 335, 336, 338 e 339. Minas Gerais: **Passos:** MNRJ 32745 e 11638. **Poços de Caldas,** Alto da Consulta: MNRJ 32629, 32628 e 32627. Morro do Ferro: MNRJ 32626. **Posses:** 13 km SE de Itanhandú: UFMG 1880, 1881 e 1882. Paraná: **Arapoti:** Horto Barra Mansa: MHCNI 5396. Horto São Nicolau MHCNI 5372, 5364, 5365, 5366, 5368, 5370, 5374, 5376, 5406, 5407, 5413, 5418 e 5422. **Cianorte:** P. M. do Cinturão Verde: MHCNI 6043. **Cruzeiro do Iguaçu:** U. H. Salto Caxias, Foz do Chopim, MHCNI 4838. **Fênix:** Fazenda Cagibi: MHCNI 5465. **Londrina:** Mata dos Godoy: MHCNI 5332. **Mangueirinha:** Barragem U.H.E. Segredo: MHCNI 2629. Foz do Rio Caçadorzinho: MHCNI 2630. **Morretes:** Rio Sagrado: MHCNI 3428. **Pinhão:** Barragem U.H.E. Segredo, Copel: MHCNI 5100. Foz do Rio

Capoteiro: MHCNI 2631 e 2632. Reserva: MHCNI 2445. Vila U.H.E. Segredo, Copel: MHCNI 2628. **Ponta Grossa:** P. E. Vila Velha: MHCNI 526, 533, 537, 566, 713, 730, 731 e 733. **Quatro Barras:** Anhangava: MHCNI 4989 e 4990. Taquari (Casa Garbers): MHCNI 3055, 3120 e 3133. **São José dos Pinhais:** Guaricana: MHCNI 1349, 1350, 1473 e 1582. Usina de Guaricana: MHCNI 1612. Rio de Janeiro: **Parati:** Pedra Branca: MNRJ 6208, 6215, 6281, 6397, 6398 e 8400. Rio Grande do Sul: **Arroio Grande:** MCNU 770, 772, 775. **Cachoeirinha:** MCNU 1625. **Campo Belo do Sul:** MCNU 1682. **Canela:** MCNU 1506. **Cristal:** MCNU 1213. **Cruz Alta:** 35 km NE de Cruz Alta: FZB 464. Cruz Alta: FZB 436, 426, 444 e 448. **Cruzeiro do Sul:** MCNU 1133, 1134, 1135, 1136, 1137, 1138, 1140, 1143, 1144, 1146, 1147, 1148, 1152, 1157, 1158, 1159. **Encruzilhada do Sul:** MCNU 1291, 1292. **Guaporé:** MCNU 983. **Lajeado Grande:** Alpestre: UFSC 3903 e 3904. Rio dos Índios: UFSC 3900, 3901 e 3902. **Maquiné:** MCNU 622 Vale da Encantada/Barra do Ouro: MCNU 1540. **Mostardas:** Capão do Leão: UFRGS 595 e 596. **Muitos Capões:** MCNU 1624. **Nova Roma do Sul:** MCNU 1229 e 1230. **Osório:** Lagoa Emboaba: UFRGS 944. Pontal do Norte, Lagoa Palmital: UFRGS 971, 1008. **Pelotas:** Distrito de Arroio do Padre: MCNU 1609. **São Francisco de Paula:** MCNU 1614. **São Nicolau:** Fazenda Aldo Pinto: MPEG 23273, 23275. **Serafina Corrêa:** Boa Fé: MCNU 1586. **Torres:** UFRGS 2088, 2108, 2114 e 2130, MCNU 1626. Faxinal, Norte da Lagoa Itapeva: UFRGS 646, GD 69 e 158, UFRGS 656, UMMZ 175072 e 175073. Parque Estadual Itapeva: MCNU 34 e 670. **Tramandaí:** Lenha Seca, Lagoa de Tramandaí: UFRGS 8. **Três Barras:** Aratiba, 3 m. da margem do R. Uruguai: GD 14. Santa Catarina: **Água Doce:** FURB 12071, 12072. **Angelina:** Garcia: LABMAQ 641. **Anitápolis:** Roça de Repolho: FURB 519. Vale do IFC: FURB 472 e 477. **Arvoredo:** P. C. H. Alto Irani: UFSC 3775, 3776 e 3831. **Blumenau:** Parque das Nascentes: Terceira Vargem: FURB 9798, 9918, 12041, 12279, 12286. **Caldas da Imperatriz:** Hotel Plaza Caldas da Imperatriz: UFSC 3812. Parque Estadual da Serra do Tabuleiro: LABMAQ 721 e 722. **Campo Belo do Sul:** Fazenda Gateados, U. H. E. Barra Grande: FURB 12174. **Canoinhas:** Três Barras: LABMAQ 763. Pinheiros, Alto-Anitápolis: LABMAQ 488. **Dr. Pedrinho:** Reserva Biológica Sassafrás: FURB 926, 12151 e 12100. **Florianópolis:** UFRGS 2042. Lagoa do Peri: UFSC 2006, 2007, 2008, 2009, 2010, 3021 e 3022. **Gaspar:** RPPN Figueira Branca: FURB 9749. **Ilha de Santa Catarina:** Ribeirão da Ilha: UFSC 2897 e 2898. **Indaial:** Parque das Nascentes, Mono: FURB 9696, 9790, 9836, 9867, 9906, 9927 e 9957. Parque das Nascentes, Vale do Espingarda: FURB 5900, 5982, 6472, 6558, 9570, 12086. **Itá:** U. H. E. Itá:

FURB 5035, 5070 e 5194. **Joinville:** Estação Ecológica Bracinho Piraí: FURB 138, 927, 928 e 929. **Rio Negrinho:** Fazenda Sta. Alice: MHCNI 6062 e 6064. **São Cristóvão do Sul:** Fazenda Cerro Verde: MHCNI 5863. **São Domingos:** U. H. E. Quebra Queixo: FURB 9230, 9233, 9238, 9251, 9252 e 9256, UFSC 3589, 3590, 3591, 3592, 3593 e 3594. **Siderópolis:** Barragem São Bento: UFSC 3129. **Três Barras:** Floresta Nacional Três Barras: UFSC 951 e 3712. **Xavantina:** P. C. H. Plano Alto: UFSC 3998 e 3999. **Xaxim:** Linha Voltão: UFSC 3897. São Paulo: **Apiáí:** MZUSP 3168, MNRJ 9478, 9912, 9966, MNRJ 9967, 9974, 9976, 9977, 9980, 9981, 9982, 9983 e 9985. **Bananal:** Estação Ecológica de Bananal. 22°47'S, 44°21'W. MZUSP 33708, 33709, 33710, EEB691, EEB646. **Capão Bonito:** Lira: RP 1888 e 1889. **Carlos Botelho:** MZUSP 32850, 32851 e 32854. **Cotia:** MZUSP 9759, 9772, 9777, 9798, 9857, 9879, 9882, 9884, 9900, 9915, 9917, 10200, 25295, 25296 e 25318. Caucaia do Alto: MAMustrangi 153, MZUSP 33172, 33173, 33174, 33175, 33176, 33177, 33178, 33179, 33180, 33181, 33182, 33183, 33184, 33185, 33186, 33187, 33188, 33189, 33190, 33191, 33192, 33193, 33194, 33195, 33196, 33197, 33198, 33199, 33200, 33201, 33202, 33203, 33204, 33205, 33206, 33207, 33208, 33209, 33210 e 33211. **Iguape:** MZUSP 26799. **Iporanga:** MZUSP 25755. **Itapetininga:** UFMG 182, MZUSP 1785, 1786, 1790 e 23967. **Itapevi:** Condomínio TranSurb: MHNCI 3603. **Itararé:** MZUSP 1124 e 1125. **Município indeterminado:** Rio Feio: MZUSP 1910, 1911 e 1947. **Piedade:** RP 217, 254 e 255, MZUSP 31079, 31140, 31168, 31169, 31175, 31181, 31191 e 31197. Alce: RP 2355. Baleia: RP 695. Cristo: RP 855 e 910. Eme: RP 829 e 2580. Estrada: RP 2752. Furnas: MZUSP 31089. Teomar: RP 2339. **Piquete:** NHM 16634. **Riacho Grande:** MZUSP 30672. Furnas: MZUSP 30666, 30687, 30704, 30707 e 30762. **Ribeirão Grande:** Boiadeiro: RP 133. Canaleta AB, C. C. Nassau: MHNCI 5623, 5624 e 5625. Canaleta T3,4: MHNCI 5606. Corrego Água Limpa, C. C. Nassau: MHNCI 5597, MHNCI 5636. Corrego Barracão, C. C. Nassau: MHNCI 5599 e 5600. Corrego Barracão: MHNCI 4781. Corrego Fernandes, C. C. Nassau: MHNCI 5596. Fazenda Intervalles, Base da Bocaina: MZUSP 27253 e 27254. Fazenda Intervalles, Base do Carmo: MAMustrangi 312, MVZ/Berkeley 182083, MZUSP 27252. Fazenda Intervalles, Sede: MZUSP 27250 e 27251. Mato da Mina, C. C. Nassau: MHNCI 5635. Moacir: RP 2045. Mulheres: RP 333. Museros: RP 323. Paraguai: RP 1263. **Ribeirão Pires:** MZUSP 584. **Salesópolis:** Boracéia, Estação Biológica de Boracéia do Museu de Zoologia da USP: MAMustrangi 423, MZUSP 9470, 9727, 9740, 9741, 9887, 9888, 10201, 10368, 10820, 20575, 20578, 20579, 21930, 21956, 22467, 23933, 23934, 23945, 23949, 25511, 32035 e 32036. Casa

Grande, Biritiba-Mirim: MZUSP 11065, 11443, 20572, 21919, 21924, 21938, 25370, 25372 e 27407. Casa Grande: UFMG 132, 145, 168, 174 e 871. **Salto Grande do Rio Paranapanema:** Fazenda Caioá: MZUSP 1273. **Teodoro Sampaio:** MZUSP 25324. **Ubatuba:** Ilha do Mar Virado: AUC 164 e 165. **PARAGUAI:** Amambay: **Cerro Corá:** 4 km by road SW: UMMZ 125457. Canendiyu: **Canendiyu:** GD 100, UMMZ 175079. Itapúa: **San Rafael:** 3.5 km E: UMMZ 126007. **Orillas del Rio Tebicuary:** UMMZ 174974. Misiones: **Ayolas:** 5 km ENE: UMMZ 125458 e 125459. **Centu-Cue:** GD 007, 027, 255, 273, 274, 304 e 306, UMMZ 174817, 174818, 174834, 175068, 175069, 175070, 175071, 175082 e 175083. **Costa del Rio Tebicuary:** UMMZ 174989. **Junção dos rios Iguazu e Yaqueri:** MCZ 28625. **Orillas del Rio Tebicuary:** UMMZ 174870. **San Antonio:** 2.7 km N: UMMZ 124196, 124198, 124201, 124201, 124202, 124204, 124205 e 124206, MVZ 169997. **San Ignacio:** NMNH 390129, 390130 e 390131. Ñeembucú: **Yacare:** UMMZ 174845. Paraguarí: **Costa del Rio Tebicuary:** GD 554, UMMZ 174980, 174984 e 174987. **Costa norte:** GD 552, 560, 536, 537, 543 e 544, UMMZ 174979, 174982, 175098 e 175099. **Paraguari:** GD 038, 050, 052, 059, 062, 257, 265, 266 e 285, UMMZ 175074, 175075, 175076, 175077, 175078, 175080 e 175081. **Sapucay:** MCZ 21737, MZUSP 2372, NHM 41524 e 172968. San Pedro: **Gan. La Carolina:** GD 370, 371, 372, 374, 375 e 376, UMMZ 174908.

REFERÊNCIAS

AB'SABER A.N. Os domínios morfoclimáticos na América do Sul. Primeira aproximação. **Geomorfologia**, São Paulo, v. 52, p. 1-21, 1977.

ALHO, C.J.R.. Brazilian rodents: their habitats and habits. **Pymatuning Laboratory of Ecology Special Publications**, Pittsburgh, v. 6, p. 143-166, 1982.

ALMEIDA, F.C.; BONVICINO, C.R.; CORDEIRO-ESTRELA, P. Phylogeny and temporal diversification of *Calomys* (Rodentia, Sigmodontinae): Implications for the biogeography of an endemic genus of the open/dry biomes of South America. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, Orlando, v. 42, p. 449-466, 2007.

AMORIN, D. **Fundamentos de sistemática filogenética**. Ribeirão Preto: Holos, 2002. 152 p.

ANDRADES-MIRANDA, J. ZANCHIN, N.I.T.; OLIVEIRA, L.F.B.; LANGGUTH, A.; MATTEVI, M. S. Cytogenetic studies in nine taxa of the genus *Oryzomys* (Rodentia, Sigmodontinae) from Brazil. **Mammalia**, Paris, v. 65, n. 4, p. 461-472, 2000.

AULER, A.S.; PILÓ, L.B.; SMART, P.L. WANG, X.; HOFFMANN, D.; RICHARDS, D.A. EDWARDS, R.L.; NEVES, W.A.; CHENG, H. U-series dating and taphonomy of Quaternary vertebrates from Brazilian caves. **Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology**, Amsterdam, v. 240, p. 508-522, 2006.

ÁVILA-PIRES, F.D. Roedores colecionados na região de Lagoa Santa, Minas Geras, Brasil. **Arquivos do Museu Nacional**, Rio de Janeiro, v. 50, p. 25-45, 1960.

