

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

MUSEU NACIONAL

**DIVERSIFICAÇÃO DOS ROEDORES SIGMODONTÍNEOS EM
FORMAÇÕES ALTO-MONTANAS DA MATA ATLÂNTICA**

Pablo Rodrigues Gonçalves



Rio de Janeiro

2006

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

MUSEU NACIONAL

**DIVERSIFICAÇÃO DOS ROEDORES SIGMODONTÍNEOS EM FORMAÇÕES
ALTO-MONTANAS DA MATA ATLÂNTICA**

Pablo Rodrigues Gonçalves

Tese apresentada à Coordenação de Pós-
Graduação em Zoologia do Museu Nacional,
Universidade Federal do Rio de Janeiro, como
parte dos requisitos necessários à obtenção do
grau de Doutor em Ciências Biológicas —
Zoologia.

Orientador: Dr. João Alves de Oliveira

Rio de Janeiro

2006

**DIVERSIFICAÇÃO DOS ROEDORES SIGMODONTÍNEOS EM FORMAÇÕES
ALTO-MONTANAS DA MATA ATLÂNTICA**

Pablo Rodrigues Gonçalves

Trabalho desenvolvido no Setor de Mastozoologia do Departamento de Vertebrados do Museu Nacional, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, e no Museum of Zoology, University of Michigan, Ann Arbor.

Presidente da Banca

Rio de Janeiro
2006

Ficha Catalográfica:

GONÇALVES, Pablo Rodrigues

Diversificação dos Roedores Sigmodontíneos em Formações Alto-Montanas da Mata Atlântica.

Rio de Janeiro, UFRJ, Museu Nacional, 2006, xxiv + 277pp

Doutorado em Ciências Biológicas (Zoologia).

Palavras-chave: 1.biogeografia, 2.especiação, 3.modelos de especiação, 4.Mammalia, 5.Rodentia, 6.Sigmodontinae, 7.Mata Atlântica, 8.filogeografia, 9.taxonomia, 10.sistemática, 11.campos de altitude, 12.endemismo, 13.*Akodon*, 14.*Delomys*, 15.*Oxymycterus*, 16.teses.

Universidade Federal do Rio de Janeiro, Museu Nacional.

Agradecimentos

Este trabalho teve o apoio e incentivo de diversas pessoas e envolveu diversas etapas a serem vencidas ao longo dos 4 anos da minha participação no programa. Meu orientador e amigo João Alves de Oliveira sempre esteve presente em todas as etapas do projeto, desde as idéias iniciais, coletas, até nos últimos momentos de entrega do documento. Minha esposa Jô, incansavelmente apoiou e ajudou em diversas etapas do trabalho, especialmente na fase terminal do trabalho. Leila Pessoa também sempre esteve presente disponibilizando seu laboratório múltiplas vezes no decorrer destes anos, e oferecendo excelentes discussões, experiência e amizade. A todo o pessoal do “lab da Leila”, Margaret, Isabel, William, João Pedro, também ficam meus agradecimentos pela excelente convivência.

As etapas iniciais do trabalho envolveram sucessivos trabalhos de campo, dos quais participaram numerosos amigos que fizeram de cada campanha uma experiência única, agradável e com momentos de diversão. Foi um prazer coletar com Liliani Tiepolo, Júlio Vilela, Edmar Manduca, Jânio Moreira, Flávia Casado, Cibele Bonvicino, Maria Olímpia, Ricardo Moratelli, companheiros e amigos de campo e laboratório. Gisele Lessa, Renato Feio e Jorge Dergam, meus antigos amigos e professores de Viçosa tiveram papel fundamental nas várias coletas à serra do Brigadeiro, garantido transporte e sempre incentivando as excursões, especialmente o Jorge por ter disponibilizado seu “fusquinha”. Meu grande compadre Vander Tosta (Bobo) inúmeras vezes me hospedou em sua casa nas sucessivas idas a Viçosa. Aos órgãos ambientais (IBAMA, IEF) por terem expedido licenças e autorizado os vários trabalhos em unidades de conservação.

Meu treinamento molecular teve início no INCA, e sou grato à Héctor N. Seuáñez, Miguel Moreira e Cibele Bonvicino por terem aberto as portas desde o início e por terem sempre me incentivado nos passos iniciais. Várias pessoas gentilmente disponibilizaram amostras de tecido sob seus cuidados contribuindo para o bom desenvolvimento deste trabalho. Agradecimentos especiais vão à Lena Geise, Yuri Leite, Jim Patton, Luiz Flamarion, Ana Paula Carmignotto, Cibele Bonvicino, Laura Naxara, Adriana Bueno e Renata Pardini, que não só disponibilizaram material como propiciaram várias discussões proveitosas sobre os ratos e os campos de altitude. Pedro Cordeiro Estrela e Dênis Falqueto deram ajuda essencial com o uso de programas em LINUX.

Sou grato às agências de fomento CNPq, CAPES e FAPERJ por terem investido em mim e neste projeto, através de duas bolsas de doutorado, e uma bolsa de doutorado sanduíche no exterior. Esta última me possibilitou realizar parte dos trabalhos da tese no Museu de Zoologia da Universidade de Michigan, Ann Arbor, onde conheci Phil Myers que gentilmente me recebeu e garantiu amplo acesso a todas às bibliotecas, laboratórios e estruturas do UMMZ ao longo de minha estadia. A colaboração com Phil tornou a estadia proveitosa e contribuiu para o sucesso do trabalho. Rafael Escobar, Lucía Luna e Tanya Dewey, os amigos de Ann Arbor, também garantiram que o estágio se transformasse em uma excelente experiência profissional e pessoal.

O trabalho foi fruto também de várias visitas aos museus nacionais e norte-americanos, nos quais Mario de Vivo (MZUSP), Raquel Moura (UFMG), Teresa Cristina (MNHCI), J. Patton (MVZ), R. Voss (AMNH), B. Patterson (FMNH) garantiram acesso às coleções e estrutura para desenvolver os trabalhos. Mario, sobretudo, ainda viabilizou uma excelente excursão à serra Geral através da FAPESP/BIOTA. Agradecimentos vão também

para Chiquinha, Paul Velazco, Tami Mott, por terem me hospedado durante as visitas aos museus.

Sou muito grato aos meus pais, Carlos e Graça, que com todo o seu esforço e carinho, garantiram minha educação e incentivaram o cumprimento de mais esta etapa. Finalmente, a todos que indiretamente ou diretamente ajudaram na realização deste trabalho.

RESUMO

As zonas alto-montanas da Mata Atlântica abrigam níveis elevados de endemismo. Visando explicar como a singularidade biótica nestas áreas teria surgido, o contexto geográfico e temporal dos relacionamentos de endemitas alto-montanos foi analisado para três grupos de espécies de roedores sigmodontíneos dos gêneros *Akodon* (*mystax-paranaensis-reigi*), *Delomys* (*collinus-dorsalis-sublineatus*) e *Oxymycterus* (grupo *nasutus*). Os padrões geográficos de variação genética e morfológica nestes táxons foram documentados em detalhe por meio da aplicação integrada de metodologias filogeográficas e morfológicas quantitativas e qualitativas, possibilitando inferências sobre o relacionamento filogenético das linhagens alto-montanas e o modo geográfico e temporal de surgimento destas linhagens. As implicações destes padrões para o reconhecimento da diversidade dos grupos de espécies examinados também foram discutidas. Os padrões revelados indicam que os conjuntos de endemitas alto-montanos não foram formados por um único evento vicariante e não compartilham uma história em comum. Múltiplos eventos vicariantes relacionados às flutuações climáticas do Quaternário, além de processos de adaptação e diferenciação local guiados pela heterogeneidade ambiental contemporânea, contribuíram na formação de linhagens endêmicas nos grandes maciços montanhosos da Mata Atlântica.

ABSTRACT

Diversification of Sigmodontine Rodents in Atlantic Forest High-Altitude Regions.

The montane communities at the highest summits in Brazilian Atlantic forests present high levels of endemism. In an attempt to unravel the evolutionary processes responsible for this pattern, the geographic and temporal diversification of endemic lineages was analyzed in three sigmodontine rodent species groups of the genera *Akodon* (*mystax-paranaensis-reigi*), *Delomys* and *Oxymycterus* (*nasutus* group). The geographic patterns of genetic and morphological variation were documented for each taxon by using phylogeographic and morphological approaches, in order to allow inferences about the phylogenetic relationships, timing and geographic mode of differentiation of high-altitude endemic lineages. The taxonomic implications of these patterns in each genus were also discussed. The results showed that a single vicariant event or model cannot account for the endemic assemblages of high-altitude species and that these assemblages do not share a common history. Multiple vicariant events driven by Quaternary climatic fluctuations, in addition to contemporary ecological gradients, contributed to the formation of endemic lineages at the mountaintops of Southeastern Brazil.

Keywords: speciation, speciation models, Atlantic forest, Sigmodontinae, phylogeography, biogeography, taxonomy, systematics, high-altitude grasslands, tropical mountains, endemism, *Akodon*, *Delomys*, *Oxymycterus*.

ÍNDICE

AGRADECIMENTOS	iv
RESUMO	vii
ABSTRACT	viii
LISTA DE FIGURAS	xi
LISTA DE TABELAS	xxii
CAPÍTULO 1. INTRODUÇÃO	1
1.1 A MATA ATLÂNTICA: FISIOGRAFIA, CLIMAS E VEGETAÇÃO	7
1.2 O PAPEL DA ALTITUDE NA DIVERSIDADE FAUNÍSTICA DA MATA ATLÂNTICA	11
1.3 OBJETIVOS	18
CAPÍTULO 2. ÁREAS, MATERIAIS E MÉTODOS DE ESTUDO	19
2.1 AMOSTRAS	19
2.1.1. Áreas amostradas em trabalho de campo	19
2.1.2. Coleções examinadas	23
2.2. MÉTODOS ANALÍTICOS	24
2.2.1 ANÁLISES MOLECULARES	24
2.2.1.1 <i>Citocromo b</i>	24
2.2.1.2 <i>Íntron 7 do beta-fibrinogênio</i>	25
2.2.1.3 <i>Inferências filogenéticas</i>	27
2.2.1.4 <i>Genealogias intraespecíficas e estrutura filogeográfica</i>	29
2.2.1.5 <i>Datação dos clados</i>	31
2.2.2 ANÁLISES MORFOLÓGICAS	33
2.2.2.1 <i>Morfologia quantitativa</i>	34
2.2.2.2 <i>Morfologia qualitativa</i>	40
CAPÍTULO 3. PADRÕES DE DIVERSIFICAÇÃO	41
3.1 ESPÉCIES DO GÊNERO <i>AKODON</i> ENDÊMICAS DAS ZONAS ALTO-MONTANAS DA MATA ATLÂNTICA	41
3.1.1 INTRODUÇÃO	41
3.1.2 AMOSTRAS	46
3.1.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	51
3.1.3.1 <i>Variação molecular e inferência filogenética</i>	51
3.1.3.2 <i>Variação morfológica</i>	58
3.1.3.3 <i>Relacionamento e status taxonômico de Akodon mystax</i>	65
3.1.3.4 <i>Identidade da população do Itatiaia e taxonomia do grupo cursor</i>	69
3.2 DIVERSIFICAÇÃO DO GÊNERO <i>DELOMYS</i>	79
3.2.1. INTRODUÇÃO	79
3.2.2 AMOSTRAS	83
3.2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	87
3.2.3.1 <i>Inferências filogenéticas e limites genéticos entre espécies</i>	87
3.2.3.2 <i>Limites morfológicos entre espécies</i>	98
3.2.3.3 <i>Padrões de diferenciação geográfica intraespecífica</i>	116

3.3 FORMAS ALTO-MONTANAS DO GÊNERO <i>OXYMYCTERUS</i> NA MATA ATLÂNTICA	142
3.3.1 INTRODUÇÃO	142
3.3.2 AMOSTRAS	147
3.3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	151
3.3.3.1 <i>Inferências filogenética</i>	151
3.3.3.2 <i>Integridade e diferenciação morfológica dos grupos delator e nasutus</i>	162
3.3.3.3 <i>Diferenciação geográfica do grupo delator</i>	176
3.3.3.4 <i>Diferenciação geográfica do grupo nasutus</i>	200
CAPÍTULO 4. BIOGEOGRAFIA DAS ZONAS ALTO-MONTANAS DA MATA ATLÂNTICA	211
4.1 MODELOS DE DIVERSIFICAÇÃO	211
4.2 TESTANDO MODELOS A PARTIR DOS PADRÕES DE DIVERSIFICAÇÃO DAS LINHAGENS ALTO-MONTANAS	214
4.2.1. REFERÊNCIA TEMPORAL PARA OS PADRÕES DOS SIGMODONTÍNEOS	214
4.2.2. PREDIÇÕES FILOGEOGRÁFICAS IMPLÍCITAS NOS MODELOS	217
4.3 TEMPO E MODO DE DIVERSIFICAÇÃO	221
4.3.1 DIVERSIFICAÇÃO GEOGRÁFICA	221
4.3.2 CRONOLOGIA DA DIVERSIFICAÇÃO E A DINÂMICA AMBIENTAL DO QUATERNÁRIO	227
5. CONCLUSÕES	236
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	238
7. APÊNDICES	259

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.1. Domínios morfoclimáticos e regiões fitoecológicas da América do Sul. 4
- Figura 1.2. Fisiografia do leste da América do Sul, destacando os principais conjuntos de serras orientais e áreas com porções consideráveis de campos de altitude no sudeste e sul do Brasil. 9
- Figura 1.3. Padrões faunísticos na Mata Atlântica: (A) relação entre números de espécies (esquerda) e dimensões (milhões de km²) de alguns domínios morfoclimáticos, destacando a Mata Atlântica como o único domínio que apresenta mais espécies do que o esperado a partir de sua área reduzida (retirado de Fonseca *et al.*, 1999); (B) distribuições das áreas de endemismo e faixa latitudinal contendo os maiores números de espécies na Mata Atlântica para mamíferos, aves e lagartos (Costa *et al.*, 2000; Silva, 2005; Vanzolini, 1988). 14
- Figura 1.4. Distribuição altitudinal de espécies de roedores sigmodontíneos do sudeste da Mata Atlântica, compilada a partir de estudos sobre as comunidades de pequenos mamíferos dos maciços do Caparaó e Itatiaia (Bonvicino *et al.*, 1997; Hershkovitz, 1998; Oliveira & Bonvicino, 2002; Geise *et al.*, 2004a). As categorias I e II reúnem espécies com restrição altitudinal marcada, enquanto a categoria III inclui espécies mais cosmopolitas com distribuições altitudinais amplas. 16
- Figura 2.1 Mapa e ambientes das localidades amostradas em trabalhos de campo: (a) maciço do Caparaó destacando-se o Pico da Bandeira (2900m) e campos de altitude; (b) altiplano do Itatiaia (2400m), com Agulhas Negras ao fundo (foto: J. F. Vilela); (c) campos de *Chusquea* spp. no Pico Paraná (1600m), Serra do Mar, Paraná (foto: L. M. Tiepolo); (d) escarpas orientais da Serra Geral no Parque Nacional de São Joaquim, Urubici, Santa Catarina. 20
- Figura 2.2. Representação esquemática do alinhamento das sequências do íntron 7 do beta-fibrinogênio e segmento utilizado nas análises filogenéticas. Espaços brancos representam as lacunas inferidas para maximizar a homologia entre sequências. 26
- Figura 2.3. Caracteres craniométricos definidos para cada gênero. Veja texto (Morfologia quantitativa) para detalhes sobre mensuração, marcos anatômicos e abreviações. 37
- Figura 3.1. Hipóteses prévias sobre a distribuição e diversificação das formas associadas a *Akodon mystax*. (A) Representante de *A. mystax* dos campos de altitude do Terreirão, Parque Nacional do Caparaó (2500m), Minas Gerais. (B) Distribuição das espécies e populações relacionadas a *A. mystax*, destacando a população

de Misiones identificada como *Akodon* sp. por Pardiñas *et al.* (2005), mas incluída em *A. paranaensis* por Christoff *et al.* (2000); pontos cheios representam localidades-tipo. **(C)** Hipótese filogenética prévia sobre a posição de *Akodon mystax* no gênero subsidiada por análises de parcimônia de sequências do citocromo *b* obtidas de amostras da população alto-montana do Itatiaia (retirado de Pardiñas *et al.*, 2005); valores acima de cada ramo equivalem a índices de suporte nodal de *bootstrap* e Bremer. 45

Figura 3.2. Amostras das espécies de *Akodon* utilizadas nas análises moleculares e/ou morfológicas. Números correspondem às localidades relacionadas na Tabela 3.1. 48

Figura 3.3. Hipóteses sobre os relacionamentos de *Akodon mystax* e da população do Itatiaia sugeridas pelas análises filogenéticas de sequências de 1140pb do citocromo *b*. Grupos de espécies que incluem formas alto-montanas da Mata Atlântica possuem seus ramos destacados em negrito. **(A)** Árvore de parcimônia máxima de 3338 passos com base em 490 caracteres parcimoniosamente informativos, CI=0.2633, RI=0.6043; valores próximos aos nós equivalem à divergência genética média entre linhagens irmãs expressa em porcentagem de sítios diferentes. **(B)** Árvore de verossimilhança máxima ($-\ln L=14826.84551$) obtida sob o modelo GTR+I+ Γ com frequências de bases A=0.35490, C=0.36280, G=0.07070, T=0.21160, proporção de sítios invariáveis 47%, taxas de substituição variáveis entre sítios e seguindo uma distribuição gama com $\alpha=0.8688$. Clados bem suportados estatisticamente estão representados por nós pretos (>70% de valor de *bootstrap*), moderadamente suportados por nós cinza (50-69% de valor de *bootstrap*) e fracamente suportados por nós brancos (<50% de valor de *bootstrap*). 52

Figura 3.4. Hipóteses sobre os relacionamentos de *Akodon mystax* e da população do Itatiaia sugeridas pelas análises filogenéticas de sequências de 720pb do íntron 7 do beta-fibrinogênio. Grupos de espécies que incluem formas alto-montanas da Mata Atlântica possuem seus ramos destacados em negrito. **(A)** Uma das 25 topologias igualmente parcimoniosas obtidas com 550 passos, onde 187 caracteres foram parcimoniosamente informativos, CI RI; valores próximos aos nós equivalem à divergência genética média entre linhagens irmãs expressa em porcentagem de sítios diferentes. **(B)** Árvore de verossimilhança máxima ($-\ln L=2678.43068$) obtida sob o modelo GTR+I+ Γ com frequências de bases A=0.30940, C=0.22550, G=0.17870, T=0.28640 e taxas de substituição variáveis entre sítios, seguindo uma distribuição gama com $\alpha=1.5055$. Clados bem suportados estatisticamente estão representados por nós pretos (>70% de valor de *bootstrap*), moderadamente suportados por nós cinza (50-69% de valor de *bootstrap*) e fracamente suportados por nós brancos (<50% de valor de *bootstrap*). Deleções e inserções de segmentos do íntron foram mapeadas na topologia de verossimilhança máxima (posições têm como referência o alinhamento esquematizado na Figura 2.2). 55

Figura 3.5. Padrão de diferenciação morfométrica de *Akodon mystax*, a população do Itatiaia e 13 outras espécies do gênero *Akodon*. **(A)** Escores individuais das espécies em relação às duas funções discriminantes

(FD1 e FD2) e (B) vetores de correlação das variáveis craniométricas originais com funções discriminantes expressando as tendências de variação na forma e tamanho do crânio no espaço multivariado. 59

Figura 3.6. Vista dorsal das regiões rostral e interorbital dos crânios de *Akodon lindberghi* (a, parátipo, Parque Nacional de Brasília, DF), *A. philipmyersi* (b, Misiones, Argentina), população do Itatiaia (c) e *A. torques* (d, Cuzco, Peru). Crânios ilustram as condições dos nasais, rostro e amplitude da região interorbital. Barra = 10mm. 62

Figura 3.7. Variação na placa zigomática ilustrada pela profundidade do entalhe zigomático (em vista dorsal) e pelo distanciamento do bordo anterodorsal da placa em relação à barra superior do zigomático (em vista lateral): (a, *A. mystax*) placa zigomática pouco pronunciada, placa zigomática moderadamente pronunciada (b, *A. albiventer*) e placa zigomática bem pronunciada (c, população do Itatiaia). Barra = 5mm. 63

Figura 3.8. Variação na extensão do forâmen incisivo (à esquerda) e nas larguras relativas do processo hamular e do forâmen subesquamosal na região ótica (à direita): (a, *A. mystax*) forâmen incisivo longo e expandido na porção caudal, (b, população do Itatiaia) forâmen incisivo relativamente curto e estreito em sua porção caudal, (c, *A. mystax*) processo hamular curto e robusto delimitando um forâmen subesquamosal diminuto e (d, população do Itatiaia) processo hamular alongado e estreito delineando um forâmen subesquamosal maior. Barra = 5mm. 64

Figura 3.9. Padrões de variação morfológica e genética no grupo *lindberghi*: (A) diferenciação entre de *A. mystax* e *A. lindberghi* com base nos dois caracteres craniométricos que melhor discriminam as duas espécies, (B) variação entre as espécies na ocorrência do tubérculo massetérico, (C) redes genealógicas de haplótipos do citocromo *b* de populações de *A. mystax* e *A. lindberghi* (haplótipos das duas espécies divergem em 1.8% de diferença em sequência), (D) distribuições conhecidas de *A. mystax* e *A. lindberghi* e conexão histórica entre as duas espécies. 67

Figura 3.10. Padrões de variação morfológica no grupo *cursor*: (A) diferenciação morfométrica entre *A. cursor*, *A. montensis*, *A. paranaensis* e a população do Itatiaia evidenciada por uma análise discriminante de variáveis canônicas e (B) respectivos vetores de correlação entre variáveis craniométricas originais e funções discriminantes; (C) variação entre *A. cursor*, *A. montensis*, *A. paranaensis*, a população do Itatiaia e *A. reigi* (cujas medidas foram obtidas de González *et al.* 1998) com relação aos dois caracteres que melhor discriminam as espécies no grupo; (D) condições arredondada (à esquerda, *A. cursor*) e quadrangular (à direita, população do Itatiaia) do bordo anterodorsal da placa zigomática vistas no grupo *cursor*. 73

Figura 3.11. Filogeografia de *A. paranaensis*: (A) relacionamento entre haplótipos de populações de *A. paranaensis* do Itatiaia e do sul e conexão com haplótipos geneticamente mais distantes de *A. reigi*; (B) limites geográficos de unidades relativamente homogêneas sob as perspectivas morfológica (morfometria

multivariada) e genética (citocromo *b*); (C) genealogia de haplótipos do íntron 7 do beta-fibrinogênio evidenciando maior conectividade genética entre as populações atualmente disjuntas de *A. paranaensis*.

77

Figura 3.12. Limites taxonômicos e geográficos alternativos para as espécies do gênero *Delomys*. Localidades-tipo das formas nominais correntemente usadas estão ilustradas como pontos pretos (localidade-tipo de *dorsalis* permanece como “Rio Grande do Sul”). (A) *collinus* mantido como subespécie para incluir populações setentrionais de *Delomys dorsalis* de 6 mamãs (Voss, 1993); (B) *collinus* como espécie incluindo exclusivamente as populações alto-montanas do Itatiaia e Caparaó de cariótipo $2n=82$, $NFa=86$ (Geise & Bonvicino, 1995).

81

Figura 3.13. Amostras do gênero *Delomys* utilizadas nas análises moleculares e/ou morfológicas. As amostras foram classificadas *a priori* em dois grupos taxonômicos operacionais (grupos *dorsalis* e *sublineatus*) seguindo as diagnoses morfológicas fornecidas por Voss (1993) para *D. dorsalis* e *D. sublineatus*. Números referem-se às localidades relacionadas na Tabela 3.2.

84

Figura 3.14. Genealogias do citocromo *b* (801pb) e limites genéticos e geográficos de *Delomys collinus*, *D. dorsalis* e *D. sublineatus* em concordância com os três cariótipos descritos no gênero. (A) Consenso estrito de 975 árvores igualmente parcimoniosas de 412 passos com base em 161 caracteres parcimoniosamente informativos, $CI=0.665$, $RI=0.9369$; valores próximos aos nós equivalem à divergência genética média entre linhagens irmãs expressa em porcentagem de sítios diferentes. Clados bem suportados estatisticamente estão representados por nós pretos (>70% de valor de *bootstrap*), moderadamente suportados por nós cinza (50-69% de valor de *bootstrap*) e fracamente suportados por nós brancos (<50% de valor de *bootstrap*). (C) Distribuição dos três clados mitocondriais diagnosticados pelos três cariótipos reportados para *Delomys* e áreas de simpatria.

89

Figura 3.15. Genealogias e limites geográficos dos clados revelados pelo íntron 7 do beta-fibrinogênio (672pb). Os limites taxonômicos seguem o arranjo proposto pela análise de citocromo *b* concordante com os cariótipos descritos para o gênero. (A) Consenso estrito de 707 topologias igualmente parcimoniosas de 368 passos, 119 caracteres informativos, $CI:0.58$, $RI:0.87$; (B) Topologia obtida por verossinilhança máxima seguindo o modelo TVM+I+G: frequências de bases = 0.3237, 0.2212, 0.1762 e 0.2789; $\alpha = 0.7020$, proporção de sítios invariáveis = 36.3%.

93

Figura 3.16. Padrões de coloração da pelagem dorsal em *D. dorsalis* (FMNH145381, Boracéia) e *D. collinus* (PH10373, Caparaó) em vistas dorsal (à direita) e lateral (à esquerda). Notar as diferenças nas tonalidades das bandas feomelânicas dos pêlos dorsais.

101

Figura 3.17. Comparações dos comprimentos do corpo e da cauda de adultos de *D. sublineatus*, *D. dorsalis* e da linhagem alto-montana do gênero *Delomys* (clado III). As amostras de *D. sublineatus* e *D. dorsalis* foram identificadas a partir de caracteres de pelagem (descritos no texto), salvo nos casos de simpatria com populações do clado III, onde apenas exemplares geneticamente analisados foram incluídos. **(A)** Distribuições de adultos de todos os adultos examinados de *D. sublineatus*, *D. dorsalis* e do clado III junto com tipos de cada espécie. Medidas de holótipos e sítipos foram retiradas das descrições originais. **(B)** Distribuições de dois pares de populações simpátricas de *D. dorsalis* e *D. sublineatus*. **(C)** Distribuições de amostras das três espécies coletadas exclusivamente durante este trabalho. 103

Figura 3.18. Vistas dorsal e ventral de crânios de *D. collinus* (**a**, PH10219, Caparaó), *D. dorsalis* (**b**, MN44059, Itatiaia) e *D. sublineatus* (**c**, MVZ183076, Boracéia). Barra = 10mm. 106

Figura 3.19. Variação craniométrica em *D. dorsalis*, *D. sublineatus* e no clado III do Itatiaia e Caparaó evidenciada pela análise de componentes principais. As três linhagens foram representadas somente por adultos e adultos-velhos de amostras geneticamente analisadas. **(A)** Elipses de 95% de confiança em torno dos escores individuais de cada espécie obtidos em uma análise de componentes principais e eixos de maior variação reportados; **(B)** vetores de correlação entre variáveis craniométricas originais e os componentes principais. 108

Figura 3.20. Diferenciação craniométrica entre populações simpátricas de *D. dorsalis*, *D. sublineatus* e do clado III evidenciada por uma análise discriminante de variáveis canônicas. **(A)** Escores individuais de cada espécie e **(B)** vetores de correlação entre variáveis craniométricas originais e funções discriminantes. **(C)** Pares de polígonos destacando populações simpátricas de cada espécie. Apenas populações simpátricas foram incluídas, sendo o intervalo etário restrito a adultos/adultos-velhos. 110

Figura 3.21 (a) Distribuição bivariada dos valores dos caracteres craniométricos mais informativos para discriminação entre populações simpátricas de *D. dorsalis* e *D. sublineatus*. Note que para cada região de simpatria existe uma combinação distinta de caracteres que melhor diferenciam as duas espécies. (b) distribuição bivariada dos valores dos caracteres craniométricos mais informativos para discriminação entre *Delomys dorsalis* e representantes do clado III. Exemplares sem dados genéticos e o holótipo de *collinus* são representados nos gráficos inferiores visando avaliar suas afinidades aos indivíduos geneticamente analisados do clado III e de *Delomys dorsalis*. 112

Figura 3.22. Padrão filogeográfico em *Delomys dorsalis*. **(A)** Genealogia de haplótipos de 801pb citocromo *b* em *Delomys dorsalis* obtida por parcimônia máxima evidenciando três clados geneticamente diferenciados dentro da espécie. **(B)** Clados mitocondriais revelados e localidades das amostras de *D. dorsalis* mapeados nas fisionomias florestais da Mata Atlântica (IBGE, 1991). Números entre colchetes identificam haplótipos listados na Tabela 3.4. 117

Figura 3.23. Mapeamento espacial das genealogias intraespecíficas de haplótipos do íntron 7 do beta-fibrinogênio e do citocromo *b* revelando estrutura filogeográfica em *Delomys dorsalis*. As cores e números inscritos nos haplótipos de cada grupo geográfico referem-se a sua distribuição geográfica ilustrada nos mapas à esquerda. Tamanho dos haplótipos é proporcional à sua frequência na espécie. Cada entre-nó corresponde a uma mutação pontual.

121

Figura. 3.24. Distribuições empíricas das diferenças haplotípicas (losangos fechados) nos grupos geográficos de *Delomys dorsalis* contrastadas com as distribuições esperadas (losangos abertos) a partir de um modelo de expansão demográfica recente.

123

Figura 3.25. (à esquerda) Variação geográfica no número de mamas e correlação com a distribuição dos grupos filogeográficos em *Delomys dorsalis*; barra listrada indica a região de transição no número de mamas. À direita, otimização das transformações na fórmula mamária na genealogia do citocromo *b* de *Delomys*, assumindo a presença de 8 mamas como condição primitiva.

125

Figura 3.26. Diferenciação craniométrica entre populações de *Delomys dorsalis* evidenciada por uma análise discriminante de variáveis canônicas. **(A)** Escores individuais de cada população e grupo geográfico identificados na **(B)** legenda e no mapa à direita; **(C)** vetores de correlação entre variáveis craniométricas originais e funções discriminantes. As amostras populacionais identificadas na legenda foram utilizadas como grupos *a priori* na análise.

128

Figura 3.27. Padrões filogeográficos em *Delomys* sp. **(A)** Localidades das amostras destacando os principais maciços costeiros da serra da Mantiqueira e da serra do Mar (localidades listadas na Tabela 3.6). **(B)** Redes genealógicas de haplótipos do citocromo *b* (801pb) e do íntron 7 do beta-fibrinogênio. As cores e números inscritos nos haplótipos referem-se a sua distribuição geográfica ilustrada no mapa à esquerda. Tamanho dos haplótipos é proporcional a sua frequência na espécie. Cada entre-nó corresponde a uma mutação pontual. **(C)** Distribuições empíricas das diferenças haplotípicas (losangos fechados) em *Delomys* sp. contrastadas com as distribuições esperadas (losangos abertos) a partir de um modelo de expansão demográfica recente.

131

Figura 3.28. Variação craniométrica em populações alto-montanas de *Delomys* sp. do Itatiaia (locs. 17, 19) e do Caparaó (loc. 6) evidenciada pela análise de componentes principais. **(A)** Escores individuais identificados de acordo com suas amostras e populações; **(B)** vetores de correlação entre variáveis craniométricas originais e os componentes principais.

133

Figura 3.29. Localidades das amostras de *Delomys sublineatus* examinadas e distribuição de fisionomias florestais do sudeste brasileiro às quais a espécie está associada. Nomes das localidades encontram-se listados na tabela 3.2. 134

Figura 3.30. Padrões filogeográficos em *Delomys sublineatus* (A) Amostras geneticamente analisadas coloridas seguido um arranjo de três grupos regionais de populações (localidades listadas na Tabela 3.7 e mapeadas em detalhe na figura 3.18). (B) Redes genealógicas de haplótipos do citocromo *b* e do íntron 7 do beta-fibrinogênio. As cores e números inscritos nos haplótipos referem-se a sua distribuição geográfica ilustrada no mapa à esquerda. Tamanho dos haplótipos é proporcional a sua frequência na espécie. Cada internó corresponde a uma mutação pontual. (C) Distribuições empíricas das diferenças haplotípicas (losangos fechados) contrastadas com as distribuições esperadas (losangos abertos) a partir de um modelo de expansão demográfica recente. 135

Figura 3.31. Diferenciação craniométrica entre populações de *Delomys sublineatus* evidenciada por uma análise discriminante de variáveis canônicas. (A) Escores individuais de cada população e grupo geográfico identificados na (B) legenda e no mapa à direita; (C) vetores de correlação entre variáveis craniométricas originais e funções discriminantes. As amostras populacionais identificadas na legenda foram utilizadas como grupos *a priori* na análise. 139

Figura 3.32. (a) Exemplar de *Oxymycterus caparae* do Terreirão (2500m), Parque Nacional do Caparaó, e (b) distribuição do grupo *nasutus* integrando as visões de Oliveira (1998) e Hershkovitz (1998). 146

Figura 3.33. Amostras das espécies de *Oxymycterus* utilizadas nas análises morfológicas e/ou moleculares. Números correspondem às localidades relacionadas na Tabela 3.9. 148

Figura 3.34. Relacionamentos filogenéticos de *Oxymycterus caparae* e de *Oxymycterus* sp. inferidos pelas a partir das sequências de 801pb do citocromo *b*. (A) Topologia de consenso estrito de 905 árvores igualmente parcimoniosas de 833 passos (214 caracteres filogeneticamente informativos, CI 0.48, RI 0.84); valores próximos aos nós equivalem à divergência genética média entre linhagens irmãs estimada a partir de 1140pb e expressa em porcentagem de sítios diferentes em relação à sequência total; clados destacados em negrito representam grupos de espécies que incluem as formas alto-montanas de *Oxymycterus* da Mata Atlântica. (B) Distribuições de alguns clados reunindo populações geneticamente analisadas do leste do Brasil conforme sugerido pelas genealogias do citocromo *b*. 153

Figura 3.35. (a) Genealogia do íntron 7 do beta-fibrinogênio no gênero *Oxymycterus* ilustrando as afinidades de *Oxymycterus* sp. e *O. caparae* a *O. delator*, *O. amazonicus* e *O. nasutus*. A topologia representa o consenso de 313 árvores de 263 passos (80 caracteres filogeneticamente informativos, CI = 0.85, RI = 0.15). Cores dos nós indicam níveis de suporte de *bootstrap*: nós pretos = 100-70%, nós cinza = 69-50% e nós

brancos <50%. (b) Comparações das extensões das genealogias do citocromo *b* e do íntron 7 do beta fibrinogênio nos gêneros *Akodon*, *Delomys* e *Oxymycterus*. 160

Figura 3.36. Padrão de diferenciação morfométrica das formas alto-montanas *Oxymycterus* sp. e *O. caparaoe* dentre 14 espécies do gênero *Oxymycterus*: (A) Escores individuais das espécies em relação às duas funções discriminantes (FD1 e FD2) com formas alto-montanas da Mata Atlântica destacadas em cinza; (B) vetores de correlação das variáveis craniométricas originais com funções discriminantes expressando as tendências de variação na forma e tamanho do crânio no espaço multivariado; (C) histograma ilustrando as frequências relativas dos valores de comprimento da pata posterior (incluindo a unguis) das espécies de *Oxymycterus* examinadas. 163

Figura 3.37. Diferenciação morfométrica entre *Oxymycterus* sp., *O. caparaoe* e formas de mesmo tamanho do gênero *Oxymycterus* com distribuição mais oriental: (A) Escores individuais das espécies em relação às duas funções discriminantes (FD1 e FD2) com formas alto-montanas da Mata Atlântica destacadas em cinza; (B) vetores de correlação das variáveis craniométricas originais com funções discriminantes expressando as tendências de variação na forma e tamanho do crânio no espaço multivariado. 167

Figura 3.38. Vista lateral da região rostral e histogramas de distribuição dos valores de extensão relativa do tubo nasal (NTL/LM). Duas condições gerais são aparentes considerando as diferenças modais de NTL/LM: (à esquerda) rostros relativamente curtos (moda NTL/LM <0.5) e nasais anteriormente retilíneos e (à direita) rostros longos (moda NTL/LM >0.5) e com nasais flexionados dorsalmente em seu terço anterior. Espécies figuradas: *O. rufus* (a, MVZ134242, 35km S Sierra Azul, Buenos Aires, Argentina), *Oxymycterus* sp. (b, JAO1512, Parque Nacional do Itatiaia, Rio de Janeiro), *O. delator* (c, APC486, Parque Nacional das Emas, Goiás), *O. amazonicus* (d, FMNH94524, Fordlândia, rio Tapajós, Pará), *O. judex* (e, LMT293, Parque Nacional de Aparados da Serra, Rio Grande do Sul), *O. paramensis* (f, FMNH74899, Ayopaca, Cochabamba, Bolívia), *O. nasutus* (g, LMT377, Parque Nacional São Joaquim, Santa Catarina), *O. caparaoe* (h, MN69612, Parque Nacional do Caparaó, Minas Gerais). Barra = 5mm. 170

Figura 3.39. Regiões rostral e interorbital de representados dos grupos *nasutus* e *delator* do gênero *Oxymycterus* ilustrando variação na expansão lateral dos pré-maxilares e extensão do tubo nasal. (NTL/LM). Espécies figuradas: *O. caparaoe* (a, MN69612, Parque Nacional do Caparaó, Minas Gerais), *O. nasutus* (b, LMT377, Parque Nacional São Joaquim, Santa Catarina), *Oxymycterus* sp. (c, JAO1512, Parque Nacional do Itatiaia, Rio de Janeiro), *O. amazonicus* (e, FMNH94524, Fordlândia, rio Tapajós, Pará), *O. delator* (f, APC486, Parque Nacional das Emas, Goiás). Barra = 5mm. 171

Figura 3.40. Diferenciação morfométrica relacionada a caracteres da região rostral em *Oxymycterus*. Todas as medidas estão em milímetros. 172

Figura 3.41. Variação na placa zigomática ilustrada pela profundidade do entalhe zigomático (em vista dorsal) e pelo posicionamento da face anterior da barra superior do zigomático (linha pontilhada) em relação ao primeiro molar superior (em vista lateral). Seta indica entalhe produzido pela placa zigomática. 173

Figura 3.42. Padrão filogeográfico no grupo *delator* do gênero *Oxymycterus* sob a perspectiva do gene mitocondrial citocromo *b*. **(A)** Árvore de consenso estrito evidenciando os quatro clados geneticamente diferenciados dentro do grupo *delator*. Cores dos nós indicam níveis de suporte de *bootstrap*: nós pretos = 100-70%, nós cinza = 69-50% e nós brancos <50%. Valores próximos aos nós equivalem à divergência genética média entre linhagens irmãs expressa em porcentagem de sítios diferentes. Números entre colchetes identificam haplótipos e espécimes-testemunho relacionados na Tabela 3.10 **(B)** Clados mitocondriais revelados e localidades das amostras de representantes do grupo *delator* mapeados em relação aos domínios morfoclimáticos amazônico, atlântico e do Cerrado. 178

Figura 3.43. (a) Rede genealógica e (b) distribuição geográfica dos haplótipos do íntron 7 do beta fibrinogênio no grupo *delator*. Números entre colchetes identificam haplótipos distintos e respectivas localidades de ocorrências. 182

Figura 3.44. Padrão de diferenciação morfométrica entre clados mitocondriais identificados no grupo *delator*. **(a)** Escores individuais resultantes de uma análise discriminante de variáveis canônicas entre representantes dos três clados mitocondriais com sobreposição geográfica; cores identificam a afiliação dos indivíduos a cada clado mitocondrial (preto=leste, cinza=centro-oeste, branco=central). **(b)** Vetores de correlação das variáveis craniométricas originais com funções discriminantes expressando as tendências de variação na forma e tamanho do crânio no espaço multivariado. 184

Figura 3.45. Padrão de diferenciação morfométrica entre populações do grupo *delator*. **(a)** Escores individuais resultantes de uma análise discriminante de variáveis canônicas entre populações alocadas ao grupo; números inscritos e polígonos identificam as populações enquanto símbolos identificam as formas nominais originalmente referidas a cada população na Tabela ... (triângulo = *Oxymycterus* sp., círculo cinza = *O. aff. delator*, círculo branco = *O. delator*, quadrado = *O. amazonicus*). **(b)** Vetores de correlação das variáveis craniométricas originais com funções discriminantes expressando as tendências de variação na forma e tamanho do crânio no espaço multivariado. 187

Figura 3.46. Relações entre diferenciação morfológica multivariada e heterogeneidade ambiental. (a) Correlações entre variação na forma craniana (expressa pelos escores das funções discriminantes) e tipos de fisionomias ocupadas pelas populações. (b) Grupos morfológicos delineados a partir de um análise de agrupamento (UPGMA) baseada em distâncias de Mahalanobis entre amostras populacionais (números indicam amostras pequenas agrupadas para compor amostras maiores). (c) Distribuições dos grupos

morfológicos; símbolos refletem identificações originais (triângulo = *Oxymycterus* sp., círculo = *O. delator*, quadrado = *O. amazonicus*). 190

Figura 3.47. Vistas dorsal, ventral e lateral dos crânios de representantes dos cinco grupos morfológicos identificados dentro do complexo *delator*. **(a)** *amazonicus* (holótipo, Fordlândia, Tapajós, PA); **(b)** Juruena (MT); **(c)** *delator* (Parque Nacional das Emas, GO/MS); **(d)** Chapada Diamantina (Pq. Nac. Chapada Diamantina, Lençóis, BA); **(e)** forma altimontana (Campos do Itatiaia, 2400m, Pq. Nac. Itatiaia, RJ).

193

Figura 3.48. Variação em alguns caracteres qualitativos cranianos no grupo *delator*: (a, b) vista lateral da região supraorbital mostrando as duas condições de contato entre o esquamosal e a face dorsal do frontal; (c, d) vista ventral da fossa mesopterigóide ilustrando as condições de extensão do palato em relação ao M3 e ponto de término anterior do pré-esfenóide. Abreviações: esq – esquamosal, fro – frontal, pal – palato posterior, par – parietal, psf – pré-esfenóide. 194

Figura 3.49. **(a)** Nível de concordância entre grupos morfológicos e genealogia mitocondrial (citocromo *b*) e **(b, c)** contrastes entre diferenciação morfológica multivariada (distância de Mahalanobis) e divergência genética (distância *p*) em populações do grupo *delator*. 196

Figura. 3.50. Padrão filogeográfico no grupo *nasutus* do gênero *Oxymycterus* sob a perspectiva do gene mitocondrial citocromo *b*. **(A)** Topologia de consenso estrito entre 3 árvores igualmente parcimonosas de 154 passos (CI= 0.92; RI=0.89). Cores dos nós indicam níveis de suporte de *bootstrap*: nós pretos = 100-70%, nós cinza = 69-50% e nós brancos <50%. Valores próximos aos nós equivalem à divergência genética média entre linhagens irmãs expressa em porcentagem de sítios diferentes. Números correspondem a espécimes-testemunho representantes de cada haplótipo e respectivas localidades de ocorrência **(B)** Distribuição dos clados mitocondriais revelados e localidades das amostras de representantes do grupo *delator* mapeada em relação à fisiografia do sudeste e sul do Brasil e Uruguai. 201

Figura 3.51. Rede genealógica e distribuição geográfica de haplótipos e haplogrupos do íntron 7 do beta fibrinogênio no grupo *nasutus*. Números entre colchetes identificam haplótipos distintos e respectivas localidades de ocorrência. 203

Figura 3.52 Diferenciação morfométrica entre *Oxymycterus caparaoe* e *O. nasutus*: **(a)** escores individuais em relação às duas primeiras funções discriminantes, **(b)** vetores de correlação entre caracteres e funções discriminantes, **(c)** distribuição dos valores para caracteres quantitativos mais informativos para discriminação entre as espécies. 205

Figura 3.53. Vistas dorsal, ventral e lateral dos crânios de representantes de *Oxymycterus nasutus* (Rocha, Uruguai) e *O. caparae* (Terreirão, 2500m, Pq. Nac. Caparaó). 206

Figura 3.54. Variação em caracteres qualitativos entre *Oxymycterus nasutus* e *O. caparae*: (a) condições de extensão do forâmen incisivo em relação à face posterior da placa zigomática, (b) frequências absolutas para a forma da sutura fronto-parietal e ocorrência da barra do alisfenóide nas populações de *O. caparae* e *O. nasutus*. Abreviações: aus – barra ausente nos dois lados, ass – barra presente em somente um lado (assimetria), pres – barra presente nos dois lados. 207

Figura 3.55. Diferenciação morfométrica entre populações de *O. nasutus*: (a) contrastes entre o perfil altimétrico latitudinal (linha pontilhada) das populações e a distribuição dos escores das duas primeiras funções discriminantes, (b) escores individuais das populações de *O. nasutus* rotulados em relação à faixa altitudinal ocupada e correspondentes vetores de correlação entre caracteres e funções discriminantes. 209

CAPÍTULO 4.

Figura 4.1. Esquema de datação utilizado: (A) Topologia estimada sob o critério de verossimilhança máxima seguindo o modelo evolutivo GTR+I+ Γ (parâmetros: $-\ln L = 21681.37866$, $\alpha = 0.72$, $\text{freqA} = 0.35$, $\text{freqC} = 0.37$, $\text{freqG} = 0.05$) a partir de sequências do citocromo *b* (1140pb) e (B) cronograma inferido através do método de verossimilhança penalizada (*penalized likelihood*) tendo as datas do ancestral de Sigmodontinae (SI = 13.1Ma) e do ancestral de Oryzomyia (OR = 7.8Ma) como pontos de calibragem do relógio molecular (Steppan *et al.*, 2004); nós cinza representam estimativas de idade dos táxons concordantes com o registro fóssil (*Necromys* = 3.8Ma; *Akodon* = 2.8Ma). 216

Figura 4.2. Modelos de diversificação envolvendo formas alto-montanas da Mata Atlântica e suas predições filogenéticas. (A) Refúgios glaciais: a espécie campestre *a* encontra-se amplamente distribuída enquanto as espécies florestais *b* e *c* estão restritas a refúgios florestais durante o período glacial T1; com a passagem para um período interglacial T2, ocorre a expansão florestal e retração das formações campestres para latitudes maiores ou para as zonas altitudinais mais elevadas (refúgios glaciais), ocasionando isolamento geográfico do ancestral *a* e sua diferenciação em *d*, *e*, e *f*. Gradientes ecológicos: dispersão das espécies *b* e *c* para colonizar os habitats campestres alto-montanos e austrais; devido às pressões seletivas distintas entre habitats as populações florestais e campestres estão sujeitas à seleção disruptiva, que ao longo do tempo promove a divergência morfológica das populações *b* e *c* em espécies *d*, *e* e *f*. (B) Refúgios glaciais: espécies alto-montanas e espécies austrais constituem um grupo monofilético com diversificação concordante com a entrada em período interglacial mais quente e úmido, no exemplo acima, a primeira metade do holoceno após o último glacial máximo. Gradientes ecológicos: cada espécie alto-montana tem como linhagem-irmã uma espécie geograficamente próxima ou adjacente; espécies ocupando habitats similares tendem a apresentar fenótipos similares, mesmo não compartilhando um ancestral comum exclusivo. 220

Figura 4.3. Estrutura filogeográfica e modos geográficos de diversificação em 7 clados incluindo linhagens montanas (triângulos). Os casos *a*, *b* e *c* ilustram episódios de disjunção entre endemitas alto-montanos e componentes das fisionomias abertas do leste brasileiro. O caso *d* evidencia conexões recentes entre populações alto-montanas dos dois grandes maciços da Mata Atlântica. O caso *e* exemplifica uma sequência histórica de fragmentações das florestas ombrófilas montanas do sudeste brasileiro. O caso *f* ilustra a dissociação entre os padrões morfológicos (símbolos) e filogeográficos emergentes de um processo de diversificação ao longo de gradientes ecológicos. O caso *g* mostra o padrão de diversificação mais antigo envolvendo linhagens alto-montanas, cujo modo de especiação não pode ser precisamente inferido.

223

Figura 4.4. Cronologia dos eventos de surgimento de linhagens montanas e oscilações paleoclimáticas e paleoambientais ocorridas ao longo de grande parte do Quaternário. Os perfis climáticos representados são (I) flutuações no nível do mar, (II) variações na concentração marinha de deutério (O18) e (III) massa de partículas no ar (poeira) medidos em perfurações de geleiras na Antártida (EPICA, 2004). O registro palinológico (IV) de uma localidade da Mata Atlântica (Colônia, São Paulo; Ledru *et al.*, 2005) foi representado em relação aos perfis climáticos permitindo uma extrapolação sobre os níveis históricos de fragmentação das fisionomias campestres.

231

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1. Amostras e espécies do gênero *Akodon* utilizadas nas análises moleculares (*cytb* e *fgb17*) e morfológicas. Os números entre parênteses referem-se às localidades mapeadas na Figura 3.2.

49

Tabela 3.2 Localidades das amostras do gênero *Delomys* utilizadas nas análises moleculares (*cytb* e *fgb17*) e morfológicas, e informações citogenéticas associadas. Número entre parênteses refere-se às localidades mapeadas na Figura 3.13.

85

Tabela 3.3. Comparações morfológicas entre as três espécies evidenciadas pelas análises genéticas. As estatísticas descritivas dos caracteres morfométricos externos e craniodentários são fornecidas com mais detalhe no Apêndice II.

114

Tabela 3.4. Haplótipos de citocromo *b* (801) identificados em *Delomys dorsalis*, espécimes-testemunho e localidades associadas. Localidades encontram-se mapeadas na figura 3.22.