AVISE, J.C. **Phylogeography**. Cambridge: Harvard University Press, 2000. 445 p.

AVISE, J.C.; ARNOLD, J.; BALL, BERMINGHAM, E.; LAMB, T.; NEIGEL, J.E.; REEB, C. A. ; SAUNDERS, N.C. Intraspecific phylogeography: The mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. **Annual Review of Ecology and Systematics**, Palo Alto, v. 18, p. 489-822, 1987.

BANDELT, H.J.; FORSTER, P.; RÖHL, A. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. **Molecular Biology and Evolution**, Chicago, v. 16, n. 1, p. 37-48, 1999.

BLACKBURN, T.M.; GASTON, K.J.; LODER, N. Geographic gradients in body size: a clarification of Bergmann's rule. **Diversity and Distributions**, Oxford, v. 5, p. 165-174, 1999.

BONVICINO C.R. A new species of *Oryzomys* (Rodentia, Sigmodontinae) of the subflavus group from the Cerrado of Central Brazil. **Zeitschrift für Säugertierkunde**, Berlin, v. 68, n. 2, p.78-90, 2003.

BONVICINO, C.R. ; MOREIRA, M.A.M. Molecular phylogeny of the genus *Oryzomys* (Rodentia: Sigmodontinae) based on Cytochrome *b* DNA Sequences. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, Chicago, v. 18, n. 2, p. 282-292, 2001.

BONVICINO, C.R.; GONÇALVES, P.R.; OLIVEIRA, J.A.; OLIVEIRA, L.F.B.; MATTEVI, M. S. Divergence in *Zygodontomys* (Rodentia: Sigmodontinae) and Distribution of Amazonian Savannas. **Journal of Heredity**, Washington, v. 100, n. 3, p. 322-328, 2009.

BRANDT, R.S.; PÊSSOA, L.M. Intrapopulacional variability in cranial characters of *Oryzomys subflavus* (Wagner, 1842) (Rodentia: Cricetidae), in northeastern Brazil. **Zoologischer Anzeiger**, Jena, v. 233, n. 1/2, p. 45-55, 1994.

BRENNAND, P.G.B. **Variação geográfica do gênero *Hylaeamys* Weksler, Percequillo, Voss (2006) (Cricetidae: Sigmodontinae) na Floresta Atlântica**. 2010.127p. . Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas, Zoologia) – Departamento de Sistemática e Ecologia, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2010.

CÁCERES, N. Semideciduous atlantic forest mammals and the role of the Paraná river as a riverine barrier. **Neotropical Biolgy and Conservation**, São Leopoldo, v. 2, n. 2, p. 84-89, 2007.

CADENA, C.D.; CUERVO, A.M. Molecules, ecology, morphology, and songs in concert: How many species is *Arremon torquatus* (Aves: Emberizidae)? **Biological Journal of Linnean Society**, London, v. 99, n. 1, p. 152-176, 2010.

CARLETON, M.D.; MUSSER, G.G. Systematic studies of oryzomyine rodents (Muridae, Sigmodontinae): a synopsis of *Microryzomys*. **Bulletin of the American Museum of Natural History**, New York, v. 191, p. 1-83, 1989.

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

COSTA, L.P.; LEITE, Y.L.R. ; PATTON, J.L. Phylogeography and systematic notes on two species of gracile mouse opossums, genus *Gracilinanus* (Marsupialia: Didelphidae) from Brazil.

Proceedings of the Biological Society of Washington, Washington, v. 116, n. 2, p. 275-292, 2003.

D'ELÍA, G. **Testing patterns and processes of diversification of a south american group of land mammals (Rodentia, Cricetidae, Sigmodontinae)**. 2002.174p. Tese (Doutorado em Biologia) - Department of Ecology and Evolutionary Biology, University of Michigan, Ann Arbor, Michigan, 2002.

DE LA SANCHA, N.; D'ELÍA, G.; NETTO, F.; PÉREZ, P.; SALAZAR-BRAVO, J. Discovery of *Juliomys* (Rodentia, Sigmodontinae) in Paraguay, a new genus of Sigmodontinae for the country's Atlantic Forest. **Mammalia**, New York, v. 73, p. 162-167, 2009.

DE OLIVEIRA P.E.; BEHLING, H.; LEDRU, M. P.; BARBIERI, M.; BUSH, M.; SALGADO-LABOURIAU, M.L.; GARCIA, M.J.; MEDEANIC, S.; BARTH O.M.; BARROS M.A.; SCHEEL-YBERT, R. Paleovegetação e paleoclimas do quaternário do Brasil. In: SOUZA, C.R.G.; SUGUIO, K.; SANTOS, A.M.; OLIVEIRA, P.E. **Quaternário do Brasil**. Ribeirão Preto:Holos, 2005. p. 52-74.

EMMONS, L.H.; PATTON, J.L. A new species of *Oryzomys* from eastern Bolivia. **American Museum Novitates**, New York, v. 3478, p. 1–26, 2005.

EVA, H.D.; DE MIRANDA, E.E.; DI BELLA, C.M.; GOND, V.; HUBER, O.; SGRENZAROLI, M.; JONES, S.; COUTINHO, A.; DORADO, A.; GUIMARÃES, M.; ELVIDGE, C.; ACHARD, F.; BELWARD, A.S.; BARTHOLOME, E.; BARALDI, A.; DE GRANDI, G.; VOGT, P.; FRITZ, S. ; HARTLEY, A. **A vegetation map of South America, EUR 20159** Italy:European Commission;Joint Research Centre, 2002. 1v.

EXCOFFIER L.; LAVAL G.; SCHNEIDER S. Arlequin ver. 3.0: an integrated software package for population genetics data analysis. **Evolutionary Bioinformatics Online**, v. 1, p. 47–50, 2005.

FELSENSTEIN, J. Evolutionary trees from DNA sequences: A maximum likelihood approach. **Journal of Molecular Evolution**, New York, v. 30, n. 6, p. 368-376, 1981.

FELSENSTEIN, J. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. **Evolution**, Lancaster, v. 39, n. 34, p. 783-791, 1985.

GASCON, C.; MALCOLM, J.R.; PATTON, J.L.; SILVA, M.N.F.; BOGART, J.P. LOUGHEED, S.C.; PERES, C.A.; NECKEL, S.; BOAG, P. T. Riverine barriers and the geographic distribution of Amazonian species. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 97, n. 5, p. 13672-13677, 2000.

GEISE, L.; SMITH, M.F.; PATTON, J.L. Diversification in the genus *Akodon* (Rodentia: Sigmodontinae) in southeastern south America: mitochondrial DAN sequence analysis. **Journal of Mammalogy**, Lawrence, v. 82, n. 1, p.92-101, 2001.

GILLESPIE, J.A. **Population genetics**: A concise guide. Baltimore: The Johns Hopkine University Press, 1998. 169 p.

GIULIETTI, A.M.; MENEZES, N.L.; PIRANI, J.R.; MEGURO, M.; WANDERLEY, M.G.L. Flora da Cerra do Cipó. **Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo**, São Paulo, v.9, p. 1-152, 1987.

GLOBAL GAZETTEER VERSION 2.1. Disponível em: <<http://www.fallingrain.com/world/>> Acesso em: 3 mai. 2009.

GOULD, S.J.; JHONSTON, R. F. Geographic variation. **Annual Review of Ecology and Systematics**, Palo Alto, v. 3, p. 457-498, 1972.

GRAZZIOTIN, F.G.; MONZEL, M.; ECHEVERRIGARAY, S. ; BONATTO, S.L. Phylogeography of the *Bothrops jararaca* complex (Serpentes: Viperidae): past fragmentation and island colonization in the Brazilian Atlantic Forest. **Molecular Ecology**, Oxford, v. 15, p. 3969-3982, 2006.

GUINDON, S.; GASCUEL, O. A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood. **Systematic Biology**, Washington, v. 52, n. 5, p.696-704, 2003.

HALL, W.P. Chromosome variation, genomics, speciation and evolution in sceloporos lizards. **Cytogenetic and Genome Research**, Basel, v. 27, n. 2/4, p. 143-165, 2010.

HANSON, J.D.; BRADLEY, R.D. Molecular phylogenetics of Oryzomyini: does a multi-gene approach help resolve a systematic conundrum? No prelo.

HUELSENBECK, J.P.; CRANDALL, K.A. Phylogeny stimation and hypothesis testing using maximum likelyhood. **Annual Review of Ecology and Systematics**, Palo Alto, v. 28, p.437-466, 1997.

IRWIN, D.; KOCHER, T.D.; WILSON, A.C. Evolution of the cytochrome *b* gene of mammals. **Journal of Molecular Evolution**, New York, v. 32, p. 128-144, 1991.

JAYAT, J.P.; ORTIZ, P.E.; TETA, P.; PARDIÑAS, U.F.J.; D'ELÍA, G. Nuevas localidades argentinas para algunos roedores sigmodontinos (Rodentia:Cricetidae). **Mastozoológia Neotropical**, Mendoza, v. 13, n. 1, p. 51-67, 2006.

KIMURA, M. A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. **Journal of Molecular Evolution**, New York, v.16, p. 111-120, 1980.

LANGGUTH, A. ; BONVICINO, C.R. The *Oryzomys subflavus* species group, with description of two new species (Rodentia, Muridae, Sigmodontinae). **Arquivos do Museu Nacional**, Rio de Janeiro, v. 60, n. 4, p. 285-294, 2002.

LARA, M.C.; GEISE, L.; SCHNEIDER, C.J. Diversification of samll mammals in the Atlantic Forest of Brazil: Testing the Alternatives. **University of California Publications in Zoology**, Berkeley, v. 133, p. 311-333, 2005.

LEITE, Y.L.R. Evolution and Systematics of the Atlantic Tree Rats, Genus *Phyllomys* (Rodentia, Echimyidae), With Description of Two New Species. **University of Califórnia Publications in Zoology**, Berkeley, v. 132, p. 1-118, 2003.

LUNDBERG, J.G.; MARSHALL, L.G.; GUERRERO, J.; HORTON, B.; MALABARBA, M.C.S.L.; WESSELINGH, R. The stage for neotropical fish diversification: a history of neotropical south American rivers. In: MALABARBA, L.R., REIS, R.E.; VARI, R.P.; LUCENA, Z.M. ; LUCENA, C.A.S. (Ed.). **Phylogeny and classification of neotropical fishes**. Porto Alegre: Edipucrs, 1998. p. 13-48.

MANLY, B.J.F. **Métodos estatísticos multivariados**. Uma introdução. 3 ed. Porto Alegre, Bookman, 2008. 229 p.

MAYR, E. **Populações, espécies e evolução**. São Paulo: Companhia Editora Nacional;Editora da Universidade de São Paulo(EDUSP), 1977. 485p.

MEUDT, H.M.; LOCKHART, P.J.; BRYANT, D. Species delimitation and phylogeny of a New Zealand plant species radiation. **Evolutionary Biology**, New York, v. 9, n. 1, p.111, 2009.

MIRANDA, G.B.; ANDRADES-MIRANDA, J.; OLIVEIRA, L.F.B.; LANGGUTH, A. ; MATTEVI, M.S. Geographic Patterns of Genetic Variation and Conservation Consequences in Three South American Rodents. **Biochemical Genetics**, New York, v. 45, p. 839-856, 2007.

MIRANDA, G.B.; OLIVEIRA, L.F.B.; ANDRADES-MIRANDA, J.; LANGUTTH, A.; CALLEGARI-JAQUES, S.M.; MATTEVI, M. Phylogenetic and Phylogeographic Patterns in Sigmodontine Rodents of the Genus *Oligoryzomys*. **Journal of Heredity**, Washington, v. 100, n. 3, 309-321, 2009.

MONTES, M.A.; OLIVEIRA, L.F.B.; BONATTO, S.L.; CALLEGARI-JACQUES, S.M. ; MATTEVI, M.S. DNA sequence analysis and the phylogeographical history of the rodent *Deltamys kempfi* (Sigmodontinae, Cricetidae) on the Atlantic Coastal Plain of south of Brazil. **Journal of Evolutionary Biology**, Basel, v. 21, p. 1823-1835, 2008.

MUSSER, G.G. A Systematic Study of the Mexican and Guatemalan Gray Squirrel, *Sciurus aureogaster* F. Cuvier (Rodentia: Sciuridae). **Miscellaneous Publications, Museum of Zoology, University of Michigan**, Ann Arbor, v. 137, p. 1-112, 1968.

MUSSER, G.G.; CARLETON, M.D.; BROTHERS, E.M. ; GARDNER, A.L. Systematic studies of oryzomyine rodents (Muridae, Sigmodontinae): diagnoses and distributions of species formerly assigned to *Oryzomys* “capito”. **Bulletin of the American Museum of Natural History**, New York, v. 236, p. 1-376, 1998.

MYIAKI, C.Y.; RUSSO, C.A.M.; PEREIRA, S.L. Reconstrução Filogenética. Introdução e o método da máxima parcimônia. In: MATIOLI, S. R. **Biologia Molecular e Evolução**. Ribeirão Preto: Holos, 2001. p. 97-107.

NGA GEONet Names Service. Disponível em:<<http://earth-info.nga.mil/gns/html/index.html>> Acesso em: 26 jul 2010.

OLMOS, F. Observations on the behavior and population dynamics of some Brazilian Atlantic Forest rodents. **Mammalia**, Paris, v. 55, n. 4, p.555–565, 1991.