118

Tabela 3.5. Resultados das Análises de Variância Molecular (AMOVA) realizadas em *Delomys* a partir das seqüências de 801pb do citocromo *b*. Componentes de variação molecular são fornecidos assim como estimativas de parâmetros análogos às estatísticas-*F* (Φ_{st} , Φ_{ct} , Φ_{sc} ; Excoffier et al., 1992). Valores de significância calculados em 1023 permutações da matriz original de haplótipos: *- $P < 0.05$; **- $P < 0.01$; ***- $P < 0.001$; n.s.- não significativo. Grupos geográficos de populações definidos a priori: *a*—clados mitocondriais, *b*—maciços do Itatiaia e Caparaó, *c*—2 arranjos distintos de acordo com a geografia das amostras (veja texto). 122

Tabela 3.6 Fêmeas de *Delomys dorsalis* com informações sobre número de embriões registradas a partir dos dados fornecidos pelos coletores. 127

Tabela 3.7. Haplótipos de citocromo *b* (801pb) identificados em *Delomys* sp., espécimes-testemunho e localidades associadas. Localidades encontram-se mapeadas na figura 3.27. 132

Tabela 3.8. Haplótipos de citocromo *b* (801pb) identificados em *Delomys sublineatus*., espécimes-testemunho e localidades associadas. Localidades encontram-se mapeadas na figura 3.30. 136

Tabela 3.9. Espécies, localidades das amostras e número de espécimes do gênero *Oxymycterus* analisados para cada conjunto de caracteres. Número entre parênteses refere-se às localidades mapeadas na Figura 3.33. O arranjo de grupos de espécies e a identificação das amostras analisadas seguem Oliveira (1998), exceto quando mencionado. 149

Tabela 3.10 Haplótipos de citocromo *b* (1140pb) identificados no grupo *delator* do gênero *Oxymycterus*, espécimes-testemunho e localidades associadas. Localidades encontram-se mapeadas na figura 3.42 198

Tabela 3.11. Probabilidades de alocação *a posteriori* de representantes das amostras pequenas em relação a amostras maiores do grupo *delator* baseadas nas distâncias de Mahalanobis calculadas em 10000 iterações de *bootstrap*. Exceto pela amostra da Chapada Diamantina, somente estão representadas as amostras grandes às quais os espécimes de amostras pequenas foram alocados em mais de 50% das iterações de *bootstrap*. 199

Capítulo1. INTRODUÇÃO

A origem e a distribuição da diversidade biológica têm intrigado o pensamento humano há pelo menos 3000 anos (Papavero *et al.* 2000) e hoje representa o problema central da biologia comparada. Desde que a amplitude geográfica do conhecimento científico aumentou, questões essenciais como “por que existem tantas espécies em determinadas áreas?” ou “por que algumas existem somente em um único lugar?” deram início a um extenso debate onde uma resposta suficientemente abrangente ainda não foi proposta. O fenômeno da diversidade biológica geralmente tem sido abordado por perspectivas distintas, consideradas, até certo ponto, desconectadas por boa parte dos biólogos modernos (Wiens & Donoghue, 2004). Consequentemente, diferentes respostas têm sido formuladas para a mesma pergunta, em virtude da seletividade dos estudos ao investigar somente alguns dos múltiplos fatores envolvidos no processo de especiação. Um bom exemplo da variedade de explicações existentes é fornecido por Lomolino *et al.* (2006), onde cerca de 30 hipóteses são propostas para explicar por que existem mais espécies nos trópicos.

Desde a década de 70, a Biogeografia tem se dividido em duas vertentes metodológicas, uma histórica e outra ecológica. A biogeografia histórica tem se dedicado a explicar os padrões atuais de distribuição das espécies a partir de reconstruções das relações filogenéticas entre biotas de diferentes áreas, geralmente sumarizadas em cladogramas de áreas (Wiley, 1988; Morrone & Crisci, 1995). Nesta abordagem, a influência de fatores ecológicos na estruturação geográfica destas biotas é ignorada, uma vez que a concordância entre linhagens é interpretada como produto exclusivo de isolamento geográfico ocasionado

pelo surgimento de barreiras geográficas. A biogeografia ecológica, por sua vez, tem procurado explicar a distribuição da diversidade com base nos limites ecológicos atuais das espécies, buscando parâmetros e condições ambientais determinantes para a sua ocorrência e distribuição, sem necessariamente se preocupar com a história destas entidades, ou mesmo com a dinâmica temporal de seus próprios atributos ecológicos (Espinosa & Llorente-Bousquets, 1993).

A reconciliação entre as abordagens histórica e ecológica tem sido bastante promissora rumo a uma síntese mais moderna da Biogeografia e um melhor entendimento sobre a evolução das biotas (Wiens & Donoghue, 2004; Lomolino, Riddle & Brown, 2006). Um dos produtos de tal esforço consiste na série de modelos unificadores de especiação e evolução de comunidades propostos nos últimos 50 anos (Haffer, 1969; Vanzolini & Williams, 1970; Endler, 1977; 1982; Marroig & Cerqueira, 1997). A mensagem geral que se tem quando todos os modelos são considerados é que a diversidade de espécies pode ser gerada não só por eventos e processos históricos, mas também pela heterogeneidade ambiental contemporânea. Infelizmente, tendo em vista a parca quantidade de sistemas satisfatoriamente estudados até o momento, estas teorias ainda carecem de uma quantidade substancial de estudos empíricos que avaliem efetivamente sua generalidade e poder preditivo. O teste destes modelos idealmente requer um volume de informações sobre condições paleoambientais, história natural, distribuição geográfica, relacionamento filogenético e idade de linhagens que raramente estão disponíveis para a maior parte das espécies conhecidas. A falta, portanto, de uma teoria universal sobre os padrões globais de diversidade deve-se não somente à dissociação entre as perspectivas histórica e ecológica, mas também ao baixo número de biotas suficientemente estudadas ao redor do mundo. Esta lacuna de conhecimento deve ser rapidamente remediada

tendo em vista a necessidade crescente de gerir racionalmente a diversidade biológica do planeta, antes que ela seja completamente extirpada pelas populações humanas.

A América do Sul tem frequentemente figurado em discussões sobre diversificação biótica, obviamente por abrigar uma porção considerável das espécies do planeta. Dentre as cerca de 27.298 espécies de vertebrados tetrápodos conhecidas, aproximadamente 4.730 (17,3%) estão exclusivamente confinadas a ecossistemas da região neotropical (Myers *et al.* 2000). A singularidade biótica desta região do planeta é em parte fruto da história única de isolamento da América do Sul das demais massas de terra do planeta por quase 50 milhões de anos, oferecendo oportunidade para extensa diferenciação de sua fauna e flora em relação aos demais continentes. Com a reconexão entre as Américas no final do Terciário (há 3 milhões de anos atrás), a América do Sul recebeu conjuntos faunísticos alóctones que nela se diversificaram extensivamente e se integraram ao elenco autóctone já bastante rico, ou o substituíram em parte. Além desta cronologia complexa e dinâmica de isolamento e intercâmbio que moldou o panorama faunístico atual da América do Sul, a posição geográfica deste continente, sempre próximo ao equador desde o Cretáceo, favoreceu a retenção de extensas áreas florestais justapostas a formações campestres de regiões mais austrais, garantindo uma grande heterogeneidade ambiental por pelo menos 65 milhões de anos (Simpson, 1948; Webb, 1977; Rizzini, 1979; Janis, 1993).

A heterogeneidade ambiental da América do Sul pode ser organizada em domínios morfoclimáticos, ou áreas nucleares apresentando coesão topográfica, fisionômica, climática e hidrológica (Ab Saber, 1977) (Figura 1.1). Dentre estas áreas, os domínios florestais amazônico (Floresta Amazônica) e atlântico (Mata Atlântica) têm recebido atenção especial por abrigarem as comunidades mais ricas do planeta e por representarem cerca de 30% das

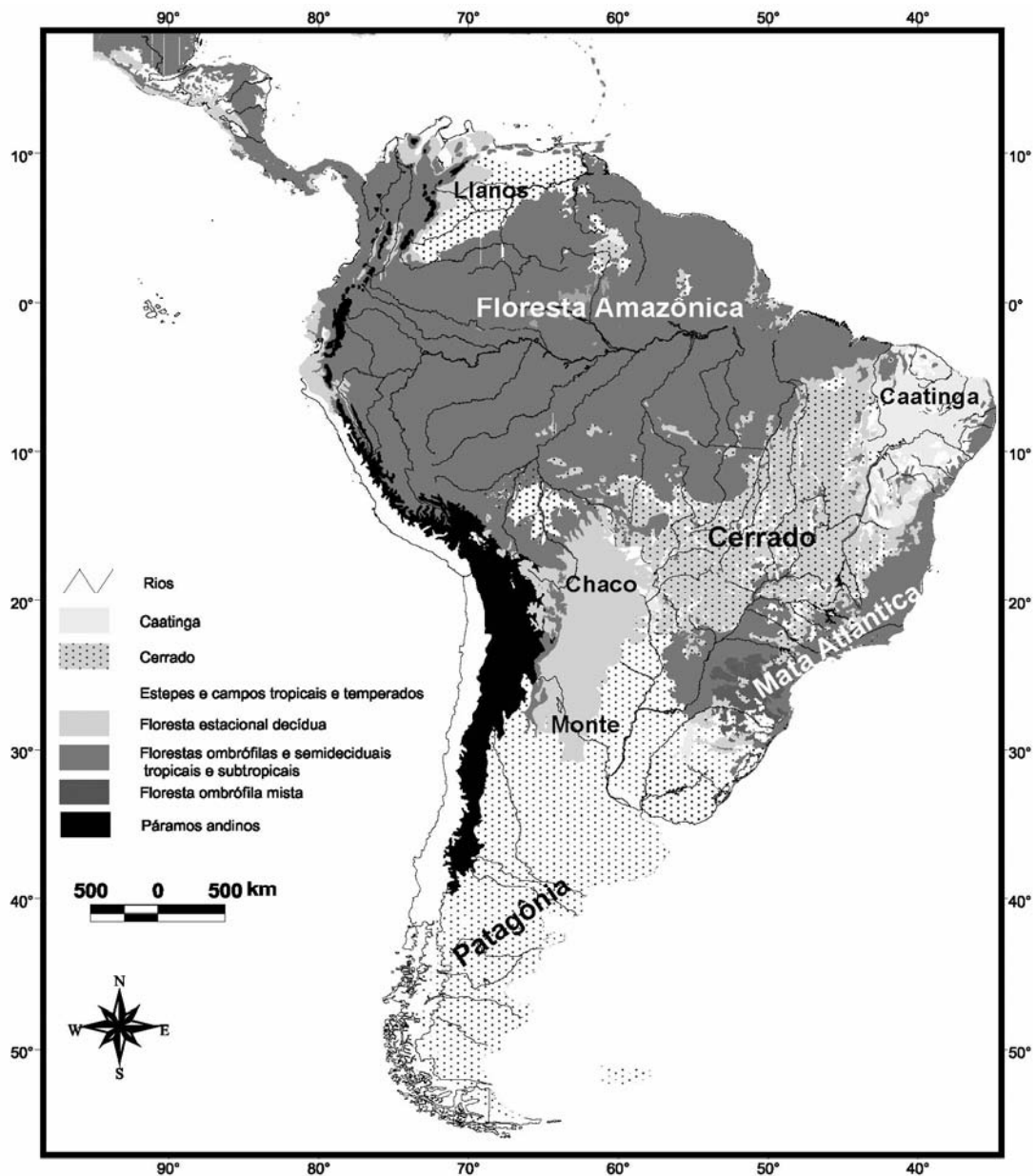


Figura 1.1. Domínios morfoclimáticos e regiões fitoecológicas da América do Sul.

florestas tropicais do mundo (Mori, Boom & Prance, 1981). Apesar do fascínio tradicional dos naturalistas pelas florestas sulamericanas, os domínios abertos do Cerrado, Caatinga, Campos e Estepes Sulinas, antes considerados biologicamente depauperados, têm sido redescobertos como detentores de considerável singularidade biótica e tratados como peças-chave na compreensão da evolução da diversidade tropical (Marinho-Filho, Rodrigues & Juarez, 2002;

Leal, Tabarelli & Silva, 2003; Costa, 2003). Os domínios megadiversos da América do Sul têm sido, portanto, o ponto de partida para os debates sobre “por que tantas espécies existem nestas áreas?” e “como elas surgiram?”. Geralmente, os naturalistas têm tentado entender como a interação entre relevo, clima, processos ecológicos e evolução climática e geológica teriam induzido a multiplicação de espécies.

Neste contexto, um passo marcante tem sido alcançado pelo crescente uso e acessibilidade das técnicas da genética molecular moderna em questões evolutivas e ecológicas (Avice, 2000). Quando complementadas por estudos de variação fenotípica (morfológica) e de distribuição geográfica, estas análises representam as ferramentas com as quais as informações sobre o relacionamento filogenético de linhagens, a delimitação de espécies e o contexto geográfico da origem destas espécies podem ser obtidas (Lougheed *et al.* 1999; Moritz *et al.* 2000; Patton, Silva & Malcolm, 2000; Costa, 2003; Lara, Geise & Schneider, 2005). Quando a integração com evidências paleoambientais e geológicas é possível, os padrões geográficos de diversificação das espécies podem ser finalmente visualizados temporalmente, tornando a proposição e/ou a avaliação de modelos mais explícita e objetiva. Tal integração ainda é rara, mas torna-se cada vez mais factível devido ao crescente volume de informações sobre a dinâmica ambiental, faunística e florística do Quaternário, proporcionadas pela série de estudos modernos sobre palinofloras (Behling & Lichte, 1997; Behling, 2002) e paleofaunas (Pardiñas, D'Elía & Ortiz, 2002; Auler *et al.* 2007) da América do Sul.

A presente monografia visa contribuir à compreensão do processo de diversificação das biotas tropicais a partir do estudo de mamíferos de pequeno porte habitando os ecossistemas alto-montanos da Mata Atlântica conhecidos como campos de altitude. A origem

e evolução da biota dos campos de altitude ainda permanece pouco conhecida devido à escassez de estudos comparativos de sua flora e fauna. Estes arquipélagos campestres entremeados por florestas exibem níveis notáveis de endemismo, servindo como experimentos naturais para compreender os processos de origem e diferenciação das espécies na Mata Atlântica. Os mamíferos mais comuns destes ambientes são em geral roedores da subfamília Sigmodontinae, um grupo com diversificação extensa por todas as regiões da América do Sul, cujas espécies muitas vezes encontram-se intimamente associadas a regiões ecológicas particulares dentro dos domínios morfoclimáticos do continente. O presente estudo foi motivado pela expectativa de que a compreensão da história de diversificação do conjunto de roedores associados a estes ecossistemas montanos pudesse revelar traços sobre os mecanismos, eventos históricos e processos ecológicos envolvidos na geração da singularidade biótica observada nas comunidades alto-montanas da Mata Atlântica.

O presente trabalho está estruturado em 4 capítulos. O primeiro apresenta uma breve introdução sobre o sistema a ser estudado — as comunidades alto-montanas de sigmodontíneos dentro da Mata Atlântica. O segundo capítulo trata dos métodos utilizados, inicialmente detalhando as áreas e técnicas utilizadas na obtenção de amostras das espécies estudadas em trabalhos de campo, e, posteriormente, descreve as metodologias utilizadas para as estimativas de relacionamento filogenético, estrutura e história populacional, variação morfológica e delimitação taxonômica. O terceiro capítulo documenta os padrões de diversificação filogeográfica e morfológica dos grupos de espécies selecionados, discutindo suas implicações taxonômicas e apontando os prováveis fatores envolvidos na origem da diversidade em cada grupo. As análises nesse momento visam responder às questões sobre “quem são” e “onde estão” as linhagens evolutivamente mais próximas às linhagens

endêmicas alto-montanas. O quarto capítulo encerra a monografia apresentando uma cronologia de diversificação dos endemitas montanos estudados e abordando a questão de “como a singularidade biótica das zonas alto-montanas teria surgido e que processos estariam envolvidos nesta origem”.

1.1 A MATA ATLÂNTICA: FISIOGRAFIA, CLIMAS E VEGETAÇÃO

“O selvático espectáculo excedeu de muito tudo quanto a minha fantasia concebera até então sobre as grandes cenas da natureza. Entramos num profundo vale, em que a água muito límpida ora corre sobre um leito de pedra, ora descansa em lagoa tranquila. Pouco além uma floresta imensa, da qual nenhuma imagem pode dar uma idéia adequada. Por toda a parte, as palmeiras e as magníficas árvores da região se entrelaçavam tanto com as trepadeiras, que era impossível à vista penetrar aquela espécie de muralha verdejante.” (Maximilian Wied-Neuwied, quando nas serras da costa atlântica) [1826, tradução Olivério Pinto (1940)].

Relatos como esse foram comuns quando os primeiros naturalistas percorreram a exuberante Mata Atlântica que cobria 1.220.000 km² do continente sulamericano (Fig. 1). A “muralha verdejante” deu lugar à região mais populosa da América do Sul, tendo 95% de sua cobertura vegetal nativa destruída e convertida em frentes agrícolas e grandes cidades nos últimos cinco séculos de ocupação humana do continente (Dean, 1996; Galindo-Leal & Câmara, 2003). Ainda assim, o domínio florestal atlântico abriga uma das mais ricas e únicas biotas do mundo a despeito de sua área reduzida e extremamente fragmentada, o que o coloca entre as cinco áreas megadiversas mais ameaçadas do planeta (Myers *et al.* 2000). Ao contrário da Floresta Amazônica, distribuída pelas baixas latitudes e altitudes da zona equatorial, a Mata Atlântica apresenta-se azonal, primariamente abrangendo um gradiente bem

amplo de climas e solos que se estende desde a faixa tropical aos 6°S até a zona temperada úmida aos 30°S (Nimer, 1979; Ab Saber, 2003). Os diferentes regimes térmicos e hídricos expressos na área de domínio atlântico têm implicações profundas na composição e estrutura das florestas, resultando em uma variação geográfica significativa das comunidades vegetais ao longo das latitudes (Oliveira-Filho & Fontes, 2000). A topografia extremamente heterogênea do terreno ocupado pela Mata Atlântica constitui um fator adicional de diversificação paisagística e ecológica do domínio, particularmente no sudeste e sul do Brasil (Figura 1.2). Nessa região, as bordas do planalto atlântico brasileiro assumem sua configuração mais complexa, produzindo um sistema de serras e maciços montanhosos costeiros que podem alcançar quase 3000m de altitude (Ab Saber, 2003). Dois conjuntos de serras —a serra do Mar a leste e a serra da Mantiqueira a oeste— percorrem paralelamente a costa, formando um paredão contínuo e imponente, que bloqueia frentes de ar úmido vindas do oceano e do pólo sul, provocando excesso de chuvas nas encostas orientais e maior seca e sazonalidade climática nas áreas mais interioranas (Nimer, 1979). A divisão longitudinal de climas ocasionada por estas serras é tão marcante que dois tipos de florestas podem ser notados: as florestas ombrófilas, que se estendem na linha da costa, e as florestas estacionais semidecíduais do interior, que nos estados de São Paulo e Paraná avançam por mais de 700km sobre o planalto até alcançarem a bacia do Paraná (Veloso *et al.* 1992). No extremo sul do domínio atlântico, no estado de Santa Catarina, a serra do Mar é substituída pela vertente mais oriental da serra Geral, dando continuidade à paliçada rochosa que em sua porção mais austral delimita a floresta ombrófila da planície costeira e o mosaico de campos e florestas mistas com araucária que cobre a porção meridional do planalto brasileiro.

As próprias superfícies das encostas das serras costeiras servem como substrato para

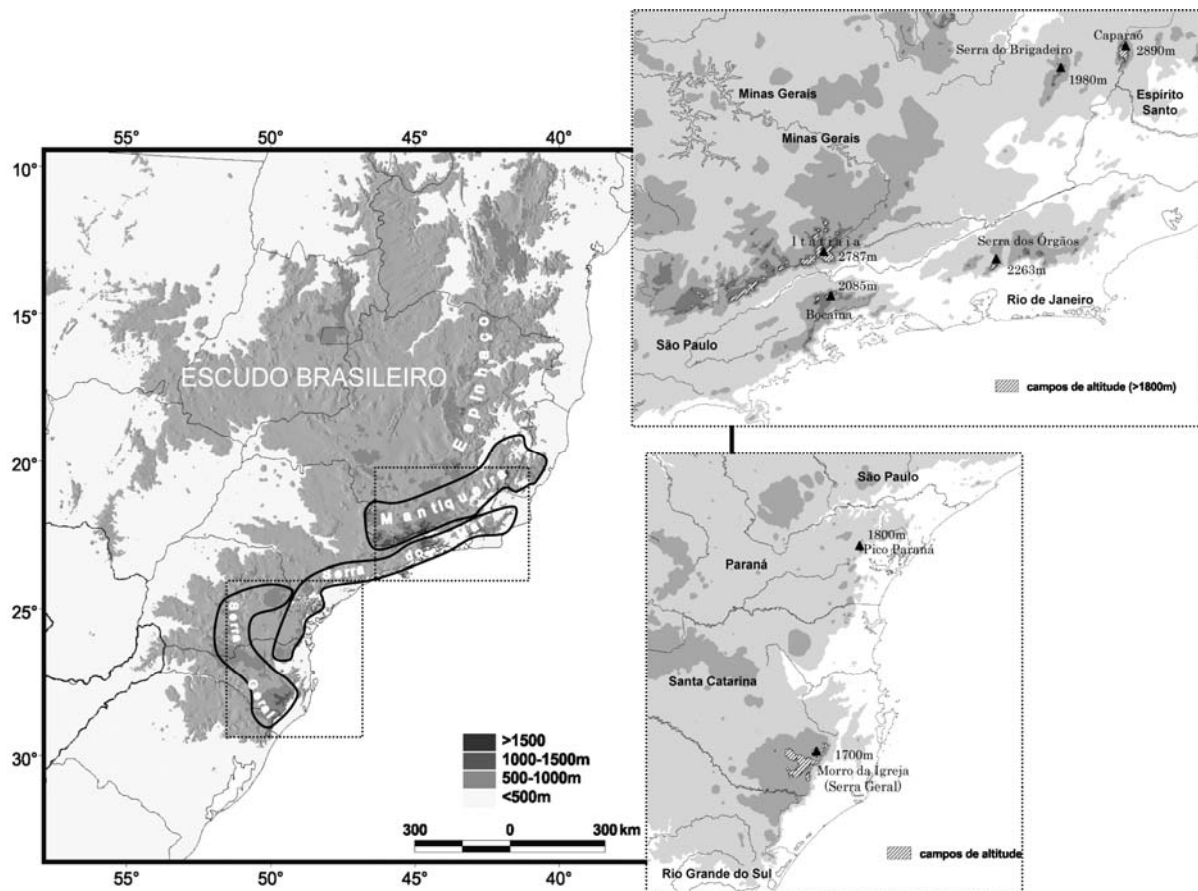


Figura 1.2. Fisiografia do leste da América do Sul, destacando os principais conjuntos de serras orientais e áreas com porções consideráveis de campos de altitude no sudeste e sul do Brasil.

diferenciação regional, oferecendo um gradiente altitudinal de temperatura, umidade, pressão atmosférica e nebulosidade que, conseqüentemente, sustenta um grande espectro de fisionomias. Os solos progressivamente mais rasos das zonas altitudinais superiores vão sendo cobertos por florestas com dossel cada vez mais baixo, sendo submontanas nas bases das serras (até 500m) e montanas (500-1500m) e alto-montanas (1500m) nas elevações máximas. Nos topos dos maciços montanhosos, a superfície desgastada e aplainada dos blocos rochosos fornece amplos altiplanos extensivamente cobertos pela peculiar vegetação dos campos de altitude, muitas vezes dissecada por vales melhor drenados onde penetram tratos de floresta alto-montana ou “nebulosa” (Brade, 1956; Segadas-Vianna, 1965; Martinelli & Bandeira, 1989;

Veloso *et al.* 1992; Dean, 1996). O clima nestas altitudes chega a ser mesotérmico úmido ou super-úmido com constantes geadas e temperaturas negativas frequentes, condições bastante distintas das planícies e vales a poucos quilômetros de distância (Nimer, 1979).

A fisiografia responsável pela heterogeneidade ambiental vista no sudeste brasileiro é produto de uma longa interação entre processos orogênicos e erosivos iniciados no Pré-Cambriano. Neste período, as atividades orogênicas relacionadas à formação do supercontinente Gondwana ocasionaram um primeiro soergimento das massas de rochas que atualmente formam o escudo brasileiro. Outros pulsos de soergimento e dobramento do escudo brasileiro voltaram a se intensificar a partir do Cretáceo, tendo seu ápice no final do Terciário, quando os conjuntos de serras costeiras teriam atingido suas magnitudes atuais (Almeida, 1976; Clapperton, 1993; Ab Saber, 2003). Neste momento, acredita-se que a divisão orográfica de climas teria tido seu início uma vez que as serras da Mantiqueira e do Mar já estariam elevadas o suficiente para bloquear as massas de ar úmido do Atlântico.

Tendo em vista a complexidade de climas, topografia e vegetação deste domínio, não é surpreendente que o próprio conceito de Mata Atlântica seja objeto de um longo debate fitogeográfico sobre as origens e afinidades históricas de suas florestas (Azevedo, 1950; Rizzini, 1979; Mori *et al.* 1981; Veloso *et al.* 1992; Oliveira-Filho & Fontes, 2000). Dentre os casos de maior peculiaridade florística e evolutiva entre as vegetações atlânticas, os campos de altitude provavelmente se destacam como caso extremo, uma vez que nem mesmo possuem uma estrutura típica de floresta tropical, apesar de serem incluídos no domínio da Mata Atlântica (Rizzini, 1979). Das aproximadamente 400 espécies de plantas que compõem estas comunidades alto-montanas, apenas 55% são compartilhadas com as florestas adjacentes. A maior parte das formas vegetais restantes tem como parentes mais próximos táxons

encontrados exclusivamente nos páramos da cordilheira andina, situada a mais de 2000 km de distância da escarpa oriental brasileira (Brade, 1956; Landrum, 1981; Clark, 1992; Safford, 1999c). Como estes ecossistemas estão circunscritos aos cumes e altiplanos acima de 1800m de altitude das serras do Mar e da Mantiqueira no sudeste do Brasil, sua configuração espacial se assemelha a um arquipélago de topos de serras que apresenta altos níveis de isolamento geográfico e diferenciação ecológica em relação às formações florestais circundantes, favorecendo um número elevado de endemitas. Cerca de 30% das espécies vegetais que compõem a comunidade alto-montana são exclusivamente encontradas em formações de campos de altitude e aproximadamente 11% das espécies encontram-se restritas a uma única serra ou maciço montanhoso (Safford, 1999c). A importância biogeográfica e a singularidade destas comunidades alto-montanas há muito foram reconhecidas pela grande parte dos botânicos e geólogos (Martinelli & Bandeira, 1989; Clapperton, 1993). Entretanto, à exceção dos trabalhos de Safford (Safford, 1999a; Safford, 1999b; Safford, 1999c; 2001), pouco se tem avançado no conhecimento sobre os campos de altitude devido à ausência de estudos integrados destes ecossistemas.

1.2 O PAPEL DA ALTITUDE NA DIVERSIDADE FAUNÍSTICA DA MATA ATLÂNTICA

A heterogeneidade fisiográfica e climática abrangida pelo domínio atlântico têm implicações profundas na diversidade faunística, onde as relações riqueza/área e os padrões de distribuição de endemitas representam os efeitos mais notáveis. Comparações da riqueza de vertebrados da Mata Atlântica (2338 espécies — (Fonseca, Herrmann & Leite, 1999)) com a de outros domínios de dimensões próximas revelam que este domínio possui mais espécies por

km² do que qualquer outra área tropical. O Cerrado possui uma riqueza faunística próxima à da Mata Atlântica, com cerca de 2105 espécies de vertebrados (Fonseca *et al.* 1999), mas apresentando uma área 1,6 vezes maior (1,8 milhões de km²). A Floresta Amazônica, maior domínio florestal do continente, possui cerca de 3824 espécies de vertebrados (Capobianco *et al.* 2004), uma riqueza 1,6 vezes maior do que a da Mata Atlântica mas distribuída em uma área quase 6 vezes mais extensa (6 milhões de km²). A concentração excepcional de espécies na Mata Atlântica fica ainda mais evidente quando a diversidade de mamíferos é analisada separadamente. Aproximadamente 263 espécies de mamíferos ocorrem na Mata Atlântica (Fonseca *et al.*, 1999), um número 1,6 vezes maior do que a riqueza de mamíferos do Cerrado (161 espécies) e 1,8 vezes maior que a da Caatinga (143 espécies, 800.000 km²), domínios mais próximos em área territorial. O nível de endemismo do domínio atlântico é ainda mais notável, com 32% das espécies sendo endêmicas contra apenas 12% do Cerrado. Fonseca e colaboradores (1999) analisando a diversidade de mamíferos de seis grandes domínios do continente (Amazônia, Mata Atlântica, Cerrado, Caatinga, Chaco e Pantanal), verificaram uma relação significativa entre número de espécies e a dimensão dos domínios. Nestas comparações, a Mata Atlântica representou a única biota que se destacou das predições de riqueza/área, apresentando mais espécies e mais endemitas do que seria esperado a partir de sua área relativamente reduzida (Figura 1.3a). Vale ressaltar, entretanto, que estes números ainda são bastante conservadores, levando-se em conta a inacurácia das estimativas de diversidade local, principalmente nos domínios florestais, e o crescimento recente no número de novas espécies de mamíferos (Voss & Emmons, 1996; Patterson, 2000; Carmignotto, 2005). Por outro lado, novas espécies têm sido descritas não só para a Amazônia (Patton *et al.* 2000), como também para a Mata Atlântica (Hershkovitz, 1998a; Emmons *et al.* 2002;

Oliveira & Bonvicino, 2002; Leite, 2003) e para o Cerrado (Bonvicino, 2003; Gonçalves, Almeida & Bonvicino, 2005), sugerindo que a qualidade das estimativas de diversidade para estes domínios seja em geral parecida. Assumindo esta última possibilidade, a discrepância da Mata Atlântica das razões espécie/área dos domínios da América do Sul provavelmente reflete outros fatores que não meramente a extensão do domínio.

A diversidade mastofaunística na Mata Atlântica não está uniformemente distribuída e o mapeamento de áreas de endemismo realizada por Costa *et al.* (2000) sugere que a maior parte das espécies endêmicas esteja concentrada na região fisiograficamente mais intrincada do domínio, o sudeste e sul brasileiros, situados entre as latitudes 20°S e 30°S (Fig. 1.3b). Este parece ser um padrão também observado para outros organismos, como árvores (Prance, 1989), bambús (Soderstrom, Judziewicz & Clark, 1988), aves (Silva, 2004), lagartos (Vanzolini, 1988) e anfíbios (Cruz & Feio, 2007), evidenciando uma concentração excepcional de endemitas nesta região. Devido a este padrão biogeográfico, o sudeste brasileiro tem sido repetidamente reconhecido como um grande centro de endemismo (serra do Mar) ou como detentor de numerosos centros menores (ex: centros Rio de Janeiro, Paulista, serra do Mar). A coincidência da complexidade fisiográfica da região com os altos níveis de endemismo aponta a topografia como um fator central na diversidade biológica da Mata Atlântica.

Mamíferos de pequeno porte, como os roedores das famílias Cricetidae e Echimyidae e os marsupiais da família Didelphidae respondem por 80% das espécies endêmicas da Mata Atlântica e, geralmente, são os elementos responsáveis pelo regionalismo das comunidades de mamíferos neotropicais (Costa *et al.* 2000). Conseqüentemente, a composição das espécies de pequenos mamíferos varia significativamente ao longo das distintas faixas altitudinais dos

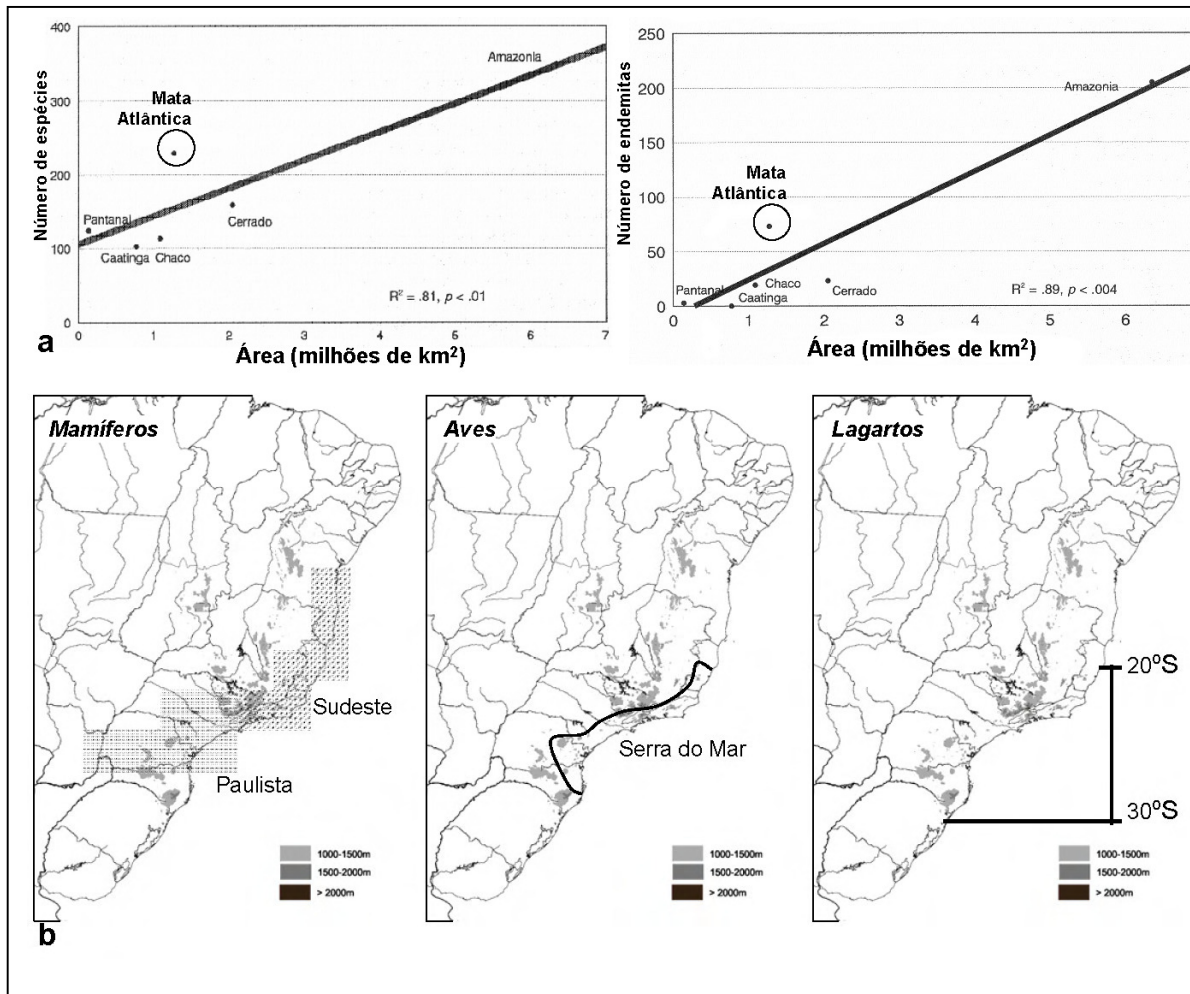


Figura 1.3. Padrões faunísticos na Mata Atlântica: (A) relação entre números de espécies (esquerda) e dimensões (milhões de km²) de alguns domínios morfoclimáticos, destacando a Mata Atlântica como o único domínio que apresenta mais espécies do que o esperado a partir de sua área reduzida (retirado de Fonseca *et al.*, 1999); (B) distribuições das áreas de endemismo e faixa latitudinal contendo os maiores números de espécies na Mata Atlântica para mamíferos, aves e lagartos (Costa *et al.*, 2000; Silva, 2005; Vanzolini, 1988).

grandes maciços montanhosos. A topografia representa então um importante fator organizador das comunidades de pequenos mamíferos, mas a origem do endemismo nas zonas mais elevadas não pode ser explicada sem que a influência da dinâmica história climática e geológica do domínio atlântico seja considerada. Neste contexto, o mapeamento espacial e temporal dos padrões de diversificação de populações e espécies de diferentes maciços oferece

uma excelente oportunidade para investigar como processos ocorridos no passado teriam gerado os padrões atuais de endemismo e diversidade nas regiões serranas da Mata Atlântica.

A ligação dos roedores sigmodontíneos com os campos de altitude torna estes mamíferos modelos ideais para se estudar a origem e evolução dos padrões de endemismo relacionados à altitude. Apesar disso, as investigações sobre a evolução destas comunidades estão em sua infância, uma vez que apenas recentemente os ecossistemas montanos têm sido alvos de estudos mastozoológicos. Desde o início do século XX, os naturalistas reportam sobre as espécies de mamíferos dos grandes maciços da Mata Atlântica, como Itatiaia (Miranda-Ribeiro, 1905; Thomas, 1917) e Caparaó (Ruschi, 1978), mas, via de regra, os pequenos mamíferos das zonas mais elevadas passaram despercebidos à maior parte dos zoólogos, sendo escassamente amostrados ou reportados. A diversidade das comunidades alto-montanas veio a ser revelada somente mais tarde, com os trabalhos de Bonvicino *et al.* (1997) e Hershkovitz (Hershkovitz, 1998a) no Caparaó, a partir dos quais várias espécies novas de roedores foram descritas, incluindo um novo gênero. Desde então, o conhecimento sobre os pequenos mamíferos destas comunidades tem crescido continuamente com levantamentos (Geise *et al.* 2004a) e descrições de novas espécies (Oliveira & Bonvicino, 2002), revelando uma nova comunidade de mamíferos.

A partir das informações reunidas por esses trabalhos nos maciços do Itatiaia e Caparaó pode-se visualizar um padrão de distribuição altitudinal para os pequenos roedores no sudeste do Brasil, classificando provisoriamente as espécies em três categorias de distribuição

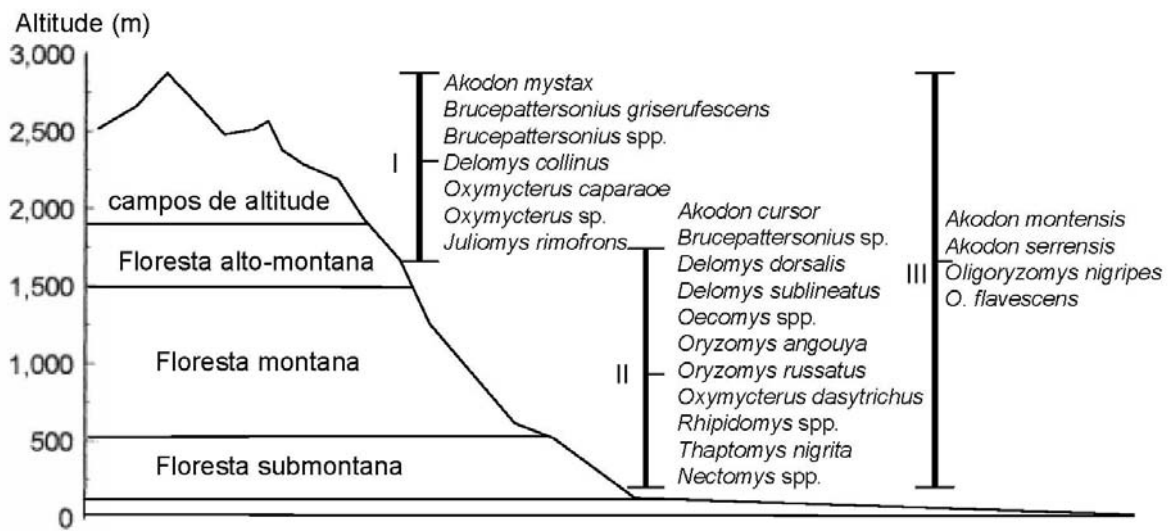


Figura 1.4. Distribuição altitudinal de espécies de roedores sigmodontíneos do sudeste da Mata Atlântica, compilada a partir de estudos sobre as comunidades de pequenos mamíferos dos maciços do Caparaó e Itatiaia (Bonvicino *et al.*, 1997; Hershkovitz, 1998; Oliveira & Bonvicino, 2002; Geise *et al.*, 2004a). As categorias I e II reúnem espécies com restrição altitudinal marcada, enquanto a categoria III inclui espécies mais cosmopolitas com distribuições altitudinais amplas.

altitudinal (Figura 1.4). As cotas mais elevadas reúnem uma variedade de formas endêmicas, na maior parte das vezes intimamente associadas aos campos de altitudes (espécies estenóicas) e com distribuição circunscrita muitas vezes aos altiplanos de uma única serra (categoria I).

Este parece ser o caso de várias espécies de roedores sigmodontíneos dos gêneros *Akodon*, *Brucepattersonius*, *Delomys*, *Juliomys* e *Oxymycterus* (Figura 1.4). As zonas altitudinais intermediárias e inferiores congregam táxons geograficamente mais ubíquos (categoria II), que se distribuem mais amplamente pelas florestas montanas e sumontanas do domínio (*e.g.*, *Oxymycterus dasytrichus*, *Oryzomys angouya*, *Rhipidomys* spp.). Algumas espécies ainda se encontram distribuídas por uma grande amplitude altitudinal e ecológica (espécies eurióicas, categoria III), habitando tanto as florestas montanas e submontanas como os campos e florestas alto-montanos (*e.g.*, *Oligoryzomys* spp.). Os limites altitudinais entre táxons das categorias I e II são tênues e a sobreposição de suas distribuições é comum principalmente em

zonas intermediárias como a floresta alto-montana, podendo ocasionar maior riqueza de espécies nestas áreas do que em zonas mais extremas, um efeito amplamente reportado em biotas montanas e denominado de domínio-médio (Colwell & Lees, 2000; McCain, 2004).

Como as espécies exclusivamente encontradas nas zonas alto-montanas surgiram? O estado atual de conhecimento sobre as comunidades alto-montanas é ainda bastante rudimentar para responder esta questão. As razões para isso estão relacionadas à falta de informações sobre relacionamento filogenético da maior parte dos endemitas, o que impede uma visão precisa das conexões históricas deste conjunto de espécies com outras comunidades da América do Sul, e mesmo às dificuldades na resolução dos limites interespecíficos de algumas linhagens endêmicas, cujo status de diferenciação taxonômica e evolutiva ainda é pouco conhecido. Visando fornecer respostas à questão acima, o presente trabalho se voltou à sistemática e biogeografia de alguns táxons contendo linhagens primariamente enquadradas na categoria I, com distribuição praticamente circunscrita às zonas alto-montanas no sudeste do Brasil. O foco foi direcionado especificamente para grupos de espécies dos gêneros *Delomys*, *Akodon* (grupo *mystax-paranaensis-reigi*) e *Oxymycterus* (grupo *nasutus*) que se encontram co-distribuídos na Mata Atlântica e possuem espécies e subespécies circunscritas às zonas alto-montanas mais elevadas dos complexos montanhosos do sudeste brasileiro (e.g., *A. mystax*, *D. collinus*, *O. caparaoe*).

Os padrões de distribuição geográfica, relacionamento filogenético e diferenciação entre linhagens dos três grupos de espécies foram descritos em detalhe, permitindo inferências sobre o modo geográfico de diferenciação dos endemitas alto-montanos. Na maior parte das vezes, procurou-se tratar a variabilidade genética e morfológica dos grupos em níveis populacionais, uma abordagem possibilitada pela integração dos estudos morfológicos com as

modernas técnicas da filogeografia e da genética molecular. A necessidade de uma abordagem integrada também emergiu da atual falta de definição de limites entre algumas das espécies inseridas nos táxons estudados. O delineamento e reconhecimento da diversidade é fundamental para a compreensão da evolução dos roedores neotropicais e, portanto, constituiu um requisito fundamental a ser atendido ao longo do estudo. Finalmente, em uma segunda etapa, os padrões de diversificação dos sigmodontíneos alto-montanos são utilizados para testar diferentes modelos evolutivos propostos para explicar o acúmulo excepcional de endemitas em regiões serranas. Esta avaliação é realizada em um contexto temporal de forma que a cronologia dos sigmodontíneos montanos possa ser contada e contrastada com a dinâmica história geológica e climática da Mata Atlântica.

1.3 OBJETIVOS

- Inferir os relacionamentos filogenéticos de formas serranas endêmicas da Mata Atlântica incluídas nos gêneros *Akodon*, *Delomys* e *Oxymycterus*, através de análises da variabilidade molecular.
- Avaliar congruência entre padrões derivados das análises moleculares e de análises morfológicas no delineamento das distribuições geográficas de cada linhagem, e no estabelecimento dos limites interespecíficos dentro de cada grupo de espécie estudado.
- Testar a adequação de modelos vicariantes e dispersionistas para explicar os padrões atuais de endemismo de roedores sigmodontíneos nas regiões serranas.

Capítulo 2. ÁREAS, MATERIAIS E MÉTODOS DE ESTUDO

2.1 AMOSTRAS

2.1.1 Áreas amostradas em trabalhos de campo

As informações reunidas e analisadas nesta monografia são em parte fruto de trabalhos de campo realizados no decorrer do projeto. As expedições foram direcionadas a localidades serranas da Mata Atlântica abrigando porções consideráveis de *campos de altitude* ou a regiões com ocorrência documentada de qualquer população representante dos táxons-foco que estivessem pouco representadas em coleções. Além de um aumento das amostras de populações das espécies diretamente tratadas neste trabalho, as viagens de campo também permitiram observações sobre os habitats ocupados pelas espécies e sua distribuição microespacial.

As técnicas de amostragem consistiram na implementação de transectos lineares providos de numerosos pontos de captura ao longo da maior variedade de habitats reconhecidos na área. Cada ponto de captura foi composto por uma armadilha “Sherman” ou “Tomahawk” iscadas com banana, farelo de milho, sardinha, bacon e pasta de amendoim. Em algumas localidades, fojos (“*pit-fall traps*”) foram utilizados em complementação aos transectos de armadilhas. Todos os animais coletados foram preparados como espécimes-testemunho, tendo sido registradas informações reprodutivas e ecológicas e obtidas amostras de células e tecidos para análises citogenéticas e moleculares. A coleção-testemunho originada deste projeto será depositada e distribuída entre os acervos do Museu Nacional (Universidade

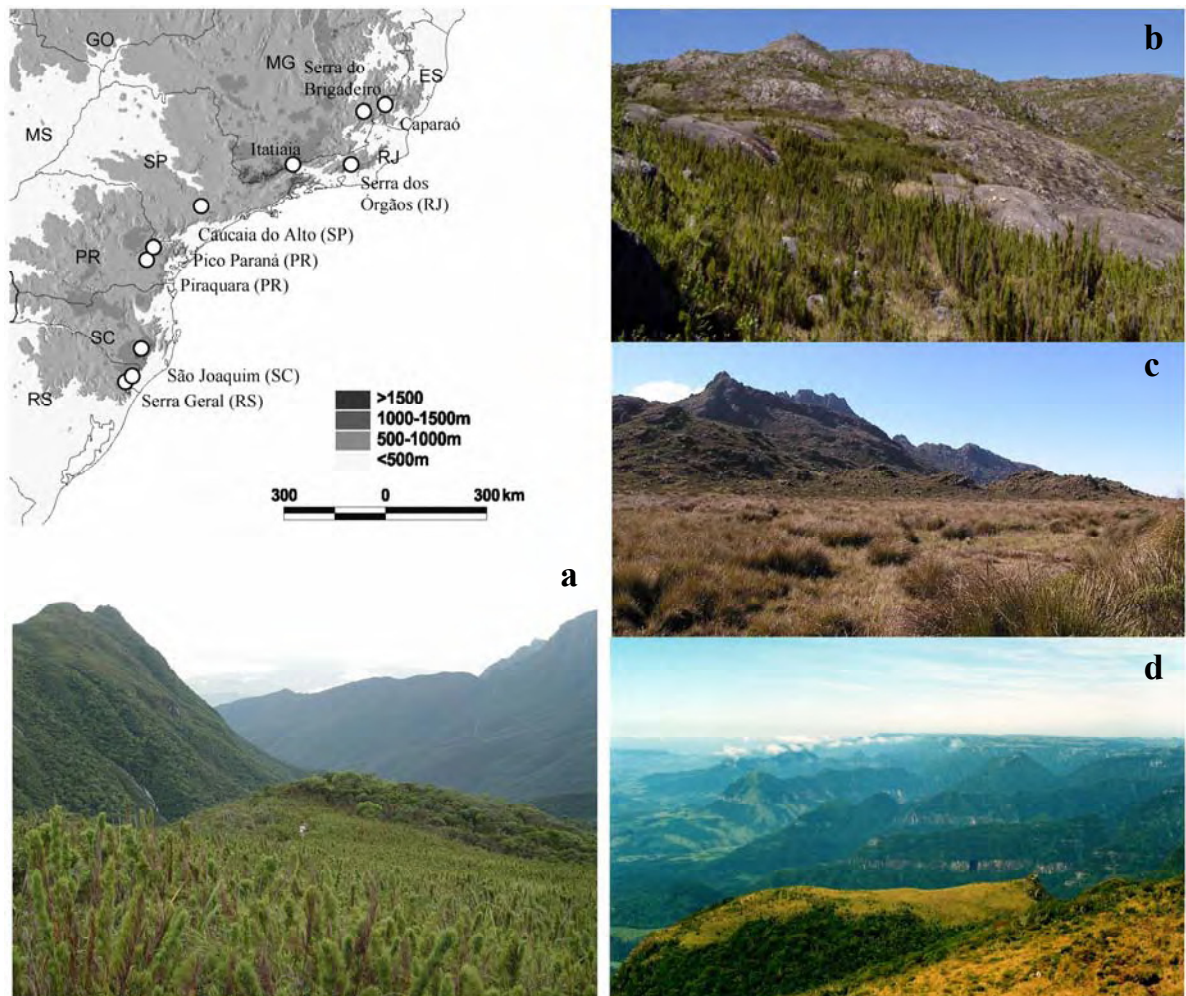


Figura 2.1 Mapa e ambientes das localidades amostradas em trabalhos de campo: (a) maciço do Caparaó destacando-se o Pico da Bandeira (2900m) e campos de altitude; (b) altiplano do Itatiaia (2400m), com Agulhas Negras ao fundo (foto: J. F. Vilela); (c) campos dominados por bambú montano no Pico Paraná (1600m), Serra do Mar, Paraná (foto: L. M. Tiepolo); (d) escarpa oriental da Serra Geral no Parque Nacional de São Joaquim, Urubici, Santa Catarina.

Federal do Rio de Janeiro), Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo e Museu de Zoologia “João Moojen de Oliveira” (Universidade Federal de Viçosa).

Dez localidades do sudeste e sul do Brasil (Figura 2.1) foram amostradas. As localidades estão dispostas em um transecto sudoeste-nordeste que corta várias fisionomias do

leste do Brasil, incluindo porções de campos e estepes sulinas, florestas ombrófilas e semidecíduas e campos de altitude nos maciços mais elevados.

A localidade mais setentrional amostrada nos trabalhos de campos constitui o Parque Nacional do Caparaó, localizado na divisa entre os estados de Minas Gerais e Espírito Santo. O maciço do Caparaó, incluído integralmente dentro da área do parque, representa uma extensão oriental da Mantiqueira e apresenta uma amplitude altimétrica de quase 2000m (900-2890m), incluindo os maiores cumes do leste brasileiro (Pico da Bandeira, 2890m; Morro do Calçado, 2870m). A floresta montana cobre as encostas da serra até 2000m, a partir de onde os campos de altitude são predominantes. Ainda assim, tratos de floresta alto-montana ou nebulosa estendem-se a altitudes superiores através dos vales mais úmidos. A partir de 2400m, ocorrem altiplanos relativamente mais extensos (*e.g.*, Terreirão), densamente cobertos pelos campos alto-montanos. As temperaturas na faixa altitudinal de 2400-2800m são extremamente frias para a região tropical, com médias anuais variando de 10.5°C a 8.5°C (Bonvicino *et al.* 1997; Safford, 1999c). Os níveis de endemismo no maciço do Caparaó são notáveis. Hershkovitz (1998) a partir de extensas amostras de pequenos mamíferos da área do parque, descreveu 6 novos táxons de roedores sigmodontíneos, dois dos quais são analisados nesta monografia (*A. mystax* e *O. caparaoe*). Uma campanha de 10 dias foi direcionada para a faixa altitudinal mais elevada do parque (2400-2800m) durante os meses de agosto e setembro de 2003.

A localidade amostral mais próxima da serra do Caparaó foi o Parque Estadual da serra do Brigadeiro, situado num prolongamento da serra da Mantiqueira na Zona da Mata de Minas Gerais. As cotas altimétricas variam de 1000 a 1985 metros (Fontes *et al.* 2000). A fitofisionomia predominante no parque é representada pela Floresta Estacional Semidecidual Montana, mas com campos de altitude ocorrendo nos cumes rupestres acima de 1600m. O

clima apresenta duas estações bem definidas (a seca e a chuvosa), sendo predominantemente mesotérmico, Cwb pela classificação de Köppen, com temperatura média anual de 15° C. A precipitação média anual é de 1500 mm, com período seco de junho a agosto. As cotas de 1200 a 1700m foram amostradas ao longo de dois anos de trabalhos de campo (2002-2004).

Um outro grande maciço do sudeste diretamente amostrado ao longo do trabalho foi o Itatiaia que integra parte da cordilheira mais meridional da Mantiqueira, delineando as divisas entre os estados de Rio de Janeiro, Minas Gerais e São Paulo. O Parque Nacional do Itatiaia se destaca dentre outras áreas de Mata Atlântica do sudeste por apresentar extensões notáveis de campos de altitude. A zanação altitudinal da vegetação chamou a atenção de botânicos desde cedo (Segadas-Vianna, 1965). Os mamíferos do parque têm sido estudados desde o início do século XIX (Miranda-Ribeiro, 1905; Thomas, 1917), mas com esforços de inventariamento sempre voltados para cotas altitudinais intermediárias e inferiores. Geise *et al.* (2004) revelaram um conjunto interessante de espécies de pequenos mamíferos restritas à faixa altitudinal de 1800-2100m, e novos endemitas têm sido descritos ou reconhecidos para o parque (Oliveira, 1998b; Oliveira & Bonvicino, 2002). As coletas foram realizadas nos campos do Itatiaia (2300-2500m), um extenso altiplano coberto pelos campos de altitude e por matas nebulares distribuídas ao longo do vale onde corre o rio Campo Belo. A temperatura média anual nesta altitude é de 14.4°C com precipitação anual de 2394mm (Segadas-Vianna & Dau, 1965).

Coletas mais curtas foram realizadas em localidades dos estados de São Paulo e Paraná. A expedição à Estação Ecológica de Morro Grande, município de Cotia, SP, foi uma das únicas que não enfatizou ambientes alto-montanos. A área inclui fisionomias florestais estacionais semidecíduas e ombrófilas, e encontra-se situada próxima à borda do planalto

paulista não apresentando acidentes topográficos acentuados (700-800m). Já as áreas no estado do Paraná foram todas localizadas em regiões mais acidentadas. O Pico Paraná (1800m) representa um dos cumes mais elevados da região sul do Brasil e, a partir de 1600m, abriga porções consideráveis de campos alto-montanos com forte dominância de bambus-anões. As encostas abrigam extensos tratos de floresta ombrófila montana que abruptamente dão espaço à vegetação altitudinal mais aberta. As coletas ocorreram no mês de janeiro de 2005 e se restringiram à cota de 1600m (Figura 2.1).

Os pontos mais meridionais amostrados ao longo do trabalho foram situados na serra Geral, nos estados de Santa Catarina e Rio Grande do Sul. Os parques nacionais de São Joaquim e Serra Geral/Aparados da Serra abrangem as porções mais orientais da serra Geral e representam extensas áreas de campos com capões de floresta ombrófila mista. O Morro da Igreja (1700m), incluído no Parque Nacional de São Joaquim, município de Urubici (SC), representa o ponto mais frio do Brasil, apresentando médias anuais de 12°C. As coletas realizadas nestas áreas nos meses de março e abril de 2004 incluíram fisionomias florestais e campestres sempre situadas acima de 1000m de altitude.

2.1.2 Coleções examinadas

As análises desta monografia contaram com um extenso uso de informações preservadas em espécimes-testemunho de coleções científicas estrangeiras e nacionais, cujos acrônimos iniciam cada linha a seguir:

MN– Museu Nacional, Universidade Federal do Rio de Janeiro

MZUSP– Museu de Zoologia, Universidade de São Paulo

MZUFV — Museu de Zoologia João Moojen de Oliveira, Universidade Federal de Viçosa

MHNCI — Museu Municipal de História Natural Campão da Imbúia, Curitiba

UFMG — Laboratório de Mastozoologia, Universidade Federal do Minas Gerais

UMMZ — Museum of Zoology, University of Michigan, Ann Arbor, Michigan, EUA

MVZ — Museum of Vertebrate Zoology, University of California Berkeley, California, EUA

AMNH — American Museum of Natural History, New York, EUA

FMNH — Field Museum of Natural History, Chigago, Illinois, EUA

2.2 MÉTODOS ANALÍTICOS

2.2.1 Análises moleculares

O ADN total utilizado para as análises dos genes mitocondrial e nuclear foi isolado de amostras individuais de fígado preservadas em etanol absoluto, utilizando-se o método de proteinase-K/fenol/clorofórmio (Sambrook, Fritsch & Maniatis, 1989) ou o DNeasy DNA extraction kit, seguindo orientações do fabricante (Quiagen Inc.). Logo após a extração, a quantidade e qualidade do ADN total foi verificada em géis de agarose a 1%.

2.2.1.1 Citocromo b

O citocromo b (*cytb*) é um 13 genes codificadores do genoma mitocondrial, expressando uma das proteínas transmembrana envolvidas na cadeia transportadora de elétrons no processo de respiração celular. As cópias do gene mitocondrial citocromo b (*cytb*) foram clonadas e amplificadas via PCR (reação da polimerase em cadeia) utilizando combinações dos primers universais MVZ05, MVZ16 e MVZ14, desenvolvidos com base no genoma mitocondrial de *Mus musculus* (Smith & Patton, 1993). Fragmentos de 801 pares de base (pb) foram obtidos utilizando a combinação MVZ05-MVZ16 enquanto cópias integrais do *cytb* (1140pb) foram obtidas com a combinação MVZ05-MVZ14. Cada coquetel de PCR

foi preparado para um volume final de 50ul, contendo 0.25μM de cada primer, 7mM de MgCl₂, 10mM de dNTPs, 5μl de solução tampão 10x (Quiagen Taq Standard kit), 0.4μl de Taq-Polimerase (Quiagen Taq Standard kit) e 250ng a 1μg de ADN. Os protocolos térmicos de reação de amplificação em ambas as combinações consistiram em uma bateria de 33 ciclos com desnaturação a 95°C/1min., anelamento a 48°C/1min e extensão a 72 °C/1,5 min. As baterias de ciclos foram sempre precedidas por um período de desnaturação prolongada a 95°C por 3min. e sucedidas por uma extensão adicional a 72°C/7min. Após confirmação em géis de agarose 5%, os produtos de PCR foram purificados utilizando o “QuiAquick PCR products purification kit” (Quiagen Inc.) e submetidos então a reações de sequenciamento com os primers MVZ05 e MEU1 (5’ ACAACCATAGCAACAGCATTCGT 3’), utilizando os protocolos padronizados para os sequenciadores automáticos MEGABACE 1000 e ABI 3730 (Applied Biosystems Inc.) para obtenção dos cromatogramas usados para leitura das sequências geradas. As sequências obtidas foram alinhadas manualmente no editor CHROMAS PRO (Technesium Inc.), tendo sempre como molde sequências de táxons próximos previamente disponíveis no GenBank.

2.2.1.2 Intron 7 do beta-fibrinogênio

O fibrinogênio é uma proteína hexamérica plasmática de alto peso molecular formada por três pares de cadeias (alfa, beta e gama) que em interação com a trombina é convertida a fibrina, proteína fibrilar responsável pela formação de coágulos sanguíneos. O íntron 7 do gene nuclear responsável pela expressão da cadeia beta (*fgbI7*) do fibrinogênio foi amplificado por PCR utilizando-se os primers FgbI7L-Rattus e FgbI7U-Rattus (Wickliffe *et al.* 2003), seguindo protocolos térmicos sugeridos por Carrol & Bradley (Carroll & Bradley, 2003).

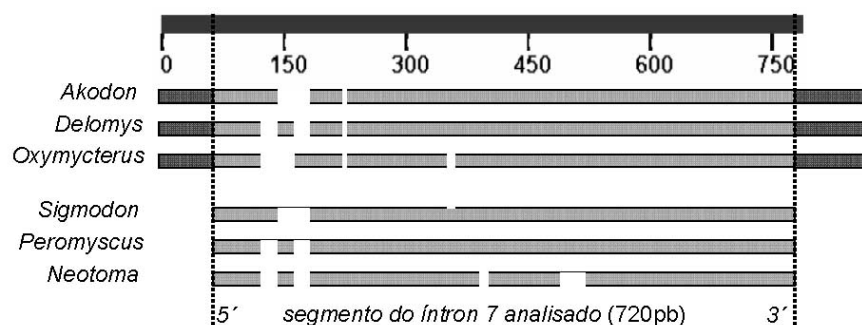


Figura 2.2. Representação esquemática do alinhamento das sequências do íntron 7 do beta-fibrinogênio e segmento utilizado nas análises filogenéticas. Espaços brancos representam as lacunas inferidas para maximizar a homologia entre sequências.

Deste modo, foram obtidos fragmentos variando entre 600-700 pares, que corresponderam à sequência completa do íntron 7 de todas as espécies e às extremidades 3' e 5' dos éxons 7 e 8, respectivamente. Os procedimentos de purificação e sequenciamento dos produtos de PCR foram idênticos àqueles utilizados na obtenção de sequências de *cytb*. As sequências foram alinhadas manualmente, utilizando-se as sequências do gênero *Sigmodon* como moldes, o que facilitou a detecção de deleções/inserções representadas na sequência final como lacunas (*gaps*). Os alinhamentos produziram um fragmento de 720pb (Figura 2.2). Múltiplos alelos foram identificados no locus do *fgb17*, tanto em condições de homozigose como de heterozigose. Neste último caso, a presença de dois alelos no mesmo indivíduo foi constatada através de picos duplos claramente visualizados nos cromatogramas produzidos no sequenciamento, o que dificultou a identificação direta das fases envolvidas no genótipo heterozigoto. Nestes casos, os haplótipos foram inferidos utilizando-se o programa PHASE 2.1 (Stephens, Smith & Donnelly, 2004), onde as probabilidades de reconstrução dos haplótipos em heterozigose são avaliadas a partir de comparações com os haplótipos conhecidos na amostra (Stephens, Smith & Donnelly, 2001). Haplótipos em heterozigose cujas probabilidades de reconstrução não ultrapassaram 50% tiveram seus sítios polimórficos

representados de acordo com a nomenclatura de ambiguidade da União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC).

2.2.1.3 Inferências filogenéticas

As genealogias dos haplótipos do *cytb* e *fgb17* que basearam as inferências filogenéticas sobre linhagens evolutivas foram obtidas em análises de parcimônia e verossimilhança. Nas análises de parcimônia os 4 nucleotídeos e as inserções/deleções (no caso do *fgb17*) presentes em cada sítio do segmento gênico analisado foram considerados como estados de caracteres desordenados com iguais probabilidades de mutação (parcimônia de Fitch). Inicialmente, as árvores mais parcimoniosas foram obtidas em procedimentos convencionais de busca heurística por algoritmos de bipartição-reconexão de ramos. Entretanto, devido ao número razoável de terminais (>20), o tempo computacional gasto nestes procedimentos foi demasiadamente extenso. A alternativa mais utilizada então foi a implementação da estratégia *ratchet* descrita por Nixon (1999), que reduziu sensivelmente o tempo de busca de árvores e garantiu o exame de um universo de árvores igualmente abrangente em relação aos métodos de busca heurística convencional. Utilizando esta estratégia, 1000 árvores iniciais foram produzidas perturbando-se aleatoriamente (“repesando”) 25% dos caracteres, de forma a reunir um conjunto inicial mais díspar possível de árvores que representassem um espectro bem amplo das topologias. Em seguida, uma busca heurística por bipartição/reconexão de ramos foi conduzida até que uma ilha de árvores igualmente parcimoniosas fosse obtida, sendo apenas uma árvore de cada ilha mantida (Nixon, 1999). Deste modo, um conjunto de 1000 árvores foi obtido após todas as iterações. Este conjunto foi submetido a buscas heurísticas adicionais até a convergência para um conjunto

final de árvores igualmente parcimoniosas, que foram finalmente sumarizadas em um cladograma de consenso estrito (Wiley *et al.* 1991). As árvores consensuais obtidas em procedimentos convencionais foram idênticas às reconstruídas pela estratégia de *ratchet*, evidenciando a preservação da mesma quantidade de informação filogenética em qualquer uma das abordagens. Os níveis de suporte estatístico dos clados obtidos em todas as análises foram avaliados em 1000 iterações de bootstrap (Felsenstein, 1985) e os cladogramas tiveram seus índices de consistência (CI) e retenção (RI) calculados. Todas as análises de parcimônia foram conduzidas nos programas PAUP 4.0* (Swofford, 1999) e PAUPrat (Sikes & Lewis, 2001).

As análises de verosimilhança foram iniciadas a partir da seleção de um dentre os 56 modelos de evolução das sequências de nucleotídeos, mais apropriado às características dos dados originais, utilizando-se o programa MODELTEST 3.7 (Posada & Crandall, 1998). As inserções/deleções, neste caso, foram excluídas da matriz original, uma vez que os modelos disponíveis não fazem nenhuma previsão sobre a evolução destes tipos de mutação. Os 56 modelos de evolução molecular foram comparados hierarquicamente em testes de razão entre probabilidades (*likelihood ratio test*) que progrediram de comparações entre modelos mais simplistas (menor número de parâmetros) até modelos mais complexos (grande número de parâmetros) (Huelsenbeck & Crandall, 1997). O próximo passo consistiu na implementação dos parâmetros do modelo selecionado para a otimização de uma árvore de referência (geralmente a de parcimônia) em buscas heurísticas usando bipartição/reconexão dos ramos.

As divergências entre haplótipos e clados foram calculadas no programa MEGA 3.1 (Kumar, Tamura & Nei, 2005) e expressas como percentagens de sítios divergentes (%)

distância-*p*). No caso de sequências com sítios dúbios (dados ausentes) a opção *pairwise deletion* foi escolhida para que o máximo de caracteres fosse utilizado em cada comparação.

2.2.1.4 Genealogias intraespecíficas e estrutura filogeográfica

Inferências filogenéticas em níveis intraespecíficos e populacionais são especialmente problemáticas devido às naturezas distintas das relações de parentesco entre haplótipos advindos de uma mesma comunidade entrecruzante (relações tokogenéticas) e de comunidades distintas reprodutivamente isoladas (relações filogenéticas). Nos níveis populacionais, fenômenos tais como reticulação, recombinação, politomias, baixa diferenciação e coexistência de ancestrais e descendentes inviabilizam a representação das relações entre genes em uma árvore dicotômica, modelo que é comumente adotado pelos métodos filogenéticos convencionais. Uma alternativa tem sido a utilização de redes genealógicas (*gene networks*), que procuram representar o processo de diferenciação entre haplótipos levando em conta a persistência de haplótipos ancestrais, reticulação e diversificação politômica (Posada & Crandall 2001). Sendo assim, os padrões de relacionamento entre haplótipos de *cytb* e *fgbI7* em níveis intraespecíficos foram representadas como redes genealógicas estimadas pelo algoritmo de parcimônia estatística (Templeton, Crandall & Sing, 1992) no programa TCS 2.01 (Clement, Posada & Crandall, 2000). Além de estimar genealogias entre haplótipos, este método também identifica subgrupos geneticamente mais coesos, com probabilidade >90% de representarem unidades genéticas discretas dentro da amostra (Posada & Crandall, 2001). As genealogias obtidas foram mapeadas na geografia, permitindo visualizar os níveis de estruturação geográfica e de regionalização de grupos de haplótipos próximos. O agrupamento de haplótipos circunscritos a regiões definidas e geneticamente mais diferenciados em relação

a haplótipos de outros grupos e regiões foi geralmente interpretado como evidência de subdivisão geográfica.

Outros três procedimentos independentes da genealogia dos haplótipos foram utilizados aqui para se estimar a estrutura genética de populações. Uma estratégia foi analisar as relações entre o distanciamento geográfico das amostras e seus níveis de diferenciação genética, utilizando um teste de Mantel (Dietz, 1983; deQueiroz & Good, 1997). Populações coespecíficas em equilíbrio e estruturadas em modelos de ilhas (“*stepping stone model*”) geralmente apresentam diferenças genéticas ocasionadas por descontinuidades de fluxo gênico impostas pelo distanciamento geográfico entre demes. Deste modo, a verificação de correlações significativas entre divergência genética e distância geográfica foi considerada como indicativa de uma estrutura geográfica condizente com o modelo de isolamento-pela-distância (Wright, 1943; Kimura & Weiss, 1964), tipicamente exibido por populações em equilíbrio genético (taxas similares de fluxo e deriva gênica) sem estrutura geográfica bem definida.

Um segundo procedimento para inferir processos populacionais foi avaliar o contraste das distribuições de frequências de níveis de diferenciação observados entre haplótipos (*mismatch distributions*) com distribuições geradas sob a hipótese nula de expansão demográfica recente ou ausência de diferenciação regional (Rogers & Harpending, 1992). Populações com expansão demográfica recente geralmente apresentam curvas unimodais, enquanto que populações em equilíbrio ou com estrutura geográfica melhor definida exibem curvas bi- ou multimodais.

Por último, para testar a significância dos níveis de diferenciação genética regional das populações em relação à variabilidade total da espécie, análises hierárquicas de variância

molecular (AMOVA, (Excoffier, Smouse & Quattro, 1992)). Nestas análises, a variabilidade genética total da espécie é particionada em níveis inter- e intraregionais de variação gerando estimativas dos componentes de variação de forma análoga a uma análise de variância (ANOVA). Estes componentes são designados estatísticas- Φ e possuem analogia com as estatísticas- F tradicionais de diferenciação (e.g., F_{st} - (Excoffier *et al.* 1992)).

Todas as análises de *mismatch distribution* e AMOVA foram implementadas no programa ARLEQUIN 2.0 (Schneider, Roessli & Excoffier, 2000).

2.2.1.5 Datação dos clados

O uso de um relógio molecular para as estimativas das idades de divergência de linhagens tem sido um assunto contencioso na biologia comparada. A constatação de que as linhagens dentro de um mesmo táxon diferem em suas taxas de evolução tem gerado ceticismo em relação a aplicações de relógios moleculares. Desde então, diversos métodos têm sido desenvolvidos como alternativa ao uso generalizado de uma taxa evolutiva única. Alguns dos métodos que têm ganhado maior popularidade foram aqueles desenvolvidos por Sanderson (1997; Sanderson, 2002), que permitem uma acomodação das taxas de mutação de acordo com a heterogeneidade evolutiva entre linhagens. O método utilizado aqui para datação molecular foi especificamente o de verossimilhança ponderada (PL, *penalized likelihood*, Sanderson, 2002), aplicado nos dados de citocromo *b* através do programa r8s 1.70 (Sanderson, 2004).

O método PL estima taxas distintas ao longo dos ramos de uma árvore otimizando uma função que combina um modelo paramétrico representando as diferentes taxas de mutação estimadas para cada linhagem e um parâmetro de penalidade que diminui os valores da função se as taxas variam muito entre linhagens. A contribuição relativa dos dois componentes é

determinada por um parâmetro de relaxamento (“*smoothing parameter*”), que terá valores próximos a 0 se as taxas variam excessivamente ou valores bem maiores que 0 se as taxas são relativamente constantes (do tipo “relógio”) entre linhagens. A escolha dos valores ótimos deste parâmetro pode ser realizada explicitamente checando a fidelidade com que a função estima corretamente os comprimentos dos ramos da árvore sob um espectro de valores. Dependendo do valor paramétrico implementado, o desempenho da função será melhorado ou piorado e isso pode ser conferido pelas somas dos erros ao quadrado (diferenças entre os comprimentos dos ramos estimados e observados) reportadas em uma tabela. Esta propriedade garante ao PL uma aplicação praticamente universal para qualquer tipo de dado, e avaliações mostram que seu desempenho é superior em relação a outros métodos de datação molecular (Sanderson, 2002).

Outra fragilidade das estimativas moleculares de divergência temporal está na imprecisão das datações e na natureza fragmentária do registro fóssil, que dificultam a escolha de pontos de calibragem para as taxas evolutivas. Esta problemática é especialmente relevante para os Sigmodontinae, cujo melhor registro fóssil encontra-se restrito à região pampeana argentina e possui um viés taxonômico marcado representando preferencialmente as tribos Phyllotini e Akodontini (Pardiñas *et al.*, 2002). A solução adotada aqui foi fazer uso das datas estimadas previamente em estudos moleculares taxonomicamente mais abrangentes e embasados em melhores registros paleontológicos. Neste contexto, a filogenia multigênica de Stepan *et al.* (2004) foi tida como fonte de datas de divergência para grandes grupos dentro de Sigmodontinae. Stepan *et al.* (2004) calibraram suas estimativas temporais da superfamília Muroidea na primeira aparição de um roedor Muroidea com dentição murínea, datando a origem da subfamília Sigmodontinae em 13.1 milhões de anos usando o método PL.

O uso de múltiplos genes nucleares forneceu uma boa resolução da irradiação basal dos Sigmodontinae, identificando *Sigmodon* como linhagem mais primitiva em relação aos demais gêneros e tribos, incluídos em um clado nomeado Oryzomyalia. As datas para estes dois clados (Sigmodontinae e Oryzomyalia) foram adotadas aqui como pontos de calibração da filogenia do citocromo *b*.

2.2.2 Análises morfológicas

A estrutura da variabilidade fenotípica dos táxons selecionados foi descrita com base em análises quantitativas e qualitativas de caracteres cranianos, dentários e externos a partir de espécimes-testemunho depositados em instituições nacionais e estrangeiras ou recentemente obtidos em excursões relacionadas ao projeto. Inicialmente, os espécimes examinados foram classificados em quatro categorias etárias de acordo com o desgaste dentário — jovem, subadulto, adulto e adulto-velho. Foram considerados jovens os indivíduos apresentando terceiro molar superior (M3) ainda incluso ou não completamente irrompido, com superfície de oclusão ainda ocupando posição dorso-ventral mais baixa do que a dos demais molares. Indivíduos subadultos tipicamente apresentaram M3 completamente eclodido, mas sem desgaste, com superfície de oclusão sem exposição de dentina evidente. A classe de adultos foi composta pela maioria dos espécimes analisados, sendo caracterizada por molares já apresentando evidência de desgaste de forma que parte das dobras marginais de esmalte estivessem ausentes ou reduzidas a ilha, deixando a dentina claramente exposta na superfície de oclusão. Os espécimes adultos-velhos foram identificados nas amostras pela obliteração completa das dobras de esmalte, desaparecimento de cúspides e aplainamento da superfície de oclusão dos molares devido ao desgaste acentuado das cúspides. A classificação permitiu com

que o intervalo etário de amostras analisadas fosse reduzido de modo a diminuir a possível influência de fatores ontogenéticos intrapopulacionais nos padrões de diferenciação morfológica vistos.

2.2.2.1 Morfologia quantitativa

A variação morfológica quantitativa entre as amostras populacionais dos táxons foi representada por medidas cranianas, dentárias e externas descritas e ilustradas abaixo (Figura 2.3). Estas medidas são similares às descritas por Voss (Voss, 1991) e Myers *et al.* (Myers, Patton & Smith, 1990) e foram obtidas por paquímetros digitais com precisão de 0,01mm, à exceção das medidas corpóreas externas, que tiveram seus valores registrados conforme fornecidos nos dados de etiqueta dos espécimes-testemunho ou então medidos diretamente em exemplares coletados durante os trabalhos de campo.

- CO (comprimento do corpo): tomado da extremidade do focinho à base da cauda, mas geralmente obtida pela subtração dos comprimentos total (da ponta do focinho à extremidade da cauda) e da cauda;
- CA (comprimento da cauda): medida da base da cauda até sua extremidade;
- O (comprimento da orelha): maior comprimento da base auricular até a margem distal da pina, tomado na face interna;
- PE (comprimento do pé): maior distância do calcanhar à extremidade mais distal da garra do maior dígito;
- GSL (comprimento máximo do crânio): tomada da porção terminal dos nasais até crista sagital do occipital;
- ZAB (largura zigomática): tomada na base do ramo esquamosal do arco zigomático;

- CIL (comprimento cômulo-incisivo): da base da face labial dos incisivos até o cômulo occipital;
- NL (=NAL) (comprimento nasal), medido ao longo de um eixo dorso-mediano, geralmente coincidindo com a sutura mediana entre nasais;
- LD (=DIL) (comprimento do diástema): distância entre a face lingual dos incisivos e a margem anterior do M1;
- LPB (=PBL) (comprimento da ponte palatal): distância da margem caudal do forâmên incisivo à extremidade posterior do palato;
- LM (comprimento da série molar superior): dimensão antero-posterior máxima da série molar tomada no nível da coroa;
- BM1 (largura do primeiro molar superior): largura máxima tomada no nível do protocone e metacone;
- LIF (comprimento do foramen incisivo): distância do limite mais anterior ao bordo mais posterior do forâmên incisivo;
- BR (=ROB) (largura do rosto): largura máxima do rosto tomada no nível das cápsulas naso-lacrimais;
- DR (=ROD) (profundidade do rosto): altura do rosto no nível da sutura prémaxilar-maxilar (ventral);
- BPB (largura da ponte palatal): distância entre os protocones dos primeiros molares superiores;
- BZP (=ZPB) (largura da placa zigomática): distância longitudinal da placa zigomática, tomada aproximadamente na altura média;
- LIB (largura interorbital): largura mínima da constrição interorbital do frontal;

- BB (=BCB) (largura da caixa craniana): largura da caixa craniana, tomada no ponto imediatamente anterior à sutura esquamosal-occipital;
- DB (=BCD) (profundidade da caixa craniana): tomada posicionando-se o paquímetro para que suas pontas toquem a base mediana da sutura basiesfenóide-basioccipital e a sutura entre os dois parietais.

Algumas medidas cranianas adicionais descritas por Gonçalves & Oliveira (2004) foram tomadas especificamente para as análises do gênero *Oxymycterus*, a saber.

- NTL (comprimento tubo nasal): tomada da face anterior do alvéolo incisivo à extremidade mais anterior do pré-maxilar;
- NTB (largura do tubo nasal): tomada no ponto imediatamente anterior aos incisivos, geralmente onde os nasais expressam sua maior largura;
- PAL (comprimento palatal): distância ventro-mediana do processo prémaxilar à margem posterior do palato;
- ABB (largura da bula): tomada transversalmente no nível do ponto mais anterior do meato auditivo;
- SUT (comprimento da sutura entre parietais): extensão longitudinal da sutura entre os parietais;
- IPB (largura do interparietal): largura máxima do osso interparietal;
- IPL (comprimento do interparietal): comprimento máximo do interparietal ao longo de sua linha mediana-dorsal;

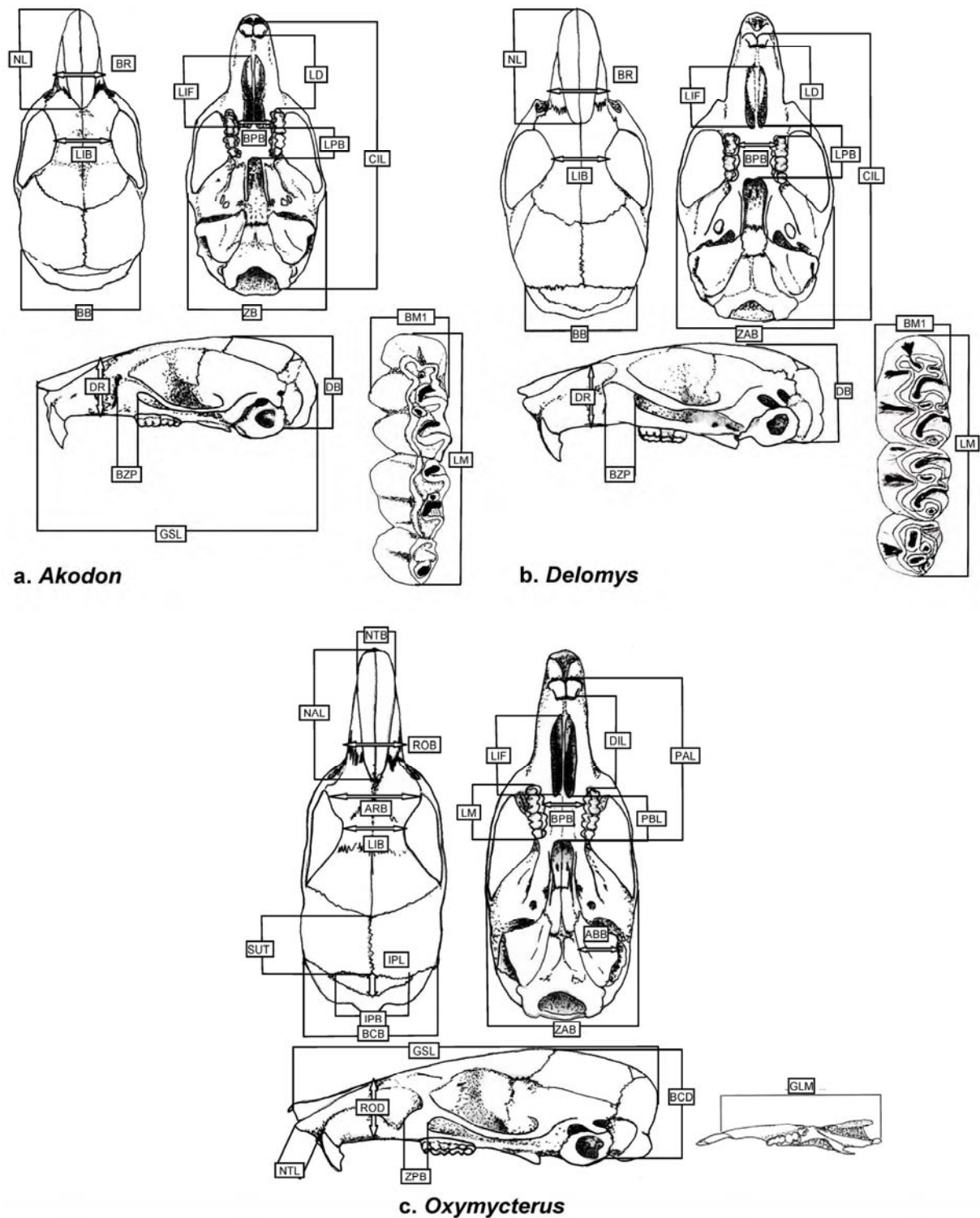


Figura 2.3. Caracteres craniométricos definidos para cada gênero. Veja texto (Morfologia quantitativa) para detalhes sobre mensuração, marcos anatômicos e abreviações.

- LRA (largura da região anterorbital): largura máxima entre os lacrimais na região anterorbital;
- GLM (comprimento máximo da mandíbula): distância do côndilo mandibular à margem posterior do alvéolo do incisivo.

Por fim, 16 caracteres craniométricos foram considerados para o gênero *Akodon*, 14 para o gênero *Delomys* e 22 para o gênero *Oxymycterus*.

Dados ausentes

Alguns indivíduos apresentaram estruturas do crânio danificadas impossibilitando a mensuração precisa de certos caracteres com paquímetro. Os exemplares contendo no máximo 30% dos caracteres ausentes (4 a 7 medidas) tiveram seus dados estimados através de uma rotina de verossimilhança máxima de expectativa-maximização (Dempster, Laird & Rubin, 1977). Este procedimento estima os valores dos caracteres ausentes de modo a otimizar a verossimilhança entre as estruturas de variância-covariância das matrizes com dados ausentes e sem dados ausentes. O raciocínio geral deste método consiste em estimar valores que não modificam os padrões de covariância da matriz original. O método de expectativa-maximização tem sido comprovado como uma alternativa eficiente para dados ausente em estudos morfométricos de material osteológico, mas sua acurácia encontra-se fortemente dependente do número de caracteres e do tamanho amostral (Strauss, Atanassov & Oliveira, 2003). Deste modo, as estimativas foram realizadas com base em matrizes contendo o maior número de táxons e sem distinção *a priori* quanto à categoria específica ou população.

Análises estatísticas

Os padrões de variação craniométrica foram explorados em análises multivariadas de Componentes Principais e de Variáveis Canônicas, esta última utilizada para testar a diferenciação entre populações, subconjuntos populacionais, ou espécies identificadas *a priori* (Manly, 1994). Os eixos (componentes principais e funções discriminantes) extraídos nestas análises foram interpretados como tendências multidimensionais de variação na forma de tamanho do crânio (Voss, Marcus & Escalante, 1990; Voss & Marcus, 1992), permitindo uma caracterização das unidades fenéticas reveladas e identificação de caracteres potencialmente informativos para discriminação entre populações e espécies. A contribuição de cada caráter para os eixos multidimensionais foi avaliada calculando-se as correlações de Pearson entre medidas originais e escores multivariados (Strauss, 1985). A divergência multivariada entre unidades fenéticas foi calculada por meio das distâncias de Mahalanobis (Mahalanobis, 1948) e os padrões hierárquicos revelados foram representados em um dendrograma de UPGMA. As distâncias de Mahalanobis também foram utilizadas para estimar as probabilidades de alocação *a posteriori* de amostras reduzidas ($n < 5$) a amostras maiores. Neste caso, as distâncias foram calculadas em 10000 iterações de *bootstrap*. A diferenciação estatisticamente significativa entre amostras foi também avaliada em Análises Multivariadas de Variância (MANOVA). Todas as análises estatísticas foram realizadas no programa MATLAB 4.0c (MathWorks, Inc.), utilizando as rotinas escritas por R. Strauss (www.biol.ttu.edu/Strauss/Matlab/matlab.htm). Na maior parte das vezes, indivíduos jovens não foram incluídos nas matrizes de valores log-transformados que basearam todas as análises multivariadas. Exceções a esta regra são comentadas quando necessário.

2.2.2.2 Morfologia qualitativa

Aspectos qualitativos da variação morfológica entre as populações e espécies dos táxons selecionados também foram descritos. Os sistemas de caracteres utilizados nas descrições e comparações consistem na coloração, padrões de coloração e textura da pelagem, fórmula mamária e condições de forma e tamanho relativo de estruturas e componentes do crânio, mandíbula e dentes. A nomenclatura utilizada para descrição dos caracteres segue Reig (Reig, 1977), Carleton & Musser (1989), Voss & Carleton (Voss & Carleton, 1993) e Steppan (Steppan, 1995). Os padrões de variação geográfica em caracteres qualitativos polimórficos foram explorados por meio de histogramas de frequência relativa (Wiens, 1995).

Capítulo 3. PADRÕES DE DIVERSIFICAÇÃO

3.1 ESPÉCIES DO GÊNERO AKODON ENDÊMICAS DAS ZONAS ALTO-MONTANAS DA MATA ATLÂNTICA

3.1.1. INTRODUÇÃO

O gênero *Akodon* atualmente reúne cerca de 50 espécies, constituindo o grupo mais diversificado da tribo Akodontini, uma das 8 subdivisões supragenéricas da subfamília Sigmodontinae (Musser & Carleton, 2005). O gênero é composto basicamente por pequenos roedores (20-50g), granívoros/insetívoros, predominantemente campestres, tetralofodontes, de palato curto, pés reduzidos e cauda mais curta que o corpo (Hershkovitz, 1990), características tipicamente apresentadas pela quase totalidade das espécies alocadas em Akodontini. A ausência de uma diagnose genérica tem marcado a história taxonômica de *Akodon* desde sua descrição original, acarretando em sucessivas modificações em sua composição (Tate, 1932). Algumas espécies originalmente descritas em *Akodon* foram removidas para fundamentar novos gêneros da tribo Akodontini (*Deltamys*, *Thalpomys*, *Thaptomys* – (Thomas, 1916)); outras foram alocadas à gêneros de tribos distintas (*e.g.*, *Abrothrix*, *Chroeomys*, *Geoxus*, alocados em “Abrothrichini” por Smith & Patton (Smith & Patton, 1993; Smith & Patton, 1999); *Zygodontomys*, incluído em Oryzomyini por Bonvicino *et al.* (2002)). Muitas formas nominais têm permanecido instáveis: em sua maioria propostas originalmente como espécies, foram alocadas posteriormente como subespécies ou mesmo consideradas sinônimos até o início da década de 90 (*e.g.*, (Cabrera, 1961; Hershkovitz, 1990; Musser & Carleton, 1993)) apenas recentemente uma tendência de revalidação do status original de espécie desses nomes tem se sedimentado (*e.g.*, Musser & Carleton, 2005) geralmente em consoância aos resultados

de análises citogenéticas e moleculares. Tais análises ainda parecem apontar possíveis rearranjos adicionais, como a remoção de *Akodon serrensis*, uma espécie da Mata Atlântica cuja alocação genérica nunca havia sido questionada antes (D'Elía, 2003; D'Elía, Gonzalez & Pardini, 2003). A persistência de questões taxonômicas compreendendo desde limites entre espécies até definições genéricas justifica a continuidade de estudos taxonômicos das populações tradicionalmente alocadas a *Akodon*, de preferência integrando as informações modernas derivadas das filogenias moleculares com uma delimitação taxonômica explícita da diversidade morfológica no gênero.

O gênero encontra-se amplamente distribuído na América do Sul, apresentando formas ocorrentes desde os elevados páramos andinos até as florestas úmidas costeiras da Mata Atlântica, fato que limita qualquer abordagem taxonômica subsidiada por uma boa representatividade de todas as espécies. A diversidade de espécies, entretanto, é especialmente elevada em habitats andinos, de onde cerca de 70% das espécies viventes têm sido descritas (Reig, 1987). Concordantemente com este padrão de riqueza, a maior parte dos esforços para revisar e esclarecer a taxonomia das espécies de *Akodon* tem envolvido formas restritas ao oeste da América do Sul, resultando na definição de grupos de espécies geneticamente e morfológicamente coesos, tais como o grupo *varius* das planícies áridas do Paraguai, Bolívia e Argentina (Myers, 1989) e o grupo *boliviensis* dos altiplanos e escarpas andinas do Peru, Bolívia e Argentina (Myers *et al.* 1990). Abordagens desse tipo têm se mostrado bastante promissoras não só para a delimitação de espécies e organização intragenérica, mas também para fornecer as primeiras hipóteses sobre o relacionamento filético entre espécies do gênero e até mesmo sobre a origem de faunas regionais. Tratamentos taxonômicos similares raramente

têm incluído formas do leste da América do Sul, uma vez que muitas ainda permanecem conhecidas apenas por suas descrições originais.

Herskovitz (1990) forneceu um primeiro arranjo taxonômico mais abrangente do gênero. Com base no tamanho corporal, os grupos *boliviensis* (pequeno tamanho) e *mollis* (grande tamanho) foram delineados para incluir provisoriamente todas as formas nominais de *Akodon* descritas até então. Entretanto, a intenção primária de Herskovitz foi aparentemente de organizar a variabilidade morfológica no gênero com o objetivo de contextualizar a descrição de novas espécies do Cerrado e Mata Atlântica brasileiros, e grande parte das espécies incluídas nos dois grupos de espécies permaneceram sem diagnoses ou qualquer informação sobre suas afinidades filogenéticas.

Apesar da ausência de tratamentos taxonômicos mais abrangentes, o número de espécies reconhecidas no gênero tem sofrido um crescimento constante na última década, especialmente na região leste da América do Sul. A intensificação de estudos genéticos tem iluminado a taxonomia de complexos de espécies crípticas, como o grupo *cursor* (*A. cursor* e *A. montensis* – (Rieger, Langguth & Waimer, 1995)), para o qual estudos citogenéticos e moleculares (Fagundes *et al.* 1997; Fagundes, Christoff & Yonenaga-Yassuda, 1998; Geise, Smith & Patton, 2001a) revelaram um número maior de espécies do que o que vinha sendo tradicionalmente considerado. Além disso, a realização de novos inventários em regiões pouco ou nunca anteriormente amostradas tem levado à descoberta de um número moderado de novas espécies (Gonzalez, Langguth & Oliveira, 1998; Herskovitz, 1998a; Christoff *et al.* 2000; Pardiñas *et al.* 2005b), especialmente no leste da América do Sul.

Uma das espécies figurando na recente onda de descrições é *Akodon mystax* (Figura 3.1a), um pequeno roedor descrito das zonas altitudinais mais elevadas (1800-2890m de

altitude) do maciço do Caparaó, e aparentemente restrita aos *campos de altitude* que dominam os cumes desta serra (Bonvicino *et al.* 1997; Hershkovitz, 1998b). A forte correlação geográfica entre os *campos de altitude* e *A. mystax* sugere que a história evolutiva desta espécie possa estar ligada aos eventos que levaram à diferenciação destas formações campestres em relação às demais comunidades da América do Sul. Entretanto, a reconstrução das relações de *A. mystax* tem se mostrado um tanto controversa desde sua descrição original. Hershkovitz (1998) ao descrever a espécie, brevemente sugeriu sua afinidade com outras formas de pequeno tamanho como *A. azarae*, *A. lindberghi* ou *A. sanctipaulensis*. Análises filogenéticas moleculares mais recentes, entretanto, têm repetidamente posicionado *A. mystax* como mais relacionado a *A. paranaensis*, *A. reigi* e a uma população não identificada de Misiones (Pardiñas, D'Elía & Cirignoli, 2003; D'Elía *et al.* 2003; 2005c); Pardiñas *et al.* 2005), três formas de grande tamanho corporal com relações próximas ao grupo *cursor*.

Um fato importante a ser considerado é que as sequências representando *A. mystax* não têm sido oriundas de material tipo, mas de espécimes coletados em habitats montanos do Itatiaia, no estado do Rio de Janeiro (Geise, Smith & Patton, 2001b; Geise *et al.* 2004a). Os maciços do Caparaó e Itatiaia abrigam *campos de altitude* em suas zonas mais elevadas, mas estas montanhas encontram-se separadas por mais de 370km e as justificativas para associação entre exemplares dos dois maciços não têm sido apresentadas. Apesar disso, autores subsequentes inadvertidamente utilizaram sequências oriundas da população do Itatiaia como representativas de *A. mystax*. Pardiñas *et al.* (2003) sugeriram similaridades genéticas entre *A. mystax*, *A. paranaensis*, *A. reigi* e uma população não identificada de Misiones, Argentina, mas ressaltaram a heterogeneidade morfológica deste clado, destacando que *A. mystax* diverge

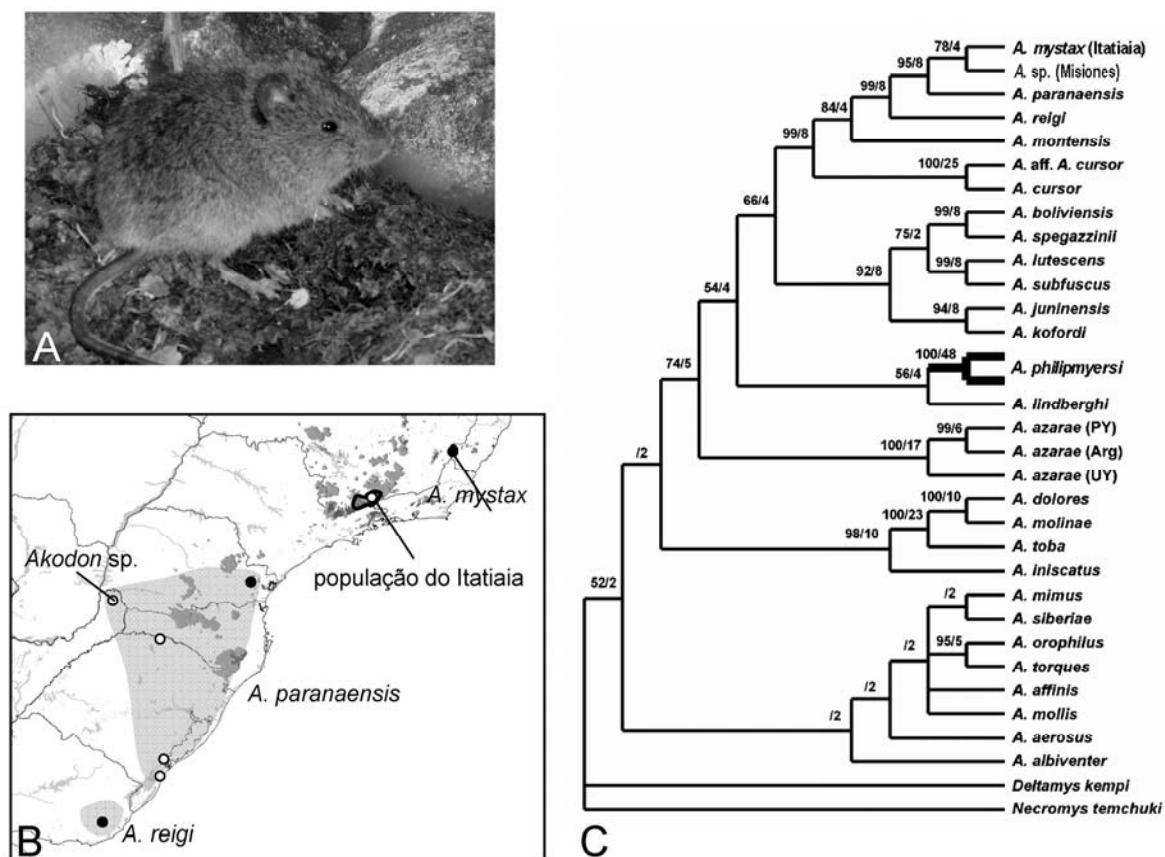


Figura 3.1. Hipóteses prévias sobre a distribuição e diversificação das formas associadas a *Akodon mystax*. (A) Representante de *A. mystax* dos campos de altitude do Terreirão, Parque Nacional do Caparaó (2500m), Minas Gerais. (B) Distribuição das espécies e populações relacionadas a *A. mystax*, destacando a população de Misiones identificada como *Akodon* sp. por Pardiñas *et al.* (2005), mas incluída em *A. paranaensis* por Christoff *et al.* (2000); pontos cheios representam localidades-tipo. (C) Hipótese filogenética prévia sobre a posição de *Akodon mystax* no gênero subsidiada por análises de parcimônia de sequências do citocromo *b* obtidas de amostras da população alto-montana do Itatiaia (retirado de Pardiñas *et al.*, 2005); valores acima de cada ramo equivalem a índices de suporte nodal de *bootstrap* e Bremer.

profundamente da morfologia exibida por *A. paranaensis* e *A. reigi* dos campos e estepes sulinas do Brasil e Uruguai (Figura 3.1b). D'Elía *et al.* (2003) e Pardiñas *et al.* (2005) substanciaram mais suporte ao clado reunindo *A. mystax*, *A. paranaensis* e *A. reigi*, que foi repetidamente obtido em análises com maior número de espécies no gênero. O agrupamento destas três espécies é também corroborado por dados citogenéticos, uma vez que estas espécies compartilham o número diplóide comum de 44 cromossomos (Bonvicino *et al.*, 1997,

Gonzalez *et al.*, 1998, Christoff *et al.*, 2000). Ainda é importante lembrar que todas as inferências filogenéticas feitas sobre *A. mystax* podem ser infundadas se as populações do Itatiaia e do Caparaó (série-tipo de *A. mystax*) representam espécies diferentes. Esta possibilidade não se encontra excluída, considerando-se que em um trabalho posterior os mesmos espécimes do Itatiaia foram referidos a *A. reigi* (Geise, Weksler & Bonvicino, 2004b), corroborando a inexatidão sobre a identidade taxonômica desta população.

Neste capítulo, os padrões de diversificação das formas de *Akodon* restritas aos campos de altitude dos maciços do Caparaó e Itatiaia são apresentados. A recente coleção de exemplares de *Akodon* nas zonas alto-montanas destes maciços e a análise das séries originais de *A. mystax* e *A. paranaensis* permitiram determinar a identidade taxonômica da população alto-montana do Itatiaia e reavaliar o posicionamento de *A. mystax* dentro do gênero. As comparações foram estendidas para incluir também outras espécies do gênero, principalmente do leste da América do Sul, possibilitando uma melhor amostragem da variação morfológica e genealógica do gênero. Deste modo, as análises inicialmente partem do reconhecimento e delineamento dos grupos de espécies contendo formas alto-montanas brasileiras e terminam descrevendo os padrões de diversificação morfológica e genética dentro destes grupos, discutindo também implicações taxonômicas dos resultados obtidos.

3.1.2 AMOSTRAS

As análises filogenéticas de sequências do *cytb* incluíram, além das populações de *A. mystax* do Caparaó e Itatiaia (aqui chamada “população do Itatiaia”), todas as espécies do gênero com dados moleculares publicados e disponíveis eletronicamente no GenBank (Tabela 3.1). Representantes dos grupos de espécies ocidentais *varius* e *boliviensis* e de todas as

espécies do leste do Brasil atualmente reconhecidas foram consideradas nas análises de *cytb*, totalizando 31 espécies do gênero (Figura 3.2). A única ausência foi *A. sanctipaulensis*, representada somente nas análises morfológicas. Sequências de mais 10 gêneros da tribo Akodontini, 2 gêneros do grupo Abrothrichini (*Abrothrix* e *Geoxus*), 1 gênero da tribo Sigmodontini (*Sigmodon*) e 2 gêneros de Neotominae norte-americanos (*Peromyscus* e *Neotoma*, utilizados como grupo externo). A matriz final com dados de citocromo *b* consistiu de 68 sequências (=terminais) de 1140pb, 20 das quais geradas neste trabalho. As análises de sequências do *fgbI7* se restringiram às populações de *A. mystax* (Caparaó e Itatiaia), *A. paranaensis*, *A. montensis*, *A. serrensis* e *A. azarae*. Sequências dos gêneros *Deltamys*, *Oxymycterus* (Akodontini), *Juliomys*, *Sigmodon* e do grupo externo (*Peromyscus* e *Neotoma*) também foram incluídas, compondo uma matriz final de 64 táxons terminais e 720 caracteres, incluindo inserções/deleções. Com exceção de *Sigmodon*, *Neotoma* e *Peromyscus*, todos os dados de *fgbI7* foram gerados neste trabalho.