PADIAL, J.M.; CASTROVIEJO-FISHER, S.; KÖLER, J.; VILÀ, C.; CHAPARRO, J.C.; DE LA RIVA, I. Deciphering the products of evolution at the species level: the need for an integrative taxonomy. **Zoologica Scripta**, Stockholm, v. 38, n. 4, p. 331-447, 2009.

PALMA, R.P.; RIVERA-MILLA, E.; SALAZAR-BRAVO, J.; TORREZ-PEREZ, F.; PARDIÑAS, U.; MARQUET, P.A.; SPOTORNO, A.E.; MEYNARD, A.P.; YATES, T.L. Phylogeography of *Oligoryzomys longicaudatus* (Rodentia: Sigmodontinae) in temperate South America. **Journal of Mammalogy**, Lawrence, v. 86, n. 1, p. 191-200, 2005.

PARDIÑAS, U.F.J. A new genus of Oryzomyine rodent (Cricetidae: Sigmodontinae) from the Pleistocene of Argentina. **Journal of Mammalogy**, Lawrence, v. 89, n. 5, p. 1270-1278, 2008.

PARDINI, R.; UMETSU, F. Pequenos mamíferos não-voadores da Reserva Florestal do Morro Grande – distribuição das espécies e da diversidade em uma área de Mata Atlântica. **Biota Neotropica**, Campinas, v. 6, n. 2, p. 1-22, 2006.

PATTON, J. L.; JUCKABY, D.G.; ÁLVAREZ-CASTAÑEDA, T. The evolutionary history and a systematic revision of woodrats of the *Neotoma lepida* group. **University of California Publications in Zoology**, Berkeley, v. 135, p. 1-411, 2007.

PATTON, J.L.; MYERS, P.; SMITH, M.F. Vicariant versus gradient models of diversification: The small mammal fauna of eastern Andean slopes of Peru. In: PETERS, G. ; HUTTERER, R. (Ed.). **Vertebrates in the tropics**. Bonn: Museum Alexander Koenig, 1990. p. 355-371.

PATTON, J.L., DA SILVA, M.N.F. ; MALCOLM, J.R. Gene genealogy and differentiation among arboreal spiny rats (Rodentia: Echimididae) of the Amazon basin: a test of the riverine barrier hypothesis. **Evolution**, Lancaster, v. 48, n. 4, p. 1314-1323, 1994.

PATTON, J.L.; DA SILVA, M.N.F. ; MALCOLM, J.R. Hierarchical genetic structure and gene flow in three sympatric species of Amazonian rodents. **Molecular Ecology**, Oxford, v. 5, p. 229-238, 1996.

PATTON J.L., DA SILVA M.N.F. ; MALCOM, J.R. Mammals of the Rio Juruá and the evolutionary and ecological diversification of Amazonia. **Bulletin of the American Museum of Natural History**, New York, v. 244, p. 1–306, 2000.

PAYNTER, R.A., **Ornithological Gazetteer of Argentina**. Cambridge: Bird Department, Museum of Comparative Zoology, Harvard University, 1985. 1043 p.

PAYNTER, R.A., **Ornithological Gazetteer of Paraguay**. Cambridge, Bird Department, Museum of Comparative Zoology, Harvard University, 1989. 59 p.

PAYNTER, R.A.; TRAYLOR, M.A. **Ornithological Gazetteer of Brazil**. Cambridge, Bird Department, Museum of Comparative Zoology, Harvard University, 1991. 2v. 788p.

PEARSON, O.P.; SMITH, M.F. Genetic similarity between *Akodon olivaceus* and *Akodon xanthorhinus* (Rodentia: Muridae) in Argentina. **Journal of Zoology**, London, v. 247, p. 43-52, 1999.

PELLEGRINO, K.C.M.; RODRIGUES, M.T.; WAITE, A.N.; MORANDO, M.; YONENAGA-YASSUDA, Y ; SITES JR, J.W. Phylogeography and species limits in the *Gymnodactylus darwinii* complex (Gekkonidae, Squamata): genetic struture coincides with river systems in the Brazilian Atlantic Forest. **Biological Journal of the Linnean Society**, London, v. 85, p. 13-26, 2005.

PERCEQUILLO, A.R. **Sistemática de *Oryzomys* Baird, 1858 do leste do Brasil (Muroidea, Sigmodontinae)**. 1998. 2 v. 434p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas, Zoologia) – Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1998.

PERCEQUILLO, A.R. **Sistemática de *Oryzomys* Baird, 1858: definição dos grupos de espécies e revisão taxonômica do grupo albigularis (Rodentia, Sigmodontinae)**. 2003. 434p. Tese (Doutorado em Zoologia) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

PERCEQUILLO, A.R., HINGST-ZAHER, E. ; BONVICINO, C.R. Systematic review of genus *Cerradomys* Weksler, Percequillo ; Voss, 2006 (Rodentia: Cricetidae: Sigmodontinae: Orizomyini), with description of two new species from Eastern Brazil. **American Museum Novitates**, New York, v. 3622, p. 1-46, 2008.

PERCEQUILLO, A.; WEKSLER, M.; COSTA, L.P. **Zoological Journal of Linnean Society**. no prelo.

PEREIRA, S.L.; MYIAKI, C.Y.; RUSSO, C.A.M. Reconstrução filogenética: métodos probabilísticos. In: MATIOLI, S. R. **Biologia molecular e evolução**. Ribeirão Preto: Holos, 2001. p. 117-129.

PERINI, M.V.; WEIMER, T.A.; CALLEGARI-JAQUES, S.M.; MATTEVI, M.S. Biochemical polymorphisms and genetic relationships in rodents of the genera *oryzomys* and *Oligoryzomys* (Sigmodontinae) From Brazil. **Biochemical Genetics**, New York, v. 42, n. 9/10, p. 317-329, 2004.

POSADA, D. Modeltest server: a web-based tool for the statistical selection of models of nucleotide substitution online. **Nucleic Acids Research**, Oxford, v. 34, p. 700-703, 2006.

POSADA, D.; CRANDALL K.A. Modeltest: testing the model of DNA substitution. **Bioinformatics**, Oxford, v. 14, n. 9, p. 817-818, 1998.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2005. 2576 p.

RODRÍGUEZ-SERRANO, E.; CANCINO, R.A. ; PALMA, E. Molecular phylogeography of *Abrothrix olivaceus* (Rodentia: Sigmodontinae) in Chile. **Journal of mammalogy**, Lawrence, v. 87, n. 5, p. 971-980, 2006.

ROGERS, A.R.; HARPENDING, H. Population Growth Makes Waves in the distribution of Pairwise Genetic Differences. **Molecular Biology and Evolution**, Chicago, v. 9, n. 3, p. 552-569, 1992.

ROZAS, J.; SÁNCHEZ-DELBARRIO, J.C.; MESSEGUER, X. ; ROZAS, R. DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods. **Bioinformatics**, Oxford, v. 19, n. 18, p. 2496-2497, 2003.

RUSSO, C.A.M.; MYIAKI, C.Y.; PEREIRA, S.L. Reconstrução filogenética: Métodos geométricos. In: MATIOLI, S. R. **Biologia molecular e evolução**. Ribeirão Preto: Holos, 2001. p. 108-116.

SCHNEIDER, H. **Métodos de análise filogenética**. Um guia prático. 3.ed. Ribeirão Preto, Holos, 2007. 200 p.

SILVA, M.J.J. **Estudos cromossômicos e de complexos sinaptonêmicos em roedores brasileiros da tribo Oryzomyini (Cricetidae, Rodentia)**. 1994. 142p. Dissertação (Mestrado em Biologia, Genética) – Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1994.

SILVA, M.N.F. ; PATTON, J.L. Molecular phylogeography and the evolution and conservation of Amazonian mammals. **Molecular Ecology**, Oxford, v.7, p. 475-486, 1998.

SITES, J.W. JR.; MARSHALL, J.C. Operational criteria for delimiting species. **Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics**, Palo Alto, v. 35, p. 199-227, 2004.

SLATIKIN, M. ; HUDSON, R.R. Pairwise Comparisons of Mitochondrial DNA Sequences in Stable and Exponentially Growing Population. **Genetics**, Austin, v. 129, p. 555-562, 1991.

SMITH, M.F. ; PATTON, J.L. The diversification of South American murid rodents: evidence from mitochondrial DNA sequence data for akodontini tribe. **Biological Journal of Linnean Society**, London, v. 50, p. 149-177, 1993.

SMITH, M.F.; KELT, D.A.; PATTON, J.L. Testing models of diversification in mice in the *Abrothrix olivaceus/xanthorhinus* complex in Chile and Argentina. **Molecular Ecology**, Oxford, v. 10, p. 397-405, 2001.

SUGUIO, K.; MARTIN, L; BITTENCOURT, A.C.S.P.; DOMINGUEZ, J.M.L.; FLEXOR, J.M.; AZEVEDO, A.E.G. Flutuações do nível relativo do mar durante o quaternário superior ao longo do litoral brasileiro e suas implicações na sedimentação costeira. **Revista Brasileira de Geociências**, São Paulo, v. 15, n. 4, p. 273-286, 1985.

TAMURA, K.; DUDLEY, J.; NEI, M.; KUMAR, S. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) Software Version 4.0. **Molecular Biology and Evolution**, Chicago, v. 24, n. 8, p. 1596-1599, 2007.

TEMPLETON A.R., ROUTMAN E. ; PHILLIPS C.A. Separating population structure from population history: a cladistic analysis of the geographical distribution of mitochondrial DNA haplotypes in the tiger salamander, *Ambystoma tigrinum*. **Genetics**, Austin, v. 140, p. 767-782, 1995.

TETA, P.; PARDIÑAS, U.F.J.; ANDRADE, A. ; CIRIGNOLI, S. Distribución de los géneros *Eurioryzomys* y *Sooretamys* (Rodentia, Cricetidae) em Argentina. **Mastozoología Neotropical**, Mendoza, v. 14, n. 2, p. 279-284, 2007.

THOMAS, O. The geographical races of *Oryzomys ratticeps*. **Annals and Magazine of Natural History**, London, v.9, n. 14, p. 143-144, 1924.

THORNTON, J.W.; KOLACZKOWSKI, B. No magic pill for phylogenetic error. **Trends in Genetics**, London, v. 21, n. 6, p. 310-311, 2005.

VANZOLINI, P.E. **Zoologia sistemática, geografia e a origem das espécies**. Série Teses e Monografias. Instituto de Geografia da USP. São Paulo, 1970. 56 p.

VIVO, M.; CARMIGNOTTO, A.P. Holocene vegetation change and the mammal faunas of South America and Africa. **Journal of Biogeography**, Oxford, v. 31, p. 943-957, 2004.

VOSS, R.S. An introduction to the neotropical muroid rodent genus *Zygodontomys*. **Bulletin of the American Museum of Natural History**, New York, v. 210, p. 1-113, 1991.

VOSS, R.S.; MARCUS, L.F. Morphological evolution in muroid rodents II. Craniometric factor divergence in seven neotropical genera, with Eeperimental results from *Zygodontomys*. **Evolution**, Lancaster, v. 46, n. 6, p. 1918-1934, 1992.

VOSS, R.S.; MARCUS, L.F.; ESCALANTE, P. Morphological Evolution in Muroid Rodents I. Conservative Patterns of Craniometric Covariance and Their Ontogenetic Basis in the Neotropical Genus *Zygodontomys*. **Evolution**, Lancaster, v. 44, n. 6, p. 1568-1587, 1990.

WAKELEY, J. Inferences about the structure and history of populations: coalescents and intraspecific phylogeography. In: SINGH, R.K. ; UYENOYAMA, M.K. **The Evolution of Population Biology**. Cambridge: Cambridge University Press, 2003.p. 193-215.

WEKSLER, M.,. **Revisão sistemática do grupo de espécies *nitidus* do gênero *Oryzomys* (Rodentia: Sigmodontinae)**. 1996. 210 p. Dissertação (Mestrado na área de Zoologia) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1996.

WEKSLER, M. Phylogenetic relationships of the oryzomine rodents (Muroidea: Sigmodontinae): separate and combined analyses of morphological and molecular data. **Bulletin of the American Museum of Natural History**. New York, v. 296, p. 1-149, 2006.

WEKSLER, M., PERCEQUILLO, A.R.; VOSS, R.S. Ten new genera of orizomine rodents (Cricetidae: Sigmodontinae). **American Museum Novitates**. New York, v. 3537, p.1-29, 2006.

APÊNDICES

APÊNDICE A- LISTA DE LOCALIDADES

ARGENTINA

Chaco

1. General Vedia, Bermejo. 26°56' S, 58°40' W.

Corrientes

2. Santa Tecla, Ruta Nacional 12, km 1287, Departamento Ituzaingó. 27°38' S, 56°22' W.
3. Santa Tecla, Ituzaingó. 27°37'48"S, 56°22'12"W. (Teta et al., 2007).

Entre Ríos

4. Isla El Chapetón, Paraná. 31°33' S, 60°17' W. (Teta et al., 2007).

Formosa

5. Estancia Guaycolec, Formosa. 25° 58'S, 58° 10' W. (Teta et al., 2007).
6. Paso Pomelo, Parque Nacional Pilcomayo. 25°12'S, 58°00'W.