As comparações morfológicas foram direcionadas a um conjunto mais restrito de espécies possivelmente mais próximas a *A. mystax* conforme apontado pelos resultados da análise filogenética molecular. Apesar disso, comparações com membros de grupos de espécies mais distantes também foram realizadas (Tabela 1). A identificação *a priori* de algumas amostras de *Akodon* do leste do Brasil depositadas em museus é extremamente dificultada pela ausência de caracteres morfológicos diagnósticos para as espécies, especialmente no caso de *A. paranaensis*, *A. cursor* e *A. montensis*, espécies cujos cariótipos ($2n=44$, $2n=14$ e $2n=24$, respectivamente) permanecem como os caracteres mais úteis para identificação (Geise, Smith & Patton, 2001c; Geise, Moraes & Silva, 2005). Com esta problemática

em

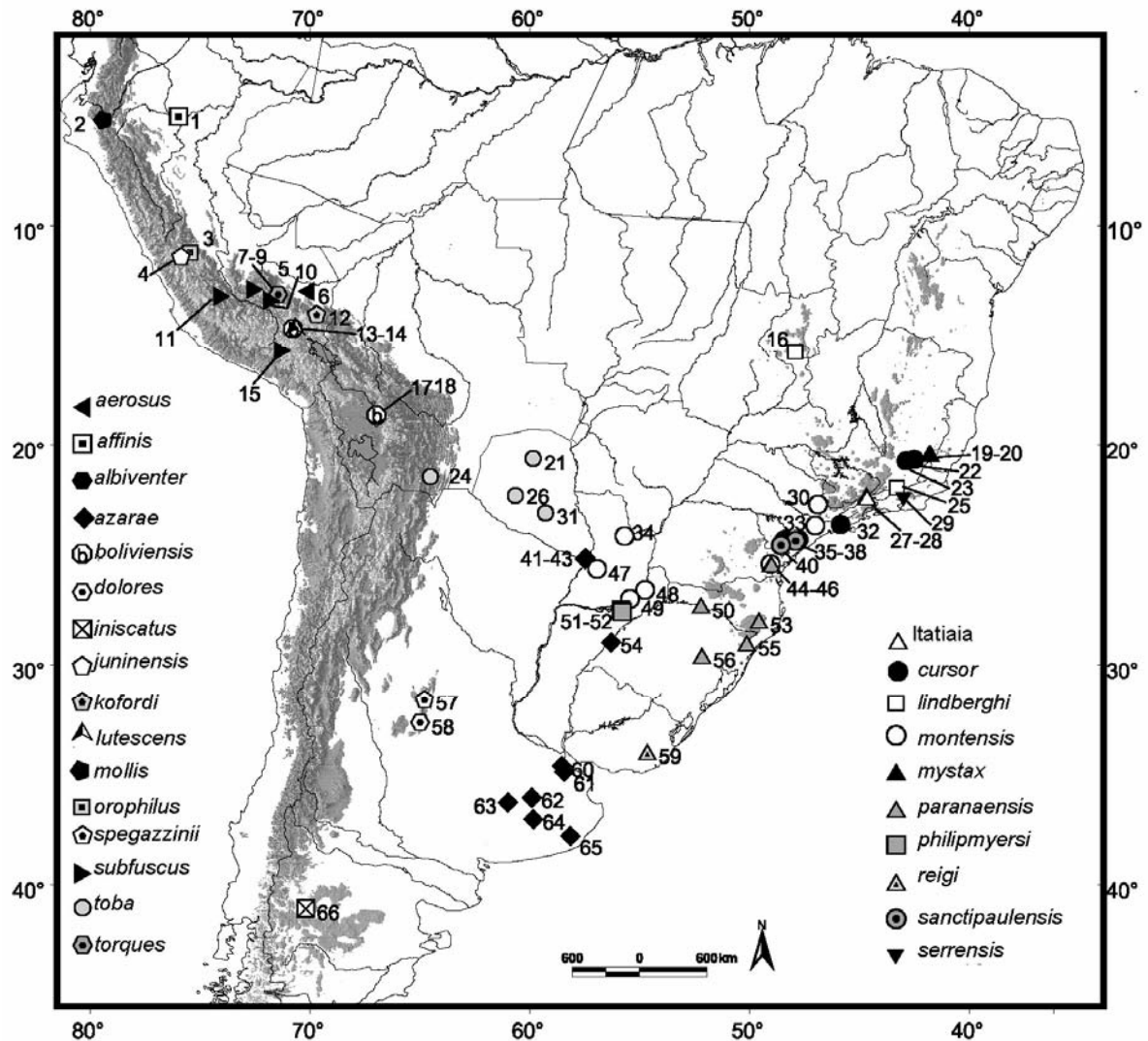


Figura 3.2. Amostras das espécies de *Akodon* utilizadas nas análises moleculares e/ou morfológicas. Números correspondem às localidades relacionadas na Tabela 3.1.

mente, a maior parte das espécies do leste do Brasil foi preferencialmente representada por séries tipo, topótipos ou populações com informações citogenéticas e/ou moleculares publicadas ou obtidas neste trabalho que possibilitassem suas identificações iniciais. As evidências citogenéticas ($2n=44$) e, posteriormente, moleculares permitiram identificar exemplares adicionais (Abrigo Rebouças, loc. 28 na Figura 3.2) da “população do Itatiaia”, justificando sua inclusão nesta amostra. Espécies com cariótipos desconhecidos, como no caso

de *A. sanctipaulensis*, tiveram sua representatividade restrita às séries-tipo. Uma lista de espécimes-testemunho e números de acesso do GenBank são fornecidos no Apêndice I.

Tabela 3.1. Amostras e espécies do gênero *Akodon* utilizadas nas análises moleculares (*cytb* e *fgb17*) e morfológicas. Os números entre parênteses referem-se às localidades mapeadas na Figura 3.2.

Táxon	Localidades	Número de espécimes		
		Morfologia	<i>cytb</i>	<i>fgb17</i>
<i>aerosus</i>	Peru: (6) 72km NE Paucartambo, Cuzco.	—	1	—
<i>affinis</i>	Colombia: (1) Corregimiento La Florida, Risaralda	—	1	—
<i>albiventer</i>	Bolívia: (17) 10km SW Pazña, Finca, Santa Helena, Oruro	6	1	—
<i>azarae</i>	Paraguai: (41) 24km NW Villa Hayes, Presidente Hayes; (42) 15.5km NW Chaco, Presidente Hayes; (43) 83.2km NW Puerto Falcon, Presidente Hayes. Argentina: (54) Pirayui, Capital, Corrientas; (60) Hurlingham, Buenos Aires; (61) Ezeiza, 20km S Buenos Aires; (62) Capital Federal, Nunez, Costa do Rio La Plata; (63) Torrecita (Urdampilleta), Buenos Aires; (64) 35km Sierra Azul, Buenos Aires; (65) INTA, Balcarce, Buenos Aires.	34	1	5
<i>boliviensis</i>	Peru: (13) 12km S Santa Rosa, Puno. Bolívia: (18) 10km SW Pazña, Oruro, 3750m	2	1	—
<i>cursor</i>	Brasil: (22) Fazenda Neblina, Pq. Est. Serra do Brigadeiro, Fervedouro, MG; (23) Mata do Paraíso, Viçosa, MG; (37) Primeiro Morro, SP; (32) Estação Ecológica Boracéia, Salesópolis, SP; (36) Fazenda Intervalles, Capão Bonito, SP	33	1	—
<i>dolores</i>	Argentina: (58) Papagayos, San Luis.	—	1	—
<i>iniscatus</i>	Argentina: (66) 10km S Comallo, Rio Negro	—	1	—
População do Itatiaia 2n=44	Brasil: (27) Brejo da Lapa 2000m, Itamonte, MG; (28) Abrigo Rebouças 2400m, Pq. Nac. Itatiaia, Itatiaia, RJ.	17	7	10
<i>juninensis</i>	Peru: (4) 22km N La Oroya, Junin	—	1	—
<i>kofordi</i>	Peru: (12) Agualani, Puno	—	1	—
<i>lindberghi</i>	Brasil: (16) Matosa, Parque Nacional de Brasília, Brasília, DF; (25) Sítio Maglândia, Simão Pereira, MG.	13	1	—
<i>lutescens</i>	Peru: (14) 12km S Santa Rosa, Puno	—	1	—
<i>mollis</i>	Peru: (2) “Machete” on Zapalache Carmen trail, Piura	—	1	—

Tabela 1. (continuação).

Táxon	Localidades	Número de espécimes		
		Morfologia	<i>cytb</i>	<i>fgbI7</i>
<i>montensis</i>	Brasil: (30) Pedreiras, SP; (33) Morro Grande, Caucaia do Alto, SP; (44) Mananciais da Serra, Piraquara, Paraná. Paraguai: (34) Estancia Felicidad, Canindeyu; (47) Sapucay. Argentina: (48) Caragatay, Misiones, Argentina (100 milhas S Rio Iguazú); (49) Rio Paraná, Misiones.	70	5	3
<i>mystax</i>	Brasil: (19) Arrozal, 2300m, Parque Nacional do Caparaó, MG; (20) Terreirão, 2500m, Parque Nacional do Caparaó, MG.	37	6	4
<i>orophilus</i>	Peru: (3) 16km NNE Palca, Junin, Perú	—	1	—
<i>paranaensis</i>	Brasil: (45) Estação Ecológica de Canguiri, Piraquara, PR; (46) Roça Nova, PR; (50) Três Barras, margens do rio Uruguai, Aratiba, RS; (53) Morro da Igreja, Pq, Nac São Joaquim, Urubici, SC; (55) Cânion Itaimbezinho, Pq. Nac. Aparados da Serra, Cambará, do Sul, RS; (56) Venâncio Aires, RS.	53	6	7
<i>philipmyersi</i>	Argentina: (51) Estância Santa Inês, Posadas; (52) Parada Leis, Capital, Misiones.	1	1	—
<i>reigi</i>	Uruguai: (59) Paso Averías, Lavalleja	—	1	—
<i>sanctipaulensis</i>	Brasil: (35) Morretinho, SP; (38) Primeiro Morro, SP; (39) Quadro Penteado, SP; (40) Iporanga, SP.	8	—	—
<i>serrensis</i>	Brasil: (29) Vale das Antas, serra dos Órgãos, Teresópolis, RJ; (27) Brejo da Lapa (Itatiaia), Itamonte, MG; (44) Mananciais da Serra, Piraquara, PR.	3	3	1
<i>spgazzinii</i>	Argentina: (57) Pampa de Achala, Córdoba	—	1	—
<i>subfuscus</i>	Perú: (5) 90km SE Quillabamba, Cuzco, 3450m; (7) Tucumachay, Ayacucho, 4250m; (8) Pacaicasa, Ayacucho, 2650m; (9) Chunyacc, Ayacucho, 3600m (11) 55.4km N Calca, Cuzco, 3560m; (15) 15km S Callali, Arequipa.	17	1	—
<i>toba</i>	Paraguai: (21) 50km NW Fortin Madrejón, Cerro Leon; (26) 419km NW Villa Hayes, Boquerón; (31) 8km NE Juan de Zalazar, Presidente Hayes. Bolivia: (24) 38km NE Tarija, Tarija, 2400m.	10	1	—
<i>torques</i>	Peru: (10) 32km NE Paucartambo, Cuzco	21	1	—

3.1.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1.3.1 *Variação molecular e inferência filogenética*

Citocromo b

As análises de parcimônia máxima de sequências completas do citocromo *b* revelaram 536 caracteres variáveis, dos quais 490 foram parcimoniosamente informativos. As buscas heurísticas no conjunto de árvores parcimoniosas obtidas pelo procedimento *ratchet* resultaram em uma única árvore de 3338 passos (Figura 3.3a). Nesta árvore, os haplótipos de *A. mystax* oriundos do Caparaó estão consistentemente agrupados com *A. lindberghi*, formando um clado bem suportado (*bootstrap* = 100%) que é aqui nomeado como grupo *lindberghi*. A divergência genética entre as duas espécies deste grupo são baixas, variando de 1.7—1.9% de distância genética não-coriçada (distância *p*). *Akodon philipmyersi* aparece como linhagem mais próxima deste clado, embora esta relação não seja suportada estatisticamente (*bootstrap* < 50%) provavelmente devido à divergência profunda desta espécie em relação ao grupo *lindberghi* (10.1-10.6%*p*). A população do Itatiaia, por sua vez, mostrou-se fortemente agrupada com *A. paranaensis*, compondo um clado que tem *A. reigi* como espécie-irmã. A população do Itatiaia incluindo as sequências originalmente reportadas por Geise *et al.* (2001) diverge de populações de *A. paranaensis* por 1.1—2.5%*p*, e de *A. reigi* por 5.3—5.4%*p*. O grupo *cursor*, tradicionalmente constituído por *Akodon cursor* e *A. montensis* (Rieger *et al.* 1995), não foi reconstruído nas análises como um grupo monofilético uma vez que *Akodon montensis* se mostrou mais relacionada ao clado Itatiaia-*paranaensis-reigi* do que a *A. cursor* propriamente. Este arranjo a princípio inviabiliza a restrição do grupo *cursor* a *A. cursor* e *A. montensis*, justificando provisoriamente sua extensão para incluir

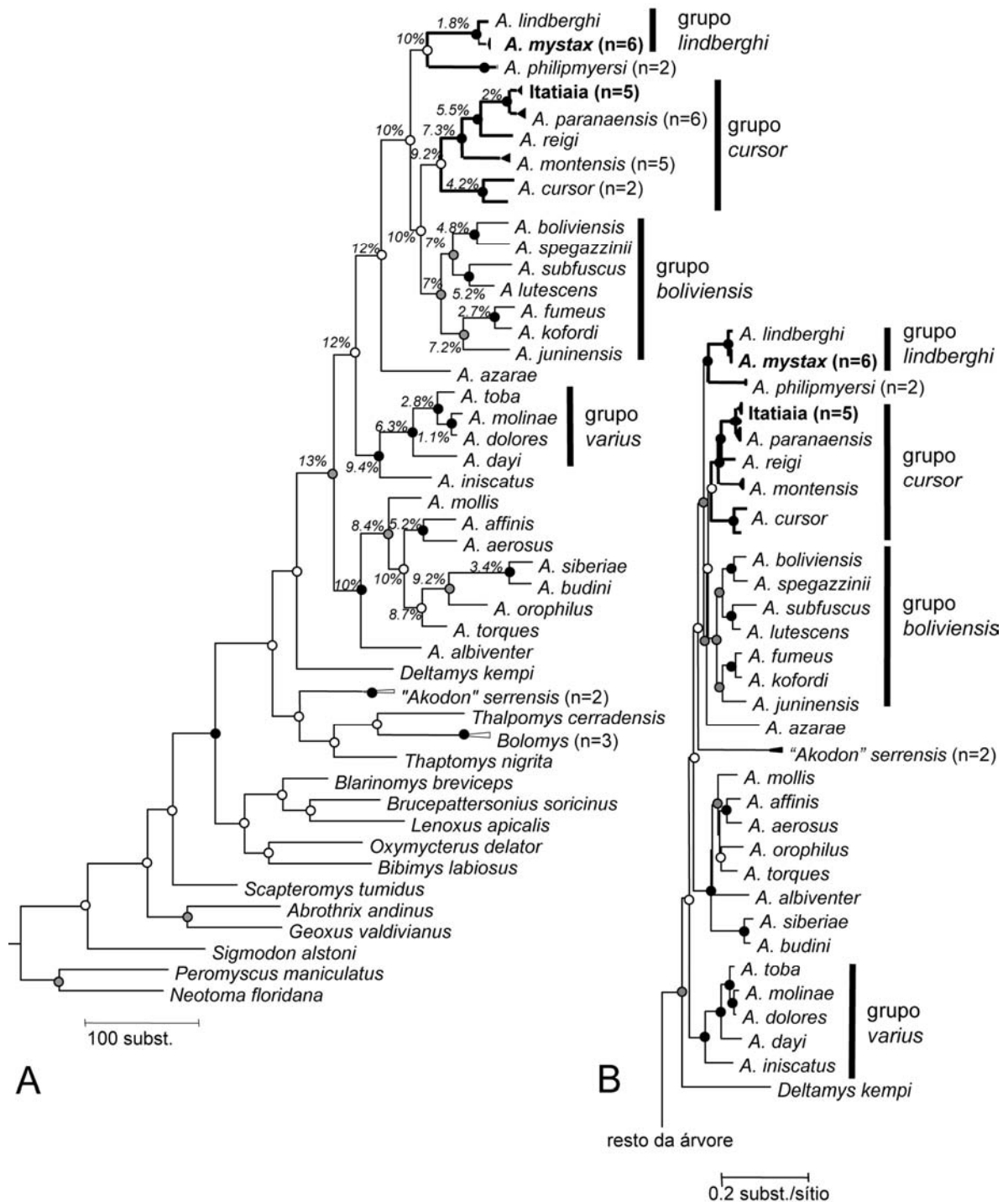


Figura 3.3. Hipóteses sobre os relacionamentos de *Akodon mystax* e da população do Itatiaia sugeridas pelas análises filogenéticas de sequências de 1140pb do citocromo *b*. Grupos de espécies que incluem formas alto-montanas da Mata Atlântica possuem seus ramos destacados em negrito. (A) Árvore de parcimônia máxima de 3338 passos com base em 490 caracteres parcimoniosamente informativos, CI=0.2633, RI=0.6043; valores

próximos aos nós equivalem à divergência genética média entre linhagens irmãs expressa em porcentagem de sítios diferentes. **(B)** Árvore de verosimilhança máxima ($-\ln L=14826.84551$) obtida sob o modelo GTR+I+ Γ com frequências de bases A=0.35490, C=0.36280, G=0.07070, T=0.21160, proporção de sítios invariáveis 47%, taxas de substituição variáveis entre sítios e seguindo uma distribuição gama com $\alpha=0.8688$. Clados bem suportados estatisticamente estão representados por nós pretos ($>70\%$ de valor de *bootstrap*), moderadamente suportados por nós cinza (50-69% de valor de *bootstrap*) e fracamente suportados por nós brancos ($<50\%$ de valor de *bootstrap*).

A. paranaensis, *A. reigi* e a população do Itatiaia (Figura 3.3a). O suporte deste grupo *cursor* estendido é, de qualquer modo, reduzido (*bootstrap* $< 50\%$) e *A. cursor* difere substancialmente dos demais membros (9.2%*p* em média). As justificativas para o reconhecimento deste clado como o grupo *cursor* são exploradas mais adiante.

Outros grupos de espécies previamente reconhecidos na literatura que foram revelados nas análises de parcimônia do *cytb* são o grupo *boliviensis* e o grupo *varius* (*sensu* Myers, 1989; Myers et al., 1990). O primeiro, integrado exclusivamente por formas do altiplano andino, mostra-se próximo ao grupo *cursor*, entretanto, com baixo suporte nodal conforme já reportado em análises filogenéticas prévias (cladograma reproduzido na Figura 3.1b—Pardiñas et al., 2005). A divergência entre espécies do grupo *boliviensis* varia de 2.7%*p* a 7.2%*p*. O grupo *varius* é reconstruído como um clado com maior consistência (*bootstrap* $> 50\%$), onde *A. dayi* representa a espécie mais divergente em relação às demais, diferindo em 6.3%*p*. As análises revelaram um último clado de espécies habitantes das escarpas florestadas dos Andes, que assume uma posição mais basal dentro do gênero. Este grupo de espécies inicialmente reportado por Smith & Patton (1993) reúne formas com níveis de divergência interespecífica bem variáveis que vão de 3.4% (*A. budini* e *A. siberiae*) a 10%*p* (*A. albiventer* em relação às demais espécies). *Akodon azarae* apresentou-se próxima ao clado reunindo os grupos *boliviensis*, *cursor* e *lindberghi*, mas os baixos níveis de suporte sugerem que esta

espécie estaria interposta entre clados supraespecíficos do gênero ao invés de associada a qualquer grupo de espécies reconhecido. Conforme reportado em outros estudos (DElia, 2003; DElia et al., 2003), *Akodon serrensis* diverge de todas as espécies do gênero se agrupando com outros gêneros de Akodontini próximos a *Akodon*.

O modelo evolutivo que melhor correspondeu à estrutura aos dados de citocromo *b* foi o modelo mais complexo GTR (*general time reversible*) com seis taxas de substituição distintas, frequências de nucleotídeos desiguais (A=0.35490, C=0.36280, G=0.07070, T=0.21160), taxas de mutação variáveis entre os sítios e seguindo uma distribuição gama ($\alpha=0.8688$) e uma proporção de 47% de sítios invariáveis. A topologia da árvore de verosimilhança é bastante similar à obtida por parcimônia, revelando basicamente os mesmos grupos de espécies (Figura 2.3b). As diferenças entre os dois métodos estão refletidas basicamente no posicionamento do grupo *varius* com clado mais basal do gênero, ao invés do grupo de formas andinas, e na inclusão de *Akodon serrensis* no gênero ainda que se apresente como uma linhagem bem divergente em relação às demais espécies do gênero. Esta última modificação sugere que a escolha do método de otimização (parcimônia ou verosimilhança) tem implicações importantes para as afinidades de *Akodon serrensis* e deve ser cuidadosamente considerada em análises conduzidas para investigar esta questão.

Íntron 7 do beta-fibrinogênio.

As análises de parcimônia de sequências do íntron 7 do beta-fibrinogênio revelaram 25 árvores igualmente parcimoniosas de 550 passos, onde 187 caracteres se mostraram parcimoniosamente informativos (Figura 3.4a). As diferenças entre as topologias destas

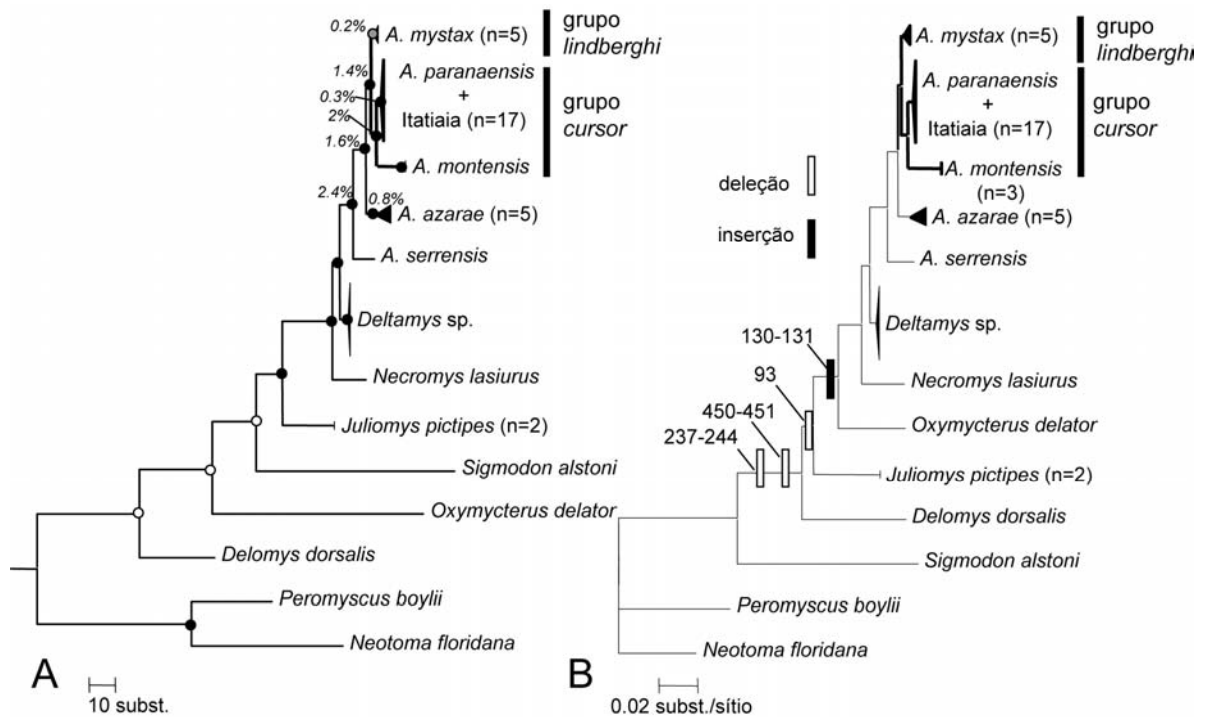


Figura 3.4. Hipóteses sobre os relacionamentos de *Akodon mystax* e da população do Itatiaia sugeridas pelas análises filogenéticas de sequências de 720pb do íntron 7 do beta-fibrinogênio. Grupos de espécies que incluem formas alto-montanas da Mata Atlântica possuem seus ramos destacados em negrito. **(A)** Uma das 25 topologias igualmente parcimoniosas obtidas com 550 passos, onde 187 caracteres foram parcimoniosamente informativos; valores próximos aos nós equivalem à divergência genética média entre linhagens irmãs expressa em porcentagem de sítios diferentes. **(B)** Árvore de verossimilhança máxima ($-\ln L = 2678.43068$) obtida sob o modelo GTR+I+ Γ com frequências de bases A=0.30940, C=0.22550, G=0.17870, T=0.28640 e taxas de substituição variáveis entre sítios, seguindo uma distribuição gama com $\alpha=1.5055$. Clados bem suportados estatisticamente estão representados por nós pretos (>70% de valor de *bootstrap*), moderadamente suportados por nós cinza (50-69% de valor de *bootstrap*) e fracamente suportados por nós brancos (<50% de valor de *bootstrap*). Deleções e inserções de segmentos do íntron foram mapeadas na topologia de verossimilhança máxima (posições têm como referência o alinhamento esquematizado na Figura 2.2).

árvores envolveram basicamente alternância de arranjos entre haplótipos dentro de uma mesma espécie e variações no posicionamento de *Oxymycterus* e *Delomys*. Apesar da menor amostragem taxonômica destas análises, é possível visualizar mais uma vez a divergência entre *A. mystax* e a população do Itatiaia. Esta última aparece inserida dentro de um clado integrado por haplótipos de *A. paranaensis* do Rio Grande do Sul e que apresenta *Akodon montensis* como linhagem mais próxima. *Akodon serrensis* mostrou-se proximamente relacionada às demais espécies do gênero, apesar de que o número reduzido de espécies representadas não permite conclusão mais firmes sobre sua alocação. Uma população de *Deltamys*, possivelmente representante de uma nova espécie, se mostrou como grupo irmão do gênero *Akodon* em congruência com as análises de *cytb*. A divergência entre haplótipos de espécies distintas é geralmente mínima, variando de 1.4%p (*A. paranaensis* versus *A. mystax*) a 2.4%p (*A. serrensis* versus *A. mystax*), uma consequência das taxas evolutivas mais baixas do *fgbI7* em comparação ao marcador mitocondrial. Entretanto, mesmo com baixas taxas de mutação, o modelo evolutivo que melhor se adequou aos dados de *fgbI7* para análises de verosimilhança foi o TVM, um modelo razoavelmente complexo com seis taxas de mutação distintas, frequências de nucleotídeos desiguais (A=0.3094, C=0.2255, G=0.1787, T=0.2864) e taxas de mutação variáveis entre os sítios seguindo uma distribuição gama ($\alpha=1.5$). A topologia obtida nas análises de verosimilhança foi bem similar às das árvores parcimoniosas (Figura 3.4b), diferindo somente no posicionamento de *Oxymycterus* e *Delomys*.

Uma perspectiva interessante das análises do *fgbI7* é a possibilidade de se traçar a evolução de inserções/deleções ao longo da genealogia, determinando até que ponto estas modificações estruturais do íntron podem contribuir para a diagnose de clados. As inserções/deleções correspondem a 10% do número de caracteres parcimoniosamente

informativos, sugerindo que estes tipos de mutações são em parte responsáveis pela estrutura filogenética obtida nas análises de parcimônia e verosimilhança. Otimizando as transformações de caracteres ao longo da topologia fornecida pela análise de verosimilhança é possível identificar quatro modificações estruturais que representam na verdade sinapomorfias estritas (CI=100%) entre membros dos clados por elas diagnosticados (Figura 3.4b). As primeiras modificações deste tipo consistem na deleção de dois segmentos do íntron, de 7 e 2 nucleotídeos, respectivamente, diagnosticando o clado formado por todos os sigmodontíneos menos *Sigmodon* (clado *Oryzomyialia* de Steppan et al., 2004). A segunda modificação estrutural consiste na deleção de um nucleotídeo no 93º sítio que define o clado formado por *Juliomys* e os demais gêneros de Akodontini representados. Por último, uma inserção de dois nucleotídeos nas posições 130 e 131 caracteriza a tribo Akodontini. As deleções e inserções não foram evidentes em níveis intragenéricos e intraespecíficos da genealogia do *fgbI7* e o arranjo das espécies de *Akodon* é suportado primordialmente por substituições.

Prychitko & Moore (1997) e Carroll & Bradley (2005) observaram que o número de sítios do *fgbI7* filogeneticamente informativos é geralmente mais reduzida em níveis de diferenciação intragenérica. De fato, quando os números de caracteres informativos à parcimônia do *fgbI7* e do *cytb* são comparados, o marcador mitocondrial exibe uma proporção quase duas vezes maior de variabilidade filogeneticamente informativa do que o íntron (43% em *cytb* versus 26% em *fgbI7*). Entretanto, quando a comparação é estendida para caracteres variáveis em geral, os dois marcadores se apresentam variabilidades similares (52% de variação no *fgbI7* contra 49% de variação no *cytb*). Este padrão de grande variabilidade mas pouca informação filogenética em sequências do íntron deve-se à existência de numerosos haplótipos de *fgbI7* que diferem entre si por poucas substituições. Este padrão de

diversificação haplotípica, ainda que indesejável sob o ponto de vista filogenético, é bastante interessante para níveis inter e intraespecíficos de variação, onde o *fgbI7* poderia fornecer perspectivas complementares sobre padrões filogeográficos tradicionalmente visualizados por marcadores mitocondriais. Este potencial é explorado posteriormente nas análises envolvendo *A. paranaensis* e a população do Itatiaia.

3.1.3.2 Variação morfológica

Morfometria

As amostras de *A. mystax*, da população do Itatiaia e de mais 13 espécies de *Akodon* foram submetidas a uma Análise Discriminante Canônica. Foram revelados seis conjuntos bem diferenciados ao longo das duas primeiras funções discriminantes (FD1 e FD2; Figura 3.5a), que juntos abrangem 72.5% da variação craniométrica entre as amostras. A maior parte da discriminação entre os grupos é sumarizada pela FD1, à qual todos os caracteres mostram-se positivamente correlacionados, fato que sugere este eixo como um descritor multivariado das diferenças de tamanho craniano entre amostras. Em relação à FD2, alguns caracteres se encontram correlacionados em direções opostas (positiva e negativamente) evidenciando este eixo como um descritor das diferenças na forma do crânio (Figura 3.5b). Tendo em vista as tendências morfológicas expressas pelos dois eixos, existem três grupos de espécies caracterizados por crânios relativamente pequenos, ocupando uma região do espaço multivariado povoada por baixos escores na FD1, enquanto os demais três grupos ocupam uma região totalmente distinta do espaço, apresentando crânios relativamente grandes e altos escores na FD1. A divergência entre grupos de mesmo tamanho craniano expressou-se

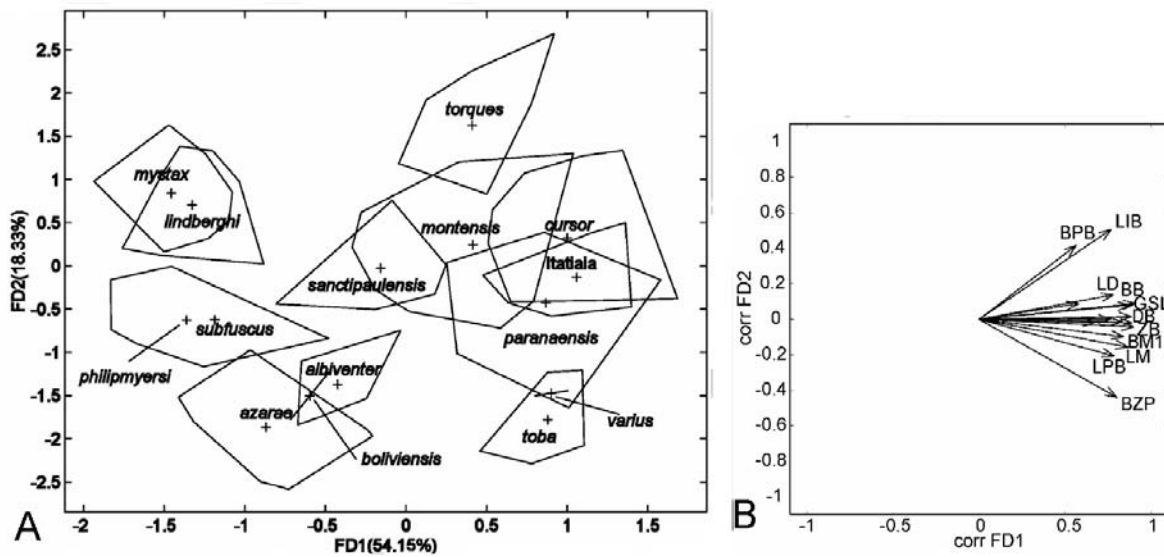


Figura 3.5. Padrão de diferenciação morfométrica de *Akodon mystax*, a população do Itatiaia e 13 outras espécies do gênero *Akodon*. (A) Escores individuais das espécies em relação às duas funções discriminantes (FD1 e FD2) e (B) vetores de correlação das variáveis craniométricas originais com funções discriminantes expressando as tendências de variação na forma e tamanho do crânio no espaço multivariado.

principalmente ao longo da FD2, refletindo diferenças predominantemente relacionadas à forma craniana.

Akodon mystax mostrou-se totalmente desassociada da população do Itatiaia, integrando junto com *A. lindberghi* um grupo de espécies pequenas idêntico ao grupo *lindberghi* reconstruído em análises moleculares. A população do Itatiaia, por sua vez, está inserida em um conjunto de espécies grandes que também agrega membros do grupo *cursor* (*A. cursor*, *A. montensis*, *A. paranaensis*) e *A. sanctipaulensis*. *Akodon torques* e representantes do grupo *varius* (*A. toba* e *A. varius*), apesar de ainda divergirem sensivelmente na forma craniana ao longo da FD2, apresentam-se mais similares ao conjunto de espécies grandes do leste do Brasil. As demais espécies orientais, como *A. azarae* e *A. philipmyersi*

estão respectivamente dispersas entre dois conjuntos de espécies pequenas que também incluem *A. albiventer* e representantes do grupo *boliviensis* (*A. subfuscus* e *A. boliviensis*).

O grupo *lindberghi* diferencia-se de espécies de mesmo tamanho, como *A. philipmyersi*, *A. azarae*, *A. albiventer* e membros do grupo *boliviensis*, por apresentar ponte palatal e região interorbital relativamente mais largas, e placas zigomáticas mais estreitas (Figura 3.5). O grupo *cursor*, incluindo a população do Itatiaia e *A. sanctipaulensis*, diferencia-se de espécies do grupo *varius* nos mesmos caracteres e tendências mencionados acima, entretanto, de um modo mais gradual, já que alguns exemplares de *A. paranaensis* ainda apresentam morfótipos similares a *A. varius* e *A. toba*. Em relação a *A. torques*, os membros do grupo *cursor* apresentam placas zigomáticas maiores e regiões interorbitais mais estreitas, apesar de alguns exemplares de *A. montensis* se apresentarem sobrepostos a *A. torques*. As diferenças do grupo *lindberghi* em relação ao grupo *cursor* se expressam principalmente no tamanho geral do crânio, *A. mystax* e *A. lindberghi* sendo sempre menores em relação a membros do grupo *cursor* para todas as dimensões. Entretanto, caracteres como o comprimento da série molar e comprimento máximo do crânio contribuem mais para a divergência entre estes dois grupos.

O comprimento do pé (HFL), apesar de não ter sido incluído nas análises multivariadas, mostrou-se altamente correlacionado com as diferenças gerais em tamanho do crânio expressas pela FD1 ($r = 0.77$, $P < 0.001$, $n = 270$). As espécies mostram-se agrupadas em duas classes de tamanho de pé, grande (HFL>20mm) e pequena (HFL<20mm), que são razoavelmente concordantes com os grupos evidenciados pela FD1. *Akodon mystax*, *A. lindberghi*, *A. philipmyersi* e *A. azarae*, espécies com crânios geralmente pequenos, apresentam pés delicados raramente excedendo 21mm de comprimento. Já a população do

Itatiaia, *A. paranaensis*, *A. cursor* e *A. montensis* apresentam pés grandes variando de 22mm a 30mm.

Morfologia qualitativa

A divergência profunda entre *A. mystax* e a população do Itatiaia e a maior similaridade destas duas formas com *A. lindberghi* e membros do grupo *cursor*, respectivamente, expressam-se também em aspectos qualitativos da variação morfológica. *A. mystax* compartilha uma série de caracteres cranianos com *A. lindberghi* que, quando contrastados com as condições morfológicas apresentadas pelas demais espécies analisadas, sugerem uma grande coesão morfológica entre estas duas formas, permitindo seu reconhecimento como um grupo de espécies distinto. Da mesma forma, os exemplares do Itatiaia compartilham caracteres comuns com *A. cursor*, *A. montensis* e *A. paranaensis* que garantem sua inclusão no grupo *cursor*.

O grupo *lindberghi* é caracterizado por nasais lateralmente expandidos que ocupam quase toda a superfície dorsal do rosto, restringindo os pré-maxilares a estreitas faixas laterais que acabam por desaparecer completamente em porções mais anteriores do rosto (Figura 3.6a), uma condição também compartilhada com *A. philipmyersi* (Figura 3.6b). Membros do grupo *cursor*, grupo *boliviensis* (*A. boliviensis* e *A. suffuscus*), grupo *varius* (*A. toba* e *A. varius*), *A. albiventer*, *A. azarae* e *A. torques* apresentam uma condição distinta, com nasais relativamente estreitos e pré-maxilares bem aparentes por toda a sua extensão em vista dorsal (Figura 3.6c). O rosto da maior parte das espécies examinadas é bem pronunciado em relação às dimensões gerais do crânio. *Akodon torques* e membros do grupo *cursor* constituem, contudo, importantes exceções, apresentando rostros ainda mais alongados, estreitos e

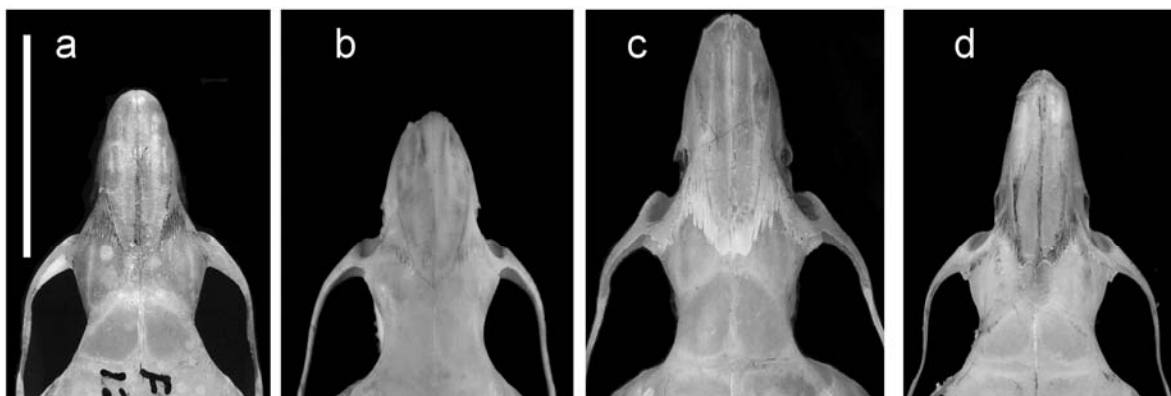


Figura 3.6. Vista dorsal das regiões rostral e interorbital dos crânios de *Akodon lindberghi* (a, parátipo, Parque Nacional de Brasília, DF), *A. philipmyersi* (b, Misiones, Argentina), população do Itatiaia (c) e *A. torques* (d, Cuzco, Peru). Crânios ilustram as condições dos nasais, rostro e amplitude da região interorbital. Barra = 10mm.

pontiagudos (Figuras 3.6c, d). *A. philipmyersi* e *A. albiventer* também divergem da tendência geral exibindo rostros consideravelmente curtos, mas de largura similar a das demais espécies que os confere um aspecto mais robusto.

As regiões interorbitais de *A. philipmyersi* e membros do grupo *lindberghi* são bicôncavas e amplas em relação à dimensão geral do crânio (razão média LIB/ZB: 38%); entretanto, as margens supraorbitais de *A. lindberghi* são notavelmente mais retilíneas e os frontais providos de bordos quadrangulares em contraste às margens curvadas e arredondas de *A. mystax* (Figura 3.6a). *Akodon albiventer*, *A. azarae* e as espécies dos grupos *boliviensis* e *cursor* também apresentam regiões interorbitais tipicamente bicôncavas, mas proporcionalmente mais estreitas (LIB/ZB: 35-36%) e com perfis laterais mais arredondados do que no grupo *lindberghi* (Figura 3.6b, c). Dentre as espécies do grupo *cursor*, apenas *A. sanctipaulensis* apresenta região interorbital ampla (LIB/ZB: 38%). Entretanto, vale ressaltar que todos os espécimes disponíveis desta espécie são jovens ou subadultos e a condição deste caráter é extremamente influenciada pela idade (Myers et al., 1990). As condições mais

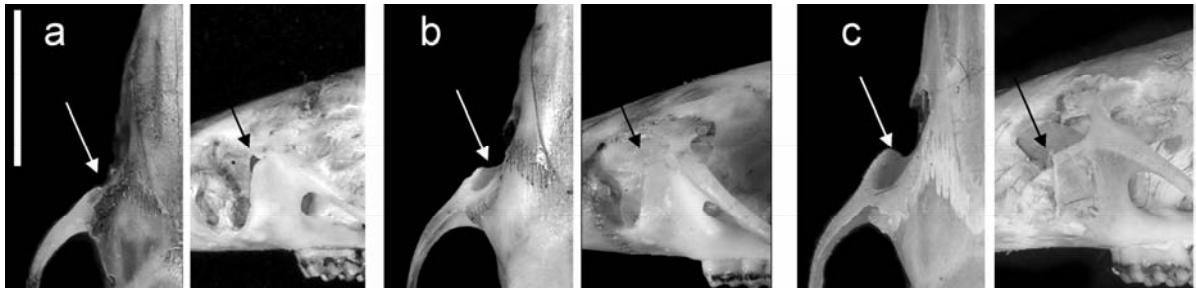


Figura 3.7. Variação na placa zigomática ilustrada pela profundidade do entalhe zigomático (em vista dorsal) e pelo distanciamento do bordo anterodorsal da placa em relação à barra superior do zigomático (em vista lateral): (a, *A. mystax*) placa zigomática pouco pronunciada, placa zigomática moderadamente pronunciada (b, *A. albiventer*) e placa zigomática bem pronunciada (c, população do Itataia). Barra = 5mm.

extremas em relação à morfologia da região interorbital são exibidas por *A. torques* e membros do grupo *varius* (*A. toba* e *A. varius*), que respectivamente apresentam regiões interorbitais bem amplas (LIB/ZB: 40%) ou margens supraorbitais quadrangulares e carenadas (Figura 3.6d).

As placas zigomáticas no grupo *lindberghi* e em *A. philipmyersi* são estreitas e apresentam margens anteriores retilíneas que fracamente se destacam anteriormente em relação à barra anterorbital da placa zigomática (Fig. 3.7a). Conseqüentemente, os entalhes zigomáticos são rasos e quase inconspícuos quando vistos dorsalmente e a superfície anterodorsal da placa é bastante reduzida. O grupo *cursor* e as demais espécies do gênero exibem placas zigomáticas mais largas e pronunciadas anteriormente, tipicamente produzindo uma superfície anterodorsal mais ampla e entalhes zigomáticos perceptíveis quando vistos dorsalmente. A projeção e forma da margem anterior da placa zigomática apresentam considerável variação individual e influência etária, mas as condições vistas em *A. lindberghi*, *A. mystax* nunca se aproximam das comumente apresentadas por outras espécies de *Akodon* (Fig. 3.7b,c).

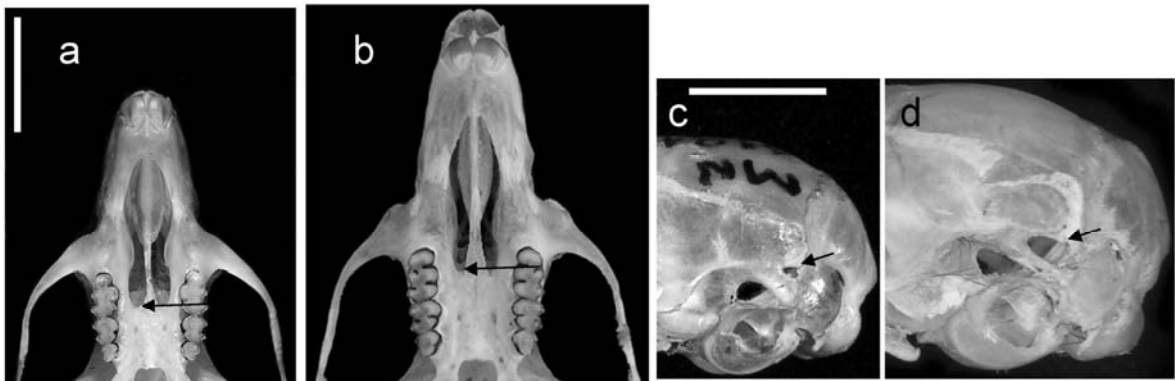


Figura 3.8. Variação na extensão do forâmen incisivo (à esquerda) e nas larguras relativas do processo hamular e do forâmen subesquamosal na região ótica (à direita): (a, *A. mystax*) forâmen incisivo longo e expandido na porção caudal, (b, população do Itatiaia) forâmen incisivo relativamente curto e estreito em sua porção caudal, (c, *A. mystax*) processo hamular curto e robusto delimitando um forâmen subesquamosal diminuto e (d, população do Itatiaia) processo hamular alongado e estreito delineando um forâmen subesquamosal maior. Barra = 5mm.

O grupo *lindberghi* apresenta forâmenes incisivos distintamente largos e longos, estendendo-se posteriormente até alcançar o nível do hipoflexo do M1. As porções caudais dos forâmenes incisivos delimitadas pelo maxilar são conspicuamente mais expandidas do que nas porções mais mediais. Os forâmenes incisivos nas demais espécies examinadas são comparativamente mais curtos, não ultrapassando o nível do protocone do M1, e seus limites laterais são geralmente mais retilíneos, sem nenhuma expansão notável em área nas porções mais caudais. *A. albiventer*, entretanto, destaca-se por apresentar forâmenes incisivos com sua porção caudal bem estreitada e retilínea (Fig. 3.8a,b).

Por último, *A. philipmyersi* e o grupo *lindberghi* compartilham processos hamulares largos e robustos que restringem o forâmen subesquamosal a uma abertura diminuta (Fig. 3.8c). As demais espécies exibem processos hamulares mais delgados e alongados, que

geralmente delimitam forâmenes subesquamosal e pós-glenóide de mesma dimensão ou levemente desiguais. (Fig. 3.8d).

3.1.3.3 Relacionamento e status taxonômico de *Akodon mystax*

As evidências fornecidas pelas comparações moleculares e morfológicas suportam *A. mystax* e *A. lindberghi* como espécies-irmãs, corroborando parcialmente a sugestão de Hershkovitz (1998) de que as espécies de tamanho pequeno do leste da América do Sul seriam mais relacionadas entre si do que com formas de maior tamanho. Os resultados também refutam completamente qualquer associação de *A. mystax* com os espécimes de $2n=44$ do Itatiaia reportados por Geise *et al.* (2001) ou com as espécies sulinas, *A. paranaensis* e *A. reigi*. O grupo *lindberghi* parece bastante coeso morfológicamente podendo ser definido por uma combinação exclusiva de caracteres, tais como pequeno tamanho, pelagens dorsal e ventral de tonalidades bem distintas e com divisão bem marcada, região interorbital ampla, nasais expandidos lateralmente, processo hamular curto e robusto, placas zigomáticas pouco projetadas anteriormente e forâmenes incisivos longos e distintamente expandidos em suas porções caudais. *Akodon philipmyersi* parece a linhagem mais próxima ao grupo *lindberghi*, pois dentre os caracteres morfológicos citados, esta espécie só não compartilha o amplo forâmen incisivo. Apesar destas similaridades, conforme evidenciado nas análises moleculares e observado por Pardiñas *et al.* (2005d) na descrição da espécie, a posição de *A. philipmyersi* ainda permanece questionável e análises filogenéticas de outros genes ainda são requeridas. O número diplóide único, o rostro curto e os forâmenes incisivos pouco expandidos claramente contribuem para aprofundar a divergência desta espécie em relação ao grupo *lindberghi*.

A. mystax e *A. lindberghi*, por outro lado, são tão similares que uma reavaliação do status taxonômico destas espécies faz-se necessária. Caracteres mencionados por Hershkovitz (1998) como diagnósticos para *A. mystax*, tais como placa zigomática estreita, forâmen incisivo longo, fossa mesopterigóide ampla e arredondada, são também compartilhados por *A. lindberghi*. Um fator que imediatamente limita as análises de *A. lindberghi* apresentadas aqui é a baixa representatividade desta espécie em coleções desde sua descrição. Apenas 12 espécimes adultos completos (pele e crânio) de 2 localidades encontram-se disponíveis em museus, restringindo qualquer inferência taxonômica mais precisa. Hershkovitz (1990) obteve a série-tipo de *A. lindberghi* em Brasília, Distrito Federal, em veredas e campos úmidos típicos do bioma de Cerrado. Mais tarde, Geise *et al.* (1996) reportou uma população de *A. lindberghi* a 850km leste de Brasília, em habitats campestres alterados de Mata Atlântica em Simão Pereira, Minas Gerais. Desde então, nenhuma população adicional de *A. lindberghi* foi sido reportada, revelando-se uma grande lacuna na distribuição da espécie (Figura 3.9).

Os resultados de uma Análise de Variância Multivariada revelam uma discriminação morfométrica significativa entre as duas espécies ($F_{(1, 65)} = 6.0436$, Wilk's lambda = 0.3408, $P < 0.001$), onde *A. mystax* parece maior para todas as dimensões cranianas. Entretanto, quando todas as combinações bivariadas de caracteres craniométricos são analisadas, apenas a combinação entre o comprimento nasal e o comprimento do forâmen incisivo fornece um padrão mais claro de segregação entre as espécies. A sobreposição ainda é extensa e quase 17% dos indivíduos de *A. mystax* exibem morfótipos similares a exemplares de *A. lindberghi*. Os padrões morfométricos também indicam que as duas amostras geograficamente distantes de *A. lindberghi* são morfologicamente mais similares entre si do que com *A. mystax*, que está a apenas 220km da população de Simão Pereira. Este padrão é indicativo de uma coesão

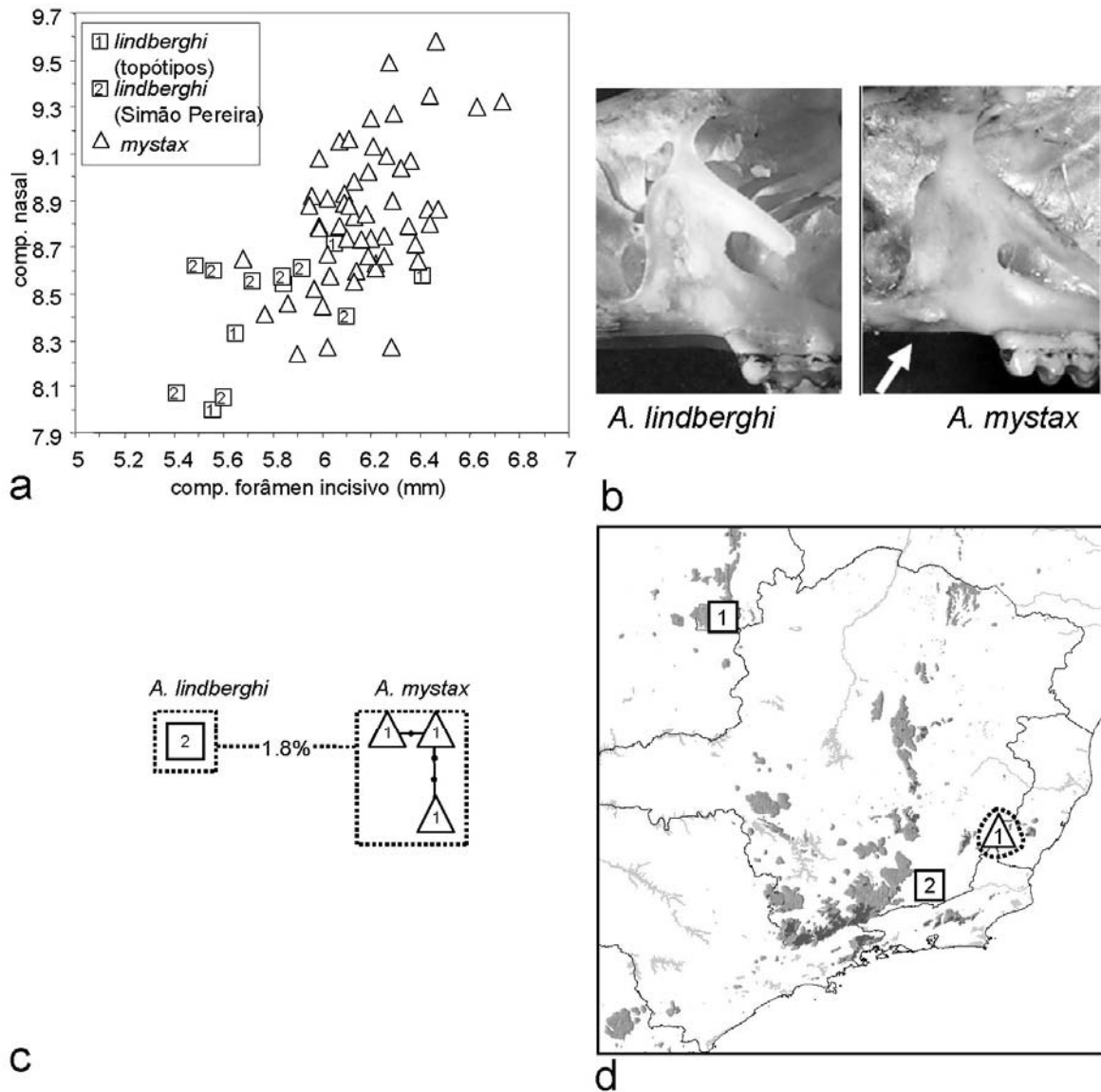


Figura 3.9. Padrões de variação morfológica e genética no grupo *lindberghi*: (A) diferenciação entre de *A. mystax* e *A. lindberghi* com base nos dois caracteres craniométricos que melhor discriminam as duas espécies, (B) variação entre as espécies na ocorrência do tubérculo massetérico, (C) redes genealógicas de haplótipos do citocromo *b* de populações de *A. mystax* e *A. lindberghi* (haplótipos das duas espécies divergem em 1.8% de diferença em sequência), (D) distribuições conhecidas de *A. mystax* e *A. lindberghi* e conexão histórica entre as duas espécies.

morfológica claramente não relacionada ao distanciamento geográfico e corrobora a inclusão das duas amostras a mesma espécie sugerida por Geise *et al.* (1996). Infelizmente, dados

moleculares de topótipos de *A. lindberghi* não estão disponíveis, mas sua análise poderia avaliar objetivamente a coesão genética das duas únicas amostras desta espécie.

Quando aspectos qualitativos da variação morfológica são analisados, um caráter relacionado à ocorrência de um tubérculo massetérico na superfície ventral do maxilar se apresenta bastante informativo para diferenciação entre as espécies. Este tubérculo serve geralmente como um ponto de inserção para o masséter superficial (Voss, 1988) e está presente em indivíduos adultos de *Akodon mystax* como uma pequena crista bem evidente em vista lateral na região imediatamente anterior ao M1 (Figura 3.9b). Os exemplares de *A. lindberghi* das duas localidades consideradas não exibem traço deste tubérculo, apresentando uma superfície ventral do maxilar lisa e sem rugosidades. A coloração da pelagem varia entre as duas espécies. Ambas apresentam dorso tipicamente castanho com uma forte tonalidade cinza, mas *A. mystax* exibe uma pelagem dorsal ainda mais clara e acinzentada do que *A. lindberghi*, um efeito produzido pelas bandas feomelânicas mais claras dos pêlos dorsais. Hershkovitz (1998), ao descrever *A. mystax*, notou a presença de uma mancha de pêlos negros (“*thin rostral band*”) se estendendo da extremidade do focinho até a base da região periocular em vários machos e algumas fêmeas (fig. 24 em Hershkovitz, 1998). Este conjunto de pêlos negros, ou “*moustache*”, foi utilizado como base para o epíteto da espécie. Quando examinada em magnificação, pode-se visualizar um pequeno conjunto de pêlos negros diminutos na região dorsal ao rinário superior. Alguns exemplares de *A. lindberghi*, entretanto, também compartilham este mesmo conjunto de pêlos próximo ao rinário, diminuindo o potencial diagnóstico deste caráter.

A divergência genética entre as duas espécies é relativamente baixa (1.8%*p*), sugerindo que a separação entre as duas linhagens ocorreu recentemente, o que é de certa forma esperado

considerando os poucos caracteres morfológicos distintivos entre ambas. Mesmo assim, os três haplótipos de *cytb* obtidos de 6 exemplares de *A. mystax* e o único haplótipo de *A. lindberghi* organizam-se em dois grupos genealógicos distintos nas análises de redes genealógicas, sugerindo maior variação genética entre as duas espécies do que dentro de *A. mystax* (Figura 3.9c). A descontinuidade genética entre as duas espécies é sugerida também pela segregação geográfica entre as duas espécies. Bonvicino *et al.* (1997), ao analisar a variação altitudinal na composição e abundância das espécies de pequenos mamíferos do Caparaó, demonstraram a restrição altitudinal clara de *A. mystax* às cotas superiores a 1800m, a partir de onde os campos de altitude se tornam mais frequentes. Considerando os esforços intensivos de amostragem implementados por estes autores ao longo do gradiente altitudinal do maciço do Caparaó, parece razoável assumir que esta espécie esteja de fato isolada altitudinalmente de outras espécies exclusivas de faixas inferiores, como *A. lindberghi*.

As comparações morfológicas e as evidências genéticas e geográficas, portanto, suportam a distinção de *A. mystax* e *A. lindberghi* como espécies. De qualquer modo, apenas alguns poucos caracteres craniométricos combinados com a ocorrência de uma crista massetéica fornecem uma base mais confiável para identificação e diagnose, dada a extensa sobreposição na maior parte de medidas tomadas.

3.1.3.4 Identidade da população do Itatiaia e taxonomia do grupo cursor

De fato, como evidenciado em estudos moleculares prévios (D'Elía, 2003; D'Elía *et al.* 2003; Pardiñas *et al.* 2005a), exemplares apresentando $2n=44$ do Itatiaia são proximamente relacionados a *A. paranaensis*, com a exceção de que os resultados aqui mostrados indicam uma dissociação clara destes exemplares em relação a *A. mystax*. *Akodon reigi* constitui a

linhagem irmã do clado unindo a população do Itatiaia e *A. paranaensis*, que juntas constituem um grupo monofilético de espécies compartilhando o mesmo número de cromossomos. *Akodon cursor* e *A. montensis* representam as espécies filogeneticamente mais próximas desse grupo com 44 cromossomos, e juntas essas linhagens formam um conjunto morfologicamente coeso, reunindo as maiores formas do gênero, com região interorbital bicôncava, arredondada e estreita, rostros pronunciados, nasais estreitos e placas zigomáticas largas e pronunciadas anteriormente. Esta coesão morfológica justifica o reconhecimento deste conjunto de espécies como um grupo de espécies, nomeado aqui como *cursor* em referência ao epíteto da forma nominal mais antiga incluída. Alguns autores (Rieger *et al.* 1995; Geise, Smith & Patton, 2001d) se referiram ao grupo *cursor* num sentido mais restrito, incluindo somente *A. cursor* e *A. montensis*, formas sempre associadas entre si ao longo da história taxonômica do gênero como subespécies ou sinônimos (Cabrera, 1961). Entretanto, como demonstrado anteriormente, o uso do grupo *cursor* em referência exclusiva à *A. montensis* e *A. cursor* não é suportada pelas evidências moleculares, justificando sua expansão para incluir membros do clado com $2n=44$. Este grupo é definido aqui então para incluir *A. cursor*, *A. montensis*, *A. paranaensis*, *A. reigi* e a população do Itatiaia, com status taxonômico a ser investigado.

Akodon sanctipaulensis, apesar de não representada nas análises moleculares, compartilha vários caracteres comuns com o grupo *cursor*, mas ainda se apresenta bem divergente em relação aos membros deste grupo, principalmente por exibir rosto distintamente afilado e estreito, região interorbital ampla, pelagem mais escura sem distinção entre dorso e ventre e aspecto corporal soricino, condições aproximadas apenas por *Akodon torques*. Vale ressaltar que qualquer inferência sobre as afinidades de *A. sanctipaulensis* fica prejudicada pela composição etária da série original da espécie, composta exclusivamente por

jovens com M3 recém-eclodidos ou ainda inclusos, enquanto as demais espécies foram representadas quase que exclusivamente por exemplares adultos. Caracteres relacionados às regiões rostral e interorbital são consideravelmente influenciados pela idade e as diferenças entre *A. sanctipaulensis* e as demais espécies podem refletir simplesmente um componente etário. Tendo em vista as incertezas sobre as condições morfológicas desta espécie e a indisponibilidade momentânea de boas amostras de jovens de outras espécies do gênero, *Akodon sanctipaulensis* é mantida provisoriamente fora do grupo *cursor* até que análises morfológicas ou genéticas mais apropriadas sejam apresentadas.

Limites morfológicos entre as espécies do grupo cursor

Uma análise morfológica comparando todas as espécies do grupo *cursor* estendido não está disponível, dificultando a delimitação de limites interespecíficos de seus integrantes com base em caracteres morfológicos. González *et al.* (1998) se baseou fundamentalmente no número diplóide de 44 cromossomos para diferenciar *A. reigi* de *A. cursor* e *A. montensis*. Christoff *et al.* (2000), ao descrever *A. paranaensis*, realizou comparações morfológicas com *A. serrensis* e *A. sanctipaulensis*, mas não considerou membros morfológica e geograficamente próximos como *A. reigi*, *A. cursor* ou *A. montensis* nas análises. Embora as abordagens citogenéticas se mostrem promissoras para o reconhecimento de espécies nesse grupo, dados genéticos são pouco úteis quando aplicados às centenas de espécimes não cariotipados disponíveis em museus (Geise *et al.* 2005). Os caracteres citológicos também se mostram obviamente ineficazes quando as formas em questão compartilham o mesmo cariótipo. Em situações onde as formas apresentam o mesmo o mesmo cariótipo, como é o caso da população do Itatiaia, *A. paranaensis* e *A. reigi* ($2n=44$), os caracteres citológicos

tradicionais também se mostram ineficazes para se avaliar status taxonômico. A primeira iniciativa em testar a utilidade de caracteres morfológicos para distinção entre espécies crípticas de *Akodon* foi avançada por Geise *et al.* (Geise *et al.* 2004b; Geise *et al.* 2005), revelando uma divergência morfológica significativa entre *A. cursor* e *A. montensis* em caracteres relacionados à vesícula biliar e dimensões cranianas.

No sentido de investigar os níveis de diferenciação morfológica da população do Itatiaia em relação às espécies do grupo *cursor* e dessa forma avaliar seu status taxonômico, uma Análise Discriminante Canônica foi realizada incluindo topótipos de *A. paranaensis* e amostras de *A. cursor* e *A. montensis* identificadas pelo cariótipo ou pelas análises moleculares. Os dois primeiros eixos discriminantes, que sumarizam 97.3% da variação entre amostras, claramente evidenciaram três conjuntos de amostras: o primeiro composto por amostras de *A. cursor*, o segundo por *A. montensis* e o terceiro incluindo a população do Itatiaia e *A. paranaensis*. Os caracteres relacionados à série molar (BM1 and LM) são especialmente informativos para discriminação ao longo da FD1, enquanto que a largura interorbital se destaca como caráter discriminante na FD2 (Fig. 3.10a,b). O conjunto *paranaensis*-Itatiaia é caracterizado por molares desproporcionalmente maiores do que *A. montensis* e região interorbital relativamente mais estreita e rostro mais baixo do que exemplares de *A. cursor*. *Akodon cursor* e *A. montensis* também se mostram bem caracterizados no espaço multivariado, diferindo em tamanho (*A. cursor* geralmente maior) mas de forma mais notável nas dimensões relacionadas à série molar e região interorbital. A análise multivariada também evidencia alguma tendência de diferenciação entre a população do Itatiaia e *A. paranaensis*, mas ainda assim quase 70% dos espécimes do Itatiaia estão sobrepostos com *A. paranaensis*. As contribuições marcantes das dimensões da série molar e

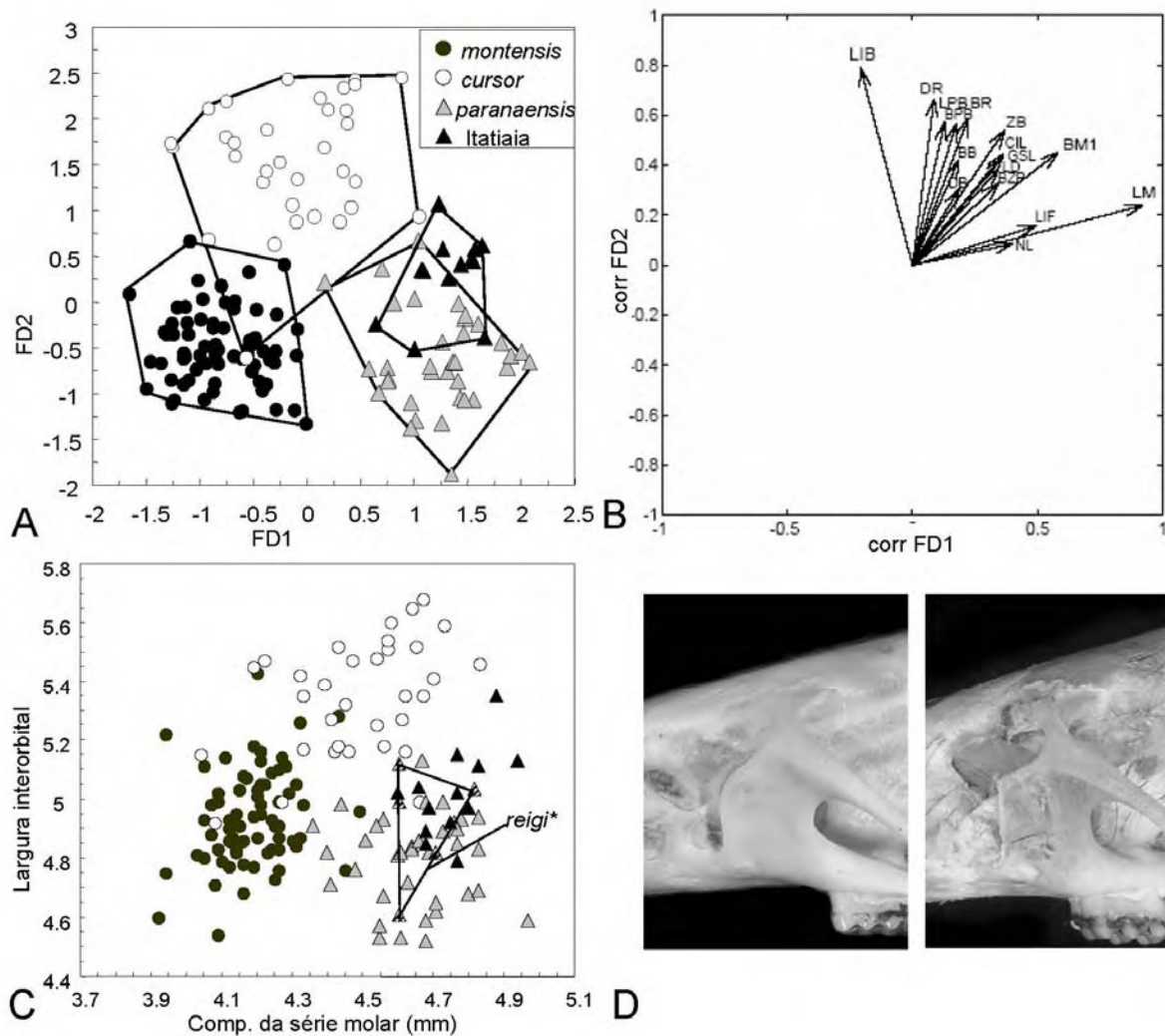


Figura 3.10. Padrões de variação morfológica no grupo *cursor*: (A) diferenciação morfométrica entre *A. cursor*, *A. montensis*, *A. paranaensis* e a população do Itatiaia evidenciada por uma análise discriminante de variáveis canônicas e (B) respectivos vetores de correlação entre variáveis craniométricas originais e funções discriminantes; (C) variação entre *A. cursor*, *A. montensis*, *A. paranaensis*, a população do Itatiaia e *A. reigi* (cujas medidas foram obtidas de González *et al.* 1998) com relação aos dois caracteres que melhor discriminam as espécies no grupo; (D) condições arredondada (à esquerda, *A. cursor*) e quadrangular (à direita, população do Itatiaia) do bordo anterodorsal da placa zigomática vistas no grupo *cursor*.

região interorbital aos padrões de discriminação entre as três espécies os colocam como os melhores candidatos a caracteres diagnósticos para estes três grupos. Como exemplo disso, estes caracteres foram mencionados por González *et al.* (1998) e Christoff *et al.*, (2000) nas diagnoses de *A. reigi* e *A. paranaensis*. Quando a largura interorbital é combinada com o comprimento da série molar (Figura 3.10c), apenas um espécime de *A. cursor* (3% da amostra de *A. cursor*) e dois indivíduos de *A. montensis* (2.8% da amostra de *A. montensis*) são incluídos dentro do intervalo de variação morfométrica de *A. paranaensis* e da população do Itatiaia. A separação entre *A. cursor* e *A. montensis* é, entretanto, menos consistente a partir destas duas medidas, uma vez que aproximadamente 10% dos espécimes de *A. cursor* estão sobrepostos com exemplares de *A. montensis*. *Akodon reigi* é a única espécie do grupo *cursor* não examinada nas análises morfométricas, mas as medidas dos 6 espécimes da série-tipo e as ilustrações fornecidas na descrição original (Gonzalez *et al.* 1998) permitem uma aproximação sobre o nível de diferenciação morfológica desta espécie dentro do grupo. O holótipo e os parátipos de *A. reigi*, assim como os exemplares do Itatiaia, se sobrepõem extensamente com *A. paranaensis*.

Nenhum aspecto qualitativo da morfologia craniodentária parece contribuir para a diferenciação entre populações e espécies do grupo *cursor*. Exemplares adultos das populações do Itatiaia, *A. reigi* e *Akodon paranaensis* tendem a apresentar a extremidade anterodorsal da placa zigomática quadrangular e arestada em contraste à condição tipicamente mais arredondada das placas zigomáticas de *A. cursor* e *A. motensis* (Figura 3.10d). Entretanto, quando vários indivíduos de um intervalo etário restrito são analisados, estas diferenças se diluem em vista da ocorrência de vários exemplares intermediários. Externamente, todas estas espécies são similares, compartilhando a mesma tonalidade

marrom-olivácea da pelagem dorsal, pouco diferenciada da coloração da pelagem ventral. As dimensões externas também se sobrepõem (Apêndice II). Portanto, as análises morfológicas apresentadas aqui apontam apenas 3 unidades craniometricamente reconhecíveis — *Akodon cursor*, *A. montensis* e um conjunto composto pela população do Itatiaia, *A. paranaensis* e *A. reigi* (todos membros com 44 cromossomos). Assumindo a presença de características morfológicas diagnósticas como critério fundamental para a delimitação de espécies, estes resultados sugerem a inclusão das populações deste conjunto morfológicamente homogêneo em uma única espécie. Entretanto, esta decisão parece prematura sem um exame direto da série-tipo de *A. reigi* restringindo a inferência de co-especificidade para a população do Itatiaia e *A. paranaensis*. Deste modo, duas espécies ficam provisoriamente mantidas neste conjunto morfológicamente homogêneo de populações: *A. paranaensis*, incluindo a população do Itatiaia e populações dos campos e estepes sulinas do Brasil (PR, RS, SC), e *A. reigi*, incluindo exclusivamente exemplares do Uruguai próximos à localidade-tipo.

Pardiñas *et al.* (2003), ao identificar espécies de *Akodon* de Misiones, Argentina, observou que um exemplar de Parque Provincial Islas Malvinas (MMP-Ma 2421) se mostrava fortemente relacionado à população do Itatiaia em comparações de sequências do *cytb*. O número diplóide de 44 cromossomos também já havia sido associado a este exemplar por Liascovich & Reig (1989), o que motivou Christoff *et al.* (2000) a incluí-lo em *A. paranaensis*. Pardiñas *et al.* (2003), entretanto, considerou a identificação deste exemplar como incerta, dado o aparente conflito entre a grande similaridade genética mas alta divergência morfológica do exemplar de Misiones em relação a *A. mystax*, cujas sequências eram na verdade oriundas da população do Itatiaia. Com a dissociação da população do Itatiaia de *A. mystax*, e sua clarificação como uma representante setentrional de

A. paranaensis, a alocação deste exemplar de Misiones fica claramente congruente com as evidências morfológicas e moleculares. Suas medidas se inserem totalmente dentro do intervalo de variação morfométrica apresentado por *A. paranaensis*, corroborando sua inclusão nesta espécie conforme sugerido por Christoff *et al.* (2000).

Estrutura genética das populações com 2n=44

Os haplótipos de *cytb* analisados organizam-se em três grupos genéticos bem concordantes com a geografia das amostras (Figura 3.11a,b). A diferenciação entre a população do Itatiaia e as demais populações de *A. paranaensis* do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul é bem reduzida, de forma que as relações entre seus haplótipos puderam ser consistentemente reconstruídas. A maior conectividade entre estas populações é também evidenciada pelo compartilhamento de haplótipos comuns de *fgb17* entre exemplares das populações do Itatiaia e do sul do Brasil (Figura 3.11c). Já o relacionamento do haplótipo de *cytb* de *Akodon reigi* com qualquer haplótipo de *A. paranaensis* não pôde ser inferido com fidelidade, em virtude dos níveis elevados de diferenciação genética (5%p), mesmo apesar da proximidade geográfica entre as populações brasileiras e a amostra uruguaia representada.

A expectativa com relação à diferenciação geográfica entre populações de uma mesma espécie consiste na forte correlação entre a divergência genética e a distância geográfica entre populações. Este padrão é geralmente aparente em casos de populações em equilíbrio genético cuja diferenciação é gerada por descontinuidades no fluxo gênico impostas pela distância espacial entre membros coespecíficos. Sob estas condições, populações geograficamente próximas exibem maiores similaridades genéticas entre si do que com populações mais distantes. Por outro lado, desvios a este padrão podem surgir em situações de expansão

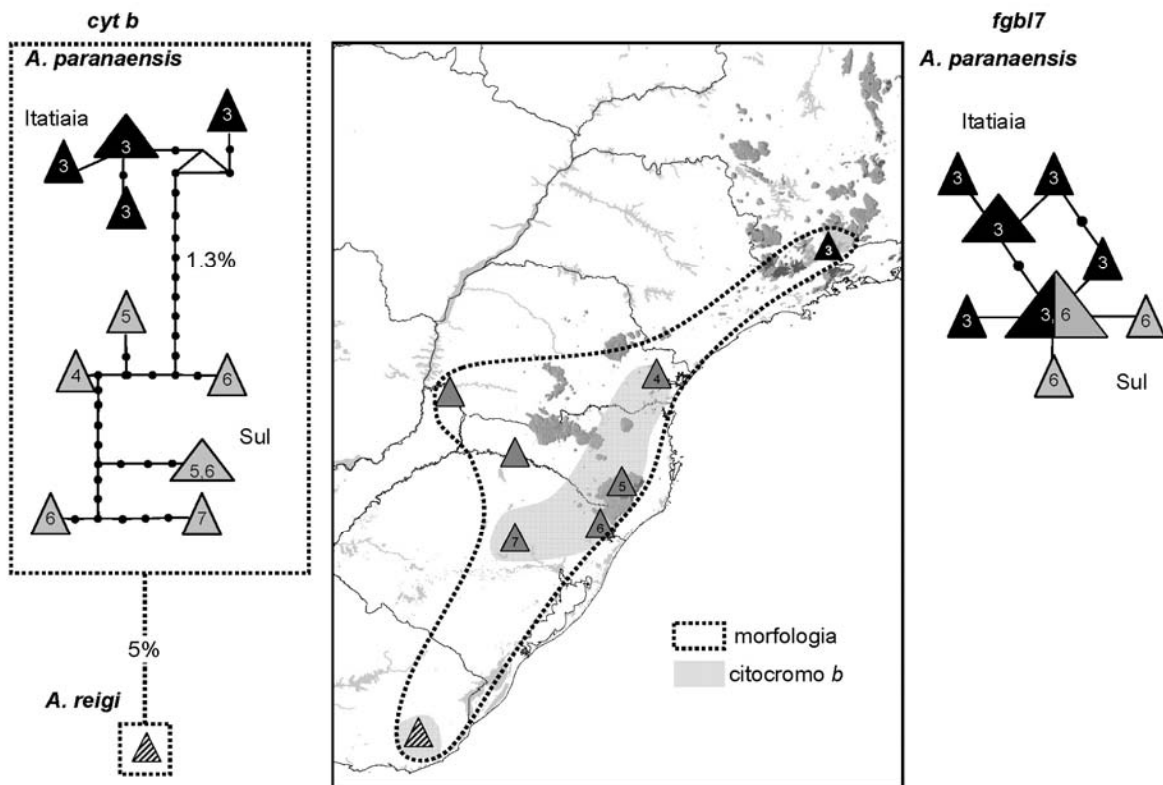


Figura 3.11. Filogeografia de *A. paranaensis*: **(A)** relacionamento entre haplótipos de populações de *A. paranaensis* do Itatiaia e do sul e conexão com haplótipos geneticamente mais distantes de *A. reigi*; **(B)** limites geográficos de unidades relativamente homogêneas sob as perspectivas morfológica (morfometria multivariada) e genética (citocromo *b*); **(C)** genealogia de haplótipos do íntron 7 do beta-fibrinogênio evidenciando maior conectividade genética entre as populações atualmente disjuntas de *A. paranaensis*.

demográfica recente, isolamento e subdivisão geográfica profunda entre populações próximas, ou mesmo na presença de mais de uma espécie nas populações analisadas. Em todos estes casos, a diferenciação genética vista entre membros de espécies diferentes não se apresenta correlacionada com a geografia das populações (deQueiroz & Good, 1997; Hutchison & Templeton, 1999). Os resultados de um teste de Mantel não revelam correlação significativa entre a divergência genética e a distância geográfica entre amostras de *A. paranaensis* e *A.*

reigi ($r=0.28$, $P=0.95$, 720 permutações), sugerindo que as populações destas espécies apresentam uma estrutura geográfica distinta daquela tipicamente exibida por populações em equilíbrio. A presença de três grupos geográficos de *cytb* evidencia claramente que estas populações encontram-se subdivididas geograficamente.

Os inventários faunísticos e a análise de amostras oriundas da região intermediária (estado de São Paulo) entre a população do Itatiaia e as populações sulinas de *A. paranaensis* não revelam a presença de representantes desta espécie. A julgar pelas informações sobre as localidades de coleta de exemplares de *A. paranaensis*, esta espécie tem seus limites geográficos restritos aos campos e estepes sulinas do planalto meridional e aos campos de altitude do maciço do Itatiaia. Considerando a descontinuidade atual entre estas duas fisionomias campestres, o padrão de distribuição de *A. paranaensis* é bastante sugestivo de um evento vicariante recente envolvendo populações dos altiplanos do Itatiaia e do planalto meridional.

No caso de *A. reigi*, a identificação de qualquer processo relacionado à diferenciação entre esta espécie e *A. paranaensis* é bastante dificultada. Ambas as espécies estão associadas à campanha gaúcha dominada pelos campos sulinos e possuem distribuições quase contíguas (considerando as distribuições propostas por González et al., 1998 e Christoff et al., 2000). Haplótipos adicionais da região sudeste do Rio Grande do Sul são necessários para que o padrão de diferenciação genética seja investigado possibilitando uma melhor compreensão dos limites entre estas duas formas nominais.

3.2 DIVERSIFICAÇÃO NO GÊNERO *DELOMYS*

3.2.1. INTRODUÇÃO

Delomys é um dos 14 gêneros de mamíferos com distribuição restrita à Mata Atlântica, preferencialmente habitando as florestas tropicais e subtropicais do sudeste e sul do Brasil (19°S a 30°S de latitude) e do extremo oeste do domínio atlântico, na província de Misiones, Argentina. Os representantes do gênero são em geral roedores sigmodontíneos de tamanho médio (40-60g), pelagem ventral distintamente mais clara do que dorsal, rostro longo, palato largo e curto, e molares tipicamente pentalofodontes, com o primeiro molar caracteristicamente oblongo com cônules anteriores assimétricos (Thomas, 1917; Voss, 1993). As espécies são predominantemente terrestres mas exibem alguma habilidade escaladora, e são abundantes em áreas de sub-bosque denso, com dominância de bambús e lianas (Hensel, 1872; Cademartori, Fabián & Manegheti, 2005). O tamanho da prole varia de 2 a 5 filhotes e a atividade reprodutiva ocorre ao longo de todo o ano, apesar de haver uma redução marcada durante o inverno (Cademartori *et al.* 2005). As espécies reconhecidas no gênero apresentam simpatria nas escarpas orientais da serra do Mar, mas os aspectos ecológicos de segregação entre populações simpátricas permanecem pouco estudados, apesar de possivelmente envolverem preferências por tipos de florestas distintos (Davis, 1945).

Na revisão taxonômica mais abrangente de *Delomys*, Voss (Voss, 1993) proporcionou uma diagnose consistente para o gênero, delimitou a diversidade de espécies e esclareceu o status da forma fóssil *Calomys plebejus* Winge, 1887 em relação ao grupo. Apesar de apenas *D. dorsalis* e *D. sublineatus* terem sido reconhecidas por Voss (1993) a partir das evidências morfológicas, pelo menos cinco formas nominais encontram-se descritas e associadas ao gênero na literatura (*collinus*, *dorsalis*, *obscura*, *plebejus* e *sublineatus*). Dado que apenas dois

cariótipos encontravam-se descritos para o gênero naquele momento (*D. dorsalis* 2n=82, NFa=80; *D. sublineatus* 2n=72, NFa=90 — Zanchin et al., 1992), as informações citogenéticas eram totalmente coincidentes com os limites morfológicos propostos por Voss (1993). Thomas (Thomas, 1917), entretanto, já havia reconhecido *D. dorsalis* como uma entidade politípica apresentando um padrão discreto de variação geográfica na fórmula mamária e tamanho da série molar, caracteres que basearam a descrição da subespécie *D. dorsalis collinus* do maciço do Itatiaia. O padrão de variação no número de mamas foi corroborado por Voss (1993), mas a ausência de caracteres morfológicos adicionais e melhores amostras o levaram a manter as populações setentrionais de 6 mamas e as populações meridionais de 8 mamas como distintas apenas em nível subespecífico (Figura 3.12a). Mais tarde, Bonvicino & Geise (1995) revelaram um novo cariótipo para amostras alto-montanas do Itatiaia e Caparaó. Essas amostras, diferiram das demais populações de *D. dorsalis* na morfologia cromossômica (alto-montanas—NFa=86 e *dorsalis*—NFa=80). Tal distinção reforçou a elevação do status de *collinus* a espécie e o seu reconhecimento como uma linhagem de distribuição disjunta e restrita às zonas mais elevadas do Itatiaia e Caparaó (Figura 3.12b), um arranjo que tem sido considerado nas últimas compilações taxonômicas (e.g., Musser & Carleton, 2005). Apesar da informação citogenética fornecer evidência de descontinuidade entre *D. collinus* e *D. dorsalis*, qualquer outra evidência direta de heteroespecificidade a partir de outros caracteres (morfológicos, moleculares) ainda não foi avaliada. Esta questão é de suma importância taxonômica pois embora essas duas formas nominais tenham sido propostas estritamente com base em caracteres fenotípicos, os limites geográficos definidos pela evidência cariotípica não são congruentes com as delimitações morfológicas originais, o que dificulta a aplicação dos nomes disponíveis. A identificação taxonômica precisa de populações atuais do gênero

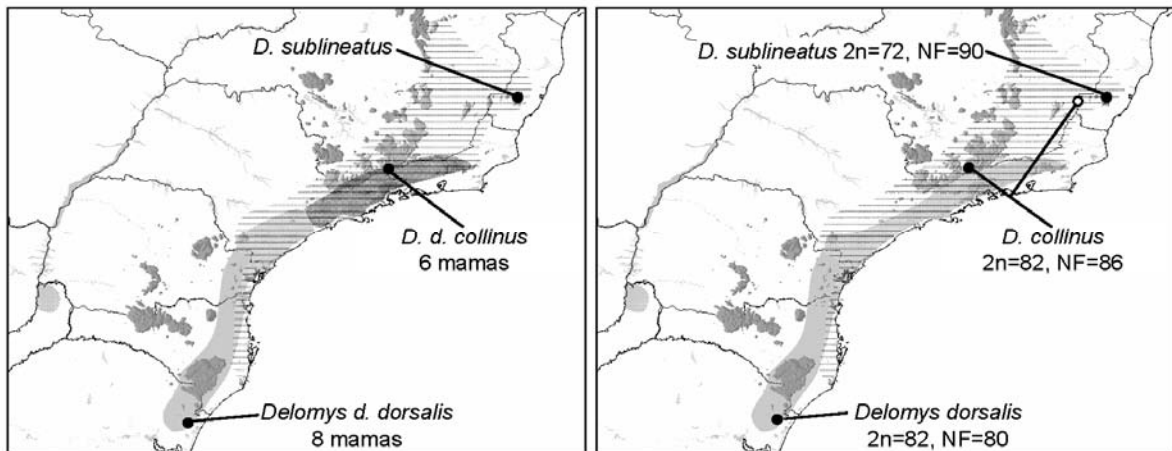


Figura 3.12. Limites taxonômicos e geográficos alternativos para as espécies do gênero *Delomys*. Localidades-tipo das formas nominais correntemente usadas estão ilustradas como pontos pretos (localidade-tipo de *dorsalis* permanece como “Rio Grande do Sul”). (A) *collinus* mantido como subespécie para incluir populações setentrionais de *Delomys dorsalis* de 6 mammas (Voss, 1993); (B) *collinus* como espécie incluindo exclusivamente as populações alto-montanas do Itatiaia e Caparaó de cariótipo 2n=82, NFA=86 (Bonvicino & Geise, 1995).

depende da associação dos cariótipos descritos com as séries-tipo originais, um exercício que só pode ser realizado integrando informações sobre a variabilidade fenotípica das unidades evolutivas sugeridas pela evidência citogenética.

O posicionamento filogenético de *Delomys* dentro da subfamília Sigmodontinae também tem sido motivo de debate. A história taxonômica do gênero é caracterizada por um período de incertezas sobre as alocações genéricas de suas espécies, que foram originalmente descritas e associadas a gêneros mais amplamente distribuídos e diversificados, como *Hesperomys* (= *Calomys*), *Oryzomys*, *Akodon* e *Thomasomys* (Hensel, 1872; Trouessart, 1898; Thomas, 1906). Após esta instabilidade nomenclatural inicial, Thomas (1917) descreve *Delomys*, incluindo *dorsalis* e *sublineatus* que encontravam-se então alocadas a *Thomasomys*. Ao delimitar *Delomys*, Thomas (1917) deixou implícita a noção de que as espécies da costa

atlântica tradicionalmente associadas a *Thomasomys* representariam de fato um conjunto de formas bem diferenciadas das espécies andinas típicas deste gênero (Osgood, 1933). Esta idéia foi reforçada mais tarde por outros autores (Avila-Pires, 1960; Gonzalez, 2000) ao descreverem gêneros adicionais (*Wilfredomys* e *Juliomys*) para incluir espécies da Mata Atlântica previamente alocadas em *Thomasomys*. Estes gêneros ainda foram reunidos na tribo Thomasomyini por alguns autores (Musser & Carleton, 1993) como referência às suas possíveis relações históricas e nomenclaturais com as formas andinas, mas, logo, análises posteriores indicaram uma dissociação cada vez maior entre os thomasominos atlânticos e andinos. As comparações morfológicas e moleculares revelaram que a tribo Thomasomyini não constituiria um grupo natural e que a maior parte de seus gêneros representariam “muróides neotropicais plesiomórficos” ou “linhagens evolutivas únicas” dentro da irradiação sigmodontínea (Voss, 1993; Steppan, 1995; Smith & Patton, 1999; D’Elía, 2003). Estas categorias têm se aplicado também a outros gêneros da Mata Atlântica como *Phaenomys* e *Rhagomys* (Bonvicino *et al.* 2001; Percequillo, Gonçalves & de Oliveira, 2004), sugerindo que este domínio abrigaria então um elenco relativamente antigo e bem diferenciado de sigmodontíneos. Dentre estes gêneros anciãos, *Delomys* representa um grupo de espécies especialmente interessante para estudos de especiação na Mata Atlântica, já que, por sua idade relativamente antiga e associação geográfica íntima com as formações florestais do domínio, seus padrões de diversificação podem revelar traços de processos evolutivos antigos e recentes relacionados com a evolução das fitofisionomias da costa atlântica.

Na presente seção, os padrões de diversificação morfológica e genética em *Delomys* são analisados com o objetivo de avaliar a concordância entre estes dois sistemas e verificar qual estrutura taxonômica do gênero parece mais adequada à evidência total. Nesta

abordagem, um novo conjunto de informações geradas pelas análises filogenéticas dos marcadores mitocondrial e nuclear é considerado, possibilitando o contraste dos padrões de variação fenotípica e citogenética com um terceiro sistema de caracteres independente. O status taxonômico das populações alto-montanas e suas relações históricas com as demais formas do gênero são enfatizados neste primeiro momento. A seguir, níveis intraespecíficos da variabilidade genética no gênero são analisados visando determinar a estrutura filogeográfica das espécies reconhecidas e discutir as possíveis causas históricas e ecológicas dos padrões de organização espacial da diversidade genética e fenotípica em *Delomys*.

3.2.2. AMOSTRAS

Ao todo, 54 amostras populacionais de *Delomys* foram reunidas, cobrindo boa parte da distribuição do gênero na América do Sul (Tabela 3.2; Fig. 3.13; Apêndice I). Em alguns casos, duas ou três localidades geograficamente homogêneas (situadas em um mesmo maciço montanhoso) e próximas foram agrupadas para compor uma mesma amostra mais numerosa. Todas as amostras populacionais contaram com espécimes-testemunho examinados, totalizando 460 exemplares com dados morfológicos registrados. A unidade taxonômica mínima nas análises moleculares foi reduzida ao indivíduo, ou mesmo a um único haplótipo de ADN. Deste modo, as estimativas moleculares de agrupamento entre populações foram totalmente independentes de qualquer arranjo de amostras definido *a priori*, consistindo assim em um teste ideal das estruturas taxonômicas propostas na literatura com base em caracteres morfológicos e citogenéticos.

Sequências para os primeiros 801pb do gene mitocondrial citocromo b foram obtidas para 92 indivíduos de 28 populações, enquanto haplótipos de 720pb do íntron 7 do beta-fibrinogênio foram gerados para 61 espécimes de 24 populações (Tabela 3.2). As análises

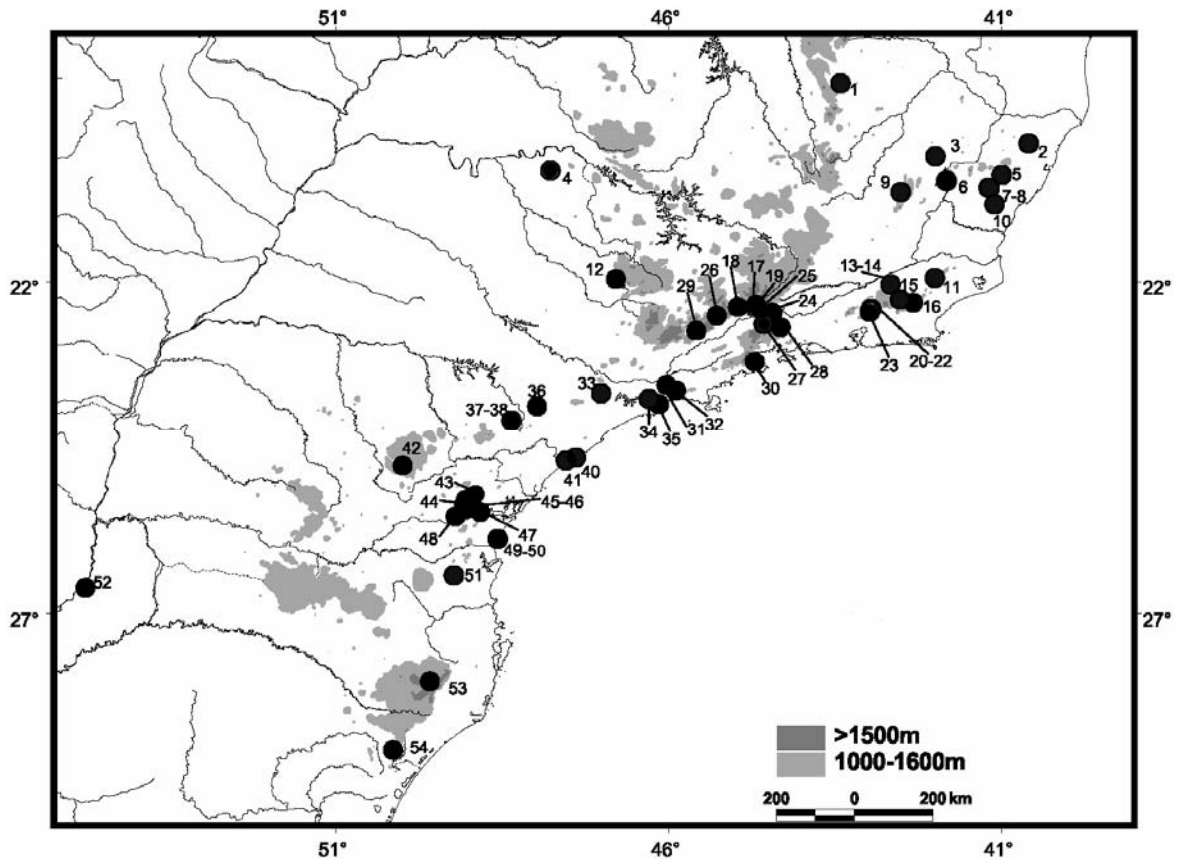


Figura 3.13. Amostras do gênero *Delomys* utilizadas nas análises moleculares e/ou morfológicas. As amostras foram classificadas *a priori* em dois grupos taxonômicos operacionais (grupos *dorsalis* e *sublineatus*) seguindo as diagnoses morfológicas fornecidas por Voss (1993) para *D. dorsalis* e *D. sublineatus*. Números referem-se às localidades relacionadas na Tabela 3.2

filogenéticas de *cytb* contaram com a inclusão de seqüências dos abrothrichinos *Notiomys* e *Chelemys*, que foram considerados como grupo externo ao gênero *Delomys*. Já as análises do *fgbI7* incluíram *Peromyscus* e *Neotoma* como grupo externo, além das seqüências de *Sigmodon* e das populações de *Delomys* analisadas aqui. O alinhamento dos segmentos de *fgbI7* dos táxons selecionados prontamente revelou a presença desnecessária de algumas lacunas anteriormente inseridas quando as seqüências de *Oxymycterus* haviam sido incluídas nas análises anteriores do gênero *Akodon*. Com a remoção destas lacunas, o tamanho do segmento analisado foi reduzido para 672pb.

Tabela 3.2 Localidades das amostras do gênero *Delomys* utilizadas nas análises moleculares (*cytb* e *fgb17*) e morfológicas, e informações citogenéticas associadas. Número entre parênteses refere-se às localidades mapeadas na Figura 3.13.

Localidades	Número de espécimes			Cariótipo 2n/NFa
	Morf.	<i>cytb</i>	<i>fgb17</i>	
1 Mata do Dr. Daniel, Conceição do Mato Dentro km 14, MG	2	—	—	—
2 Goipapoçu, Reserva Nova Lombardia—Caixa d'Água, Santa Teresa, ES (500-1200m)	18	—	—	72/90 ^{2,3}
3 Mata do Sossego, Simonésia, MG	1	1	—	—
4 Ituverava, SP	1	—	—	—
5 Sítio Pedreiras, Pedra Azul, Domingos Martins, ES (1000m)	1	1	1	72/90 ^{*,1}
6 Segredo-Arrozal-Terreirão, Parque Nacional do Caparaó, Alto Caparaó, MG (2100-2700m)	13	5	4	82/86 ^{*,3,4}
7 Castelinho, Cachoeiro do Itapemirim, ES	2	—	—	—
8 3km NE Forno Grande, Castelo, ES	10	—	—	—
9 Fazenda Neblina—Fazenda Brigadeiro, Parque Estadual Serra do Brigadeiro, Araponga, MG (900-1200m)	10	2	2	72/90 ^{*,6}
10 4km N Castelinho, Cachoeiro do Itapemirim, ES	2	—	—	—
11 Parque Estadual do Desengano, Santa Maria Madalena, RJ, (1750m)	1	—	—	—
12 Serra da Fortuna, Boa Vista, SP	1	—	—	—
13 Fazenda São José da Serra, 8km N do km33 estrada Teresópolis-Friburgo (RJ/30), Sumidouro, RJ (1000m)	1	—	—	—
14 Sumidouro, RJ (1000m)	7	6	1	—
15 Nova Friburgo, RJ (1000m)	3	—	—	—
16 Serra de Macaé, Macaé, RJ	2	—	—	—
17 Brejo da Lapa (Itatiaia), Itamonte, MG (1800-2100m)	38	14	8	82/80, 82/86 ^{*,2,3,4} , 5
18 Fazenda do Itaguaré, 16 km SW Passa Quatro, MG (1500m)	2	2	2	—
19 Campos do Itatiaia, Abrigo Reboucas, Parque Nacional do Itatiaia, Itatiaia, RJ (2350m)	4	2	2	82/86 [*]
20 Subaio—Fazenda Carlos Guinle (Comari), Teresópolis, RJ	25	—	—	—
21 Fazenda Boa Fé, Teresópolis, RJ	14	—	—	—

Tabela 3.2 (continuação).

Localidades	Número de espécimes			Cariótipo
	Morf.	<i>cytb</i>	<i>fgb17</i>	2n/NFa
22 Abrigo Paquequer (sede do Parque Nacional da Serra dos Órgãos), Teresópolis, RJ (1200m)	6	4	2	—
23 Base Pedra do Sino - Vale das Antas, Teresópolis, RJ (2040m)	9	4	3	—
24 Serrinha, Resende, RJ (850m)	1	1	1	—
25 Piscina Maromba, Parque Nacional do Itatiaia, Itatiaia, RJ (1170m)	1	1	1	—
26 Fazenda da Onça, 13km SW Delfim Moreira, MG (1850m)	2	2	2	—
27 Parque Nacional da Bocaina, São José do Barreiro, SP (1400m)	2	2	2	—
28 Estação Ecológica do Bananal, Bananal, SP (800m)	2	2	2	—
29 Campos do Jordão, SP (1600m)	10	—	—	—
30 Pedra Branca, Parati, RJ	15	—	—	—
31 Casa Grande, Biritiba Mirim, SP (800m)	5	—	—	82/80 ¹
32 Estação Ecológica de Boracéia, Salesópolis, SP (850m)	69	10	6	82/80, 72/90 ¹
33 Reserva Morro Grande, Caucaia do Alto, Cotia, SP (850-1100m)	20	5	3	72/90*
34 Paranapiacaba, Alto da Serra, SP (800m)	7	—	—	—
35 Bertioga, SP	1	—	—	—
36 São Miguel Arcanjo, Taquaral, SP	1	—	—	—
37 Fazenda Intervalles, Ribeirão Grande, SP (850m)	69	12	9	—
38 Morro da Mina, CBE, Ribeirão Grande, SP (900m)	4	—	—	—
40 Vale do Ribeira, SP	1	—	—	—
41 Iguape, SP	3	2	—	—
42 Castro, Fazenda Monte Alegre, PR (1000m)	1	—	—	—
43 Parque Estadual Pico Paraná, Campina Grande do Sul, PR (1600m)	19	3	3	82/80*
44 Taquari, Casa Garbes, Graciosa, Quatro Barras, PR	13	—	—	82/80 ¹
45 Roça Nova, PR (950-1150m)	1	6	2	—
46 Mananciais da Serra, Piraquara, PR (900-1300m)	4	1	—	82/80* ¹
47 Marumbi-Mãe Catira, Morretes, PR	3	—	—	82/80 ¹
48 Guaricana, São José dos Pinhais, PR	13	—	—	—
49 Limeira, serra da Prata, Guaratuba, PR	2	—	—	—
50 Rio Cubatão, Guaratuba, PR	1	—	—	—
51 Corupá (Colônia Hansa), SC	1	—	—	—
52 Caraguatay, Misiones, Argentina	1	—	—	—

Tabela 3.2 (continuação).