Misiones

7. 30 km de Puerto Bemberg, Rio Uruguay (Rio Urugua-í). 25°58' S, 54°12' W.
8. 60 km de Puerto Iguazú, Rio Iguazú. 25°36' S, 54°11' W.
9. Apóstoles, Apóstoles. 27°55'S, 55°45' W.
10. Arroyo Oveja Negra, en la intersección con la ruta 21, Parque Provincial Moconá, Guaraní. 27°22' S, 54°12' W.
11. Arroyo Paraíso, en la intersección con la ruta 2, Guaraní. 27°16' S, 54°04' W.
12. Arroyo Uruguay, Departamento General Belgrano. 26° 08' S, 53° 55' W.
13. Arroyo Uruzú, Sierra Victoria, General Manuel Belgrano. 25°55'S, 54°17'W. (Teta et al., 2007)
14. Arroyo Yabebyri, Candelaria. 27°17' S, 55°31' W.
15. Balneário de Azara, Azara. 28° 04' S, 55° 42' W.
16. Bonpland, Candelaria. 27°29' S, 55°28' W.
17. Campo Ramón, Oberá. 27°28' S, 54°59' W.
18. Centro de Investigaciones Ecológicas Subtropicales, Parque Nacional Iguazú, Iguazú. 25° 41' S, 54°26' W.
19. Cuartel Río Victoria, Guaraní. 26°46' S, 54°18' W,
20. Dos de Mayo, Departamento Cainguás. 27° 02' S, 54° 39' W.
21. El Dorado, El Dorado. 26°24' S, 54°34' W.

22. Escuela, 51, 4 km N de Loreto, Candelaria. 27°19' S, 55°32' W.
23. Establecimiento San Jorge, Iguazú. 25°52' S, 54°22' W. (Coordenadas do Departamento de Iguazú).
24. Gobernador J. J. Lanusse, Iguazú. 25°28' S, 54°16' W.
25. Junção dos rios Iguazú e Alto Paraná, Puerto Aguirre, J. L. Peters (col.), julho de 1920, MCZ. 25°36' S, 54°35' W.
26. Misiones. 27°00' S, 55°00' W.
27. Puerto Península, Iguazú. 25° 41'S, 54° 39'W. (Teta et al., 2007)
28. Puerto Schwuelm, El Dorado. 26°26' S, 54°41' W.
29. Reserva de Usos Múltiples Valle del Cuña Pirú, Cainguás-Libertador General San Martín. 27°05' S, 54°57' W. (Teta et al., 2007).
30. Reserva Privada de Vida Silvestre Urugua-í, General Manuel Belgrano. 25°59' S, 54°05' W. MACNBR 22263 (Teta et al., 2007).
31. Rio Paraná, 100 mi S do Rio Iguassú, Caraguatay, C. C. Sanborn (col.), Setembro de 1926. 26°37' S, 54°46' W.
32. Rio Uruguay. Ao norte da Província de Misiones, Rio Uruguay é um tributário da margem esquerda do Rio Paraná. 25° 54' S, 54° 36' W.
33. San Pedro, Departamento San Pedro. 26° 38' S, 54° 08' W.
34. Sendero Macuco, Parque Nacional Iguazú, Iguazú. 25°41' S, 54°26' W. (Teta et al, 2007)
35. Sendero Yacaratiá, Parque Nacional Iguazú, Iguazú. 25°41'S, 54°26'W. (Teta et al, 2007)
36. Tobuna, Depto. San Pedro. 26°28'S, 53°54'W.
37. Yriguay, 30 km de Puerto Libertad, Iguazú. 26°06'S, 54°33'W.

BRASIL

Espírito Santo

38. Hotel Fazenda Monte Verde, 24 km SE de Venda Nova. ca. 20°28' S, 40°56' W.
39. Serra do Caparaó, Fazenda Cardoso; 3360 ft, E. G. Holt (col.), 17.July, 1922, AMNH *Sooretamys angouya*. 20° 22' S, 41° 48' W

Minas Gerais

40. Alto da Consulta, Poços de Caldas. Não localizado. Ver coordenadas de Poços de Caldas.
41. Boca da Mata, 104 km N de Lagoa Santa, Conceição do Mato Dentro. 19° 37' S, 43° 53' W. Localidade tipo de *Calomys rex*.
42. Morro do Ferro, Poços de Caldas. Não localizado. Ver coordenadas de Poços de Caldas.
43. Passos. 20°42' S, 46°36' W.

44. Poços de Caldas, 21°47'S, 46°34'W.
 45. Posses, 13 km SE de Itanhandú. 22°22' S, 44°51' W.

Paraná

46. Anhangava, Quatro Barras. 25°23'16,67" S, 49°00'8,14" W.
 47. Barragem U.H.E. Segredo, Mangueirinha (= Barragem U.H.E. Segredo, Copel, Pinhão). 25°48'S, 52°07'W.
 48. Fazenda Cagibi, Fênix. 27°19'S, 50°18'W.
 49. Foz do Rio Caçadorzinho, Mangueirinha. 27°19'S, 50°18'W.
 50. Foz do Rio Capoteiro, Pinhão. 25°52'S, 52°10'W.
 51. Guaricana, São José dos Pinhais. 25°43'S, 48°58'W.
 52. Horto Barra Mansa, Arapoti. Não localizado. Arapoti é localizada em 24°10'S, 49°40'W.
 53. Horto São Nicolau, Arapoti. Não localizado. Arapoti é localizada em 24°10'S, 49°40'W.
 54. Mata dos Godoy, Londrina. 23°27'S, 51°16'W.
 55. P. E. Vila Velha, Ponta Grossa. 25°15'S, 50°02'W.
 56. P. M. do Cinturão Verde, Cianorte. 23°40'S, 52°38'W.
 57. Reserva, Pinhão. 25°43'S, 51°38'W.
 58. Rio Sagrado, Morretes. 25°05'S, 048°49'W.
 59. Taquari (Casa Garbers), Quatro Barras. 25°20'S, 48°50'W.
 60. U.H. Salto Caxias, Foz do Chopim, Cruzeiro do Iguaçu. 25°33'S, 53°06'W.
 61. Usina de Guaricana, São José dos Pinhais. 25°43'S, 48°58'W.
 62. Vila U.H.E. Segredo, Copel, Pinhão. 25°43'S, 48°58'W.

Rio de Janeiro

63. Fazenda Tenente, São João de Marcos. Not located. Rio Claro, 22°46'S, 44°01'W (Moojen, 1947).
 64. Pedra Branca, Parati. 23° 13' S, 44° 43' W.
 65. Teresópolis. 22°26' S, 42°59' W.

Rio Grande do Sul

66. 35 km NE de Cruz Alta. 28°26'S, 53°20'W.
 67. Aratiba, Três Barras, 3 m. da margem do R. Uruguai. ca. 27°19'S, 52°14'W.
 68. Arroio Grande. 32°14'S, 53°05'W.
 69. Boa Fé, Serafina Corrêa. Não localizado. Serafina Corrêa é localizada em 28°43' S, 51°56' W.
 70. Cachoeirinha. 29°57' S, 51°05' W.

71. Capão do Leão, Mostardas. 31°06'S, 50°55'W.
72. Caxias do Sul. 29°10' S, 51°11' W.
73. Cristal. 30°05', 51°14'W.
74. Cruz Alta (MCN). 28°39'S, 53°36'W.
75. Cruzeiro do Sul. 29°31' S, 51°59' W.
76. Distrito de Arroio do Padre, Pelotas. 31°27' S, 52°27' W.
77. Encruzilhada do Sul. 30°32' S, 52°31' W.
78. Faxinal, Norte da Lagoa Itapeva, Torres. 29° 22' S, 49° 48' W.
79. Fazenda Aldo Pinto, São Nicolau. 28°11'S, 55°16'W.
80. Guaporé. 28°51' S, 51°54' W.
81. Itapeva, Parque Estadual de Itapeva, Torres. 29°21'S, 49°45'W
82. Lagoa Emboaba, Osório. Não localizada. Osório está localizada em 29°53' S, 50°16' W.
83. Lajeado Grande, Alpestre. Não localizado. Alpestre está localizada em 27°15'S, 53°02'W.
84. Lajeado Grande, Rio dos Índios. Não localizado. Rio dos Índios é localizada em 27°19'S, 52°53'W.
85. Maquiné. 29°41' S, 50°11' W.
86. Mostardas. 31°10' S, 51°31'W.
87. Muitos Capões. 28°19' S, 51°11' W.
88. Nova Roma do Sul. 28°59' S, 51°24' W.
89. Osório. 29°53' S, 50°16' W.
90. Parque da Ferradura, Canela. 29°16' S, 50°50' W.
91. Pontal do Norte, Lagoa Palmital, Osório. 50°06' S, 29°50' W.
92. Pró-Mata, São Francisco de Paula. 29°27' S, 50°08' W.
93. Tainhas. 29° 16' S, 50° 18' W
94. Torres; 29°20' S, 49°43' W.
95. Tramandaí, Lenha Seca, Lagoa de Tramandaí (=Lenha Seca, O da Lagoa de Tramandaí). Não localizado. As coordenadas de Tramandaí são: 29°59' S, 50°08' W.
96. Vale da Encantada/Barra do Ouro, Maquiné. 29°33' S, 50°16' W .

Santa Catarina

97. Água Doce. 27°00' S; 51°33' W.
98. Barragem do Garcia, Angelina. Não localizado. Angelina é localizada em 27°35' S, 48°59' W.
99. Barragem do Rio São Bento, Siderópolis. Não localizado. Siderópolis está localizada em 28°35'S, 49°03'W.
100. Bugre, Três Barras. 26°04 S, 50°14 W.

101. Campo Belo do Sul. 27°54' S, 50°45' W.
102. Canteiro de Obras, PCH Alto Irani, Arvoredo. 27°00'S, 52°25'W.
103. Canteiro de Obras, PCH Plano Alto, Xavantina. 26°57'S, 52°20'W.
104. Estação Ecológica Bracinho/Piraí, Joinville. Não localizado. Joinville é localizada em 26°18' S; 48°50' W.
105. Fazenda Cerro Verde, São Cristóvão do Sul. 27°19'S, 50°18'W.
106. Fazenda Gateados, U. H. E. Barra Grande, Campo Belo do Sul. 27°54' S; 50°45' W.
107. Fazenda Sta. Alice, Rio Negrinho. 26°28'48"S. 49°30'06"W.
108. Floresta Nacional Três Barras. 26°12'S, 50°12'W.
109. Florianópolis. 27°36' S, 48°33' W.
110. Hotel Plaza Caldas da Imperatriz, Caldas da Imperatriz, Santo Amaro da Imperatriz. 27°40'S, 48°46'W.
111. Lagoa do Peri, Florianópolis. 27°43'S, 48°32'W.
112. Linha Voltão, Xaxim. Não localizado. Xaxim está localizada em 26°56'S, 52°31'W.
113. Mono, Parque das Nascentes, Indaial. 27°02'59,74006"S; 49°08'56,94765"W.
114. Parque Estadual da Serra do Tabuleiro, Santo Amaro da Imperatriz. 27°44'S, 48°49' W.
115. Pinheiro Alto, Anitápolis (=Pinheiros, Alto-Anitápolis). Não localizado. Anitápolis está localizada em 27°54'S; 49°08'W
116. Reserva Biológica Sassafrás, Dr. Pedrinho. 26°42' S; 49°40' W.
117. Reserva Particular do Patrimônio Natural Figueira Branca, Gasparinho, Gaspar. Não localizado. As coordenadas de Gaspar são 26°56'S; 48°58'W.
118. Ribeirão da Ilha, Ilha de Santa Catarina. 27°43' S, 48°35'W.
119. Roça de Repolho, Anitápolis. Não localizado. Anitápolis é localizada em 27°54'S; 49°08'W.
120. Terceira Vargem, Parque das Nascentes, Blumenau. 27°03'37" S; 49°06'43" W.
121. Três Barras. A localização correta para essa localidade é no município de Canoinhas, perto da Floresta Nacional de Três Barras. 26°06' S, 50°19' W. CIVI (IBGE, 1995a).
122. U. H. E. Itá. 27°16' S; 52°22' W.
123. U. H. E. Quebra Queixo, Rio Xapecó, São Domingos/Iguaçu (=Aheqq, São Domingos). 26°40' S; 53°33' W.
124. Vale do Espingarda, Parque das Nascentes, Indaial (=Parque das Nascentes, Sub-Sede) 27°01'26,84980" S; 49°09'13,07309" W.
125. Vale do IFC, Anitápolis. 27°54'S; 49°08'W.