Localidades	Número de espécimes			Cariótipo
	Morf.	<i>cytb</i>	<i>fgb17</i>	2n/NFa
53 Morro da Igreja, Parque Nacional São Joaquim, Urubici, SC (1700m)	2	2	2	82/80*
54 Canyon Itaimbezinho, Pq. Nac. Aparados da Serra, Cambará, do Sul, RS (900-1100m)	8	4	4	82/80*
Número total	450	92	61	73

Fontes bibliográficas de dados cariotípicos: * – este estudo; 1 – Zanchin *et al.* (1992); 2 – Geise (1995); 3 – Bonvicino & Geise (1995); 4 – Bonvicino *et al.* (1997); 5 – Geise *et al.* (2004a); 6 – (Manduca, 2004).

Alguns indivíduos sequenciados e amostras utilizadas tiveram seus cariótipos determinados diretamente neste trabalho, ou então registrados a partir de informações disponibilizadas ou publicadas por outros autores (Geise, 1995; Bonvicino & Geise, 1995; Geise *et al.* 2004a). Desta forma, 73 espécimes de 14 amostras tiveram informação citogenética associada (Tabela 3.2), possibilitando testar diretamente a correspondência entre os clados eventualmente revelados pelas análises filogenéticas moleculares e os cariótipos reportados para o gênero.

3.2.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.2.3.1 Inferências filogenéticas e limites genéticos entre espécies

Citocromo b

Dentre os 92 indivíduos sequenciados foram identificados 70 haplótipos de citocromo *b*. Para evitar o excesso de ramos de comprimento nulo nas análises filogenéticas (conectando terminais de sequências iguais), apenas haplótipos distintos foram inseridos na matriz

submetida às análises de parcimônia e verosimilhança. As análises de parcimônia resultaram em 82 árvores igualmente parcimoniosas de 412 passos sustentadas por 161 caracteres parcimoniosamente informativos. A topologia de consenso estrito destas árvores revelou-se bem resolvida, evidenciando 3 clados estatisticamente consistentes e coincidentes com os 3 cariótipos reportados no gênero (Fig. 3.14). As diferenças entre as topologias igualmente parcimoniosas envolveram basicamente a falta de resolução das relações entre linhagens dentro destes clados em níveis populacionais, geralmente envolvendo haplótipos muito similares e, portanto, contendo poucos caracteres filogeneticamente informativos. As análises de verosimilhança revelaram uma topologia bem similar à árvore de parcimônia (não mostrada), diferindo somente na melhor resolução fornecida para os ramos mais internos da árvore dentro dos três clados principais. O modelo que melhor explicou o padrão de diferenciação entre sequências foi o TrN+I+ Γ , um modelo moderadamente complexo que envolve como parâmetros as frequências desiguais de nucleotídeos (A=0.30850, C=0.30350, G=0.10920, T=0.27880), seis tipos distintos de substituição, 59% de sítios invariáveis e taxas de substituição diferentes entre sítios, seguindo uma distribuição gama ($\alpha=1.88$).

O primeiro clado revelado nas análises apresenta-se bem caracterizado pelo cariótipo único de $2n=72$ e $NFa=90$, originalmente associado a *Delomys sublineatus* por Zanchin *et al.* (1992), e exibe níveis baixos de diferenciação genética entre suas populações, que variam de 0% a 2.2% de divergência entre haplótipos. As populações que compõem esta linhagem estão distribuídas desde localidades próximas ao nível do mar, no litoral sudoeste de São Paulo, a localidades situadas em faixas altitudinais intermediárias (1000-1500m) nos maciços das serras do Mar e da Mantiqueira (Figura 3.14). Estão incluídas também neste clado, populações do Espírito Santo bem próximas à localidade-tipo de *Delomys sublineatus*, corroborando o uso

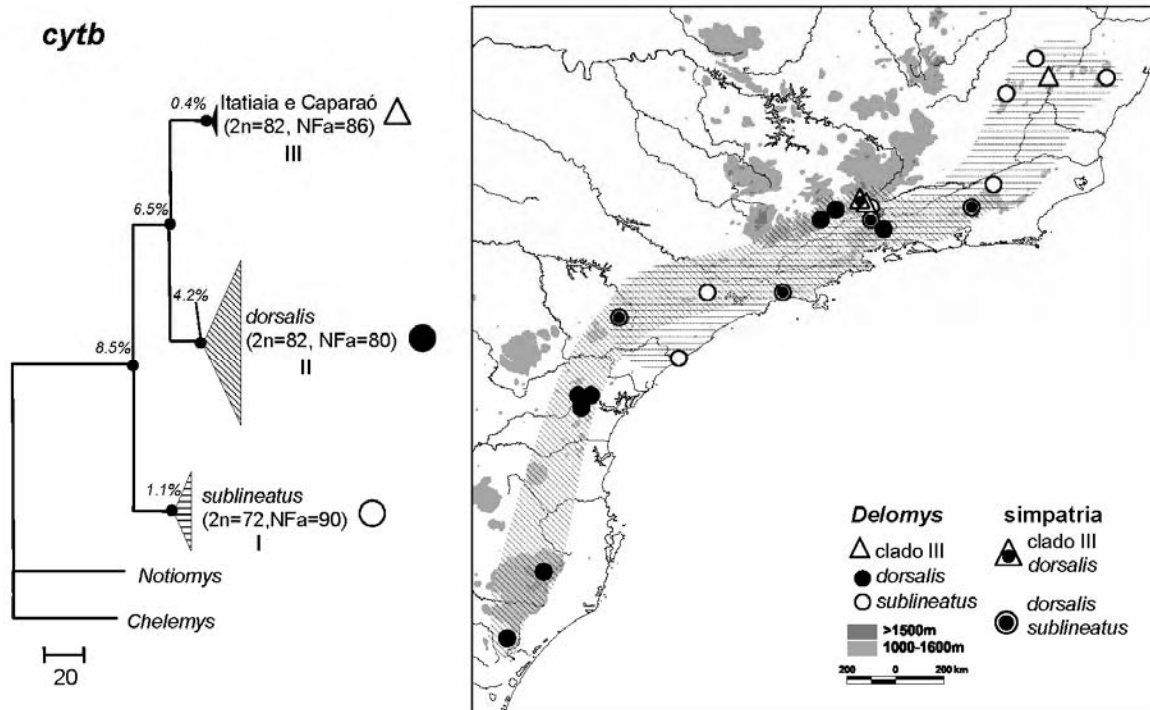


Figura 3.14. Genealogias do citocromo *b* (801pb) e limites genéticos e geográficos de *Delomys collinus*, *D. dorsalis* e *D. sublineatus* em concordância com os três cariótipos descritos no gênero. (A) Consenso estrito de 975 árvores igualmente parcimoniosas de 412 passos com base em 161 caracteres parcimoniosamente informativos, CI= 0.665, RI= 0.9369; valores próximos aos nós equivalem à divergência genética média entre linhagens irmãs expressa em porcentagem de sítios diferentes. Clados bem suportados estatisticamente estão representados por nós pretos (>70% de valor de *bootstrap*), moderadamente suportados por nós cinza (50-69% de valor de *bootstrap*) e fracamente suportados por nós brancos (<50% de valor de *bootstrap*). (C) Distribuição dos três clados mitocondriais diagnosticados pelos três cariótipos reportados para *Delomys* e áreas de simpatria.

deste nome para identificar as amostras deste grupo.

Os outros dois clados apresentam-se mais relacionados entre si e divergem em 6.4 a 6.6% de diferença em sequência. O clado II apresenta-se associado ao cariótipo 2n=82/NFA=80 descrito para *D. dorsalis* (Zanchin *et al.* 1992) e se distribui dos limites mais meridionais da Mata Atlântica no Rio Grande do Sul até as porções mais setentrionais da serra do Mar, no centro do estado do Rio de Janeiro. A diferenciação genética entre populações de

D. dorsalis é bem maior do que aquela constatada entre populações de *D. sublineatus*, e os níveis médios de divergência entre haplótipos geograficamente distantes variam entre 3.6% e 4.7% de diferença em sequência. As populações mais meridionais incluídas nesta linhagem localizam-se no nordeste do estado do Rio Grande do Sul, região de onde a série-original de *Delomys dorsalis* foi provavelmente obtida (Hensel, 1872; Voss, 1993). Tendo em vista a ausência de qualquer outra linhagem de *Delomys* nesta região, a geografia deste clado corrobora sua associação com *D. dorsalis*.

Por último, o clado III inclui populações alto-montanas (>1800m) disjuntas dos maciços do Itatiaia e Caparaó associadas ao cariótipo $2n=82/NFa=86$, atribuído por Bonvicino & Geise (1995) a *D. collinus*. Apesar de separadas por mais de 300 Km, as populações deste clado exibem níveis notavelmente baixos de diferenciação genética entre si, não ultrapassando 1% de diferença em sequência. Os cladogramas II e III compartilham o mesmo número diplóide, o que sugere uma certa concordância entre a similaridade cariotípica e a afinidade filogenética entre as três principais linhagens evolutivas mais inclusivas dentro do gênero *Delomys* reveladas pelo citocromo *b*.

Uma localidade de simpatria entre as linhagens de $2n=82/NFa=80$ e $2n=82/NFa=86$ foi evidenciada no maciço do Itatiaia, onde espécimes com cariótipos distintos ocorrem em sintopia na faixa altimétrica de 1800-2100m (Brejo da Lapa, loc. 17). Os poucos espécimes de *Delomys* coletados na cota imediatamente superior (2300-2450m) no maciço do Itatiaia apresentaram somente cariótipos de $2n=82/NFa=86$, sugerindo que a sobreposição entre as duas linhagens cariotípicas deva ser mais frequente em altitudes inferiores a 2000m. A congruência entre as genealogias mitocondrial e cromossômica é mantida na área de simpatria, uma vez que indivíduos da mesma localidade mas com cariótipos diferentes divergem em

média por 6.6%*p* e mostram-se segregados nos clados correspondentes aos seus cariótipos. Estes resultados colocam em dúvida a identidade da série-tipo de *collinus* em relação aos cariótipos 2n=82/NFa=80 e 2n=82/NFa=86, uma vez que o holótipo desta forma nominal teria sido obtido em faixas altitudinais intermediárias do Itatiaia onde a simpatria entre as duas linhagens pode ser comum. Apesar disso, o nome *collinus* é utilizado provisoriamente para se referir ao clado III.

Localidades de simpatria também foram evidentes para populações de *D. dorsalis* e *D. sublineatus* nos estados de São Paulo e Rio de Janeiro. Da mesma forma que no caso de simpatria *collinus-dorsalis*, duas linhagens mitocondriais associadas a cariótipos distintos se mantêm filogeneticamente descontínuas, divergindo em 7.6-9.4%*p*. De uma forma geral, a manutenção da coesão genética interna dos representantes dos clados de *cytb* em situações de simpatria consiste uma forte evidência de que os genomas mitocondriais associados aos diferentes cariótipos encontram-se isolados o suficiente para que nenhum traço de introgressão seja detectado. Entretanto, uma evidência mais conclusiva de isolamento reprodutivo pode ser fornecida pela análise de marcadores do genoma nuclear, como a que é apresentada a seguir.

Íntron 7 do beta-fibrinogênio

Ao todo, 79 haplótipos de *fgbI7* foram identificados a partir das sequências obtidas dos 61 indivíduos das 24 populações analisadas. As populações de ambos os grupos taxonômicos apresentaram heterozigotos claramente detectáveis nos perfis cromatográficos como picos duplos recorrentes após várias tentativas de sequenciamento. Cerca de 67% (41) dos indivíduos de *Delomys* sequenciados se mostraram heterozigotos para o locus *fgbI7*. O grupo

dorsalis apresentou maior número de heterozigotos do que o grupo *sublineatus*, correspondendo a 79% dos indivíduos analisados do grupo. Quando submetidos às análises de parcimônia, os haplótipos de *fgb17* forneceram 164 caracteres informativos e resultaram em 707 árvores mínimas de 368 passos. O consenso estrito destas topologias revelou *sublineatus* e *collinus* como grupos monofiléticos concordantes com os clados mitocondriais obtidos nas análises de *cytb* e com igual suporte estatístico (Figura 3.15). Os haplótipos de *dorsalis* por outro lado evidenciaram agrupamentos menos concordantes com a genealogia mitocondrial, apresentando-se dispersos por várias regiões da árvore e com suas relações não resolvidas em relação aos clados melhor suportados de *collinus* e *sublineatus*. Três clados de haplótipos, ou haplogrupos, puderam ser reconstruídos para espécimes assinalados ao clado mitocondrial *dorsalis* (Figura 3.15): o primeiro reunindo a maior parte dos haplótipos de *fgb17* do grupo *dorsalis* e incluindo populações do Rio Grande do Sul, Paraná, sudeste de São Paulo e do maciço do Itatiaia; o segundo compreendendo 10 haplótipos de localidades abrangidas pela serra do Mar no nordeste de São Paulo (Boracéia e Bocaina) e centro do Rio de Janeiro (serra dos Órgãos); e o último incluindo apenas 7 haplótipos de populações do litoral norte de São Paulo (Boracéia e Bocaina). Os cinco haplótipos restantes de *dorsalis* permaneceram como linhagens únicas na árvore (representados como círculos pretos na Figura 3.15) sem afiliação consistente com outros clados maiores e frequentemente situados em posição basal. Estes haplótipos estão circunscritos exclusivamente a localidades costeiras abrangidas pela serra do Mar nos estados de São Paulo e Rio de Janeiro (Boracéia, Bocaina e serra dos Órgãos), co-existindo em heterozigose com haplótipos dos outros dois haplogrupos de *dorsalis* desta região. As análises de verosimilhança sob o modelo TVM+I+G revelaram o mesmo arranjo,

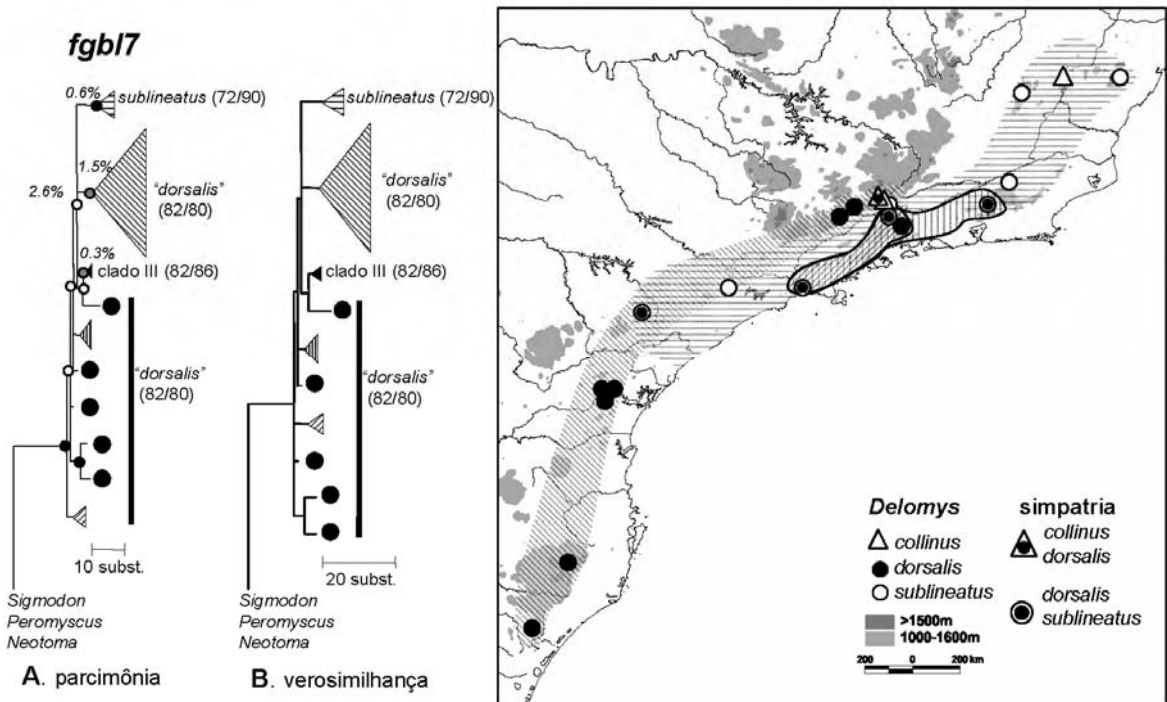


Figura 3.15. Genealogias e limites geográficos dos clados revelados pelo íntron 7 do beta-fibrinogênio (672pb). Os limites taxonômicos seguem o arranjo proposto pela análise de citocromo *b* concordante com os cariótipos descritos para o gênero. (A) Consenso estrito de 707 topologias igualmente parcimoniosas de 368 passos, 119 caracteres informativos, CI: 0.58, RI: 0.87; (B) Topologia obtida por verossimilhança máxima seguindo o modelo TVM+I+G. Base=(0.3237 0.2212 0.1762) Nst=6 Rmat=(0.4720 2.6194 0.1843 0.6351 2.6194) Shape=0.7020 Pinvar=0.3633.

evidenciando os mesmos haplótipos como linhagens únicas e de posição igualmente incerta na árvore.

Apesar do arranjo polifilético de *dorsalis*, a genealogia do *fgbI7* tem implicações importantes para as inferências sobre a integridade filogenética de linhagens cariotípicas em simpatria. As populações simpátricas no maciço do Itatiaia caracterizadas pelos cariótipos $2n=82/NF=80$ e $2n=82/NF=86$ não compartilham alelos de *fgbI7* em comum e possuem seus haplótipos agrupados em clados completamente distintos, em concordância com o padrão exibido pela genealogia do citocromo *b* para populações desta localidade. Os haplótipos

nucleares de espécimes do Itatiaia de cariótipo de $2n=82/NF=80$ apresentam-se inseridos no haplogrupo mais derivado e amplamente distribuído de *dorsalis*, enquanto os haplótipos simpátricos associados ao $2n=82/NF=86$ mantêm-se mais próximos a haplótipos do Caparaó, compondo o clado *collinus*. Apenas um haplótipo costeiro do nordeste de São Paulo se agrupa como linhagem irmã de *collinus*, embora os baixos níveis de suporte indiquem que este haplótipo corresponda a uma das linhagens únicas de posicionamento incerto ao invés de um representante adicional do clado *collinus*.

A representação das populações simpátricas *collinus* e *dorsalis* como linhagens distintas nas genealogias dos marcadores nuclear e mitocondrial indica um isolamento reprodutivo efetivo entre estas duas formas. O mesmo vale para *sublineatus*, já que esta linhagem se manteve como um dos clados melhor suportados e filogeneticamente descontínuos em relação a *collinus* e *dorsalis*. Portanto, a concordância genealógica entre genes nuclear, mitocondrial e cromossomos, corrobora fortemente a existência de três espécies em *Delomys* que apresentariam seus limites genéticos claramente coincidentes com os cariótipos reportados no gênero por Bonvicino & Geise (1995).

A consistência dos limites genéticos entre as espécies de *Delomys* é fundamental para uma melhor compreensão das causas do padrão polifilético de *dorsalis* na genealogia revelada pelo *fgbI7* e de sua discordância em relação à genealogia mitocondrial. Uma das possíveis fontes destes de padrões não-monofiléticos é a hibridização interespecífica, que consiste basicamente na transferência de alelos ou haplótipos de uma linhagem evolutiva à outra, possibilitando que alelos filogeneticamente divergentes coexistam em um mesmo conjunto gênico (Patton & Smith, 1994; Funk & Omland, 2003). O sinal mais claro de hibridização é o compartilhamento de haplótipos entre linhagens filogeneticamente distintas em áreas de

simpatria, fato que definitivamente não foi verificado na análise de populações nas regiões de simpatria entre *sublineatus* e *dorsalis* e entre *collinus* e *dorsalis*. Uma segunda causa do arranjo polifilético que merece consideração é a possibilidade de que o marcador utilizado não forneça informação filogenética adequada para melhor resolução da topologia. Neste caso, o número reduzido de sinapomorfias reveladas pelos poucos caracteres variáveis do marcador escolhido resultaria em topologias instáveis ou clados pouco consistentes que ao final delimitariam táxons não correspondentes aos limites interespecíficos concebidos a partir de outras evidências. Duas razões, entretanto, levam a crer que este artefato analítico não se aplica ao caso em questão. Primeiramente, os haplótipos de *fgbI7* forneceram um número de caracteres filogeneticamente informativos (24% dos sítios) tão elevado quanto o fornecido pelo *cytb* (20% dos sítios), o que leva a crer que estes dois marcadores são igualmente variáveis em suas sequências. Os índices gerais de consistência (CI) e retenção (RI) das topologias de *cytb* e *fgbI7* são similares, demonstrando que ambos os marcadores contêm variação filogeneticamente relevante. A segunda evidência de que o *fgbI7* contém informação filogenética relevante consiste na repetibilidade e estabilidade da topologia obtida pelos diferentes métodos e nos níveis de suporte dos clados revelados, que embora tenham sido reduzidos para alguns haplogrupos (especialmente as linhagens únicas), foram bem elevados para outros agrupamentos em diferentes níveis da árvore (*e.g.*, monofília do gênero *Delomys*—100%, *sublineatus*—99%). Caso o *fgbI7* não fosse filogeneticamente informativo, esperar-se-iam valores mais baixos de suporte e consistência em regiões mais terminais da árvore, onde os níveis de variação são geralmente menores.

Uma última causa possível do padrão de agrupamento discordante gerado pelo *fgbI7* seria a persistência de haplótipos ancestrais deste locus junto a haplótipos mais derivados nas

populações atuais das três espécies (Avice, 2000; Funk & Omland, 2003). A cladogênese sob uma perspectiva populacional consiste em uma subdivisão e distribuição aleatória dos alelos pré-existentes na espécie ancestral para comporem os conjuntos gênicos das duas espécies descendentes. Conseqüentemente, no momento imediatamente após a especiação, cada nova espécie conterá alelos bem divergentes entre si e filogeneticamente mais próximos a alelos presentes na outra espécie-irmã. Por esta razão, as genealogias dos haplótipos de espécies recém-originadas provavelmente as evidenciarão como entidades poli ou parafiléticas. Espera-se que com o decorrer do tempo, o número de haplótipos ancestrais diminua nos conjuntos gênicos das espécies, dando lugar a haplótipos mais derivados originados de uma única linhagem sobrevivente de haplótipos ancestrais (Harrison, Kutzbach & Behling, 1991). Quanto maior o tempo após a especiação, maior a probabilidade de se obterem arranjos reciprocamente monofiléticos a partir das genealogias das duas espécies. Este tempo é geralmente mais longo para genes nucleares do que para genes mitocondriais devido às taxas evolutivas e às características demográficas distintas dos dois genomas. Contudo, pouco se sabe sobre a evolução dos íntrons e a evidência atual sugere que estes segmentos evoluíram tão rápido quanto os sítios silenciosos de genes nucleares codificadores, já que estariam virtualmente imunes a qualquer pressão seletiva restritiva (DeBry & Seshadri, 2001). Deste modo, as diferenças entre íntrons e marcadores mitocondriais parecem fundamentalmente ligadas às suas características demográficas, especialmente aos seus tamanhos efetivos populacionais (número de cópias dispersas na população). Loci nucleares diplóides em geral possuem um tamanho efetivo 4 vezes maior do que o genoma mitocondrial haplóide e de herança materna, o que resulta na fixação mais lenta de novos alelos nucleares e, conseqüentemente, na preservação prolongada de haplótipos nucleares mais antigos nas

espécies descendentes (Nichols, 2001). Por esta razão, as genealogias nuclear e mitocondrial poderiam se manter discordantes por um determinado tempo, pois enquanto os genes mitocondriais rapidamente alcançariam o estágio de monofilia recíproca entre espécies, os marcadores nucleares ainda reteriam os padrões genealógicos da espécie ancestral, apontando as espécies como arranjos poli ou parafiléticos. Esta condição parece se aplicar bem ao padrão visto aqui, pois os haplótipos de *fgbI7* identificados como linhagens únicas nas topologias de parcimônia e verosimilhança apresentam várias características de haplótipos ancestrais em vias de extinção. O posicionamento destes haplótipos é basal dentro do gênero, indicando que sua origem é provavelmente anterior à diversificação de *collinus*, *sublineatus* e do grande clado mais derivado de *dorsalis*. Além disso, estes alelos não estão amplamente distribuídos pelas populações de *dorsalis*, sugerindo que já estejam confinados a poucos indivíduos, ao contrário dos haplótipos mais derivados do grande clado de *dorsalis* que frequentemente estão presentes tanto em populações meridionais quanto setentrionais de *dorsalis*. Sendo assim, a polifilia de *D. dorsalis* revelada pelo *fgbI7* pode ser interpretada como resultado da persistência de um polimorfismo genético ancestral neste íntron. A preservação destes haplótipos antigos exclusivamente em populações da serra do Mar sugere que estas populações mantiveram condições demográficas no passado que possibilitaram a manutenção da diversidade genética ancestral da espécie, tais como um grande tamanho populacional ou ausência de efeitos fundadores ou gargalo genético, que resultariam em monofilia e redução de diversidade genealógica.

3.2.3.2 Limites morfológicos entre espécies

Delomys dorsalis e *D. sublineatus* foram as únicas espécies morfológicamente diagnosticáveis reconhecidas por Voss (1993), a partir de um conjunto de caracteres externos e de pelagem. A evidência molecular indica uma maior diversidade no gênero, já que pelo menos três linhagens evolutivas geneticamente coesas e citogeneticamente distintas são evidentes a partir dos dados genéticos. Entretanto, a constatação de simpatria entre espécies na localidade-tipo de *collinus* (Itatiaia) torna problemática qualquer associação desta forma nominal com a linhagem alto-montana de *Delomys*, uma vez que o holótipo obtido no maciço do Itatiaia poderia simplesmente constituir um representante da população de *D. dorsalis* das encostas da Mantiqueira. Portanto, nesta seção, as três linhagens reveladas pela genealogia mitocondrial são comparadas morfológicamente visando a identificação de caracteres que permitam sua discriminação e, conseqüentemente, uma avaliação do relacionamento entre a série-tipo de *collinus* e a forma alto-montana do Itatiaia e Caparaó de cariótipo $2n=82/NF=86$. Um sumário das comparações de alguns caracteres qualitativos e quantitativos entre as três espécies pode ser visto na Tabela 3.3 e as estatísticas descritivas de medidas externas e craniodentárias no Apêndice II

Voss (1993) enfatizou um conjunto de caracteres da morfologia externa úteis para discriminação entre *D. dorsalis* e *D. sublineatus*, destacando inicialmente diferenças na textura e padrões de coloração da pelagem. Segundo suas descrições, *Delomys sublineatus* exibe uma pelagem dorsal relativamente mais grossa e curta, dotada de coloração canela-amarelada que se aproxima de um tom ocre, especialmente nas laterais, onde uma faixa lateral de pêlos de amarelo mais intenso se torna nítida na maior parte dos exemplares, marcando a divisão entre as porções dorsal e ventral da pelagem. A maioria dos espécimes de *D. sublineatus* analisados

por Voss (1993) não apresentou uma faixa dorso-mediana nítida de pêlos completamente melânicos, apesar de alguma concentração de pêlos negros ser aparente em alguns espécimes. Os pêlos curtos que recobrem a face dorsal dos pés também se mostraram úteis para diagnosticar a espécie, sendo descritos como inteiramente brancos e sem nenhuma banda melânica, condição responsável pelo aspecto geral de branco puro dos pés em *D. sublineatus*. *Delomys dorsalis* foi diferenciada por apresentar uma pelagem macia e densa, com tonalidade geral marrom-canela mais escura do que em *D. sublineatus*. Segundo Voss (1993), o aspecto enegrecido é promovido pela concentração de pêlos finos inteiramente melânicos na faixa mediana do dorso, que formam uma linha escura mediano-dorsal bem definida e contínua da região escapular à base da cauda. A transição da pelagem dorsal para a ventral se procede de forma abrupta, sem a presença de faixas laterais de pêlos distintamente mais pálidos ou amarelados em relação aos pêlos dorsais mais próximos. Os pés de *D. dorsalis* são revestidos dorsalmente por pêlos curtos e de cor argila e pálida, uma tonalidade que é produzida pela presença de marcas melânicas na base dos pêlos que se tornam esbranquiçados apenas em sua porção mais apical.

Os padrões de textura e coloração da pelagem descritas por Voss (1993) para *D. sublineatus* se aplicam a todas as populações incluídas no clado I com cariótipo $2n=72/FN=90$, permitindo a identificação de amostras adicionais da espécie sem dados genéticos. Os exemplares geralmente exibem uma pelagem relativamente mais curta, grossa e de tonalidades amareladas, principalmente nas laterais. Em aproximadamente 73% dos espécimes examinados, foi possível identificar uma faixa lateral de pêlos distintamente mais amarelados e alaranjados que os demais pêlos dorsais, que se estende de forma descontínua da lateral da face até a base dos membros inferiores. Uma faixa dorso-mediana negra bem distinta

e contínua foi verificada em aproximadamente metade dos espécimes (53%). Nos demais indivíduos, os pêlos inteiramente melânicos se concentraram em conjuntos descontínuos e pouco definidos em relação ao resto da pelagem dorsal, especialmente na região da nuca e ombros. O padrão de coloração da pelagem dorsal dos pés mostrou-se um caráter bastante consistente em amostras de *D. sublineatus*, de modo que 95% dos representantes da espécie exibiram pêlos inteiramente brancos, sem qualquer marca melânica em suas bases. Apenas 4 exemplares (MZUSP21837, MZUSP27838, MZUFV1140, PRG1303) apresentaram marcas melânicas nítidas, mas a presença de faixas laterais amareladas em todos eles, a textura mais grosseira da pelagem e as evidências citogenéticas e moleculares para ao menos os dois últimos espécimes (MZUFV1140, PRG1303) os associam à *D. sublineatus*. Juvenis e subadultos geralmente apresentam pelagem dorsal mais homogênea e escura, mas já exibem marcas laterais amareladas e pés esbranquiçados.

Tanto as amostras do clado II associadas a *D. dorsalis* como as populações alto-montanas incluídas no clado III associadas ao cariótipo $2n=82/FN=86$ se assemelham às condições de pelagem descritas para *D. dorsalis* por Voss (1993). A pelagem dorsal de representantes de ambos os cladogramas é mais macia, fina, e enegrecida do que em *D. sublineatus*, especialmente na porção mediana do dorso. Contudo, diferenças cromáticas entre as duas linhagens se manifestam nas tonalidades da região lateral do corpo (Figura 3.5). A pelagem dorso-lateral torna-se mais clara em direção ao ventre em exemplares de ambos os cladogramas, mas representantes do clado III do Itatiaia e Caparaó apresentam-se nitidamente mais ferrugíneos devido à presença de bandas feomelânicas de cor laranja mais intensa nos pêlos dorsais (Figura 3.16). Esta condição cromática se aproxima da exibida por exemplares típicos de *D. sublineatus*, apesar de uma linha lateral distinta de pêlos amarelados não ser evidente pelos



Figura 3.16. Padrões de coloração da pelagem dorsal em *D. dorsalis* (FMNH145381, Boracéia) e *D. collinus* (PH10373, Caparaó) em vistas dorsal (à direita) e lateral (à esquerda). Notar as diferenças nas tonalidades das bandas feomelânicas dos pêlos dorsais.

representantes ferrugíneos da linhagem alto-montana. Os exemplares do clado II usualmente apresentam as laterais com tonalidade marrom-canela, mais similar à coloração do dorso e em concordância com as condições descritas por Voss (1993) para *D. dorsalis*. Apesar desta variação cromática entre as linhagens, alguns exemplares do clado III ainda apresentam tonalidades idênticas às descritas para *D. dorsalis* e exibidas pelos representantes do clado II, sugerindo que os padrões de coloração não garantem uma diferenciação inequívoca entre representantes das duas linhagens. As frequências de ocorrência da faixa negra dorso-mediana também variaram entre os exemplares dos dois. Pelo menos 74% dos representantes do clado II exibiram uma linha negra mediana no dorso se estendendo continuamente da nuca à base da cauda, enquanto a mesma linha dorsal foi evidente em somente 31% dos representantes do clado III. Os indivíduos de ambos os clados apresentam pés cobertos por pêlos dotados de marcas melânicas atingindo tonalidades acinzentadas ou ocre, em condição idêntica à descrita

para *D. dorsalis* por Voss (1993). Os pés de alguns indivíduos do clado III são nitidamente mais esbranquiçados em relação à condição típica de *D. dorsalis* devido à concentração mais esparsa de pêlos de bases escuras e em pelo menos um exemplar geneticamente analisado os pêlos são inteiramente brancos. A descrição original da pelagem de *collinus* fornecida por Thomas (1917) sugere que o holótipo apresenta o mesmo padrão cromático exibido por *dorsalis* e pela maioria dos representantes do clado II, não permitindo ainda qualquer associação entre a série-tipo e exemplares mais ferrugíneos do clado III, o que garantiria uma identificação da linhagem alto-montana neste momento. Deste modo, enquanto os padrões de coloração corroboram a associação do clado II com *D. dorsalis*, a distinção desta espécie em relação a representantes do do clado III não é possível em regiões onde a simpatria entre estas duas formas é provável (e.g., Itatiaia e zonas alto-montanas dos arredores).

Além dos padrões cromáticos, Voss (1993) mencionou também diferenças interespecíficas em medidas externas, destacando que os espécimes de *D. dorsalis* exibem caudas de comprimento igual ou maior que o corpo, enquanto representantes de *D. sublineatus* apresentam caudas geralmente mais curtas que o corpo. Visando reavaliar a variação deste caráter com base nas amostras disponíveis aqui e verificar a condição exibida pelo clado III, a distribuição dos comprimentos da cauda e do corpo foram representados na figura 3.17 para espécimes geneticamente analisados de *D. sublineatus*, *D. dorsalis* e do clado III. Os espécimes de *Delomys sublineatus* analisados aqui de fato apresentam-se caracterizados por caudas mais curtas que o corpo, assim como próprio holótipo da espécie. Apenas alguns poucos espécimes apresentando caudas ligeiramente excedentes ao comprimento corporal. Em contraste, *D. dorsalis* mostra-se bem variável compreendendo um intervalo maior de variação no comprimento relativo da cauda. Os comprimentos caudal e corporal são em média maiores

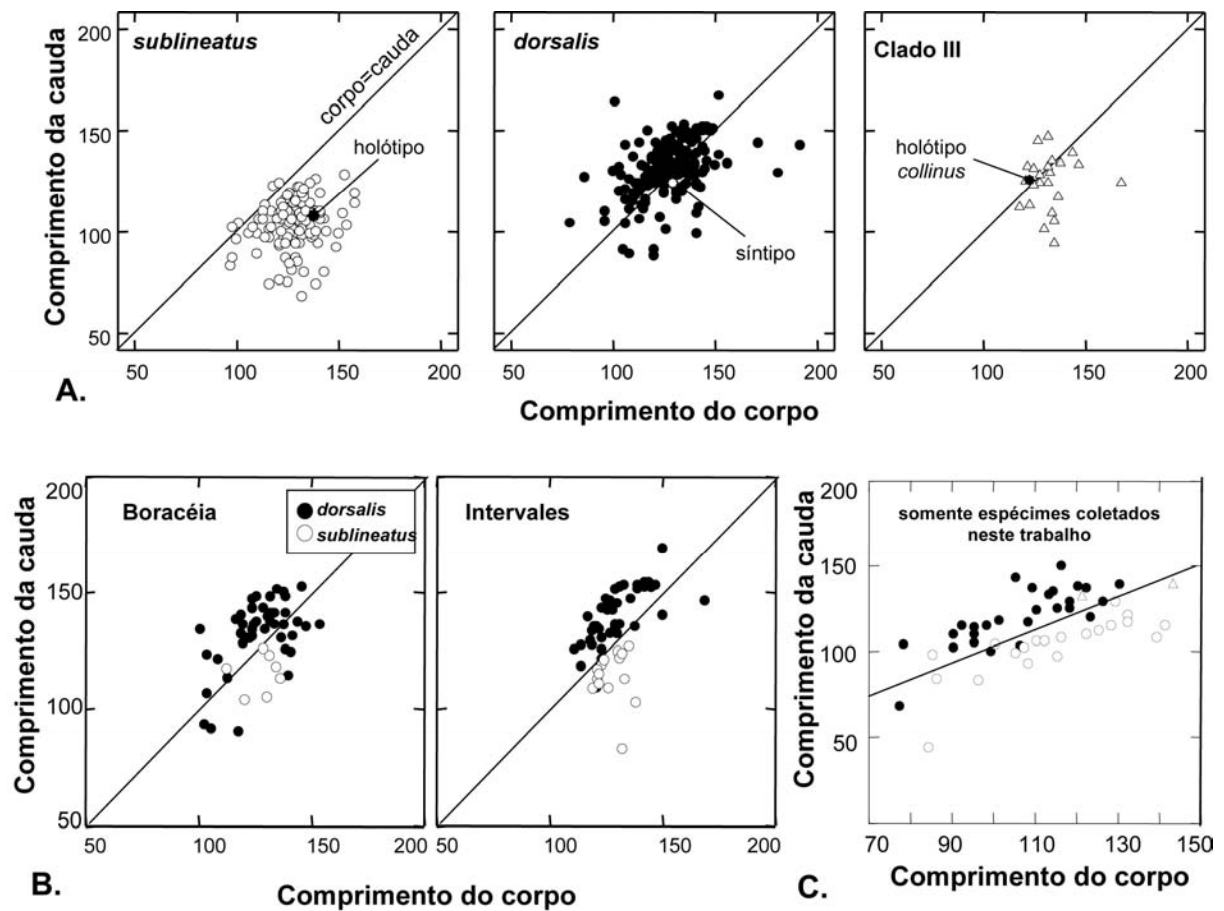


Figura 3.17. Comparações dos comprimentos do corpo e da cauda de adultos de *D. sublineatus*, *D. dorsalis* e da linhagem alto-montana do gênero *Delomys* (clado III). As amostras de *D. sublineatus* e *D. dorsalis* foram identificadas a partir de caracteres de pelagem (descritos no texto), salvo nos casos de simpatria com populações do clado III, onde apenas exemplares geneticamente analisados foram incluídos. **(A)** Distribuições de adultos de todos os adultos examinados de *D. sublineatus*, *D. dorsalis* e do clado III junto com tipos de cada espécie. Medidas de holótipos e síntipos foram retiradas das descrições originais. **(B)** Distribuições de dois pares de populações simpátricas de *D. dorsalis* e *D. sublineatus*. **(C)** Distribuições de amostras das três espécies coletadas exclusivamente durante este trabalho.

do que espécimes de *D. sublineatus*, mas o intervalo amostrado compreende tanto espécimes com caudas mais curtas que o corpo quanto exemplares com caudas mais longas. O próprio

síntipo de *Delomys dorsalis* do Rio Grande do Sul apresenta uma cauda ligeiramente menor do que o comprimento do corpo. Exemplares do clado III também apresentam as duas condições de tamanho relativo da cauda, com uma predominância de indivíduos de cauda mais curta que o corpo, condição apresentada também pelo holótipo de *collinus*. Quando as comparações são restritas a populações simpátricas de *D. sublineatus* e *D. dorsalis*, as diferenças são um pouco mais claras, especialmente em populações de Intervales. A sobreposição entre as duas espécies ainda é de qualquer forma ainda grande em comparações de populações de Boracéia.

Diferenças mais claras entre *D. dorsalis* e *D. sublineatus* foram vislumbradas por Voss (1993) para este caráter. Suas comparações se restringiram, contudo, a somente 38 espécimes de Boracéia e Casa Grande, e ainda assim evidenciaram sobreposição entre as espécies. As medidas externas são extremamente influenciadas pelo método de mensuração utilizado pelo coletor e é possível que a sobreposição entre as espécies possa resultar de variação introduzida pelos diferentes coletores ou taxidermistas. Para avaliar esta possibilidade, uma última comparação foi realizada envolvendo apenas exemplares coletados e preparados exclusivamente nas excursões deste projeto, tendo suas medidas tomadas de forma padronizada por um número pequeno de pessoas (Figura 3.17c). Nestas comparações, as diferenças entre *D. dorsalis* e *D. sublineatus* ficam mais evidentes e concordantes com a proposta de Voss (1993), mas alguns exemplares ainda exibem condições divergentes em relação à maioria de seus co-específicos, indicando que este caráter ainda não proporciona a identificação inequívoca das duas espécies. Os poucos indivíduos do clado III diretamente medidos nas coletas ainda exibem as condições de cauda mais curta ou mais longa que o corpo, permanecendo indistintos de *D. dorsalis* e *D. sublineatus* para este caráter.

Outra característica externa enfatizada nas comparações entre populações de *Delomys* desde Thomas (1917) tem sido a fórmula mamária das fêmeas. Thomas (1917) destacou que a única fêmea examinada do Itatiaia diferia das demais fêmeas de *dorsalis* do Rio Grande do Sul por não apresentar o par peitoral de mamas, segundo ele, uma possível aberração individual. Mais tarde, esta variação foi corroborada como um padrão geográfico bem claro por Voss (1993) que considerou a fórmula mamária como o único caráter capaz de suportar a distinção subespecífica entre populações de *D. dorsalis*. As populações setentrionais de 6 mamas foram associadas a *collinus* enquanto as populações meridionais de 8 mamas permaneceram relacionadas a *dorsalis*. Considerando a hierarquia entre as populações de *Delomys* revelada pelas evidências genéticas, um reexame deste caráter em 70 fêmeas representantes das três linhagens reveladas determina implicações taxonômicas distintas. As populações alto-montanas do Itatiaia e Caparaó incluídas no clado III não possuem o par mamário peitoral e exibem um número total de 6 mamas, a mesma fórmula mamária de populações mais setentrionais de *D. dorsalis*. A variação mamária, portanto, não contribui para a diferenciação da linhagem alto-montana em relação a *D. dorsalis* e parece então restrita a níveis intraespecíficos desta última espécie (discutido em variação intraespecífica). Por outro lado, todas as fêmeas lactantes examinadas de *D. sublineatus* exibiram 8 mamas, o que sugere que pelo menos na porção mais setentrional da distribuição do gênero, o número de mamas pode ser utilizado para distinguir fêmeas desta espécie de fêmeas do clado III e de *D. dorsalis*.

Nenhum aspecto qualitativo da morfologia craniana e dentária foi mencionado por Voss (1993) como informativo para a diferenciação entre *D. dorsalis* e *D. sublineatus*. De fato, crânios de representantes das três linhagens reveladas aqui são bem similares. Todavia, alguma divergência morfológica entre as linhagens pode ser notada, especialmente na região



Figura 3.18. Vistas dorsal e ventral de crânios de *D. collinus* (a, PH10219, Caparaó), *D. dorsalis* (b, MN44059, Itatiaia) e *D. sublineatus* (c, MVZ183076, Boracéia). Barra = 10mm.

rostral do crânio (Figura 3.18): *Delomys sublineatus* apresenta um rostró mais curto em relação à *D. dorsalis* e representantes do clado III, mas mantendo aproximadamente a mesma largura, o que garante um aspecto mais robusto à região rostral. Em *D. dorsalis* e

representantes do clado III os rostros são igualmente mais longos devido à maior projeção anterior dos nasais, produzindo uma região rostral de aspecto mais pontiagudo. A diferença no prolongamento anterior da região rostral pode ser notada também na magnitude do tubo rostral — a estrutura tubular formada pela fusão do pré-maxilar com o nasal nas porções mais anteriores do rostro. Em vista ventral, *D.dorsalis* e representantes do clado III exibem tubos rostrais mais pronunciados em relação a *D. sublineatus*, onde o tubo rostral pouco se destaca anteriormente em relação ao nível dos incisivos. Os nasais são estreitos tanto em *D. dorsalis* como no clado III, mas apresentam-se nitidamente mais expandidos lateralmente em *D. sublineatus*, circunscrevendo os pré-maxilares a estreitas faixas ósseas laterais.

A região palatal fornece alguma evidência de diferenciação do clado III em relação a *D. dorsalis* e *D. sublineatus* (Figura 3.18). Representantes adultos e adultos-velhos da linhagem de $2n=82/NFa=86$ usualmente exibem uma fossa mesopterigóide relativamente mais ampla do que em *D. dorsalis* e *D. sublineatus*. Consequentemente, um palato mais curto, frequentemente terminando no nível do protocone do M3, parece evidente nestes indivíduos. Alguns exemplares do clado III, especialmente jovens e adultos do Itatiaia, ainda retêm condições muito similares às exibidas por *D. dorsalis* e *D. sublineatus*, dificultando sua identificação inequívoca a partir deste caráter.

Uma melhor apreciação da variabilidade morfológica craniana e dentária entre as espécies de *Delomys* é fornecida pelas análises morfométricas. Uma análise de componentes principais das 14 medidas cranianas obtidas em adultos de amostras geneticamente analisadas das três linhagens evidencia claramente as tendências de variação em forma e tamanho ao longo dos dois primeiros componentes de variação (CP1 e CP2), que juntos sumarizam 62% da variabilidade craniométrica total. O primeiro componente principal (CP1) se destaca como

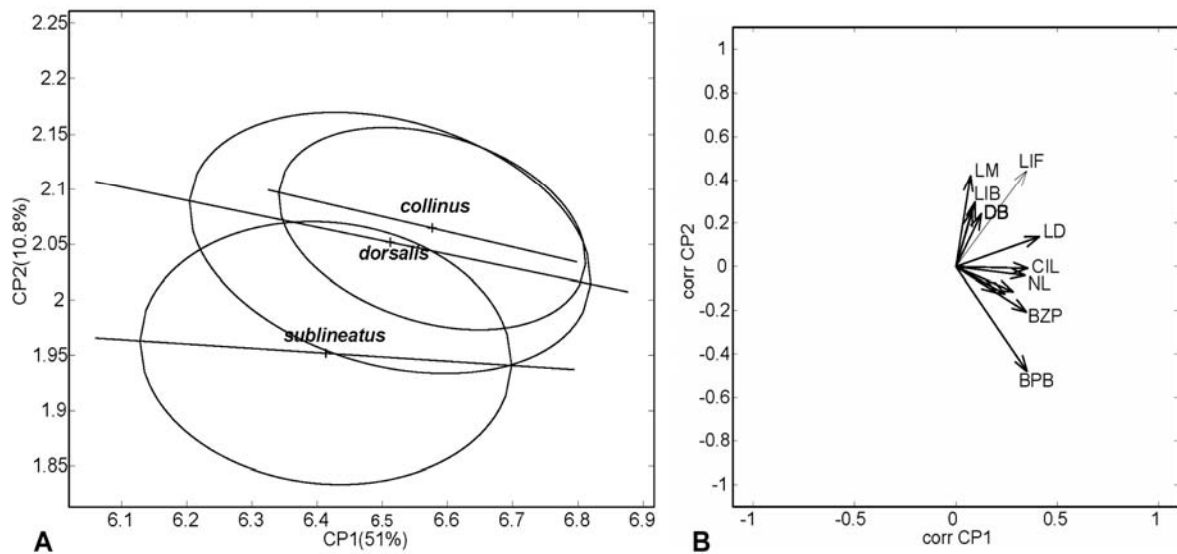


Figura 3.19. Variação craniométrica em *D. dorsalis*, *D. sublineatus* e no clado III do Itatiaia e Caparaó evidenciada pela análise de componentes principais. As três linhagens foram representadas somente por adultos e adultos-velhos de amostras geneticamente analisadas. **(A)** Elipses de 95% de confiança em torno dos escores individuais de cada espécie obtidos em uma análise de componentes principais e eixos de maior variação reportados; **(B)** vetores de correlação entre variáveis craniométricas originais e os componentes principais.

um descritor da variação geral no tamanho do crânio, já que todos caracteres encontram-se positivamente correlacionados com este eixo, enquanto o segundo componente (CP2) representa tendências de variação na forma (Figura 3.19). A sobreposição entre as elipses de 95% de distribuição dos escores individuais é extensa entre as três linhagens nos dois eixos, especialmente entre o clado III e *D. dorsalis*. Mas quando as tendências de variação dentro cada grupo são representadas na Figura 3.19a pelas linhas transversas interceptando os centróides de cada amostra, algumas diferenças importantes são reveladas. A inclinação similar dos eixos de maior variação evidencia as mesmas tendências de variação no tamanho do crânio em cada linhagem, mas sua dispersão ao longo de CP2 sugere uma diferenciação

relacionada aos espectros de variação na forma craniana, que por sua vez se mostra mais concordante com os limites genéticos entre as três linhagens. Este padrão distingue principalmente *D. sublineatus* em relação a *D. dorsalis* e o clado III. A correlação da forma craniana com descontinuidades genéticas entre populações e espécies próximas tem sido explorada em trabalhos em outros gêneros de roedores (Smith & Patton, 1988; Voss & Marcus, 1992; Pessoa, de Oliveira & Lopes, 2004), e os resultados reforçam que a decomposição da variabilidade fenotípica total dos organismos em componentes de tamanho e forma constitui uma ferramenta bastante útil para visualizar que porções da variação morfológica estariam mais associadas a diferenciação genética entre unidades geográficas. A constatação deste padrão de variação craniométrica em *Delomys* sugere então que os caracteres mais correlacionados ao CP2 seriam os melhores descritores de diferenças entre as linhagens.

Visando testar diretamente a relevância dos caracteres craniométricos para diferenciação entre as linhagens, uma Análise de Variáveis Canônicas foi então efetuada, incluindo somente populações simpátricas das três linhagens. Os resultados revelam as três linhagens como unidades dispersas ao longo do primeiro eixo discriminante (FD1), que representa um gradiente de incremento na maior parte dos caracteres (Figura 3.20). Os representantes do clado III ainda se diferenciam de *D. dorsalis* ao longo do segundo eixo discriminante (FD2), especialmente por apresentarem molares mais largos (BM1), pontes palatais (LPB) mais extensas e regiões interorbitais (LIB) mais estreitas. *Delomys dorsalis* apresenta-se intermediária entre o clado III e *D. sublineatus*, diferenciando-se desta última espécie por exibir crânios geralmente maiores, com diástemas e séries molares notavelmente

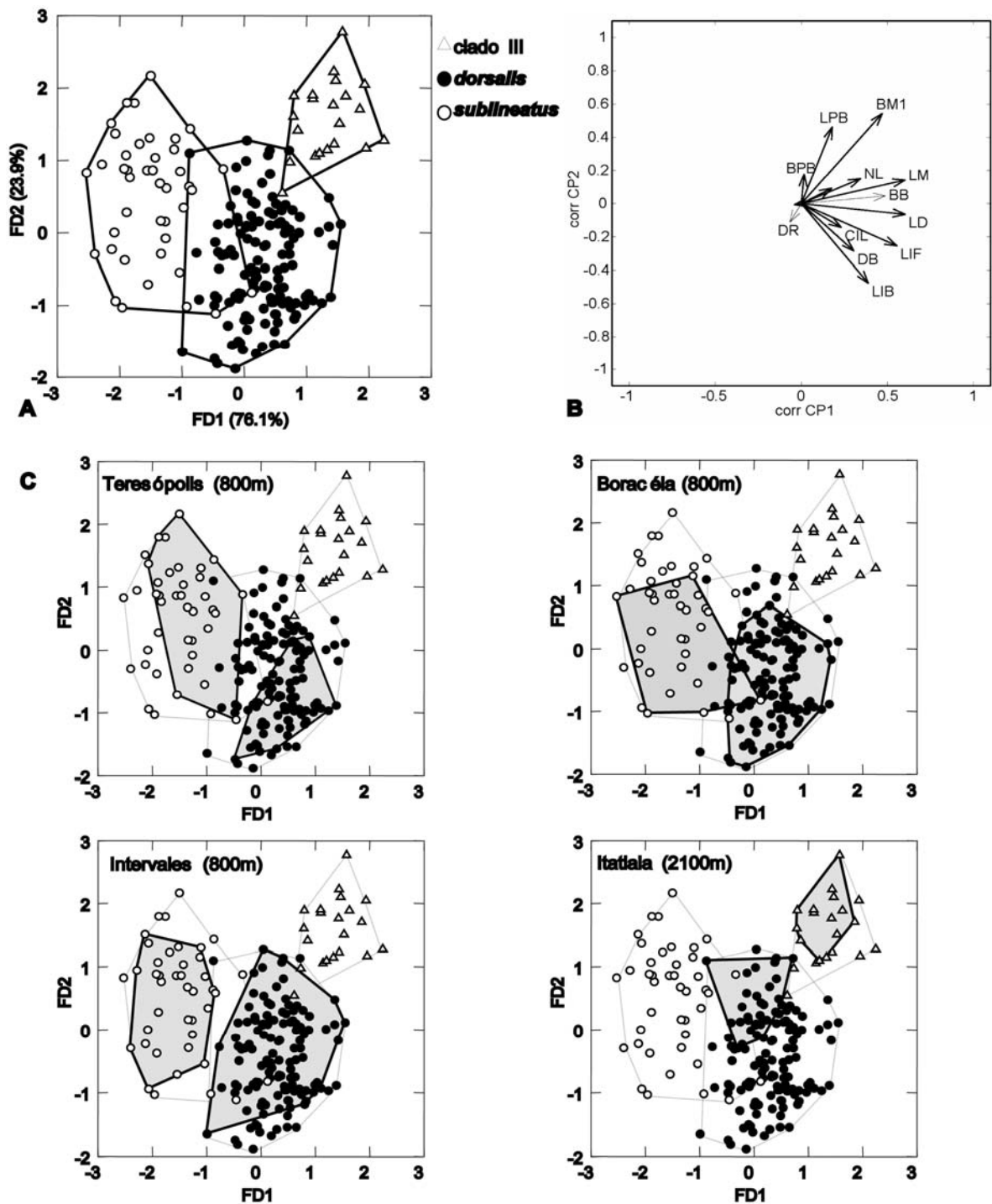


Figura 3.20. Diferenciação craniométrica entre populações simpátricas de *D. dorsalis*, *D. sublineatus* e do clado III evidenciada por uma análise discriminante de variáveis canônicas. (A) Escores individuais de cada espécie e (B) vetores de correlação entre variáveis craniométricas originais e funções discriminantes. (C) Pares de polígonos destacando populações simpátricas de cada espécie. Apenas populações simpátricas foram incluídas, sendo o intervalo etário restrito a adultos/adultos-velhos.

mais longas. A sobreposição entre os espectros de variação craniométricas das três linhagens é evidente a partir de alguns poucos indivíduos, principalmente envolvendo *D. dorsalis* e *D. sublineatus*. Mas quando somente pares de amostras simpátricas são identificados, os padrões de segregação entre as espécies tornam-se bem discretos no espaço multivariado. Apenas as populações simpátricas de *D. dorsalis* e *D. sublineatus* de Boracéia continuam exibindo alguma sobreposição, devido aos valores extremos de um exemplar de *D. sublineatus* (MVZ183076). Este exemplar foi analisado geneticamente e apresenta condições de pelagem típicas de *D. sublineatus*, o que exclui qualquer possível erro de identificação. Como mostrado anteriormente, as medidas externas entre *D. dorsalis* e *D. sublineatus* também se sobrepõem mais extensamente em Boracéia, sugerindo que nesta região de fato ocorre uma menor diferenciação morfológica entre representantes simpátricos das duas espécies.

Tendo em vista os padrões de discriminação morfométrica revelados pelas análises discriminantes, é possível identificar algumas combinações de caracteres craniométricos mais informativos para distinguir representantes simpátricos das três linhagens. Espécimes de *D. dorsalis* na região de Teresópolis, por exemplo, podem ser distinguidos craniometricamente de representantes simpátricos de *D. sublineatus* pela combinação entre os valores de comprimento do diástema e comprimento do forâmen incisivo, com aproximadamente 82% de acurácia (Figura 3.21). Os caracteres que melhor discriminam as populações simpátricas destas duas espécies variam geograficamente, sendo que em Intervales os caracteres mais informativos para distingui-las são o comprimento do diástema combinado com a largura da caixa craniana, fornecendo classificações precisas em 94% dos exemplares (Figura 3.21a).

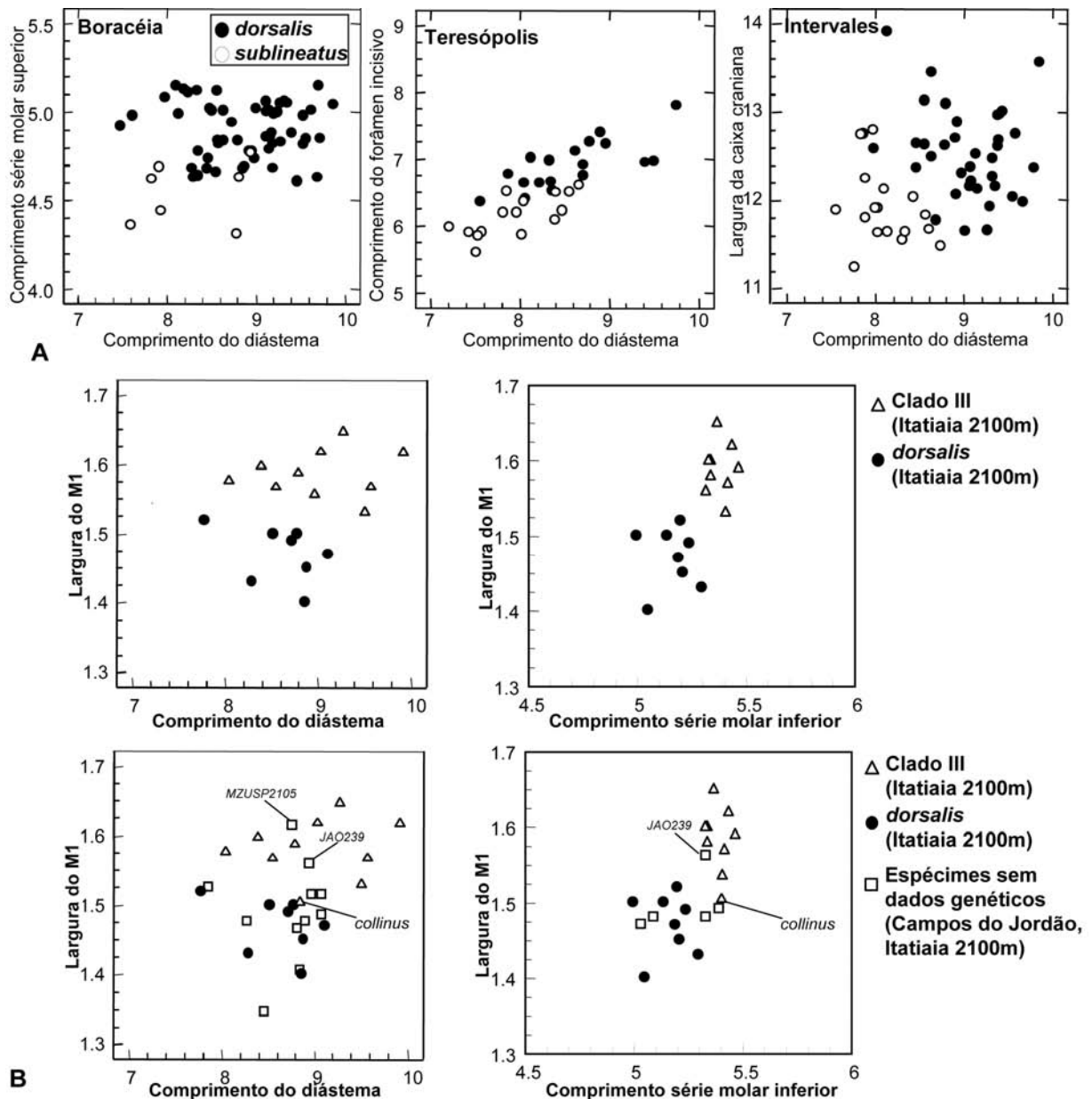


Figura 3.21 (a) Distribuição bivariada dos valores dos caracteres craniométricos mais informativos para discriminação entre populações simpátricas de *D. dorsalis* e *D. sublineatus*. Note que para cada região de simpatria existe uma combinação distinta de caracteres que melhor diferenciam as duas espécies. (b) distribuição bivariada dos valores dos caracteres craniométricos mais informativos para discriminação entre *Delomys dorsalis* e representantes do clado III. Exemplares sem dados genéticos e o holótipo de *collinus* são representados nos gráficos inferiores visando avaliar suas afinidades aos indivíduos geneticamente analisados do clado III e de *Delomys dorsalis*.

As razões para esta variação podem estar relacionadas puramente à existência de variação geográfica nestes caracteres que inviabilizam sua aplicação universal para uma identificação taxonômica independente da geografia.

Em comparações envolvendo representantes de *D. dorsalis* e do clado III na zona de simpatria no Itatiaia (loc. 17, 2100m), os caracteres mais informativos para distinguir as duas linhagens são a largura do primeiro molar em combinação com o comprimento do diástema. Quando apenas exemplares geneticamente analisados (com cariótipos e/ou sequências associadas) são considerados, estes caracteres fornecem uma discriminação bem clara entre representantes das duas linhagens (Figura 3.21b). Espécimes do clado III e cariótipo $2n=82/NF=86$ exibem molares mais largos e diástemas ligeiramente maiores do que exemplares de *D. dorsalis* da mesma localidade. Um outro caráter que se mostrou também útil foi o comprimento da série molar inferior, maior em exemplares do clado III. Estes resultados permitem uma extrapolação destes caracteres para investigar as afinidades de outros espécimes da mesma região sem dados genéticos, incluindo o holótipo de *collinus* e amostras da cordilheira meridional da Mantiqueira (Campos do Jordão, loc. 29). Quando estes espécimes são plotados junto aos indivíduos geneticamente analisados (Figura 3.21b), pelo menos um indivíduo de Campos do Jordão (MZUSP2105) e um do Itatiaia (JAO239) se apresentam definitivamente mais similares a exemplares do clado III. O holótipo de *collinus* (BMNH14.2.23.12: medidas gentilmente cedidas por R. Voss e C. Tribe) e mais 9 exemplares do Itatiaia se revelam indistintos de representantes de *D. dorsalis* e razoavelmente diferenciados da amostra do clado III. A combinação entre o comprimento da série molar inferior e a largura do M1 forneceu a mesma alocação dos exemplares do Itatiaia sem dados genéticos, sugerindo uma certa

Tabela 3.3. Comparações morfológicas entre as três espécies evidenciadas pelas análises genéticas. As estatísticas descritivas dos caracteres morfométricos externos e craniodentários são fornecidas com mais detalhe no Apêndice ...

Caracteres	<i>D. sublineatus</i> (clado I, 2n=72/NF=90)	<i>D. dorsalis</i> (clado II, 2n=82/NF=80)	<i>Delomys</i> sp. (clado III, 2n=82/NF=86)
Padrão geral da pelagem dorsal e coloração	pêlos mais grossos e pelagem ríspida; dorso canela-amarelado pálido, bandas de feomelanina geralmente amareladas e de tonalidade pálida e fraca, distintamente alargadas nos pêlos das laterais que assumem um aspecto mais amarelado.	pêlos finos e macios; dorso canela-acinzentado, bandas de feomelanina geralmente alaranjadas ou amarronzadas atingindo tonalidades mais escuras.	pêlos finos e macios; dorso canela-amarelado mais intenso ou simplesmente canela-acinzentado em alguns exemplares, bandas de feomelanina geralmente amareladas e de tonalidade mais clara e vívida.
Linha dorso-mediana escura	bem definida em 53% dos espécimes; pouco definida ou difusa em 47% dos espécimes ($n = 87$)	bem definida em 74% dos espécimes; pouco definida ou difusa em 26% dos exemplares ($n = 220$)	bem definida em 31% dos espécimes; pouco definida ou difusa em 69% dos exemplares ($n = 13$)
Faixa lateral amarelada bem definida	presente (74%); ausente (26%) ($n = 87$)	Ausente	Ausente
Coloração da pelagem dorsal dos pés	esbranquiçada, inteiramente brancos sem marcas melânicas.	pêlos sem cor argila ou acinzentada, pêlos com bandas melânicas na base.	cor argila ou acinzentada, pêlos com bandas melânicas na base.
Número de mamas e fórmula mamária (peitoral/pósaxial/abdominal/inguinal)	8 (2/2/2/2)	8 (2/2/2/2) 6 (0/2/2/2)	6 (0/2/2/2)
Porcentagem do comprimento da cauda em relação ao corpo (mínimo—máximo)	54%-104%	71%-137%	70%-115%
Comprimento do diástema ^a (mínimo—máximo)	7.2-8.9mm	7.5-9.8mm	8-9.8mm
Comprimento da série molar ^a superior (mínimo—máximo)	4.3-5.0mm	4.3-5.2mm	4.8-5.3mm
Largura de M1 ^a (mínimo—máximo)	1.3-1.6mm	1.4-1.6mm	1.5-1.6mm
Comprimento da série molar inferior ^a (mínimo—máximo)	4.91-5.04mm ^b	5-5.3mm	5.3-5.5mm

a – apenas amostras simpátricas (*sublineatus* x *dorsalis*; *dorsalis* x clado III)

b – amostra de Reserva Morro Grande, Caucaia do Alto, SP (loc. 33).

consistência no padrão de discriminação entre as populações simpátricas do clado III e *D. dorsalis*. Infelizmente, como o holótipo não foi diretamente examinado, o valor do comprimento da série molar inferior permanece indeterminado, assim como da série de Campos do Jordão depositada no MZUSP. De qualquer modo, os resultados sugerem que o holótipo de *collinus* não se encontra associado à linhagem alto-montana de cariótipo $2n=82/NF=86$ consistindo provavelmente em mais um representante das populações simpátricas de *D. dorsalis* no maciço do Itatiaia. Portanto, um reconhecimento taxonômico mais adequado da linhagem endêmica das zonas altomontanas do Itatiaia e Caparaó requer a descrição de uma novo nome, que será formalizada em outro trabalho (Gonçalves *in prep*), devido à isenção de valor taxonômico desta monografia. Provisoriamente, neste trabalho, esta linhagem passa a ser referida como *Delomys* sp.

O holótipo de *collinus* foi coletado em 1913 por J. P. Hill na cota altimétrica de 1470m do município de Itatiaia (Thomas, 1917), em localidade situada possivelmente às encostas orientais do maciço do Itatiaia. As informações das séries de *Delomys* aqui examinadas, oriundas das zonas altitudinais intermediárias (1800-700m) da região do Itatiaia e arredores, incluindo Passa Quatro (loc. 18, 1500m), Delfim Moreira (loc. 26, 1850m), Piscina Maromba (loc. 25, 1170m) e Resende (Serrinha, loc. 25, 800m), indicam somente a presença de representantes de *D. dorsalis* e *D. sublineatus*, conforme identificação em bases moleculares, sem que se tenha registrado a ocorrência de qualquer exemplar do clado III. Esta evidência reforça a idéia de que o holótipo de *collinus* dificilmente se trataria de um exemplar da linhagem alto-montana, mais provavelmente representando uma população de *D. dorsalis* das encostas do Itatiaia. As informações ecológicas sobre as populações de *Delomys* no maciço do Itatiaia encontram-se restritas a notas de campo dos coletores, sem que nenhuma inferência sobre padrões de segregação ecológica e partição de

microhábitats seja possível neste momento. Esforços de coleta adicionais nas zonas montanas intermediárias (1000-1800m) seriam importantes para delinear com maior precisão a faixa de simpatria entre *Delomys dorsalis* e *Delomys* sp.

3.2.3.3 Padrões de diferenciação geográfica intraespecífica

Delomys dorsalis

As amostras aqui alocadas a *D. dorsalis* representam populações distribuídas do extremo sul da Mata Atlântica ao extremo norte da serra do Mar, no centro do estado do Rio de Janeiro. No sudeste e sul do Brasil, a espécie está virtualmente restrita à faixa de florestas ombrófilas montanas que percorre as encostas orientais das serras da Mantiqueira, do Mar, e Geral, raramente ocorrendo em cotas altimétricas mais baixas das planícies litorâneas. A única exceção constitui a amostra de Caraguatay, na província de Misiones, Argentina, que representa o registro mais ocidental de *D. dorsalis* na América do Sul. Dentre as amostras examinadas, nenhuma foi proveniente do centro do planalto meridional nos estados do Paraná e Santa Catarina. Entretanto, poucas amostras de sigmodontíneos desta região foram localizadas no curso deste projeto, e é provável que algumas populações adicionais de *D. dorsalis* ainda sejam reveladas em inventários intensivos das florestas ombrófilas mistas que cobrem parte do planalto meridional, preenchendo o hiato geográfico entre a população de Misiones e as populações costeiras do Brasil.

As análises moleculares revelaram *Delomys dorsalis* como a espécie geneticamente mais diversificada do gênero, apresentando os maiores níveis de divergência intraespecífica. Um detalhamento das relações entre as populações da espécie revela uma estruturação filogeográfica notável, que consiste na constatação de três grupos mitocondriais geograficamente bem definidos (“Serra do Mar”, “Mantiqueira” e “Sul”) e com divergência moderadamente profunda entre si,

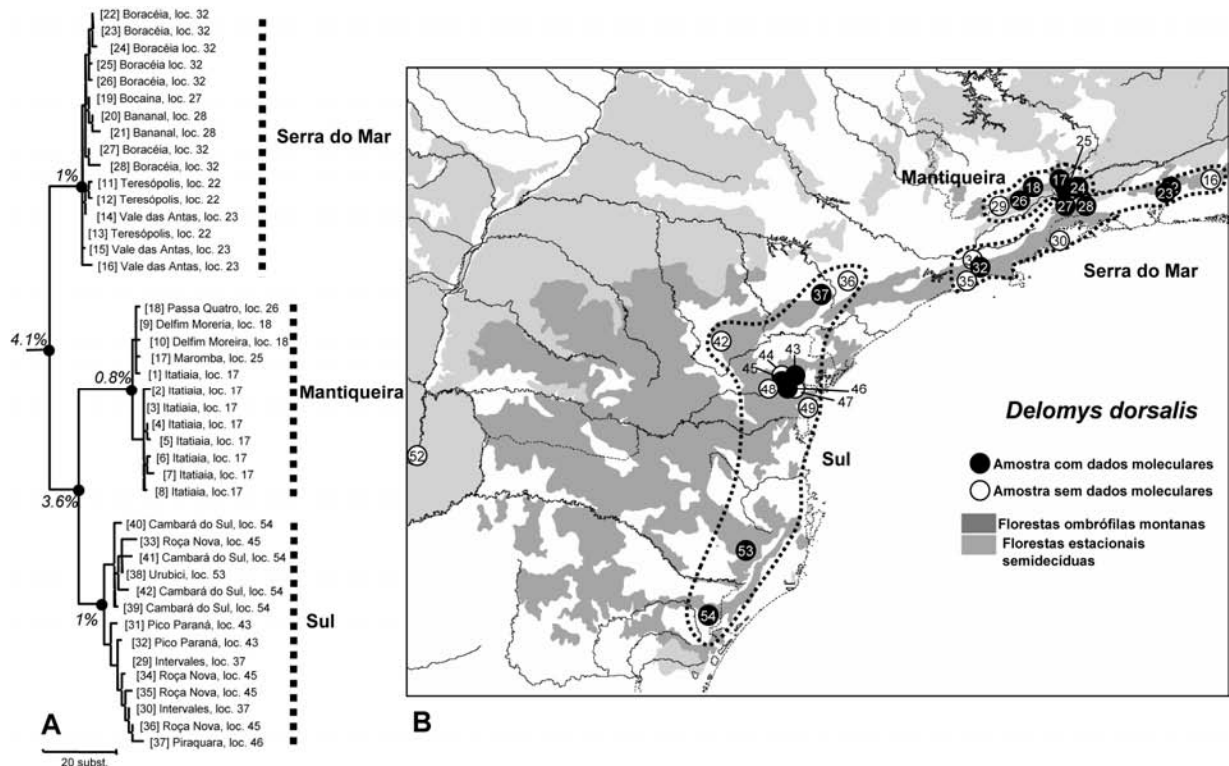


Figura 3.22. Padrão filogeográfico em *Delomys dorsalis*. **(A)** Genealogia de haplótipos de 801pb citocromo *b* em *Delomys dorsalis* obtida por parcimônia máxima evidenciando três clados geneticamente diferenciados dentro da espécie. **(B)** Clados mitocondriais revelados e localidades das amostras de *D. dorsalis* mapeados nas fisionomias florestais da Mata Atlântica (IBGE, 1991). Números entre colchetes identificam haplótipos listados na Tabela 3.4.

variando de 3-4% de diferença em sequência (Figura 3.22). A concordância e segregação geográfica entre estes grupos são claras o suficiente para permitir a inclusão de amostras sem dados genéticos às populações molecularmente analisadas (Figura 3.22).

O grupo Serra do Mar é formado por populações distribuídas do nordeste do estado São Paulo, incluindo a região da serra da Bocaina (São José do Barreiro, Bananal, Parati), até a porção mais setentrional da serra dos Órgãos (serra de Macaé, locs. 23, 21) no estado do Rio de Janeiro. O segundo grupo, o clado Mantiqueira, está restrito às populações montanas que habitam

Tabela 3.4. Haplótipos de citocromo *b* (801) identificados em *Delomys dorsalis*, espécimes-testemunho e localidades associadas. Localidades encontram-se mapeadas na figura 3.22

Haplótipos	Espécimes	Localidades
1	LG133	Brejo da Lapa (Itatiaia), Itamonte, MG (1800-2100m) (loc. 17)
2	CRB1352	Brejo da Lapa (Itatiaia), Itamonte, MG (1800-2100m) (loc. 17)
3	LG76, 86, HGB64	Brejo da Lapa (Itatiaia), Itamonte, MG (1800-2100m) (loc. 17) ; Serrinha, Resende, RJ (850m) (loc. 24)
4	CRB1322	Brejo da Lapa (Itatiaia), Itamonte, MG (1800-2100m) (loc. 17)
5	CRB1345, LC18	Brejo da Lapa (Itatiaia), Itamonte, MG (1800-2100m) (loc. 17) ; Fazenda da Onça, 13km SW Delfim Moreira, MG (1850m) (loc. 26)
6	CRB1305	Brejo da Lapa (Itatiaia), Itamonte, MG (1800-2100m) (loc. 17)
7	CRB1321	Brejo da Lapa (Itatiaia), Itamonte, MG (1800-2100m) (loc. 17)
8	CRB1341	Brejo da Lapa (Itatiaia), Itamonte, MG (1800-2100m) (loc. 17)
9	YL13	Fazenda do Itaguaré, 16 km SW Passa Quatro, MG (1500m) (loc. 18)
10	YL11	Fazenda do Itaguaré, 16 km SW Passa Quatro, MG (1500m) (loc. 19)
11	SO16	Abrigo Paquequer (Parque Nacional da Serra dos Órgãos), Teresópolis, RJ (1200m) (loc. 22)
12	FS1058	Abrigo Paquequer (Parque Nacional da Serra dos Órgãos), Teresópolis, RJ (1200m) (loc. 22)
13	FS1055, VA103	Abrigo Paquequer (Parque Nacional da Serra dos Órgãos), Teresópolis, RJ (1200m) (loc. 22) ; Base Pedra do Sino - Vale das Antas, Teresópolis, RJ (2040m) (loc. 23)
14	VA3	Base Pedra do Sino - Vale das Antas, Teresópolis, RJ (2040m) (loc. 23)
15	VA4	Base Pedra do Sino - Vale das Antas, Teresópolis, RJ (2040m) (loc. 23)
16	VA134	Base Pedra do Sino - Vale das Antas, Teresópolis, RJ (2040m) (loc. 23)
17	HGB20	Piscina Maromba, Parque Nacional do Itatiaia, Itatiaia, RJ (1170m) (loc. 25)
18	YL22	Fazenda da Onça, 13km SW Delfim Moreira, MG (1850m) (loc. 26)
19	HGB18	Parque Nacional da Bocaina, São José do Barreiro, SP (1400m) (loc. 27)
20	EEB711	Estação Ecológica do Bananal, Bananal, SP (800m) (loc. 28)
21	EEB712	Estação Ecológica do Bananal, Bananal, SP (800m) (loc. 28)
22	MVZ183056, 192894, 182789	Estação Ecológica de Boracéia, Salesópolis, SP (850m) (loc. 32)
24	MVZ192895	Estação Ecológica de Boracéia, Salesópolis, SP (850m) (loc. 32)
25	MVZ183054	Estação Ecológica de Boracéia, Salesópolis, SP (850m) (loc. 32)
26	MVZ192891	Estação Ecológica de Boracéia, Salesópolis, SP (850m) (loc. 32)
27	MVZ192890	Estação Ecológica de Boracéia, Salesópolis, SP (850m) (loc. 32)
28	MVZ182787	Estação Ecológica de Boracéia, Salesópolis, SP (850m) (loc. 32)
29	MVZ183046, 192912, 192913	Fazenda Intervales, Ribeirão Grande, SP (850m) (loc. 37)
30	MVZ192911, 195989	Fazenda Intervales, Ribeirão Grande, SP (850m) (loc. 37)
31	PRG1350, 1352, LMT435	Parque Estadual Pico Paraná, Campina Grande do Sul, PR (1600m) (loc. 43) ; Roça Nova, PR (950-1150m) (loc. 45)
32	PRG1351	Parque Estadual Pico Paraná, Campina Grande do Sul, PR (1600m) (loc. 43)
33	LMT414	Roça Nova, PR (950-1150m) (loc. 45)
34	LMT430, LMT433	Roça Nova, PR (950-1150m) (loc. 45)
35	LMT427	Roça Nova, PR (950-1150m) (loc. 45)
36	LMT409	Roça Nova, PR (950-1150m) (loc. 45)
37	JAO1001	Mananciais da Serra, Piraquara, PR (900-1300m) (loc. 46)
38	LMT363	Morro da Igreja, Parque Nacional São Joaquim, Urubici, SC (1700m) (loc. 53)
39	LMT258	Canyon Itaimbezinho, Pq. Nac. Aparados da Serra, Cambará, do Sul, RS (900-1100m) (loc. 54)
40	LMT310	Canyon Itaimbezinho, Pq. Nac. Aparados da Serra, Cambará, do Sul, RS (900-1100m) (loc. 54)
41	LMT334, 372	Canyon Itaimbezinho, Pq. Nac. Aparados da Serra, Cambará, do Sul, RS (900-1100m) (loc. 54) ; Morro da Igreja, Pq. Nac. São Joaquim, Urubici, SC (1700m) (loc. 53)
42	LMT271	Canyon Itaimbezinho, Pq. Nac. Aparados da Serra, Cambará, do Sul, RS (900-1100m) (loc. 54)

a vertente oriental da serra da Mantiqueira na divisa entre os estados de Minas Gerais, São Paulo e Rio de Janeiro. As populações compreendidas pelo grupo distribuem-se desde cotas altimétricas intermediárias (800-1200m) nas encostas do maciço do Itatiaia (Resende, loc. 24; Maromba, loc. 25) até zonas mais elevadas (>1500m) em Itamonte (Brejo da Lapa, loc. 17), Passa Quatro (loc. 18), Delfim Moreira (loc. 26) e Campos do Jordão (loc. 29) (Figura 3.22). O clado Mantiqueira se apresenta geograficamente bem próximo ao grupo Serra do Mar, com sua separação coincidente com o vale do Paraíba, onde nenhuma população de *D. dorsalis* foi registrada. Apesar da proximidade geográfica entre estes dois grupos geográficos, o clado Mantiqueira se encontra filogeneticamente mais próximo do grupo “Sul”, formado por populações distribuídas do sudeste do estado de São Paulo ao extremo sul da Mata Atlântica no estado do Rio Grande do Sul (Figura 3.12). A população de Misiones, Argentina, é a única amostra sem dados genéticos cuja alocação permanece duvidosa, já que uma ampla lacuna de amostragem a separa do clado Sul de *D. dorsalis*. Caso o hiato geográfico de *D. dorsalis* não seja um artefato amostral, esta população pode constituir um quarto grupo geográfico, marcando seus limites de distribuição mais ocidentais da espécie.

A observação de que *D. dorsalis* está fortemente ligada às florestas ombrófilas montanas na costa brasileira sugere que sua profunda subdivisão geográfica esteja relacionada a fragmentações históricas destas fisionomias no sudeste e sul da Mata Atlântica. Padrões similares têm sido verificados em outros táxons, tais como o roedor *Akodon montensis* (Lara et al., 2005) e o marsupial *Marmosops incanus* (Mustrangi & Patton, 1997), indicando uma generalidade destes eventos históricos na arquitetura genética atual do genoma mitocondrial de espécies restritas às fisionomias florestais do leste brasileiro. Se o modelo de refúgios pleistocênicos é utilizado para explicar a estruturação geográfica de *Delomys dorsalis*, os grupos geográficos identificados pelo

genoma mitocondrial incluiriam possivelmente as áreas onde refúgios de florestas montanas teriam persistido em isolamento durante o último glacial máximo (18000-10000 anos atrás). As formações ombrófilas montanas provavelmente encontravam-se quase contínuas em um passado relativamente recente, há 500 anos atrás, antes da intensa ocupação urbana e agrícola do sudeste brasileiro (Dean, 1996). Portanto, estas florestas após algum período de isolamento teriam expandido sua distribuição com a chegada de climas mais quentes e úmidos no holoceno médio (5000 anos atrás). Os registros palinológicos cobrindo este período revelam claramente esta colonização florestal recente em áreas do extremo sul da Mata Atlântica, onde a presença de táxons florestais típicos (*Araucaria*, *Weinmannia*) é datada em menos de 2000 anos atrás (Behling et al., 2004; Behling et al., 2005). Se este modelo se aplica a *D. dorsalis*, os grupos geográficos identificados devem então apresentar traços de expansão demográfica recente como consequência da coalescência dos fragmentos florestais durante pelo menos os últimos 2000 anos. Visando testar esta hipótese, um segundo passo nas investigações de *D. dorsalis* consistiu no refinamento dos padrões filogeográficos da espécie mediante o uso dos dois marcadores moleculares e métodos mais adequados à avaliação de níveis de variação populacional e regional.

Redes genealógicas foram obtidas para os dois genes separadamente e, em ambos os casos, os mesmos grupos geográficos foram revelados (Figura 3.23), corroborando uma subdivisão efetiva da espécie em três grupos geográficos. Os padrões filogeográficos dos dois genes, entretanto, diferem na organização espacial interna de alguns grupos geográficos, tais como “Serra do Mar” e “Sul”. As genealogias do *cytb* evidenciam subdivisão adicional dos haplótipos em subgrupos mais regionais quase equivalentes às suas localidades de amostragem, enquanto os alelos de *fgb17* estão geralmente dispersos por várias localidades dentro de um mesmo grupo geográfico (Fig. 3.23). As diferenças entre os dois padrões podem ser atribuídas às

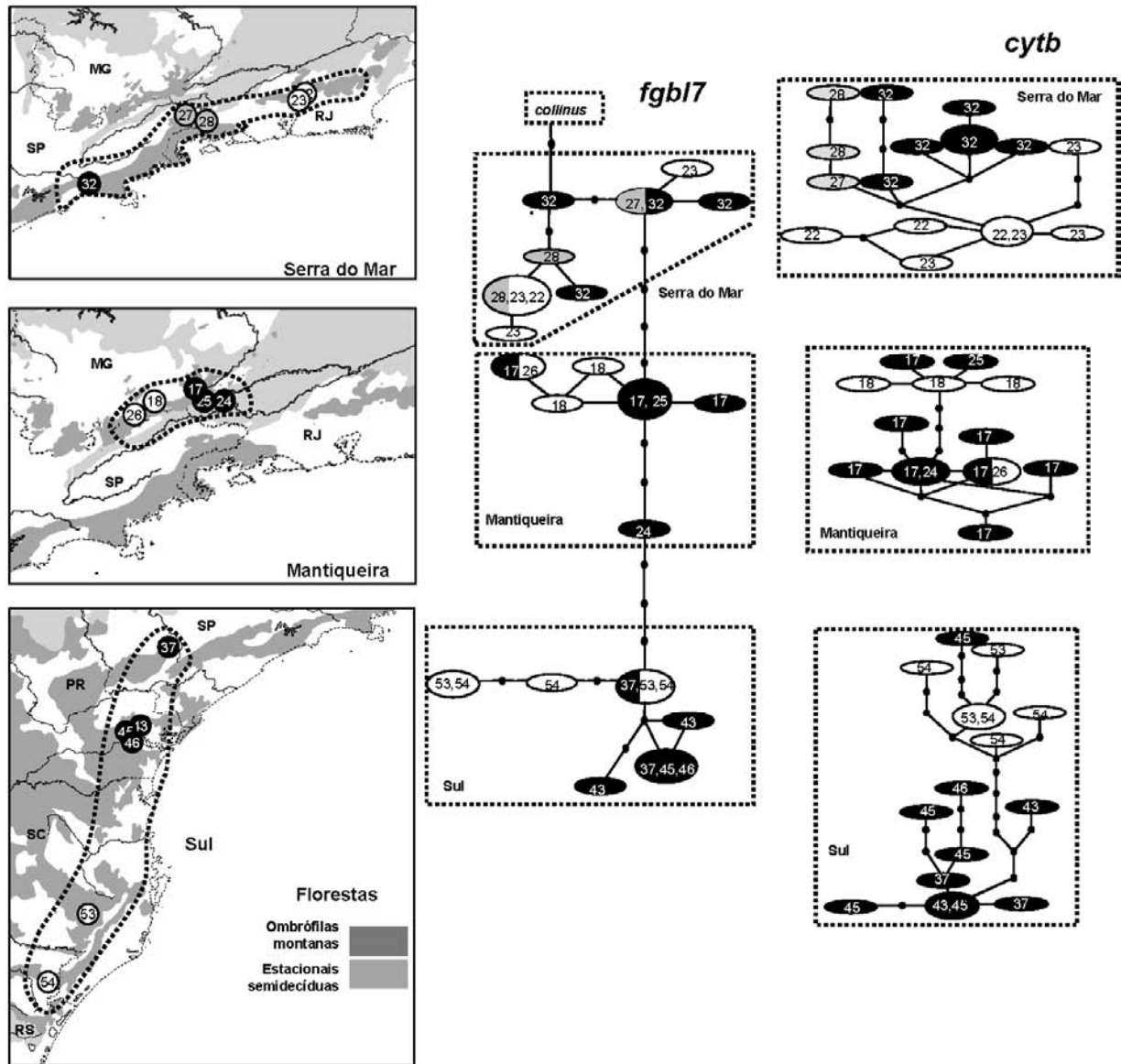


Figura 3.23. Mapeamento espacial das genealogias intraespecíficas de haplótipos do íntron 7 do beta-fibrinogênio e do citocromo *b* revelando estrutura filogeográfica em *Delomys dorsalis*. As cores e números inscritos nos haplótipos de cada grupo geográfico referem-se a sua distribuição geográfica ilustrada nos mapas à esquerda. Tamanho dos haplótipos é proporcional à sua frequência na espécie. Cada entre-nó corresponde a uma mutação pontual.

distintas taxas mutacionais e às características demográficas dos dois genes, uma vez que o genoma mitocondrial acumula diferenças no mínimo quatro vezes mais rápido do que o genoma

Tabela 3.5. Resultados das Análises de Variância Molecular (AMOVA) realizadas em *Delomys* a partir das sequências de 801pb do citocromo *b*. Componentes de variação molecular são fornecidos assim como estimativas de parâmetros análogos às estatísticas-*F* (Φ_{st} , Φ_{ct} , Φ_{sc} ; Excoffier et al., 1992). Valores de significância calculados em 1023 permutações da matriz original de haplótipos: *- $P < 0.05$; **- $P < 0.01$; ***- $P < 0.001$; n.s.- não significativo. Grupos geográficos de populações definidos a priori: *a*—clados mitocondriais, *b*—maciços do Itatiaia e Caparaó, *c*—2 arranjos distintos de acordo com a geografia das amostras (veja texto)

Parâmetros	<i>Delomys dorsalis</i> ^a	<i>Delomys</i> sp. ^b	<i>Delomys sublineatus</i> ^c	
			3 grupos	4 grupos
% variação entre grupos geográficos	81.71	55.56	23.71	65.24
% variação dentro dos grupos geográficos e populações	18.29	44.44	76.29	34.76
Φ_{st} [entre populações]	0.89 ***	0.42 **	0.71 ***	0.71 ***
Φ_{ct} [entre grupos geográficos]	0.82 ***	0.56 ***	0.23 n.s.	0.65 ***
Φ_{sc} [entre populações dentro dos grupos geográficos]	0.41 ***	-0.30 n.s.	0.62 ***	0.16 *

nuclear (Nichols, 2001). Levando em consideração as peculiaridades evolutivas de cada gene, subdivisões geográficas mais recentes ou menos restritivas quanto ao fluxo gênico entre populações ainda deixariam traços nas genealogias do *cytb*, mas não nas do *fgbI7*. Por outro lado, as genealogias do *fgbI7* provavelmente reteriam sinais de eventos bem mais antigos da história demográfica da espécie, que dificilmente seriam apagados por eventos mais recentes. As conexões entre os grupos geográficos de *D. dorsalis*, ou até mesmo, entre *D. dorsalis* e *D. collinus*, reveladas pelas análises genealógicas dos alelos de *fgbI7* são evidência desta propriedade.

Visando quantificar a variabilidade e estruturação genética entre os grupos geográficos, uma análise de variância molecular (AMOVA) foi realizada a partir dos 41 haplótipos de citocromo *b* identificados. Os resultados mostram que mais de 80% da variabilidade genética da espécie se deve à diferenciação geográfica entre os três grupos de populações (Tabela 3.5), e que

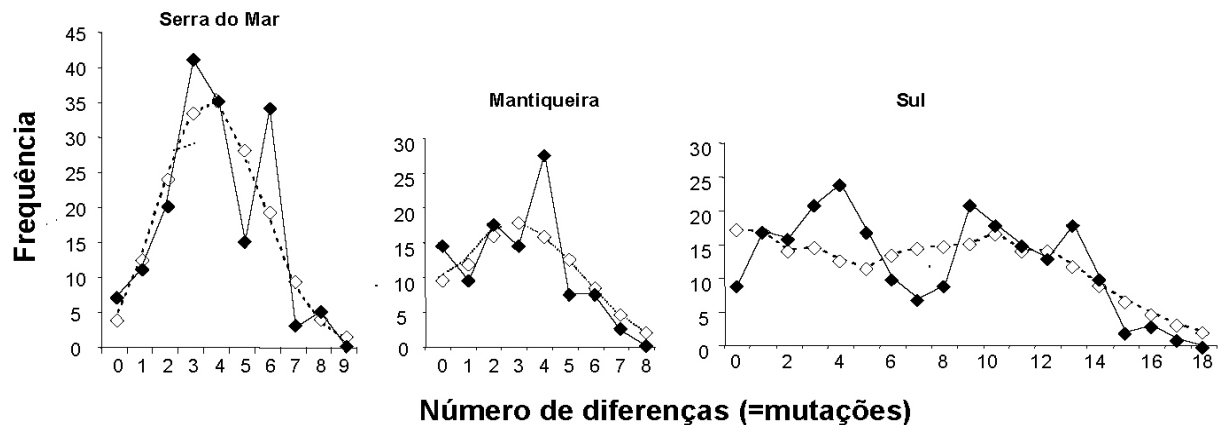


Figura. 3.24. Distribuições empíricas das diferenças haplotípicas (losangos fechados) nos grupos geográficos de *Delomys dorsalis* contrastadas com as distribuições esperadas (losangos abertos) a partir de um modelo de expansão demográfica recente.

a conectividade genética entre populações de grupos distintos apresenta-se bastante reduzida ($\Phi_{st} = 0.89$, $P < 0.001$; $\Phi_{ct} = 0.82$, $P < 0.001$). Por outro lado, a divergência entre populações dentro de um mesmo grupo geográfico é consideravelmente reduzida ($\Phi_{sc} = 0.41$). Um teste de Mantel avaliando a correlação entre a diferenciação genética (medida pelo Φ_{st} entre populações dentro dos grupos) e a distância geográfica entre populações revela que apenas o grupo Sul exhibe sinais de equilíbrio genético, apresentando correlação significativa entre os níveis de divergência genética e o distanciamento geográfico ($r = 0.91$, $P = 0.025$). Os grupos Serra do Mar e Mantiqueira não apresentam correlações significativas entre diferenciação genética e distância geográfica ($r < 0.51$, $P > 0.10$), uma vez que pares de populações distantes geralmente apresentam níveis de similaridade iguais ou maiores do que pares de populações mais próximas, uma condição esperada em populações que ainda não atingiram equilíbrio (Hutchinson & Templeton, 1999). As análises de histogramas de frequência de divergência entre haplótipos trouxeram suporte adicional às condições inferidas pelos componentes de variação genética. As distribuições de frequência de divergência haplotípica nos grupos Serra do Mar e Mantiqueira se apresentam praticamente unimodais (Figura 3.24), não refutando a hipótese de expansão

demográfica recente ($P > 0.10$) (Rogers & Harpending, 1992). Por outro lado, a distribuição de divergências haplotípicas no grupo Sul mostra-se claramente bimodal (Figura 3.24), mas com baixos valores de significância, sugerindo que os sinais de expansão recente ainda são evidentes e que a amostragem de populações intermediárias entre Paraná e Rio Grande do Sul deve revelar traços mais claros deste processo. Portanto, a estrutura filogeográfica e os padrões de diferenciação regional e populacional em *Delomys dorsalis* evidenciam sinais claros de eventos de fragmentação, seguidos de episódios mais recentes de expansão, conforme esperado a partir de um modelo de refúgios pleistocênicos florestais. A generalidade deste modelo para os padrões filogeográficos de outros pequenos mamíferos marcadamente florestais da Mata Atlântica deve ser testada por estudos futuros que avaliem a variabilidade genética em escalas regionais e populacionais.

Como mencionado anteriormente, a heterogeneidade intraespecífica em *D. dorsalis* também é evidenciada em caracteres morfológicos, especialmente no número de loci mamários. O padrão de variação geográfica no número de mamas descrito por Thomas (1917) e Voss (1993) foi corroborado aqui a partir da análise de 50 fêmeas lactantes. As fêmeas de populações mais meridionais da espécie, geralmente incluídas no clado Sul, apresentam 8 mamas, ao passo que as demais populações incluídas nos clados Serra do Mar e Mantiqueira possuem fêmeas com 6 mamas, sendo desprovidas do quarto par peitoral (Figura 3.25). A transição entre as duas fórmulas mamárias se dá de forma bastante abrupta ao redor do paralelo 23°50'S, já que nenhuma população desta região (e.g. Intervalles, loc. 37; Boracéia, loc. 32) se mostra polimórfica.

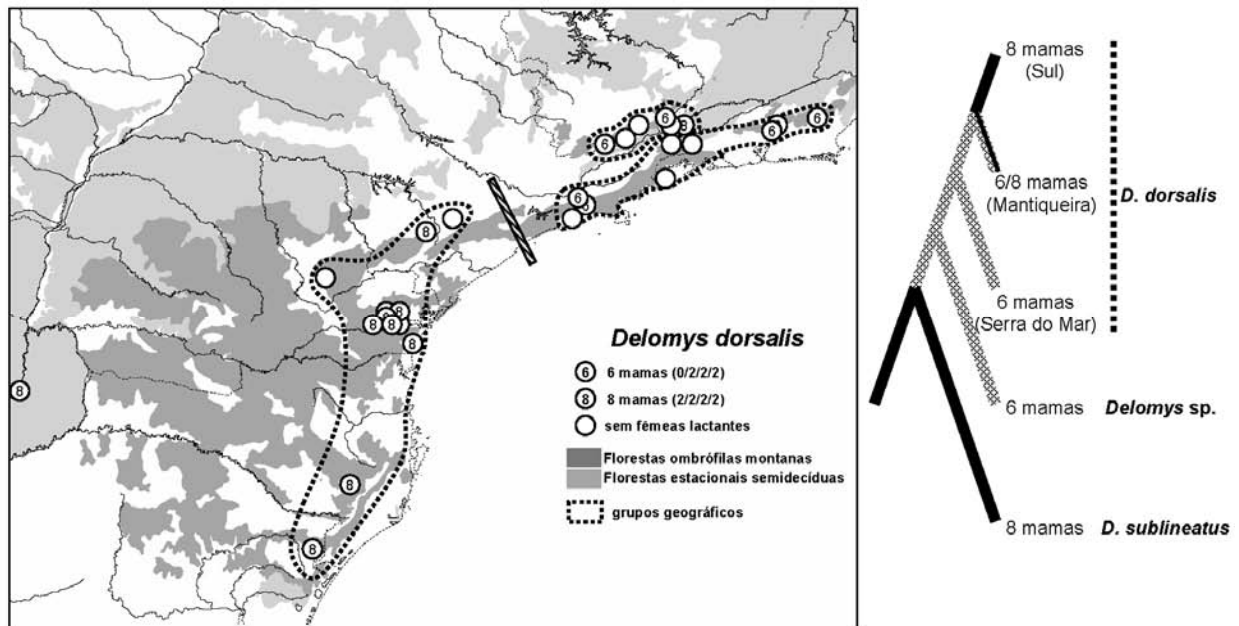


Figura 3.25. (à esquerda) Variação geográfica no número de mamas e correlação com a distribuição dos grupos filogeográficos em *Delomys dorsalis*; barra listrada indica a região de transição no número de mamas. À direita, otimização das transformações na fórmula mamária na genealogia do citocromo *b* de *Delomys*, assumindo a presença de 8 mamas como condição primitiva.

Polimorfismo no número de mamas é aparente somente para o clado Mantiqueira, onde uma única fêmea de Resende (loc. 24) apresenta o par mamário peitoral. O limite entre as populações de 8 mamas e 6 mamas é coincidente com os limites geográficos entre o clado sul e os clados Serra do Mar e Mantiqueira, mas não se apresenta congruente com a hierarquia filogenética proposta pelo *cytb* para estas populações, de modo que grupos geográficos com o mesmo número de mamas geralmente não constituem linhagens irmãs. O grupo Mantiqueira, tipicamente de 6 mamas, se apresenta mais relacionado ao clado Sul de 8 mamas do que ao grupo Serra do Mar, com o qual compartilha a mesma fórmula mamária.

Considerando o padrão genealógico do citocromo *b* como referência, a otimização do número de mamas na diversificação do gênero sugere que pelo menos duas transformações na

fórmula mamária teriam ocorrido em *Delomys*. Se a condição de 8 mamas é assumida como primitiva para o gênero, uma otimização acelerada (ACTRAN; Wiley *et al.*, 1988) sugere a origem do par peitoral no clado Sul como uma reversão, ainda não fixada no clado Mantiqueira, que é aparentemente polimórfico para este caráter (Figura 3.25). Alternativamente, se a condição de ausência do par peitoral (6 mamas) é considerada plesiomórfica, as transformações mais parcimoniosas envolvem duas aquisições independentes do par peitoral, uma em *D. sublineatus* e outra no clado Sul de *D. dorsalis*. As hipóteses filogenéticas mais abrangentes e recentes sobre os sigmodontíneos (Jansa & Weksler, 2004; Weksler, 2006) evidenciam a condição de 8 mamas como primitiva na subfamília, o que tornaria a primeira alternativa (Figura 3.25) de transformações como a mais provável. Pouco se conhece sobre a existência de qualquer fator ecológico relacionado à perda/aquisição de loci mamários em roedores que pudesse auxiliar na compreensão da evolução deste caráter. Os dados reprodutivos sobre populações do clado Sul revelam um número de filhotes que varia de 2 a 5 por ninhada (Cademartori *et al.*, 2005), enquanto os dados de coleta de fêmeas dos clados Mantiqueira e Serra do Mar sugerem tamanhos de prole em média menores, variando de 1 a 3 embriões (Tabela 3.6). O número de fêmeas com dados reprodutivos apropriadamente registrados ainda é pequeno, especialmente de populações de 6 mamas, e a correlação entre o tamanho de prole e número de mamas neste momento representa somente uma hipótese a ser testada em futuros estudos reprodutivos da espécie. Distribuição temporal de recursos, sazonalidade climática e outras variáveis abióticas, devem ser considerados como possíveis fatores ecológicos relacionados ao tamanho de prole e à fórmula mamária, caso esta correlação seja evidenciada em outros trabalhos.

Tabela 3.6 Fêmeas de *Delomys dorsalis* com informações sobre número de embriões registradas a partir dos dados fornecidos pelos coletores.