126. Alce, Piedade. 66°16'29,608"S, 50°35'10,175"W.
127. Apiaí. 24°30' S, 48°51'W. CBM (IBGE, 1972).
128. Baleia, Piedade. 23°53'20"S, 47°27'35"W.
129. Bauru (Jacutinga). 22° 19' S, 49° 04' W
130. Boiadeiro, Ribeirão Grande. 24°05'44"S, 48°19'39"W.
131. Boracéia. Estação Biológica de Boracéia do Museu de Zoologia da USP, em Salesópolis (ver Travassos ; Camargo, 1958), 23°38'S, 45°52'W.
132. Canaleta AB, C. C. Nassau, Ribeirão Grande. Não localizado. Coordenadas do município de Ribeirão Grande. 24°05'57"S, 48°21'55"W.
133. Canaleta T3,4, Ribeirão Grande. Não localizado. Coordenadas do município de Ribeirão Grande. 24°05'57"S, 48°21'55"W.
134. Carlos Botelho 24°03'22"S, 47°49'34"W.
135. Casa Grande (MZUSP); Casa Grande, Salesópolis; Casa Grande, Biritiba-Mirim. 23°22'S, 45°56'W.
136. Casa Grande, Salesópolis. 23°22'S, 45°56'W.
137. Caucaia do Alto, Cotia, 23°42'S, 47°00'W.
138. Caucaia do Alto, SP. 23°41'00"S, 47°02'00"W.
139. Condomínio TranSurb, Itapevi. 23°35'09"S, 46°57'59"W.
140. Córrego Água Limpa, C. C. Nassau, Ribeirão Grande. Não localizado. Coordenadas do município de Ribeirão Grande. 24°05'57"S, 48°21'55"W.
141. Corrego Barracão, Ribeirão Grande (=Córrego Barracão, C. C. Nassau). Não localizado. Coordenadas do município de Ribeirão Grande. 24°05'57"S, 48°21'55"W.
142. Corrego Fernandes, C. C. Nassau, Ribeirão Grande. Não localizado. Coordenadas do município de Ribeirão Grande. 24°05'57"S, 48°21'55"W.
143. Cotia, 23°37' S, 46°56' W.
144. Cristo, Piedade. 23°50'58"S, 47°28'26"W.
145. Eme, Piedade. 23°52'33"S, 47°28'49"W.
146. Estação Ecológica do Bananal. 22°41'S, 44°19'W.
147. Estrada, Piedade. 23°52'26"S, 47°29'25"W.
148. Fazenda Intervalles (= Fazenda Intervalles, Sede) 24°16' S, 48°24' W.
149. Fazenda Intervalles, Base da Bocaina, 24°16'S, 48°27'W.
150. Fazenda Intervalles, Base do Carmo, 24°18' S, 48°24' W.
151. Furnas, Piedade. Não localizado. Coordenadas do município de Piedade 23°43'S, 47°24'W.
152. Furnas, Riacho Grande. Não localizado. Coordenadas do município de Riacho Grande. 23°48'S, 46°35'W.

153. Iguape, Costão dos Engenhos, 24°41' S, 47°28' W.
154. Ilha do Mar Virado, 23 34'S, 45 10'W.
155. Ipanema. 23° 26' S, 47° 36' W
156. Iporanga, 24°36' S, 48°35' W.
157. Itapetininga, 23°35' S, 48°03' W.
158. Itararé, 24°06' S, 49°20' W.
159. Lira, Capão Bonito. 24°2'27,64"S, 48°18'32,55"W.
160. Mato da Mina, C. C. Nassau, Ribeirão Grande. 24°05'57"S, 48°21'55"W. (Coordenadas do município).
161. Moacir, Ribeirão Grande. 24°13'24,32"S, 48°21'59,73"W.
162. Mulheres, Ribeirão Grande. 24°13'40"S, 48°23'18"W.
163. Museros, Ribeirão Grande. 24°13'40"S, 48°23'18"W.
164. Paraguai, Ribeirão Grande. 24°13'44"S, 48°23'23"W.
165. Paranapiacaba. 23° 47' S, 46° 19' W
166. Piedade, São Paulo. 23°43'S, 47°24'W.
167. Piquete, 600-900m, 22°36' S, 45°09' W. Localidade tipo de *Oryzomys ratticeps tropicius*.
168. Riacho Grande, SP. 23°48'S, 46°35'W.
169. Ribeirão Pires, 23°42' S, 46°24' W.
170. Rio Feio, 22°01' S, 49°39' W. Também chamado Rio Aguapeí; espécimes coletados próximo a Cancã (ver Pinto, 1945: 18).
171. Salto Grande do Rio Paranapanema, Fazenda Caioá. 22°56' S, 49°59' W.
172. Teodoro Sampaio, 52°10' S, 22°31' W.
173. Teomar, Piedade. 23°49'58"S, 47°26'44"W.

PARAGUAI

Amambay

174. 4 km by road SW Cerro Corá, circa 22°37' S, 55°59' W.

Caaguazu

175. Junção dos rios Yguazú e Yuqueri, D. Wees (col.), fevereiro de 1932, MCZ, 25°15' S, 55°39' W.

Canindeyú

176. Canindeyú. 24°15'14,33" S, 55°36'23,58" W.

Central

177. Jardim Botânico, Assunción. 25° 16' S, 57° 40' W

178. Trinidad, Leo E. Miller (col.), Nov, 9 1913, AMNH, *Sooretamys angouya*. 25° 15' S, 57° 38' W

Itapúa

179. 3,5 km E San Rafael, cerca 27°08' S, 56°21' W.

180. Orillas del Rio Tebicuary, 26° 45,713' S, 56° 33,332' W.

Misiones

181. 2,7 km por Estrada ao N de San Antonio, 26°41' S, 56°53' W. Localidade tipo de *Sooretamys angouya*.

182. Ayolas, 5 km by road ENE Ayolas. 27°24' S, 56°54' W.

183. Centu-Cue. 26°28'56,61" S, 56°57'40,83" W.

184. Costa del Rio Tebicuary, 26° 30,598' S, 57°14,000' W.

185. Orillas del Rio Tebicuary, 26°24,245' S, 57°02,761' W.

186. San Ignacio. 26°52' S, 57°03' W.

Ñeembucú

187. Yacare, Ñeembucu. 26°34'12" S, 58°7'12" W.

Paraguarí

188. Costa del Rio Tebicuary, 26°30,816' S, 57°14,444' W.

189. Costa Norte, Paraguari. 26°00' S, 57°10' W.

190. Paraguari. 25°38' S, 57°09' W.

191. Sapucay, 25°40' S, 56°55' W. USBGN (1957). Localidade tipo de *Oryzomys ratticeps paraganus*.

San Pedro

192. Gan. La Carolina, 23°54'21,52" S, 56°36'31,40" W.

APÊNDICE B -PROTOCOLO DE EXTRAÇÃO (ACETATO DE AMÔNIA)

Tecidos em etanol: eliminação do álcool: pressione o tecido em papel absorvente; colocar em bomba de vácuo por 5 minutos ou até o tecido ficar seco.

- 1. Macerar** o tecido em **300 µl de solução de lise**.
- 2. Adicionar 3 µl de Proteinase-K** (20mg/ml). **Inverter** o tubo de 10 a 20 vezes e **incubar a 55 °C** overnight ou até que o tecido esteja completamente diluído.
- 3. Resfriar** as amostras à temperatura ambiente e **adicionar 300 µl de acetato de amônia**. **Vortexar e incubar** no gelo por 30 minutos.
- 4. Centrifugar por 10 minutos** (13.000 rpm). **Transferir** o sobrenadante para tubos novos.
- 5. Adicionar 300 µl de isopropanol absoluto** e **inverter** o tubo gentilmente. Para tecidos com baixo rendimento de extração, coloque as amostras a -20 °C overnight para ajudar na precipitação.
- 6. Centrifugar por 10 minutos** (13.000 rpm) e **descartar** o sobrenadante. **Adicionar 700µl de etanol 70%** e **inverter** o tubo várias vezes para lavar o pellet de DNA.
- 7. Centrifugar por 10 minutos** (13.000 rpm). **Descartar** o etanol cuidadosamente. Inverter o tubo em papel absorvente e **secar o pellet** em bomba de vácuo por 30 minutos ou à temperatura ambiente overnight. Importante! Assegure-se que não haja etanol no pellet.
- 8. Ressuspender** o DNA em **1×TLE** (25 a 200 µl) overnight à temperatura ambiente ou a 37 °C. Estocar em geladeira (2 a 8 °C).

Solução de lise celular (pH 8)

1,21g de Tris base (10mM)
37,4g de EDTA (100mM)
20g de SDS (2%)
1 litro de H₂O miliQ

Solução de TLE (pH 8)

1,21g de Tris base (10mM)
0,0374g de EDTA (0,1mM)
1 litro de H₂O miliQ

Acetato de Amônio

500g de NH₄C₂H₃O₂
865 ml de H₂O millQ

ANEXOS

ANEXO A - FIGURA

Figura 1 – Limites das 18 dimensões cranianas e dentárias empregadas nas análises quantitativas. Superior esquerda e inferior MZUSP 21919 e superior direita MZUSP 1790

Figura 2 – Exemplos de classes etárias relativas baseadas no desgaste dos molares superiores. Da esquerda para a direita: classe etária 1 (MZUSP 10368, Boraceia, localidade 131), classe etária 2 (MZUSP 9777, Cotia, localidade 143), classe etária 3 (MZUSP 27254, Faz. Intervales, Base Bocaina, localidade 149) e classe etária 4 (MZUSP 10200, Cotia, localidade 143)

Figura 3 – Localidades amostradas nas análises moleculares

Figura 4 – Representação esquemática do fragmento do gene mitocondrial do citocromo b utilizado no presente estudo

Figura 5 – Localidades de registro de *Sooretamys angouya*.

Figura 6 – Denominação das localidades de registro de *Sooretamys angouya* na região Sudeste do Brasil. Os números correspondem aos apresentados na lista de localidades do apêndice A

Figura 7 – Localidades de registro de *Sooretamys angouya* na região Sul do Brasil, Paraná e Santa Catarina e Paraguai. Os números correspondem aos apresentados na lista de localidades do apêndice A

Figura 8 – Localidades de registro de *Sooretamys angouya* na região Sul do Brasil, Rio Grande do Sul, e Argentina. Os números correspondem aos apresentados na lista de localidades do apêndice A

Figura 9 – Delimitação dos agrupamentos. A denominação às quais se referem os números romanos, bem como as localidades as quais compõem os agrupamentos, está na tabela 1

Figura 10 – Coloração dorsal em 14 amostras (algarismos romanos) de *Sooretamys angouya*. Números arábicos representam o número amostral, números romanos representam o agrupamento

Figura 11 – Coloração ventral 15 amostras (algarismos romanos) de *Sooretamys angouya*. Números arábicos representam o número amostral, números romanos representam os agrupamentos

Figura 12 – Uniformidade da coloração da cauda em 13 amostras (algarismos romanos) de *Sooretamys angouya*. Números arábicos representam o número amostral, números romanos representam os agrupamentos

Figura 13 – Comprimento dos tufos ungueais em 12 amostras (algarismos romanos) de *Sooretamys angouya*. Números arábicos representam o número amostral, números romanos representam os agrupamentos

Figura 14 – Coloração da porção dorsal dos pés em 10 amostras (algarismos romanos) de *Sooretamys angouya*. Números arábicos representam o número amostral, números romanos representam os agrupamentos

Figura 15 – Comprimento do forâmen incisivo em relação ao alvéolo do M1 em 10 amostras de *Sooretamys angouya*. Números arábicos representam o número amostral, números romanos representam os agrupamentos

Figura 16 – Comprimento do forâmen incisivo em relação ao alvéolo do M1 em 10 amostras de *Sooretamys angouya*. Números arábicos representam o número amostral, números romanos representam os agrupamentos

Figura 17 – Profundidade das perfurações posterolaterais palatinas em 14 amostras de *Sooretamys angouya*. Números arábicos representam o número amostral, números romanos representam os agrupamentos

Figura 18 – Presença de sulco no anterocone do M1 em 14 amostras de *Sooretamys angouya*. Números arábicos representam o número amostral, números romanos representam os agrupamentos

Figura 19 – Número de ilhas de esmalte adicionais no M1 em 12 amostras de *Sooretamys angouya*. Números arábicos representam o número amostral, números romanos representam os agrupamentos

Figura 20 – Número de ilhas de esmalte no M2 em 12 amostras de *Sooretamys angouya*. Números arábicos representam o número amostral, números romanos representam os agrupamentos

(continua)

Figura 21 – Diagramas Dice-Leraas (média $\pm$ 95% IC) para oito variáveis cranio-dentárias (CTO, CCI, CDI, CFI, CNA, CPP, CCZ e CFO) com padrões de variação semelhantes entre si para os 15 agrupamentos avaliados

(continuação)

(continua)

Figura 21 – Diagramas Dice-Leraas (média ± 95% IC) para oito variáveis cranio-dentárias (CTO, CCI, CDI, CFI, CNA, CPP, CCZ e CFO) com padrões de variação semelhantes entre si para os 15 agrupamentos avaliados

(continuação)

(continua)

Figura 21 – Diagramas Dice-Leraas (média $\pm$ 95% IC) para oito variáveis cranio-dentárias (CTO, CCI, CDI, CFI, CNA, CPP, CCZ e CFO) com padrões de variação semelhantes entre si para os 15 agrupamentos avaliados

(continuação)

Figura 21 – Diagramas Dice-Leraas (média $\pm$ 95% IC) para oito variáveis cranio-dentárias (CTO, CCI, CDI, CFI, CNA, CPP, CCZ e CFO) com padrões de variação semelhantes entre si para os 15 agrupamentos avaliados

(continua)

Figura 22 – Diagramas Dice-Leraas (média $\pm$ 95% IC) para cinco variáveis cranio-dentárias (LFI, LR2, ACC, LZI e LPZ) com padrões de variação semelhantes entre si para os 15 agrupamentos avaliados

(continuação)

(continua)

Figura 22 – Diagramas Dice-Leraas (média $\pm$ 95% IC) para cinco variáveis cranio-dentárias (LFI, LR2, ACC, LZI e LPZ) com padrões de variação semelhantes entre si para os 15 agrupamentos avaliados

(continuação)

Figura 22 – Diagramas Dice-Leraas (média $\pm$ 95% IC) para cinco variáveis cranio-dentárias (LFI, LR2, ACC, LZI e LPZ) com padrões de variação semelhantes entre si para os 15 agrupamentos avaliados

Figura 23 – Diagramas Dice-Leraas (média $\pm$ 95% IC) para o comprimento da série molar (CSM) para os 15 agrupamentos avaliados

Figura 24 – Diagramas Dice-Leraas (média $\pm$ 95% IC) para largura do primeiro molar (LM1) para os 15 agrupamentos avaliados

Figura 25 – Diagramas Dice-Leraas (média $\pm$ 95% IC) para largura interparietal (LIP) para os 15 agrupamentos avaliados

Figura 26 – Diagramas Dice-Leraas (média $\pm$ 95% IC) para o comprimento do interparietal (CIP) para os 15 agrupamentos avaliados

Figura 27 – Diagramas Dice-Leraas (média $\pm$ 95% IC) para a largura interorbital (LIO) para os 15 agrupamentos avaliados

Figura 28 – Representação gráfica dos escores individuais obtidos através da análise de componente principal, por meio de uma matriz de covariância obtida com os dados logaritmizados de 15 variáveis crânicas correlacionadas pertencentes aos 15 agrupamentos. São representados os escores dos três primeiros componentes principais (CP1, CP2 e CP3) que resumem 56,32%, 10,51% e 8,36%, respectivamente. Superior, primeiro componente principal vs. segundo componente principal; inferior, primeiro componente principal vs. terceiro componente principal

Figura 29 – Representação gráfica dos escores individuais obtidos através da análise discriminante, realizada com os dados logaritmizados de 15 variáveis cranianas correlacionadas pertencentes a 15 agrupamentos. São representados aqui os escores individuais das três primeiras funções discriminantes (FD1, FD2 e FD3) responsáveis por 36,71%, 21,67% e 13% da variação, respectivamente. Superior, primeira função vs. segunda função; inferior, primeira função vs. segunda função

Figura 30 – Diagramas Dice-Leraas (média $\pm$ 95% IC) para os escores da primeira função discriminante através dos 15 agrupamentos (ver tabela 1 para denominação): a) Transecto no sentido Norte-Sul, de Minas Gerais ao Rio Grande do Sul e b) Transecto no sentido Leste-Oeste, de Minas Gerais ao Paraguai

Figura 31 – Representação gráfica dos escores individuais obtidos através da análise discriminante, realizada com os dados logaritimizados de 15 variáveis cranianas correlacionadas pertencentes a quatro agrupamentos. São representados aqui os escores individuais das duas primeiras funções discriminantes (FD1 e FD2) responsáveis por 36,71%, 21,67% e 13% da variação, respectivamente

(continua)

Figura 32 – Diagramas Dice-Leraas (média $\pm$ IC 95%) para nove dimensões crânio-dentárias (CTO, CCI, CDI, CFI, CIP, CNA, CPP, ACC e LZI) que apresentam o mesmo padrão de variação entre as amostras Paraganus, Ratticeps e Tropicius. As barras representam a média e o intervalo de confiança ao nível de 95%

Figura 32 – Diagramas Dice-Leraas para nove dimensões crânio-dentárias (CTO, CCI, CDI, CFI, CIP, CNA, CPP, ACC e LZI) que apresentam o mesmo padrão de variação entre as amostras Paraganus, Ratticeps e Tropicius. As barras representam a média e o intervalo de confiança ao nível de 95%

Figura 32 – Diagramas Dice-Leraas para nove dimensões crânio-dentárias (CTO, CCI, CDI, CFI, CIP, CNA, CPP, ACC e LZI) que apresentam o mesmo padrão de variação entre as amostras Paraganus, Ratticeps e Tropicius. As barras representam a média e o intervalo de confiança ao nível de 95%

Figura 32 – Diagramas Dice-Leraas para nove dimensões crânio-dentárias (CTO, CCI, CDI, CFI, CIP, CNA, CPP, ACC e LZI) que apresentam o mesmo padrão de variação entre as amostras Paraganus, Ratticeps e Tropicius. As barras representam a média e o intervalo de confiança ao nível de 95%

Figura 32 – Diagramas Dice-Leraas para nove dimensões crânio-dentárias (CTO, CCI, CDI, CFI, CIP, CNA, CPP, ACC e LZI) que apresentam o mesmo padrão de variação entre as amostras Paraganus, Ratticeps e Tropicus. As barras representam a média e o intervalo de confiança ao nível de 95%

Figura 33 – Diagramas Dice-Leraas para sete dimensões crânio-dentárias (CSM, LFI, LR2, LIO, LPZ, CCZ e CFO) que apresentam o mesmo padrão de variação entre as amostras Paraganus, Ratticeps e Tropicius. As barras representam a média e o intervalo de confiança ao nível de 95%

Figura 33 – Diagramas Dice-Leraas para sete dimensões crânio-dentárias (CSM, LFI, LR2, LIO, LPZ, CCZ e CFO) que apresentam o mesmo padrão de variação entre as amostras Paraganus, Ratticeps e Tropicius. As barras representam a média e o intervalo de confiança ao nível de 95%

Figura 33 – Diagramas Dice-Leraas para sete dimensões crânio-dentárias (CSM, LFI, LR2, LIO, LPZ, CCZ e CFO I) que apresentam o mesmo padrão de variação entre as amostras Paraganus, Ratticeps e Tropicus. As barras representam a média e o intervalo de confiança ao nível de 95%

Figura 33 – Diagramas Dice-Leraas para sete dimensões crânio-dentárias (CSM, LFI, LR2, LIO, LPZ, CCZ e CFO) que apresentam o mesmo padrão de variação entre as amostras Paraganus, Ratticeps e Tropicius. As barras representam a média e o intervalo de confiança ao nível de 95%

Figura 34 – Diagramas Dice-Leraas para duas dimensões crânio-dentárias (LIP e CIP) que apresentam o mesmo padrão de variação entre as amostras Paraganus, Ratticeps e Tropicius. As barras representam a média e o intervalo de confiança ao nível de 95%

Figura 35 – Representação gráfica dos escores individuais obtidos através da análise de componente principal, por meio de uma matriz de covariância obtida com os dados logaritmizados de 15 variáveis cranianas correlacionadas pertencentes às amostras que representam as raças geográficas descritas por Thomas (1924). Os respectivos tipos estão marcados por ícones cheios. Superior, primeiro componente vs. segundo componente e inferior, primeiro componente vs. terceiro componente

Figura 36 – Representação gráfica dos escores individuais, das duas primeiras funções discriminantes, obtidos através da Análise Discriminante por meio de dados logaritmizados de 15 variáveis cranianas correlacionadas pertencentes às amostras que representam as raças geográficas descritas por Thomas (1924). Os respectivos tipos estão marcados por ícones cheios

Figura 37 – Diagrama Dice-Leraas (média±IC 95%) dos escores da primeira função canônica discriminante entre as três amostras correspondentes às subespécies descritas por Thomas (1924)

Figura 38 – Gráfico de transição (s) e transversão (v) *versus* distância de Kimura do gene mitocondrial do cit-b em *S. angouya*

Figura 39 – Rede de haplótipos obtida pelo método de *Median-Joining* mostrando três grupos distintos, G1, G2 e G3. Cada círculo representa um haplótipo diferente (ver tabela 15) e seu tamanho é proporcional a frequência relativa de cada haplótipo. O padrão de preenchimento dos círculos, mostrado na legenda interna, é referente à localização geográfica de cada sequência. Os quadrados ao longo dos ramos representam o número de substituições nucleotídicas

Figura 40 – Distribuição geográfica dos haplótipos amostrados em *S. angouya*. A legenda interna se refere aos três grupos de haplótipos formados pelo método de *Median-Joining*. As linhas tracejadas e/ou pontilhadas unem os grupos a fim de facilitar a visualização

Figura 41 – Árvore obtida pelo método de Máxima Verossimilhança com o modelo GTR+G para o gene mitocondrial do cit b em *S. angouya* e grupos externos. As letras e os números nos terminais representam o número do haplótipo (ver tabela 15) e são seguidos pela sigla dos Estados ou país aos quais pertencem, [O] representa porção oeste. Os números nos nós indicam os valores de *bootstrap*

Figura 42 – Árvore obtida pelo método de Máxima Parcimônia para o gene mitocondrial do cit b em *S. angouya* e grupos externos. As letras e os números nos terminais representam o número do haplótipo (ver tabela 15) e são seguidos pela sigla dos Estados ou país aos quais pertencem, [O] representa porção oeste. Os números nos nós indicam os valores de *bootstrap*

Figura 43 – Árvore obtida pelo método de *Neighbour-Joining* com a distância K-2p para o gene mitocondrial do cit b em *S. angouya* e grupos externos. As letras e os números nos terminais representam o número do haplótipo (ver tabela 15) e são seguidos pela sigla dos Estados ou país aos quais pertencem, [O] representa porção oeste. Os números nos nós indicam os valores de *bootstrap*

Figura 44 – Padrões resultantes da distribuição Mismatch, frequência de diferenças par a par entre todos os haplótipos. Linha cheia representa o padrão observado nos dados e a linha tracejada representa o padrão simulado a partir dos dados

Figura 45 – Padrões resultantes da distribuição Mismatch, frequência de diferenças par a par entre haplótipos do Brasil. Linha cheia representa o padrão observado nos dados e a linha tracejada representa o padrão simulado a partir dos dados

Figura 46 – Análise discriminante entre os indivíduos provindo da porção leste e oeste do rio Paraná

Figura 47 – Rios Paranaíba e Paraná atravessando a área de distribuição geográfica de *Sooretamys angouya*

ANEXO B - TABELAS

Tabela 1 – Lista dos haplótipos (H) encontrados em *S. angouya*, identificação do espécime, localidade e número de acesso no GenBank

H	Nº campo	Nº voucher	Localidade	Acesso GenBank
H 01	CTX 5478	MHNCI 4781	Córrego Barracão, Ribeirão Grande, SP	
H 02		FURB 477	Vale do IFC, Anitápolis, SC	
H 03		FURB 5070	U. H. E. Itá, Itá, SC	
H4		FURB 9836	Mono, Parque das Nascentes, Indaial, SC	
		FURB 5900	Vale do Espingarda, Parque das Nascentes, Indaial, SC	
H5		FURB 9230	UHE Qubra Queixo, São Domingos, SC	
		FURB 9238	UHE Qubra Queixo, São Domingos, SC	
H 06		FURB 9252	UHE Qubra Queixo, São Domingos, SC	
H 07		FURB 9696	Mono, Parque das Nascentes, Indaial, SC	
H 08		FURB 9749	RPPN Figueira Branca, Gasparinho, Gaspar, SC	
H 09		FURB 9790	Mono, Parque das Nascentes, Indaial, SC	
H 10		FURB 9867	Mono, Parque das Nascentes, Indaial, SC	
H11		MN 37780	Torres, RS	EF455038 (Miranda et al., 2007)
		FURB 12041	Terceira Vargem, Parque das Nascentes, Blumenau, SC	
H 12		FURB 12151	Reserva Biológica Sassafrás, Dr. Pedrinho, SC	
H13	GD 257		Paraguari, PY	
	GD 265		Paraguari, PY	
	GD 288	UMMZ 175081	Paraguari, PY	
	GD 51	UMMZ 175077	Paraguari, PY	
	GD 52		Paraguari, PY	
H14	GD 273		Centu-Cue, Misiones, PY	
	GD 305	UMMZ 175083	Centu-Cue, Misiones, PY	
H15			Centu-Cue, Misiones, PY	
	GD 548	UMMZ 174984	Costa del Rio Tebicuary, PY	
	GD 534	UMMZ 174979	Costa norte, Paraguari, PY	

Tabela 1 – Lista dos haplótipos (H) encontrados em *S. angouya*, identificação do espécime, localidade e número de acesso no GenBank

H	Nº campo	Nº voucher	Localidade	Acesso GenBank
H16	GD 542 GD 543	UMMZ 175099	Costa norte, Paraguari, PY Costa norte, Paraguari, PY	
H 17		MCNU 622	Maquiné, RS	
H 18		MCNU 1229	Nova Roma do Sul, RS	
		MCNU 1291	Encruzilhada do Sul, RS	
		MCNU 1230	Nova Roma do Sul, RS	
H19		MN 37794 ^a	Osório, RS	EF455044 (Miranda et al., 2007)
		MN 37790 ^a	Tramandaí, RS	EF455043 (Miranda et al., 2007)
	EM 1207 ^a		Fazenda Intervales, SP	AF181280 (Bonvicino ; Moreira)
H 20		MCNU 1292	Encruzilhada do Sul, RS	
H 21	TK 61763 ^a		Yacare, Ñeembucu, PY	EU579512 (Hanson ; Bradley)
H22	CRB1271 ^a		Teresópolis, RJ	AF181281 (Bonvicino ; Moreira)
		MN 50234 ^a	Teresópolis, RJ	EU579511 (Hanson ; Bradley)
H 23		UFPB335 ^a	Hotel Fazenda Monte Verde, Venda Nova, ES	EF455046 (Miranda et al., 2007)
H 24		MN 37789 ^a	Mostardas, RS	EF455042 (Miranda et al., 2007)
H 25		MN 37786 ^a	Mostardas, RS	EF455041 (Miranda et al., 2007)
H 26		MN 37785 ^a	Tainhas, RS	EF455040 (Miranda et al., 2007)
H 27		MN 37783 ^a	Torres, RS	EF455039 (Miranda et al., 2007)
H 28		MN 37778 ^a	Torres, RS	EF455037 (Miranda et al., 2007)
H 29		MN 37777 ^a	Florianópolis, SC	EF455036 (Miranda et al., 2007)
H 30	AFV22 ^a		Caxias do Sul, RS	EF455035 (Miranda et al., 2007)
H 31	AFV21 ^a		Caxias do Sul, RS	EF455034 (Miranda et al., 2007)
H 32		MCNU 1625	Cachoeirinha, RS	

Tabela 2 – Composição dos agrupamentos. Os números nas localidades correspondem aos apresentados na lista de localidades do apêndice B.

Agrupamentos	Localidades
I – Sul de Minas	40 Alto da Consulta, Poços de Caldas
	42 Morro do Ferro, Poços de Caldas
	44 Poços de Caldas, 21°47'S, 46°34'W
	45 Posses, 13 km SE de Itanhandú
II – Boracéia-Casa Grande	131 Boracéia Estação Biológica de Boracéia
	135 Casa Grande, Biritiba-Mirim
III – Riacho Grande	152 Furnas, Riacho Grande
	165 Paranapiacaba
	169 Ribeirão Pires
IV – Cotia-Piedade	138 Caucaia do Alto
	143 Cotia
	151 Furnas, Piedade
	166 Piedade, São Paulo
V – Alto Paranapanema	127 Apiaí
	132 Canaleta AB, C C Nassau, Ribeirão Grande
	133 Canaleta T3,4, Ribeirão Grande
	140 Corrego Água Limpa, C C Nassau, Ribeirão Grande
	141 Corrego Barracão, Ribeirão Grande
	142 Corrego Fernandes, C C Nassau, Ribeirão Grande
	148 Fazenda Intervalles
	149 Fazenda Intervalles, Base da Bocaina
	150 Fazenda Intervalles, Base do Carmo
VI – Alto Iguçú	158 Itararé
	51 Guaricana, São José dos Pinhais
	61 Usina de Guaricana, São José dos Pinhais
	100 Bugre, Três Barras
	104 Estação Ecológica Bracinho/Piraí, Joinville
	107 Fazenda Sta Alice, Rio Negrinho
	108 Floresta Nacional Três Barras
VII – Bacia do Itajaí-Açú	116 Reserva Biológica Sassafrás, Dr Pedrinho
	98 Barragem do Garcia, Angelina
	99 Barragem do Rio São Bento, Siderópolis
	110 Hotel Plaza Caldas da Imperatriz, Caldas da Imperatriz
	113 Mono, Parque das Nascentes, Indaial
	115 Pinheiro Alto, Anitápolis (=Pinheiros, Alto-Anitápolis)
	120 Terceira Vargem, Parque das Nascentes, Blumenau
	124 Vale do Espingarda, Parque das Nascentes, Indaial
	125 Vale do IFC, Anitápolis

Tabela 2 – Composição dos agrupamentos. Os números nas localidades correspondem aos apresentados na lista de localidades do apêndice B.

Agrupamentos	Localidades	(continuação)
VIII – Bacia do Tramandaí	78	Faxinal, Norte da Lagoa Itapeva, Torres
	81	Itapeva, Parque Estadual de Itapeva, Torres
	91	Pontal do Norte, Lagoa Palmital, Osório
	92	Pró-Mata, São Francisco de Paula
	95	Tramandaí, Lenha Seca, Lagoa de Tramandaí
	96	Vale da Encantada/Barra do Ouro, Maquiné
IX – Bacia do Taquari-Antas	75	Cruzeiro do Sul
	80	Guaporé
	88	Nova Roma do Sul
X – Noroeste do Rio Grande do Sul	74	Cruz Alta
	79	Fazenda Aldo Pinto, São Nicolau
	83	Lajeado Grande, Alpestre
	84	Lajeado Grande, Rio dos Índios
XI – Ponta Grossa	55	P E Vila Velha, Ponta Grossa
XII – Baixo Iguaçu	50	Foz do Rio Capoteiro, Pinhão
	57	Reserva, Pinhão
	60	UH Salto Caxias, Foz do Chopim, Cruzeiro do Iguaçu
	62	Vila UHE Segredo, Copel, Pinhão
XIII – Oeste de Santa Catarina	102	Canteiro de Obras, PCH Alto Irani, Arvoredo
	103	Canteiro de Obras, PCH Plano Alto, Xavantina
	112	Linha Voltão, Xaxim
	122	U H E Itá
	123	U H E Quebra Queixo, Rio Xapecó, São Domingos/Ipuacú
XIV – Misiones, Argentina	7	30 km de Puerto Bemberg, Rio Uruguay (Rio Urugua-i)
	8	60 km de Puerto Iguazú, Rio Iguazú
	12	Arroyo Uruguay, Departamento General Belgrano
	25	Junção dos rios Iguazú e Alto Paraná, Puerto Aguirre
	36	Tobuna, Depto San Pedro
	180	Orillas del Rio Tebicuary
XV – Bacia do Tebicuary	181	2,7 km por Estrada ao N de San Antonio
	182	Ayolas, 5 km by road ENE Ayolas
	184	Costa del Rio Tebicuary
	185	Orillas del Rio Tebicuary
	186	San Ignacio
	188	Costa del Rio Tebicuary
	191	Sapucay

Tabela 3 – Valores dos índices do teste de normalidade Kolmogorov-Smirnov (Z).

Variáveis	II-Boracéia- Casa Grande	IV-Cotia- Piedade	V-Alto Paranapanema	VII-Bacia do Itajaí-Açú	XV-Bacia do Tebicuary
CTO	0,454	0,5444	0,9705	0,9040	0,6763
CCI	0,493	0,5699	1,1819	0,8650	0,6088
CDI	0,648	0,4960	1,0721	0,7127	0,7232
CSM	0,895	0,7228	0,5947	0,5855	0,6300
LM1	0,391	0,5129	0,6599	0,5803	0,5433
CFI	1,010	0,5791	1,0042	0,5135	0,4791
LFI	0,426	0,7987	0,4002	0,4771	2,5518
LIP	0,612	0,5095	0,7751	0,6821	0,8957
CIP	0,847	0,7769	0,3483	1,0320	0,9431
LR2	0,655	0,5754	0,7121	0,8708	0,3926
CNA	0,378	0,8663	0,9017	0,8909	0,4654
CPP	0,737	0,4417	0,6770	0,6376	0,5922
ACC	0,944	0,6271	1,0173	0,4505	0,5250
LIO	0,744	1,1365	0,5161	0,6375	0,4518
LZI	0,556	0,5813	0,8523	0,9307	0,5081
LPZ	0,637	0,5849	0,7448	0,5880	0,4468
CCZ	0,657	0,4425	1,3586	0,8645	0,6592
CFO	0,612	0,6251	1,0605	0,6206	0,4259

Tabela 4 – ANOVA seguida do Teste de Tukey (significância) entre classes etárias para o agrupamento Boraceia-Casa Grande em 18 variáveis cranio-dentárias. Valores em negrito representam diferença estatística ao nível de

Variável	ANOVA		Tukey						N (classes)			
	F	Sig.	1 e 2	1 e 3	1 e 4	2 e 3	2 e 4	3 e 4	1	2	3	4
CTO	18,084	0,000	-	-	-	-	-	-	0	15	13	2
CCI	29,592	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,002	0,682	2	15	15	2
CDI	22,845	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,004	0,445	2	16	16	2
CSM	4,019	0,016	0,060	0,010	0,072	0,601	0,816	0,992	3	15	16	2
LM1	0,152	0,927	1,000	0,996	0,943	0,992	0,920	0,959	3	16	16	2
CFI	17,275	0,000	0,000	0,000	0,000	0,003	0,021	0,568	2	18	16	2
LFI	4,106	0,014	0,134	0,017	0,083	0,195	0,706	0,999	2	18	16	2
LIP	3,729	0,021	0,456	0,077	0,993	0,139	0,681	0,159	2	18	14	2
CIP	0,828	0,488	0,748	0,491	0,698	0,789	0,968	1,000	2	18	14	2
LR2	5,366	0,006	-	-	-	-	-	-	1	12	14	1
CNA	14,025	0,000	-	-	-	-	-	-	0	18	15	2
CPP	11,800	0,000	-	-	-	-	-	-	1	18	16	2
ACC	4,176	0,027	-	-	-	-	-	-	0	12	14	2
LIO	0,398	0,755	0,933	1,000	0,988	0,735	1,000	0,982	3	18	16	2
LZI	2,791	0,081	-	-	-	-	-	-	0	13	14	1
LPZ	8,539	0,000	0,033	0,001	0,003	0,023	0,129	0,827	2	18	16	2
CCZ	32,541	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,002	0,667	2	15	15	2
CFO	22,895	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,004	0,498	2	18	16	2

Tabela 5 – ANOVA seguida do Teste de Tukey (significância) entre classes etárias para o agrupamento Cotia-Piedade em 18 variáveis cranio-dentárias. Valores em negrito representam diferença estatística ao nível de 5%

Variável	ANOVA		Tukey						N (classes)			
	F	Sig.	1 e 2	1 e 3	1 e 4	2 e 3	2 e 4	3 e 4	1	2	3	4
CTO	21,622	0,000	0,000	0,000	0,000	0,013	0,002	0,285	1	2	3	4
CCI	41,291	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,087	4	20	11	3
CDI	45,177	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,128	10	28	13	5
CSM	3,761	0,018	0,013	0,048	0,018	0,834	0,962	0,754	11	27	13	5
LM1	1,531	0,217	0,696	0,358	0,251	0,812	0,574	0,931	2	27	12	5
CFI	27,826	0,000	0,000	0,000	0,000	0,001	0,000	0,415	11	29	12	5
LFI	8,077	0,000	0,070	0,000	0,049	0,010	0,625	0,861	9	29	13	5
LIP	1,635	0,192	0,763	0,747	0,135	0,997	0,309	0,458	9	29	13	4
CIP	6,373	0,001	0,892	0,013	0,020	0,013	0,031	0,929	11	30	13	5
LR2	24,051	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,014	1,000	11	28	12	4
CNA	22,989	0,000	0,000	0,000	0,000	0,058	0,021	0,511	5	21	11	3
CPP	16,672	0,000	0,000	0,000	0,000	0,077	0,006	0,384	9	29	13	5
ACC	10,965	0,000	0,009	0,000	0,002	0,019	0,199	1,000	11	27	11	4
LIO	3,826	0,015	0,807	0,056	0,072	0,121	0,157	0,951	11	30	13	5
LZI	33,550	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,774	9	26	12	5
LPZ	43,415	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,556	11	30	13	5
CCZ	35,901	0,000	0,000	0,000	0,000	0,001	0,000	0,209	10	28	13	5
CFO	29,702	0,000	0,000	0,000	0,000	0,001	0,000	0,339	10	29	13	5

Tabela 6 – Resultado do teste t de Student, dentro de oito agrupamentos, para diferenciação entre os sexos em 18 variáveis crânio-dentárias avaliadas. Valores em negrito indicam diferença estatística ao nível de 5% de significância

Var	II-Boracéia-Casa Grande		IV-Cotia-Piedade		V-Alto Paranapanema		VI-Alto Iguaçu		VII-Bacia do Itajaí-Açú		VIII-Bacia do Tramandaí		IX-Bacia do Taquari-Antas		XV-Bacia do Tebicuary	
	m=11	f=4	m=10	f=6	m=8	f=10	m=7	f=4	m=8	f=6	m=4	f=4	m=4	f=4	m=9	f=16
	t	p	t	p	t	p	t	p	t	p	t	p	t	p	t	p
CTO	0,712	0,493	-0,110	0,915	1,241	0,243	0,210	0,839	-0,353	0,731	0,617	0,560	1,221	0,268	1,267	0,218
CCI	0,836	0,420	0,797	0,439	0,675	0,513	0,133	0,898	-0,766	0,459	0,711	0,504	1,246	0,259	1,527	0,140
CDI	0,393	0,700	1,081	0,298	1,560	0,138	0,799	0,445	0,033	0,974	1,124	0,304	0,881	0,412	1,516	0,143
CSM	0,504	0,623	0,469	0,647	-1,853	0,084	1,063	0,316	2,261	0,045	0,924	0,391	0,833	0,437	0,498	0,623
LM1	1,050	0,313	-1,489	0,160	-0,488	0,632	0,753	0,471	1,248	0,238	1,389	0,214	0,076	0,942	0,853	0,402
CFI	1,308	0,214	1,277	0,222	-0,777	0,449	0,386	0,708	0,306	0,764	1,337	0,230	0,782	0,464	1,439	0,164
LFI	0,447	0,662	0,957	0,355	-0,349	0,731	-0,091	0,930	0,124	0,903	1,121	0,305	1,074	0,324	-0,722	0,478
LIP	-0,123	0,905	2,531	0,024	-0,702	0,495	-1,280	0,233	0,894	0,389	-0,897	0,411	-0,104	0,921	-0,038	0,970
CIP	1,447	0,176	0,473	0,643	-0,862	0,403	0,371	0,719	0,050	0,961	-0,724	0,502	0,800	0,454	2,231	0,037
LR2	1,654	0,129	1,153	0,271	-0,428	0,679	0,505	0,625	-0,463	0,652	1,656	0,149	4,531	0,004	2,309	0,031
CNA	0,140	0,891	-0,305	0,767	1,416	0,180	-0,277	0,789	0,321	0,754	-0,049	0,963	1,831	0,117	0,285	0,778
CPP	0,218	0,831	0,346	0,735	2,618	0,019	0,473	0,647	0,469	0,648	1,975	0,096	1,031	0,342	-0,020	0,984
ACC	2,170	0,053	0,622	0,547	0,610	0,554	0,334	0,746	4,523	0,001	0,941	0,390	0,046	0,965	-0,952	0,351
LIO	-0,150	0,883	2,311	0,037	0,315	0,757	0,808	0,440	0,279	0,785	0,996	0,358	0,023	0,982	1,808	0,084
LZI	1,166	0,268	1,432	0,176	0,453	0,659	0,293	0,777	-0,630	0,541	0,783	0,464	1,336	0,230	1,184	0,249
LPZ	-0,182	0,859	0,508	0,619	-0,208	0,838	-0,181	0,860	-3,271	0,007	-0,793	0,458	-0,166	0,873	0,472	0,642
CCZ	0,919	0,376	0,988	0,340	0,253	0,805	0,363	0,726	-0,849	0,412	0,278	0,790	1,761	0,129	1,890	0,071
CFO	1,043	0,316	1,012	0,329	-0,338	0,740	-0,048	0,962	0,225	0,826	3,191	0,019	1,328	0,232	1,677	0,107

Tabela 7 – Índices de correlação de Pearson para as 18 variáveis crânio-dentárias. Valores seguidos de asteriscos (*) indicam correlação significativa ao nível de 5%, duplos (**) ao nível de 1% e em negrito indica ausência de correlação entre as variáveis.

	CTO	CCI	CDI	CSM	LM1	CFI	LFI	LIP	CIP	LR2	CNA	CPP	ACC	LIO	LZI	LPZ	CCZ	CFO
CTO	1																	
CCI	0,971(**)	1																
CDI	0,861(**)	0,882(**)	1															
CSM	0,386(**)	0,418(**)	0,182(**)	1														
LM1	0,286(**)	0,283(**)	0,148(*)	0,594(**)	1													
CFI	0,801(**)	0,812(**)	0,861(**)	0,274(**)	0,169(**)	1												
LFI	0,458(**)	0,483(**)	0,472(**)	0,272(**)	0,153(*)	0,581(**)	1											
LIP	0,021	0,062	0,002	0,104	0,007	0,057	0,127	1										
CIP	0,378(**)	0,349(**)	0,307(**)	0,122	0,049	0,277(**)	0,129	0,203(**)	1									
LR2	0,737(**)	0,765(**)	0,700(**)	0,356(**)	0,198(**)	0,654(**)	0,597(**)	0,092	0,305(**)	1								
CNA	0,835(**)	0,775(**)	0,724(**)	0,283(**)	0,226(**)	0,633(**)	0,356(**)	0,031	0,318(**)	0,562(**)	1							
CPP	0,636(**)	0,637(**)	0,530(**)	0,370(**)	0,301(**)	0,367(**)	0,250(**)	0,089	0,281(**)	0,517(**)	0,541(**)	1						
ACC	0,518(**)	0,513(**)	0,576(**)	0,263(**)	0,067	0,508(**)	0,329(**)	0,108	0,245(**)	0,472(**)	0,448(**)	0,350(**)	1					
LIO	0,096	0,082	0,066	0,064	0,066	0,099	0,075	0,282(**)	0,230(**)	0,157(*)	0,041	0,032	0,118	1				
LZI	0,849(**)	0,869(**)	0,751(**)	0,449(**)	0,290(**)	0,689(**)	0,499(**)	0,108	0,345(**)	0,791(**)	0,674(**)	0,542(**)	0,557(**)	0,170(*)	1			
LPZ	0,647(**)	0,648(**)	0,580(**)	0,261(**)	0,188(**)	0,513(**)	0,311(**)	0,022	0,197(**)	0,544(**)	0,559(**)	0,403(**)	0,335(**)	0,08	0,604(**)	1		
CCZ	0,958(**)	0,979(**)	0,834(**)	0,462(**)	0,304(**)	0,780(**)	0,474(**)	0,058	0,328(**)	0,755(**)	0,754(**)	0,634(**)	0,480(**)	0,066	0,868(**)	0,625(**)	1	
CFO	0,886(**)	0,885(**)	0,779(**)	0,400(**)	0,256(**)	0,753(**)	0,482(**)	0,025	0,355(**)	0,718(**)	0,718(**)	0,563(**)	0,529(**)	0,037	0,817(**)	0,530(**)	0,892(**)	1

Tabela 8 – Autovetores da PCA para comparações entre os três primeiros componentes para todas as variáveis cranio-dentárias dos quinze agrupamentos analisados

Variável	CP1	CP2	CP3
Log CTO	0,018	0,003	-0,001
Log CCI	0,019	0,002	-0,001
Log CDI	0,025	-0,001	-0,002
Log CSM	0,009	0,004	0,006
Log LM1	0,008	0,007	0,008
Log CFI	0,025	-0,009	0,001
Log LFI	0,022	-0,022	0,013
Log LR2	0,021	-0,003	-0,001
Log CNA	0,024	0,005	-0,003
Log CPP	0,021	0,020	0,012
Log ACC	0,013	0,000	0,002
Log LZI	0,016	0,001	-0,001
Log LPZ	0,026	0,000	-0,021
Log CCZ	0,018	0,002	0,000
Log CFO	0,018	0,002	0,002
% da variância	56,32	10,51	8,36

Tabela 9 – Coeficientes padronizados das quatro primeiras funções discriminantes para as variáveis cranio-centárias logaritmizadas dos 15 agrupamentos analisados

Variável	FD1	FD2	FD3	FD4
Log CTO	-0,599	0,598	0,994	-0,332
Log CCI	-2,516	-0,557	0,215	3,503
Log CDI	1,131	-0,699	0,837	-0,699
Log CSM	0,223	0,133	-0,607	0,007
Log LM1	-0,022	-0,456	0,878	0,401
Log CFI	0,721	-0,081	-0,877	0,146
Log LFI	-0,319	0,561	-0,016	0,388
Log LR2	0,362	0,503	0,392	-0,600
Log CNA	0,228	0,154	-0,394	-0,234
Log CPP	0,042	-0,216	-0,258	-0,226
Log ACC	0,283	0,161	0,018	0,068
Log LZI	-0,499	0,788	0,598	-0,019
Log LPZ	0,374	0,493	0,226	0,333
Log CCZ	1,620	-1,162	-1,675	-1,721
Log CFO	0,204	0,189	-0,201	-0,298
Autovalor	1,827	1,079	0,647	0,361
% da contribuição	36,71	21,67	13,00	7,26

Tabela 10 – Coeficientes padronizados das duas primeiras funções discriminantes para as variáveis cranio-centárias logaritmizadas de quatro agrupamentos: II-Boracéia-Casa Grande, IX-Bacia do Taquari-Antas, XIII-Oeste de Santa Catarina e XV-Bacia do

Variável	CP1	CP2
Log CTO	-2,079	1,277
Log CCI	-2,082	-1,795
Log CDI	0,882	-0,324
Log CSM	0,371	0,285
Log LM1	-0,192	-0,411
Log CFI	1,037	-0,366
Log LFI	-0,283	0,705
Log LR2	0,151	0,603
Log CNA	0,671	-0,481
Log CPP	0,398	-0,345
Log ACC	0,416	0,092
Log LZI	-0,513	0,682
Log LPZ	0,297	0,571
Log CCZ	2,228	-0,331
Log CFO	0,237	0,364
% da variância	70,60	26,10

Tabela 11 – Estatística descritiva das cinco variáveis externas para os quinze agrupamentos analisados (ver texto). Na linha superior: média±desvio padrão. Linha inferior: número amostral (mínimo – máximo). Asteriscos simples (*) representam menores médias e, duplos (**), maiores médias para determinada variável

Agrupamentos	Variáveis				
	CT	CC	Ca	CPG	O
I	377±13,946 5 (360 - 395)	172,8±9,284 5 (157 - 180)	204,2±11,256 5 (187 - 215)	38,667±1,966** 6 (35 - 40)	23,167±1,722** 6 (21 - 26)
II	356,230±21,417 3 (312 - 394)	156,307±15,907 3 (125 - 185)	199,923±7,432 3 (187 - 210)	36±1,527 3 (33 - 38)	21,615±3,279 3 (13 - 25)
IV	366,375±17,832 8 (340 - 390)	160,125±13,537 8 (145 - 180)	206,25±9,676 8 (195 - 220)	37,25±2,659 8 (35 - 41)	22,556±4,824 9 (18 - 34)
V	383,846±50,287 3 (323 - 525)	182,461±43,1191** 3 (136 - 309)	201,384±16,322 3 (171 - 227)	35,461±4,332 3 (25 - 42)	21,923±2,215 3 (18 - 26)
VI	387,335±29,394** 7 (347 - 435)	167,192±14,060 7 (149,35 - 189)	220,142±17,836** 7 (194 - 246)	38±2,424 7 (35 - 41,9)	22,557±2,0189 7 (18,8 - 25)
VII	369,5625±22,120 6 (336 - 409)	159,25±13,887 6 (126 - 177)	210,312±14,826 6 (187 - 240)	37,643±2,915 6 (33,3 - 43)	23,062±1,861 6 (18 - 26,5)
VIII	376,667±27,259 6 (357 - 430)	158,333±17,693 6 (136 - 190)	218,333±12,612** 6 (206 - 240)	36,166±4,457 6 (27,5 - 40)	22,083±3,667 6 (15 - 25,5)
IX	336,5±10,246* 4 (327 - 351)	159,125±20,279 8 (137 - 190)	178,75±29,567* 4 (137 - 206)	36,75±1,669 8 (35 - 39)	19,75±3,412* 8 (13 - 23)
X	357,333±2,516 3 (355 - 360)	167±6,244 3 (162 - 174)	190,333±4,509 3 (186 - 195)	35,575±1,410 4 (34 - 37)	22,75±1,322 4 (21 - 24)
XI	356±41,797 3 (309 - 389)	155,667±21,385* 3 (131 - 169)	200,333±22,007 3 (178 - 222)	34,666±3,055* 3 (32 - 38)	22±1,414 2 (21 - 23)
XIII	337,857±29,735* 4 (292 - 400)	150,5±16,820* 4 (108 - 180,5)	187,357±19,436* 4 (167 - 240)	35,74±1,695 5 (32,7 - 38,6)	21,026±2,197* 5 (16 - 24,5)
XIV	350,375±23,188 8 (295 - 370)	162±12,235 8 (135 - 177)	188,375±11,624 8 (160 - 195)	34,75±2,052* 8 (32 - 38)	22,571±2,572 7 (18 - 25)
XV	393,925±18,447** 7 (340 - 424)	184,307±8,370** 6 (164 - 198)	210,370±14,951 7 (159 - 230)	38,518±2,068** 7 (35 - 43)	24,615±1,275** 6 (22 - 26,5)

Tabela 12 – Autovetores da PCA para comparações entre os três primeiros componentes para todas as variáveis cranio-dentárias das três amostras analisadas: Ratticeps, Tropicius e Paraganus

Variável	CP1	CP2	CP3
Log CTO	0,019	0,003	-0,002
Log CCI	0,021	0,002	-0,001
Log CDI	0,026	-0,004	-0,005
Log CSM	0,010	0,007	0,009
Log LM1	0,010	0,010	0,011
Log CFI	0,029	-0,010	-0,001
Log LFI	0,025	-0,020	0,013
Log LR2	0,023	-0,003	0,001
Log CNA	0,024	0,008	-0,007
Log CPP	0,021	0,016	0,013
Log ACC	0,013	-0,001	0,000
Log LZI	0,018	0,001	0,000
Log LPZ	0,026	0,005	-0,018
Log CCZ	0,020	0,002	0,000
Log CFO	0,019	0,001	0,001
% da variância	59,19	9,36	8,29

Tabela 13 – Coeficientes padronizados das duas funções discriminantes para as variáveis cranio-centárias logaritmizadas das três amostras avaliadas: *Ratticeps*, *Tropicus* e *Paraganus*

Variável	FD1	FD2
Log CTO	-0,108	-1,741
Log CCI	-2,690	1,877
Log CDI	0,952	0,806
Log CSM	0,168	-0,130
Log LM1	-0,156	0,540
Log CFI	0,392	-0,639
Log LFI	-0,073	-0,241
Log LR2	0,599	0,152
Log CNA	0,378	0,733
Log CPP	-0,045	-0,030
Log ACC	0,337	0,511
Log LZI	0,056	-0,549
Log LPZ	0,679	-0,463
Log CCZ	0,675	0,260
Log CFO	0,032	-0,781
 Autovalor	 1,166	 0,159
% da contribuição	87,97	12,03

Tabela 14 – Estatística descritiva das cinco variáveis externas para das três amostras analisadas. Linha superior: média±desvio padrão. Linha inferior: número amostral (mínimo – máximo)

Variáveis	Amostras		
	ratticeps	tropicius	paraganus
CT	357,49 ± 29,384 64 (292-435)	365,098 ± 36,843 41 (300-525)	390,781 ± 20,608 32 (340-424)
CC	157,483 ± 17,009 69 (94-190)	164,268 ± 29,703 41 (125-309)	182,344 ± 10,829 32 (155-198)
CA	199,246 ± 21,456 65 (137-246)	200,829 ± 13,364 41 (171-227)	208,438 ± 14,96 32 (159-230)
CPG	36,485 ± 2,552 72 (27,5-43)	35,866 ± 2,964 41 (25-42)	38,387 ± 2,048 31 (35-43)
O	21,964 ± 2,576 70 (13-26,5)	21,866 ± 3,148 41 (13-34)	24,536 ± 1,326 28 (22-26,5)