Espécime	Grupo geográfico	Localidade	Número de embriões (fornecido pelo coletor)	Número de mamas
MZUSP29284	Serra do Mar	Estação Biológica de Boracéia, Salesópolis, SP (loc. 32)	3	6
MZUSP29285	Serra do Mar	Estação Biológica de Boracéia, Salesópolis, SP (loc. 32)	2	6
MZUSP29286	Serra do Mar	Estação Biológica de Boracéia, Salesópolis, SP (loc. 32)	1	6
MZUSP29288	Serra do Mar	Estação Biológica de Boracéia, Salesópolis, SP (loc. 32)	3	6
MVZ183054	Serra do Mar	Estação Biológica de Boracéia, Salesópolis, SP (loc. 32)	2	6
MVZ183067	Serra do Mar	Estação Biológica de Boracéia, Salesópolis, SP (loc. 32)	2	6
MZUSP29276	Serra do Mar	Estação Biológica de Boracéia, Salesópolis, SP (loc. 32)	3	6
MVZ183065	Serra do Mar	Estação Biológica de Boracéia, Salesópolis, SP (loc. 32)	3	6
MVZ183053	Sul	Fazenda Intervaes, (base do Carmo), Capão Bonito, SP (loc. 37)	2	8

A investigação da concordância entre a estrutura filogeográfica e a variação morfológica foi estendida a caracteres craniométricos por meio de uma análise discriminante de Variáveis Canônicas. Nesta análise, cada amostra populacional foi considerada como uma unidade taxonômica operacional, salvo nos casos onde o número reduzido de indivíduos contidos em algumas amostras comprometia qualquer inferência estatística. Nestes casos, as amostras pequenas ($n < 5$) foram agrupadas com outras de localidades próximas, formando amostras compostas maiores, mas ainda geograficamente estruturadas. Mais uma vez, a única exceção a este procedimento foi a amostra de Misiones, que por seu grande distanciamento geográfico em relação às demais foi agrupada com as amostras de Pico Paraná e Castro (locs. 43 e 42). A redução da unidade de análise às amostras populacionais e não aos grupos geográficos moleculares garantiu independência às estimativas de similaridade morfométrica entre

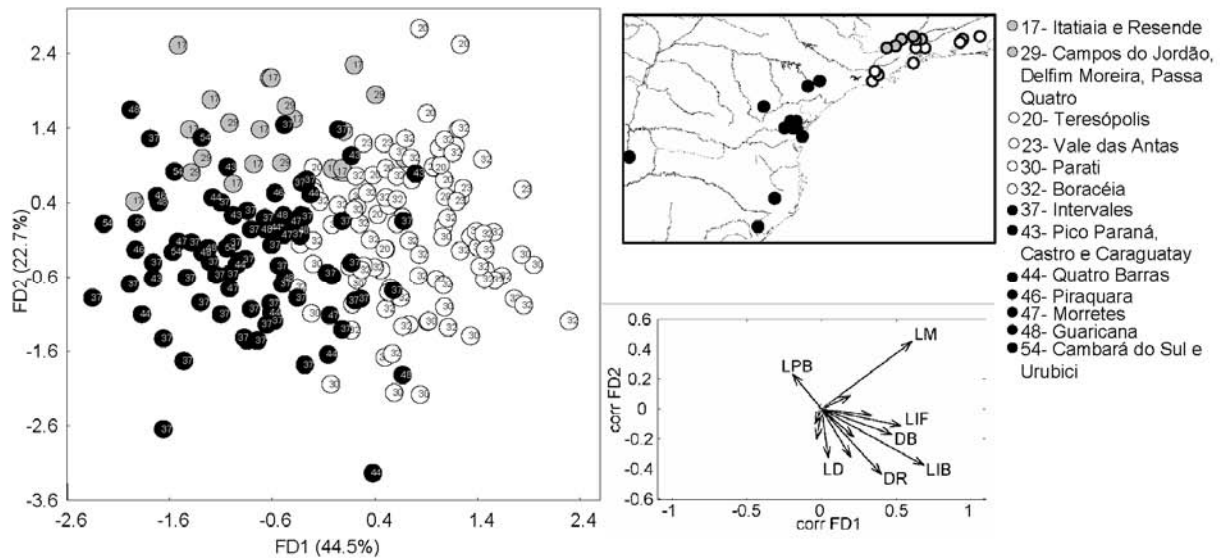


Figura 3.26. Diferenciação craniométrica entre populações de *Delomys dorsalis* evidenciada por uma análise discriminante de variáveis canônicas. (A) Escores individuais de cada população e grupo geográfico identificados na (B) legenda e no mapa à direita; (C) vetores de correlação entre variáveis craniométricas originais e funções discriminantes. As amostras populacionais identificadas na legenda foram utilizadas como grupos *a priori* na análise.

populações de *D. dorsalis*. Se a estrutura filogeográfica representa um componente latente na variabilidade morfométrica das populações da espécie, é esperado que os grupos geográficos sejam revelados embora não tenham identificados *a priori* nas análises.

Os resultados revelam que os dois primeiros eixos discriminantes (FD1 e FD2) resumizam 67.2% da diferenciação craniométrica entre populações. Quando os escores individuais são rotulados de acordo com seus respectivos grupos geográficos (Figura 3.26), as três linhagens mitocondriais podem ser claramente identificadas ocupando regiões quase exclusivas do espaço multivariado, sugerindo diferenciação craniométrica entre elas. A primeira tendência de variação entre populações expressa-se ao longo de FD1, representando a diferenciação entre populações do clado Sul e amostras da serra do Mar que apresentam séries molares maiores e regiões interorbitais mais largas. O segundo contínuo de diferenciação, representado ao longo de FD2,

ilustra a discriminação entre o grupo de populações do sul e as populações da Mantiqueira, que exibem pontes palatais mais longas, maiores molares e regiões interorbitais relativamente mais estreitas. A julgar pela orientação das correlações entre caracteres e eixos discriminantes, a diferenciação entre os grupos geográficos, tanto ao longo de FD1 quanto de FD2, envolvem exclusivamente transformações na forma do crânio tanto em FD1 quanto FD2. Voss (1993) sugeriu um gradiente sul-norte de incremento no tamanho, mas sem a inclusão de populações do grupo Mantiqueira, o que certamente altera as interpretações da estrutura da variabilidade morfológica da espécie.

Thomas (1917) ressaltou que os espécimes de *collinus* apresentariam molares maiores que os representantes de *dorsalis* da região sul. Os padrões de diferenciação craniométrica de fato revelam que as populações das serras do Mar e da Mantiqueira, da mesma região onde Thomas obteve a série de *collinus*, apresentam séries molares em média maiores do que exemplares do grupo Sul. A diferenciação das populações destes grupos em relação às populações meridionais de *D. dorsalis* também é evidenciada pela variação na fórmula mamária, o que favoreceria o uso de *collinus* para os grupos Mantiqueira e Serra do Mar. A estrutura filogeográfica, todavia, não suporta o reconhecimento destes dois grupos geográficos como um táxon monofilético e geneticamente coeso. Um segundo arranjo mais congruente com a evidência total seria reconhecer cada grupo geográfico como um táxon distinto. Deste modo, *collinus* ficaria restrito ao grupo Mantiqueira e *dorsalis* ao grupo Sul, enquanto o grupo Serra do Mar demandaria a descrição de um novo nome. Contudo, a identificação taxonômica destes grupos dependeria em larga escala de dados moleculares e na proveniência geográfica das amostras, especialmente envolvendo os grupos Mantiqueira e Serra do Mar, uma vez que os caracteres morfológicos e citogenéticos não permitem um reconhecimento inequívoco destes grupos, tornando a alternativa

pouco prática. Moritz (Moritz, 1994) propôs o conceito de unidades evolutivas significativas ou relevantes, utilizado em referência a grupos regionais de populações geneticamente diferenciadas de outras populações da mesma espécie, chamando atenção para a necessidade de identificação e conservação destas unidades em espécies ameaçadas. Este conceito parece bem adequado e mais funcional aos grupos geográficos de *D. dorsalis*, que representariam então unidades regionais responsáveis pela manutenção da diversidade genealógica desta espécie restrita às florestas ombrófilas montanas do domínio atlântico.

***Delomys* sp.**

As populações alto-montanas dos maciços orientais da Mantiqueira com cariótipo $2n=82/NF=86$ foram as únicas representantes desta espécie identificadas nas amostras examinadas neste trabalho. Pelo menos um representante da espécie foi identificado a partir de caracteres morfológicos habitando o planalto de Campos do Jordão, ao sul do maciço do Itatiaia, sugerindo que esta espécie possa estar distribuída pelos altiplanos acima de 1800m por toda a cadeia meridional da Mantiqueira (Figura 3.27a). A escassa informação ecológica oriunda de inventários mastofaunísticos no Itatiaia e Caparaó (Bonvicino et al., 1997; Geise et al., 2004a) e as notas de coleta sugerem que *Delomys* sp. habita preferencialmente as florestas alto-montanas, ou nebulares, e a estreita faixa de transição entre esta fisionomia e os campos de altitude que se estende até cotas altimétricas superiores (>2000m) através dos vales melhor drenados dos altiplanos. Nos maciços do Caparaó e Itatiaia, o registro mais inferior de exemplares desta espécie é 1800m e a cota mais elevada de coleta geralmente coincide com a elevação máxima destas montanhas (2700-2800m) (Bonvicino et al., 1997).

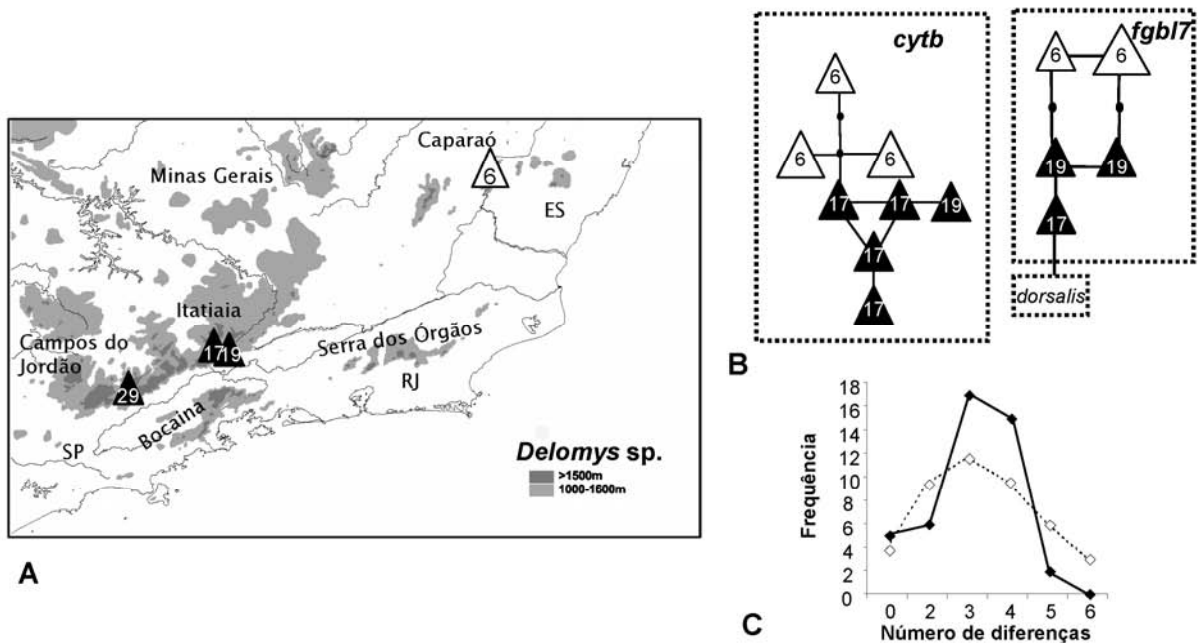


Figura 3.27. Padrões filogeográficos em *Delomys sp.* (A) Localidades das amostras destacando os principais maciços costeiros da serra da Mantiqueira e da serra do Mar (localidades listadas na Tabela 3.6). (B) Redes genealógicas de haplótipos do citocromo *b* (801pb) e do íntron 7 do beta-fibrinogênio. As cores e números inscritos nos haplótipos referem-se a sua distribuição geográfica ilustrada no mapa à esquerda. Tamanho dos haplótipos é proporcional a sua frequência na espécie. Cada entre-nó corresponde a uma mutação pontual. (C) Distribuições empíricas das diferenças haplotípicas (losangos fechados) em *Delomys sp.* contrastadas com as distribuições esperadas (losangos abertos) a partir de um modelo de expansão demográfica recente.

As redes genealógicas dos haplótipos do citocromo *b* e do íntron 7 do beta-fibrinogênio evidenciam diferenciação entre as populações do Itatiaia e Caparaó, ainda que reduzida, tendo em vista os mais de 300km de lacuna entre as populações destes dois maciços (Figura 3.17a, b). Os 8 haplótipos de *cytb* do Itatiaia e Caparaó se mantém segregados por apenas um passo mutacional, mas mantém concordância geográfica com os maciços. Da mesma forma, os haplótipos de *fgb17* do Itatiaia não são compartilhados com exemplares do Caparaó e suas relações filéticas preservam uma certa concordância geográfica, uma vez que haplótipos de uma mesma localidade se apresentam mais similares. Os níveis de diferenciação genética estimados em uma análise de

Tabela 3.7. Haplótipos de citocromo *b* (801) identificados em *Delomys* sp., espécimes-testemunho e localidades associadas. Localidades encontram-se mapeadas na figura 3.27

Haplótipos	Espécimes	Localidades
1	PRG1128, PH10088	Segredo-Arrozal-Terreirão, Parque Nacional do Caparaó, Alto Caparaó, MG (2100-2700m) (loc. 6)
2	PH10756, 10079	Segredo-Arrozal-Terreirão, Parque Nacional do Caparaó, Alto Caparaó, MG (2100-2700m) (loc. 6)
3	SGM21	Segredo-Arrozal-Terreirão, Parque Nacional do Caparaó, Alto Caparaó, MG (2100-2700m) (loc. 6)
4	CRB1332	Brejo da Lapa (Itatiaia), Itamonte, MG (1800-2100m) (loc.17)
5	CRB1351	Brejo da Lapa (Itatiaia), Itamonte, MG (1800-2100m) (loc.17)
6	LG106	Brejo da Lapa (Itatiaia), Itamonte, MG (1800-2100m) (loc.17)
7	LG205	Hotel Alsene, Brejo da Lapa (Itatiaia), Itamonte, MG (1800-2100m) (loc.17)
8	JAO1524	Campos do Itatiaia, Abrigo Reboucas, Parque Nacional do Itatiaia, Itatiaia, RJ (2350m) (loc. 19)

variância molecular com haplótipos de *cytb* ($\Phi_{st} = 0.42$, $\Phi_{ct} = 0.56$) são relativamente baixos quando comparados aos níveis de variação entre os grupos geográficos de *D. dorsalis* (Tabela 3.5) e somente pouco mais da metade da variação genética da espécie se deve à diferenciação geográfica. Dentro da área alto-montana de cada maciço, os níveis de variação são mínimos e os valores de Φ_{sc} são extremamente reduzidos e estatisticamente iguais a zero, praticamente refletindo panmixia local. A distribuição empírica das diferenças haplotípicas estimadas a partir do *cytb* apresentam uma morfologia claramente unimodal, não refutando a hipótese de expansão demográfica recente (Figura 3.27c). De um modo geral, as evidências moleculares sugerem que a disjunção geográfica entre as populações de *Delomys* sp. ainda não produziu efeitos pronunciados na estrutura genética da espécie. Descartando a hipótese de migração e intercâmbio atual de indivíduos entre os maciços, o único cenário condizente com o padrão filogeográfico visto seria o de subdivisão geográfica extremamente recente de *Delomys* sp. Neste caso, populações adicionais poderiam ter sido mantidas até o holoceno médio em serras menores, garantindo alguma conectividade entre as populações dos maciços do Itatiaia e Caparaó. Este cenário implicaria na retenção de condições favoráveis para a ocorrência das florestas alto-montanas em altitudes mais baixas no sudeste durante a primeira metade do holoceno.

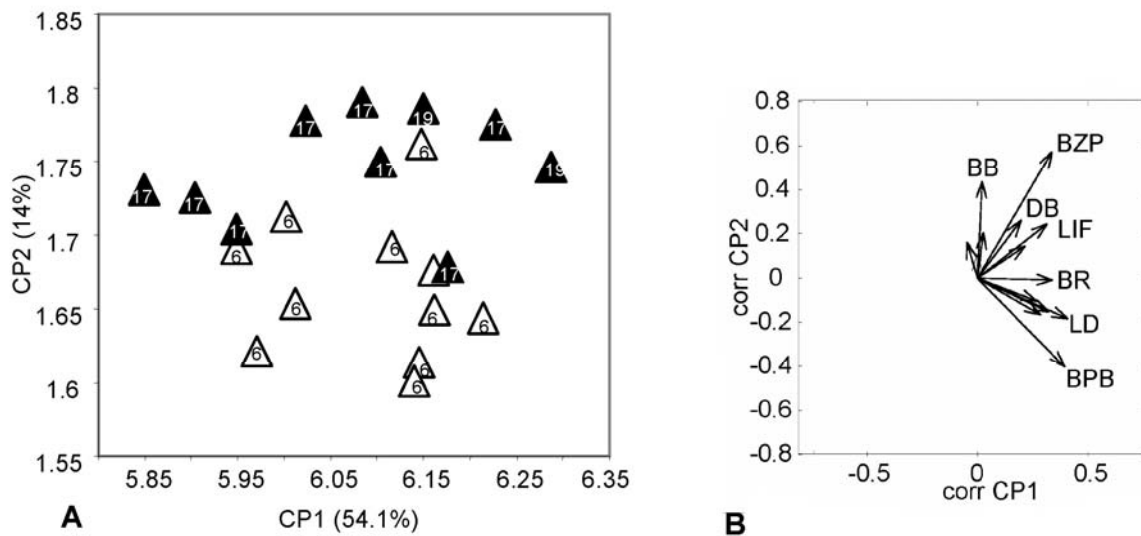


Figura 3.28. Variação craniométrica em populações alto-montanas de *Delomys* sp. do Itatiaia (locs. 17, 19) e do Caparaó (loc. 6) evidenciada pela análise de componentes principais. **(A)** Escores individuais identificados de acordo com suas amostras e populações; **(B)** vetores de correlação entre variáveis craniométricas originais e os componentes principais.

As comparações morfométricas entre as duas únicas amostras de *Delomys* sp. sugerem um nível incipiente de diferenciação entre populações dos diferentes maciços. Uma análise de componentes principais revela uma extensa sobreposição de escores ao longo do primeiro componente (CP1), e uma maior diferenciação ao longo do segundo eixo de variação (CP2), ainda que este represente somente 14% da variabilidade craniométrica total (Figura 3.28). Exemplos do Itatiaia apresentam caixas cranianas e placas zigomáticas em média mais largas do que espécimes do Caparaó. Estes últimos se diferenciam por apresentarem pontes palatais relativamente mais largas. A amostra do Caparaó também apresenta uma maior frequência de indivíduos com pelagem distintamente mais ferrugínea, mas também concentra maior número de adultos-velhos. Portanto, considerando a relação entre a idade e cromatismo em *Delomys* sp., a

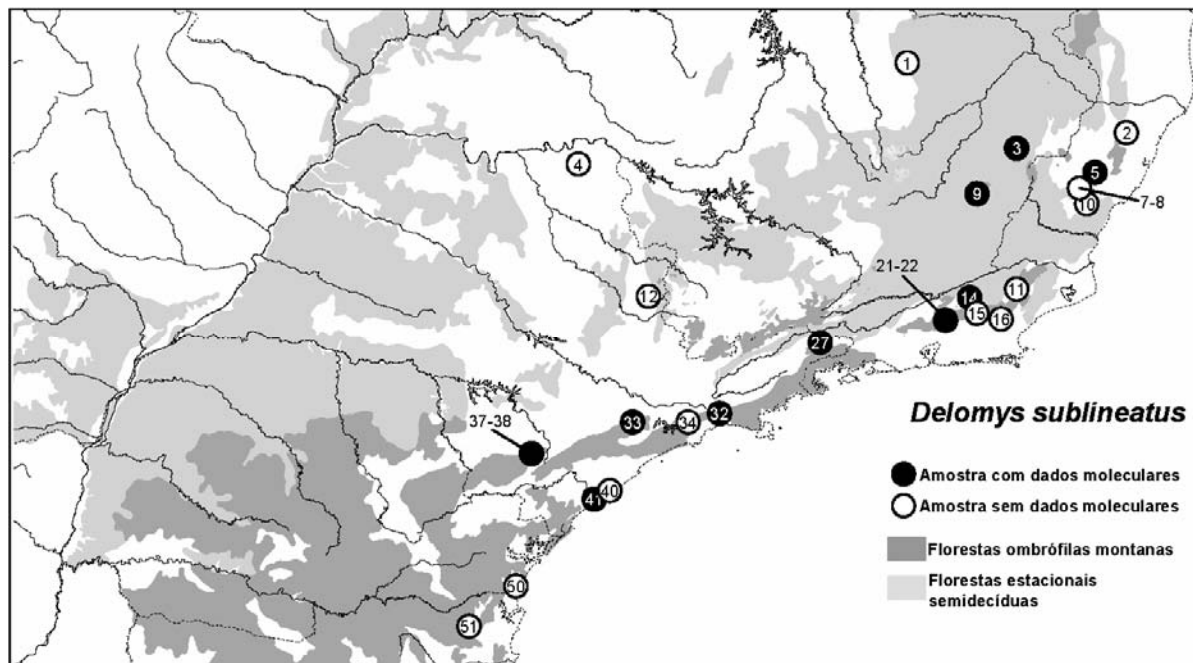


Figura 3.29. Localidades das amostras de *Delomys sublineatus* examinadas e distribuição de fisionomias florestais do sudeste brasileiro às quais a espécie está associada. Nomes das localidades encontram-se listados na tabela 3.2.

composição etária distinta das amostras não pode ser descartada como uma possível causa da diferenciação vista nos exemplares.

Delomys sublineatus

Delomys sublineatus representa possivelmente a espécie do gênero distribuída pela maior variedade de fisionomias da Mata Atlântica. Ao contrário de *D. dorsalis*, as fitofisionomias ocupadas por representantes desta espécie não se restringem às florestas ombrófilas montanas, ocorrendo também na faixa de florestas semidecíduais que marca os limites do domínio atlântico nos estados de Minas Gerais e São Paulo (Figura 3.19). Dois exemplares da série de Conceição do Mato Dentro (loc. 1), originalmente referida por Avila-Pires (1960) como *Delomys plebejus*, e

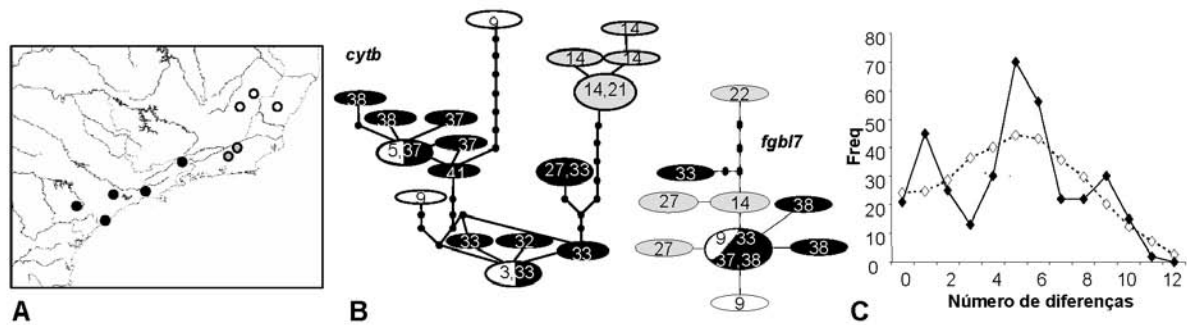


Figura 3.30. Padrões filogeográficos em *Delomys sublineatus* (A) Amostras geneticamente analisadas coloridas seguido um arranjo de três grupos regionais de populações (localidades listadas na Tabela 3.7 e mapeadas em detalhe na figura 3.18). (B) Redes genealógicas de haplótipos do citocromo *b* e do íntron 7 do beta-fibrinogênio. As cores e números inscritos nos haplótipos referem-se a sua distribuição geográfica ilustrada no mapa à esquerda. Tamanho dos haplótipos é proporcional a sua frequência na espécie. Cada internó corresponde a uma mutação pontual. (C) Distribuições empíricas das diferenças haplotípicas (losangos fechados) contrastadas com as distribuições esperadas (losangos abertos) a partir de um modelo de expansão demográfica recente.

dois espécimes de Ituverava e Boa Vista (locs. 4 e 12) representam os registros mais ocidentais da espécie. Os registros mais elevados para *D. sublineatus* estão em torno de 1200m (loc. 9), sugerindo que esta espécie dificilmente participa das comunidades de pequenos mamíferos de zonas altitudinais mais elevadas. Por outro lado, sua ocorrência em zonas próximas ao nível do mar passa a ser comum do litoral do estado de São Paulo até a costa de Santa Catarina.

A despeito da distribuição ecologicamente mais ampla de *D. sublineatus* em relação a *D. dorsalis*, a diferenciação geográfica na espécie é relativamente pouco pronunciada. As redes genealógicas de haplótipos do *cytb* e *fgb17* revelam que haplótipos filogeneticamente mais próximos estão bem distanciados no espaço, de forma que os clados raramente delimitam regiões geograficamente concordantes e homogêneas (Figura 3.30a, b). Exemplos extremos são haplótipos de *cytb* de Caucaia do Alto (loc. 33) e Intervalles (loc. 37) que são compartilhados com populações do extremo norte da distribuição da espécie, em Simonésia (loc. 3) e Domingos

Tabela 3.8. Haplótipos de citocromo *b* (801) identificados em *Delomys sublineatus*., espécimes-testemunho e localidades associadas. Localidades encontram-se mapeadas na figura 3.30.

Haplótipos	Espécimes	Localidades
1	PRG1309, 1317, YL177	Reserva Morro Grande, Caucaia do Alto, Cotia, SP (850-1100m) (loc. 33), Mata do Sossego, Simonésia, MG (loc. 3)
2	PRG1303	Reserva Morro Grande, Caucaia do Alto, Cotia, SP (850-1100m) (loc. 33)
3	PRG1322, HGB10	Reserva Morro Grande, Caucaia do Alto, Cotia, SP (850-1100m) (loc. 33); Parque Nacional da Bocaina, São José do Barreiro, SP (1400m) (loc. 27)
4	MVZ182796	Reserva Morro Grande, Caucaia do Alto, Cotia, SP (850-1100m) (loc. 33)
5	PRG1040, AB111	Sítio Pedreiras, Pedra Azul, Domingos Martins, ES (1000m) (loc. 5); Fazenda Intervales, Ribeirão Grande, SP (850m) (loc. 37)
6	BRG095	Fazenda Neblina—Fazenda Brigadeiro, Parque Estadual Serra do Brigadeiro, Araponga, MG (900-1200m) (loc. 9)
7	BRG245	Fazenda Neblina—Fazenda Brigadeiro, Parque Estadual Serra do Brigadeiro, Araponga, MG (900-1200m) (loc. 9)
8	FS1021, MVZ200403	Abrigo Paquequer (Parque Nacional da Serra dos Órgãos), Teresópolis, RJ (1200m) (loc. 22); Sumidouro, RJ (1000m) (loc. 14)
9	MVZ192918, MZUSP29311	Sumidouro, RJ (1000m) (loc. 14)
10	MVZ192919	Sumidouro, RJ (1000m) (loc. 14)
11	MVZ192917, MZUSP29310	Sumidouro, RJ (1000m) (loc. 14)
12	Boraceia, MVZ183076, 183075	Estação Ecológica de Boracéia, Salesópolis, SP (850m) (loc. 32)
13	MVZ192857	Fazenda Intervales, Ribeirão Grande, SP (850m) (loc. 37)
14	MVZ183074	Fazenda Intervales, Ribeirão Grande, SP (850m) (loc. 37)
15	MVZ183068	Fazenda Intervales, Ribeirão Grande, SP (850m) (loc. 37)
16	AB109	Fazenda Intervales, Ribeirão Grande, SP (850m) (loc. 37)
17	CIT278, 328	Iguape, SP (loc. 41)

Martins (loc. 5), localidades distanciadas por quase 1000km em linha reta. Um haplótipo de *fgbI7* também se revelou amplamente disseminado por populações da serra do Brigadeiro (loc.9), Caucaia do Alto e Intervales (locs. 37 e 38). Apenas as populações da serra dos Órgãos representam alguma evidência de regionalização de haplótipos de *cytb*.

Visando quantificar a variação genética entre populações e regiões, dois arranjos das amostras foram implementados. O primeiro arranjo consistiu na organização dos exemplares em três grupos regionais: 1) populações de Minas Gerais e Espírito Santo; 2) populações da serra dos Órgãos; 3) populações do estado de São Paulo. O terceiro arranjo contou com 4 grupos, a saber: 1) populações de Minas Gerais e Espírito Santo; 2) populações da serra dos Órgãos; 3) populações do centro e nordeste do estado de São Paulo; 4) populações do sudeste de São Paulo.

Os diferentes arranjos foram então submetidos a uma análise de variância molecular a partir dos 17 haplótipos de *cytb* identificados na espécie.

A proporção da variabilidade genética relacionada a diferenciação regional difere substancialmente dependendo do número de grupos considerado (Tabela 3.5). No arranjo de três grupos, a diferenciação entre regiões é mínima e não significativa ($\Phi_{ct} = 0.23$), e a maior parte da variabilidade genética deve-se a diferenças entre populações de uma mesma região. Por outro lado, quando as amostras são organizadas em quatro grupos, a diferenciação regional passa a ser bem maior ($\Phi_{ct} = 0.65$), com níveis de variação intraregionais menores ($\Phi_{sc} = 0.16$). Os valores de Φ_{st} permanecem inalterados uma vez que seu cálculo envolve comparações par a par entre populações, independentemente de qualquer arranjo hierárquico entre elas. As diferenças vistas entre os dois arranjos estão associadas à heterogeneidade genética entre as amostras de São Paulo. Quando estas amostras são reunidas em um único grupo, a heterogeneidade intraregional torna-se relativamente muito elevada. De fato, as redes genealógicas mostram que as populações do sudeste de São Paulo (locs. 37, 38 e 41) não compartilham alelos com as populações do centro e nordeste do estado (locs. 27, 32 e 33). Notavelmente, a região de maior diferenciação genética entre estes dois grupos de populações é coincidente com a disjunção entre os grupos geográficos de *D. dorsalis* (Sul vs Mantiqueira-Serra do Mar), mas nenhum dos arranjos indica níveis de diferenciação regional comparáveis aos vistos em *D. dorsalis*. Além disso, a maior dispersão geográfica dos haplótipos de *D. sublineatus* sugere uma maior coesão genética interna ou uma diversificação mais recente das populações, reforçando a diferença entre os padrões filogeográficos destas duas espécies. Quando a correlação entre os níveis de diferenciação genética (medidos pelo Φ_{st}) e a distância geográfica entre populações é avaliada por meio de um teste de Mantel, os resultados sugerem a ausência de equilíbrio ou de diferenciação genética

relacionada à distância ($r = -0.33$, $P = 0.876$). Ao contrário, a maior similaridade entre populações geograficamente distantes constitui uma situação relativamente frequente em *D. sublineatus*, mais uma vez revelando a menor regionalização da diversidade genética. Por último, a distribuição empírica de diferenças haplotípicas em *D. sublineatus* (Figura 3.20c) revela uma moda bem definida seguida de outros dois picos menores que, apesar de darem um aspecto mais errático à curva, não refutam um modelo de expansão demográfica recente ($P > 0.10$). Estes resultados sugerem então que em sua maioria as populações de *D. sublineatus* são relativamente recentes na história da Mata Atlântica e não se encontram estruturadas de forma que um equilíbrio entre fluxo gênico e deriva seja aparente.

Para avaliar se os padrões de variação fenotípica também expressam a forte coesão interna revelada pelas análises filogeográficas em *D. sublineatus*, uma análise discriminante foi realizada a partir da matriz de caracteres craniométricos. As comparações envolveram somente populações da faixa costeira da distribuição da espécie, por apresentarem maiores tamanhos amostrais ou serem facilmente reunidas em amostras compostas devido à maior proximidade geográfica. O arranjo das amostras é mostrado na legenda da figura 3.31. Os resultados revelam que os escores de populações de diferentes regiões (identificadas pelas diferentes cores na figura 3.31a) encontram-se extensamente sobrepostos ao longo dos dois primeiros eixos discriminantes (FD1 e FD2). O primeiro eixo evidencia uma diferenciação sutil ao longo de um cline nordeste-sudoeste, envolvendo transformações na forma craniana conforme sugerido pelas orientações opostas das correlações dos caracteres craniométricos (Figura 3.31a). As populações do extremo norte da

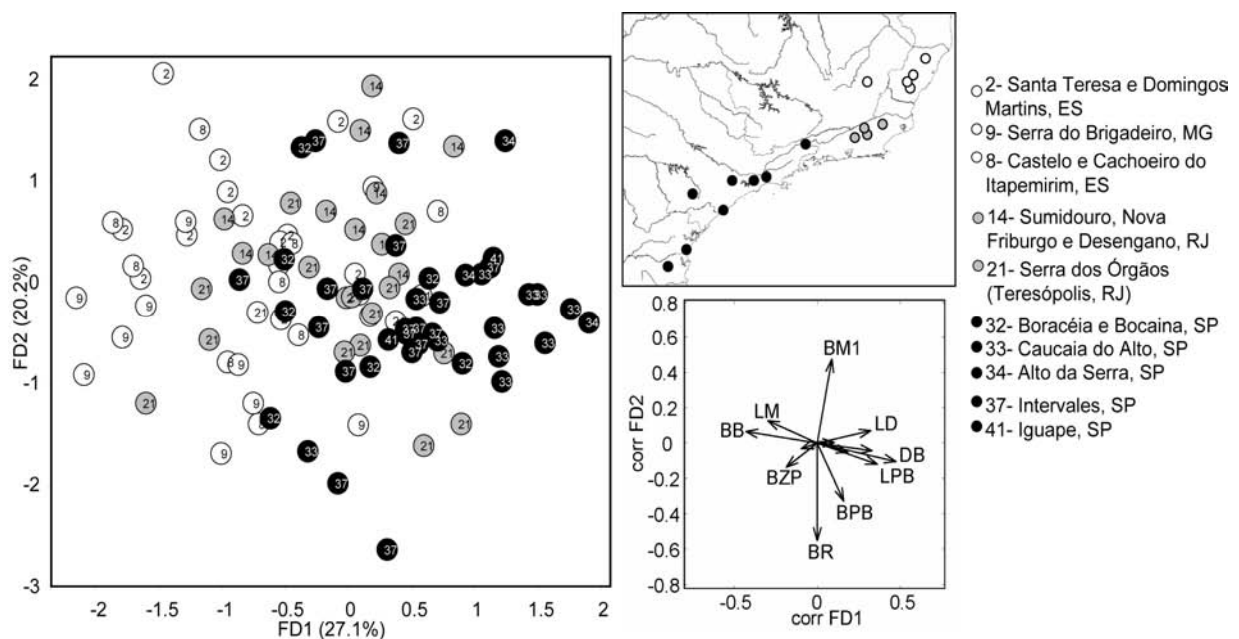


Figura 3.31. Diferenciação craniométrica entre populações de *Delomys sublineatus* evidenciada por uma análise discriminante de variáveis canônicas. (A) Escores individuais de cada população e grupo geográfico identificados na (B) legenda e no mapa à direita; (C) vetores de correlação entre variáveis craniométricas originais e funções discriminantes. As amostras populacionais identificadas na legenda foram utilizadas como grupos *a priori* na análise.

distribuição da espécie geralmente apresentam séries molares maiores e caixas cranianas mais largas, enquanto populações do sudeste de São Paulo possuem tendência a diástemas e pontes palatais maiores e caixas cranianas mais altas. O segundo e terceiro (não mostrado) eixos discriminantes não demonstram nenhuma tendência clara de diferenciação geográfica entre amostras, já que representantes de todas as regiões estão dispersos por toda a extensão destes eixos. Os autovalores associados a cada eixo discriminante também trazem informação sobre o padrão de diferenciação morfológica em *D. sublineatus*. Quando os três primeiros eixos discriminantes são considerados, apenas 62% da variação entre amostras encontra-se sumarizada. Já em *D. dorsalis*, cuja variabilidade morfológica se mostrou mais estruturada geograficamente, a

proporção da variação abrangida pelos três primeiros eixos discriminantes é maior (76%). As diferenças nos autovalores estão provavelmente ligadas ao fato de que a discriminação morfométrica entre populações é menos acentuada ou se expressa mais sutilmente em *D. sublineatus* do que em *D. dorsalis*, de forma que um número maior de eixos ortogonais é necessário para sumarizar porções equivalentes da variação entre populações. Deste modo, a estrutura da variabilidade morfológica em *D. sublineatus* reflete claramente os níveis reduzidos de subdivisão geográfica da diversidade genética de suas populações, um padrão claramente oposto ao visto para *D. dorsalis* onde disjunção e estruturação da variabilidade genética e morfológica são mais pronunciadas.

As diferenças nos padrões filogeográficos destas duas espécies são provavelmente causadas por uma complexa interação de processos ecológicos e eventos históricos, muitas vezes difíceis de serem discernidos a partir da evidência disponível. O fato de ambas as espécies representarem formas florestais e provavelmente compartilharem uma série de características ecológicas, torna este discernimento mais difícil. A princípio seria esperado que os mesmos eventos históricos, tais como a fragmentação florestal no último glacial máximo e posterior expansão, tivessem os mesmos efeitos em táxons florestais. De qualquer modo, diferenças ecológicas sutis que tenham implicações demográficas para as espécies podem representar um fator importante para determinação de padrões filogeográficos completamente distintos. As populações de *Delomys sublineatus* estão distribuídas por uma maior variedade de fisionomias florestais, ocorrendo no sudeste brasileiro desde as florestas ombrófilas úmidas da costa até as florestas sazonais e semidecíduais do interior, enquanto *D. dorsalis* encontra-se circunscrita à estreita faixa de florestas ombrófilas montanas das encostas serranas. A dispersão de *D. sublineatus* por regiões fitogeográficas ecologicamente distintas sugere que esta espécie

apresenta um maior generalismo e tolerância na preferência de habitats florestais em relação a *D. dorsalis*. No nível demográfico, estas características ecológicas possivelmente implicam em uma maior capacidade de colonização de regiões mais extensas. Portanto, embora ambas as espécies tenham sido afetadas pela fragmentação florestal no último glacial, os padrões de recolonização e expansão de suas populações foram aparentemente distintos. *Delomys sublineatus* teria expandido sua distribuição não somente junto com as florestas ombrófilas da costa, mas também seguindo a expansão das fisionomias semidecíduais do interior, de um modo mais abrupto e rápido, já que as diferenças ecológicas entre estas fisionomias florestais não constituiriam uma barreira para esta espécie. Os traços filogeográficos de *D. dorsalis* também indicam expansão demográfica recente, mas de um modo bem mais contido e restrito espacialmente.

Um teste fundamental desta hipótese seria a investigação dos registros paleontológicos de *Delomys*, mas as informações disponíveis ainda são bastante fragmentárias para uma contextualização temporal. Voss (1993) identificou uma única forma fóssil incluída no gênero, descrita por Winge (Winge, 1887) como *Calomys plebejus* a partir do vasto material recuperado nas escavações de P. Lund em cavernas calcárias de Lagoa Santa, Minas Gerais. Apesar de sua inclusão inequívoca em *Delomys*, esta forma fóssil não pôde ser diferenciada das espécies recentes, tendo em vista a ausência de caracteres craniodentários diagnósticos (Voss, 1993). De fato, as medidas dos lectótipos fornecidas por Voss (1993) não permitem distinguir entre a inclusão da série de *plebejus* em *D. dorsalis* ou em *D. sublineatus*, uma vez que o fóssil parece apresentar medidas intermediárias entre estas duas espécies que já possuem limites morfológicos ténues. Geograficamente, a espécie mais próxima a *plebejus* é *D. sublineatus*, o que torna sugestiva a alocação desta forma fóssil nesta espécie recente considerando a ausência de *D. dorsalis* na faixa de florestas estacionais que cobrem a área onde Lagoa Santa está hoje situada.

Avila-Pires (1960) aparentemente concretizou tal associação quando identificou exemplares de *D. sublineatus* de Conceição do Mato Dentro como *D. plebejus*. Entretanto, os registros de Lagoa Santa compreendem uma janela temporal desconhecida, e é possível que a fauna acumulada nos depósitos cavernícolas represente comunidades temporalmente distintas. Alguns roedores sigmodontíneos registrados no material fóssil de Lund não têm sido reportados mais para a região (Voss & Myers, 1991) e a hipótese de que *D. plebejus* seja um destes táxons não pode ser descartada. As datações disponíveis para os restos de grandes mamíferos extintos preservados nestas cavernas sugerem que a maioria das espécies ocorreram na região há no mínimo 9130 anos atrás, apesar de alguns registros serem restritos a mais de 77000 anos atrás (2007). Infelizmente, nenhum fragmento de *Delomys* ou de qualquer outro mamífero marcadamente florestal (e.g., primatas) foi datado ainda, não sendo possível determinar se a presença de táxons florestais no material fóssil de Lagoa Santa representa uma expansão recente da Mata Atlântica na região ou registros de transgressões florestais mais antigas. O estabelecimento do contexto temporal desta fauna é fundamental para a compreensão da evolução da fauna da Mata Atlântica e para testar os cenários postulados para explicar o padrão filogeográfico de *D. sublineatus*.

3.3 FORMAS ALTO-MONTANAS DO GÊNERO *OXYMYCTERUS* NA MATA ATLÂNTICA

3.3.1. INTRODUÇÃO

O gênero *Oxymycterus* reúne roedores sigmodontíneos de tamanho médio, facilmente reconhecidos pelo focinho longo e com grande mobilidade, garras desenvolvidas e olhos reduzidos (Hinojosa P., Anderson & Patton, 1987; Hershkovitz, 1994). A forma do corpo e do

rosto da maior parte das espécies do gênero sugere um modo de vida fossório, mas nenhuma das observações sobre a história natural destes animais mencionam construção ou habitação de sistema de túneis (Herskovitz, 1994). Mais de 70% da dieta das espécies é baseada em artrópodos que habitam o folhiço (Borchert & Hansen, 1983; Redford, 1984), um hábito alimentar seguido de modificações morfológicas notáveis, tais como o estômago discoglandular com concentração do epitélio glandular em um divertículo inferior conectado ao lúmen estomacal por uma pequena abertura (Carleton, 1973). O gênero apresenta distribuição ampla na América do Sul, ocorrendo na maior parte dos ecossistemas tropicais situados entre as latitudes médias, do sul do rio Amazonas ao norte da Patagônia (Herskovitz, 1994), especialmente em habitats úmidos com vasta e densa cobertura herbácea (Borchert & Hansen, 1983). Estes habitats incluem os elevados páramos e florestas alto-montanas das encostas orientais dos Andes, as formações campestres do centro da América do Sul, e os campos de altitude na costa atlântica.

Como esperado a partir de sua amplitude geográfica, *Oxymycterus* constitui a segunda maior irradiação da tribo Akodontini, superada somente pelo gênero *Akodon*. Cerca de 16 espécies são reconhecidas por (Musser & Carleton, 2005), mas aproximadamente 25 formas nominais encontram-se descritas, sugerindo uma maior diversidade de espécies no gênero. Como tantos outros gêneros de sigmodontíneos, as questões taxonômicas fundamentais em *Oxymycterus* giram em torno do reconhecimento dos limites interespecíficos, da associação das formas nominais previamente descritas às amostras recentes e das inferências sobre a evolução e biogeografia do grupo na América do Sul. Estas questões são complicadas em *Oxymycterus* devido ao conservadorismo cariotípico exibido pelas espécies analisadas até o momento (Kajon *et al.* 1984; Vitullo *et al.* 1986), o que inibe o uso de caracteres citogenéticos para o delineamento de espécies. A fragilidade de algumas descrições originais e as escassas amostras

oriundas de localidades-tipo dificultam também a interpretação taxonômica da variabilidade morfológica do gênero e identificação de amostras recentes.

As revisões mais recentes e mais abrangentes do gênero (Hershkovitz, 1994; Oliveira, 1998a) têm enfatizado o reconhecimento de agrupamentos informais de espécies, mas diferem com relação à delimitação morfológica e geográfica destes grupos. Hershkovitz (1994) postulou duas divisões geográficas no gênero, uma andina e outra atlântica, e subdividiu cada uma destas em três classes de tamanho (grande, médio e pequeno) com base em medidas do pé, crânio e série molar das séries-tipo e amostras selecionadas das formas nominais descritas. Entretanto, como ressaltado pelo próprio Hershkovitz, conclusões taxonômicas mais definitivas sobre o relacionamento e validade de algumas formas não foram possíveis naquele momento devido ao escasso material disponível, apesar de algumas sugestões de sinônimos para formas atlânticas já terem sido adiantadas. Oliveira (1998), por outro lado, analisando séries-tipo e amostras maiores e com melhor cobertura geográfica, delimitou 10 grupos de espécies morfológica e geograficamente coesos e associou 22 das 23 formas nominais disponíveis a estes grupos. Oliveira (1998) ainda reconheceu uma maior diversidade de espécies no gênero, propondo 5 novas espécies para representar populações da costa atlântica com morfótipos diferenciados. De qualquer modo, os limites geográficos e morfológicos de algumas formas e a estrutura taxonômica dos grupos de espécies propostos permaneceram por serem testados com amostras e métodos complementares, e de forma similar à Hershkovitz (1994), nenhuma proposição taxonômica foi oficializada. Estas questões têm sido exploradas e aprofundadas em trabalhos mais recentes com análises integradas da variabilidade morfológica e genética que têm corroborado a estrutura dos grupos de espécies *rufus* e *dasytrichus* (Gonçalves & Oliveira, 2004)

além de revelar um número crescente de novas espécies (Bonvicino, Penna-Firme & Seuánez, 1998); (Hoffmann, Lessa & Smith, 2002).

Neste contexto, as investigações dos mamíferos das zonas alto-montanas da Mata Atlântica provocaram um importante impacto na compreensão da diversidade de *Oxymycterus*. Hershkovitz (1998), com base em material obtido no maciço do Caparaó e região serrana do sudeste brasileiro, descreveu uma diversidade notável de táxons, incluindo uma nova espécie (*O. caparaoe*) e um novo gênero (*Brucepattersonius*) que antes continha formas relacionadas a *O. iheringi*. Hershkovitz (1998) ainda destacou que a forma endêmica do Caparaó apresentaria maiores afinidades com *O. nasutus*, uma espécie amplamente distribuída pelas estepes e campos sulinos do Brasil e Uruguai. Ao mesmo tempo, Oliveira (1998) analisando populações alto-montanas (>2000m) do maciço do Itatiaia e serra do Mar identificou uma forma morfológicamente distinta (*Oxymycterus* sp.) distribuída pela cordilheira meridional da Mantiqueira alocando-a provisoriamente ao grupo *nasutus*. A integração das visões de Hershkovitz (1994, 1998) e Oliveira (1998) sobre a estrutura taxonômica e distribuição do grupo *nasutus* é apresentada na Figura 3.32, onde fica aparente a disjunção geográfica das formas montanas da serra do Mar e da Mantiqueira em relação às populações sulinas de *O. nasutus*. A consistência desse grupo, entretanto, não foi até o momento avaliada por outros conjuntos de caracteres ou por uma nova análise da variabilidade morfológica das populações com melhores amostras. A abordagem filogenética molecular mais recente do gênero (Hoffman et al., 2002) não inclui as formas alto-montanas endêmicas do grupo *nasutus*, representado nas análises apenas por amostras topotípicas de *O. nasutus* do Uruguai. Conseqüentemente, os relacionamentos de populações dos grandes maciços da Mata Atlântica com outras espécies e grupos de espécies de *Oxymycterus* permanecem pouco conhecidos.

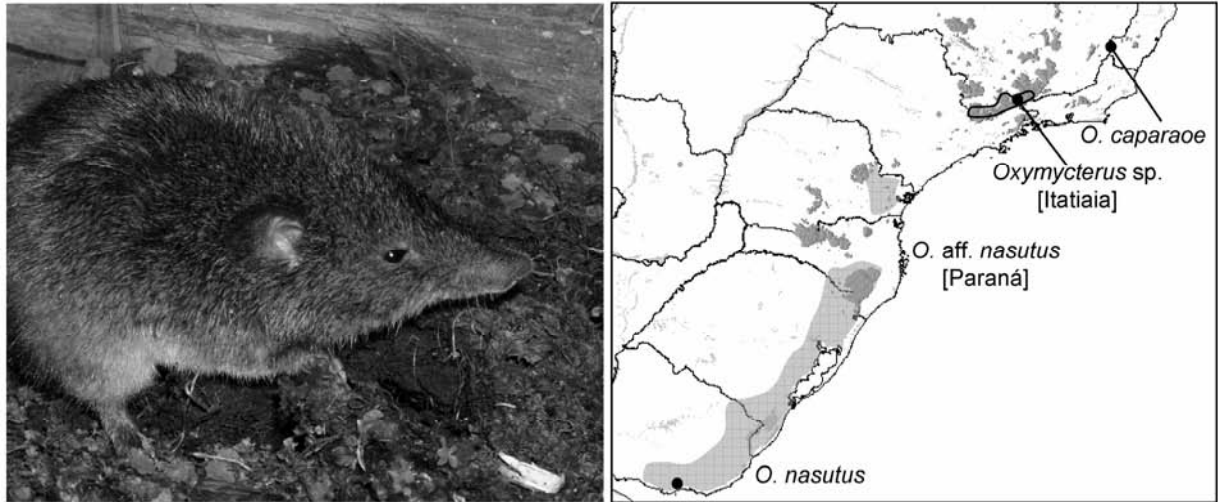


Figura 3.32. (a) Exemplar de *Oxymycterus caparaoe* do Terreirão (2500m), Parque Nacional do Caparaó, e (b) distribuição do grupo *nasutus* integrando as visões de Oliveira (1998) e Hershkovitz (1998).

Nesta seção, os relacionamentos filogenéticos e status das formas atlânticas endêmicas das zonas alto-montanas são revisados. As alocações das formas alto-montanas do Caparaó e Itatiaia aos grupos de espécies dentro de *Oxymycterus* são avaliadas a partir das genealogias mitocondrial (citocromo *b*) e nuclear (íntron 7 do beta-fibrinogênio). Os padrões de variabilidade genética e morfológica dos grupos de espécies que incluem formas alto-montanas são então analisados de modo que a consistência destes grupos possa ser avaliada de uma maneira integrada. A concordância entre os padrões de variação fenotípica e genética é interpretada no contexto dos processos evolutivos subjacentes ao modo de diversificação envolvendo as formas serranas do gênero.

3.3.2. AMOSTRAS

Foram reunidas amostras de 120 localidades totalizando 813 espécimes-testemunho morfológicamente examinados (Tabela 3.9). As amostras foram alocadas a 17 unidades taxonômicas operacionais que são em boa parte equivalentes às espécies definidas por Oliveira (1998). Na maior parte dos casos, as amostras foram identificadas seguindo as definições morfológicas e geográficas de Oliveira (Oliveira, 1998a), sendo que algumas amostras incluíram espécimes ou localidades já examinadas naquele trabalho, o que facilitou a identificação dos exemplares. As amostras com alocação taxonômica duvidosa (*incertae sedis*) incluíram as populações montanas do Itatiaia e populações dos estados de São Paulo e Minas Gerais possivelmente associadas ao grupo *delator* (figura 3.33), tratadas respectivamente como *Oxymycterus* sp. e *Oxymycterus* aff. *delator* (Tabela 3.9, figura 3.33). A variabilidade e o nível de diferenciação destas formas, bem como seu relacionamento às demais espécies do gênero, foram avaliados posteriormente nas análises moleculares de sequências do citocromo *b* e em análises da variação morfológica dentro do grupo *delator*. As populações do estado do Paraná alocadas ao grupo *nasutus* (identificadas como *O. aff. nasutus* na figura 3.32) foram tratadas *a priori* como *O. nasutus*. Da mesma forma que as amostras consideradas *incertae sedis*, estas populações mais setentrionais de *O. nasutus* tiveram seu status taxonômico revisado em análises mais refinadas dentro do grupo *nasutus*.

Sequências do citocromo *b* foram obtidas para 122 exemplares de 46 localidades, representando 13 das 17 unidades taxonômicas consideradas neste trabalho (Tabela 3.9). Dentre estes, apenas 27 tiveram sequências restritas aos primeiros 801pb, enquanto os demais exemplares analisados foram representados por sequências completas do *cytb* (1140pb).

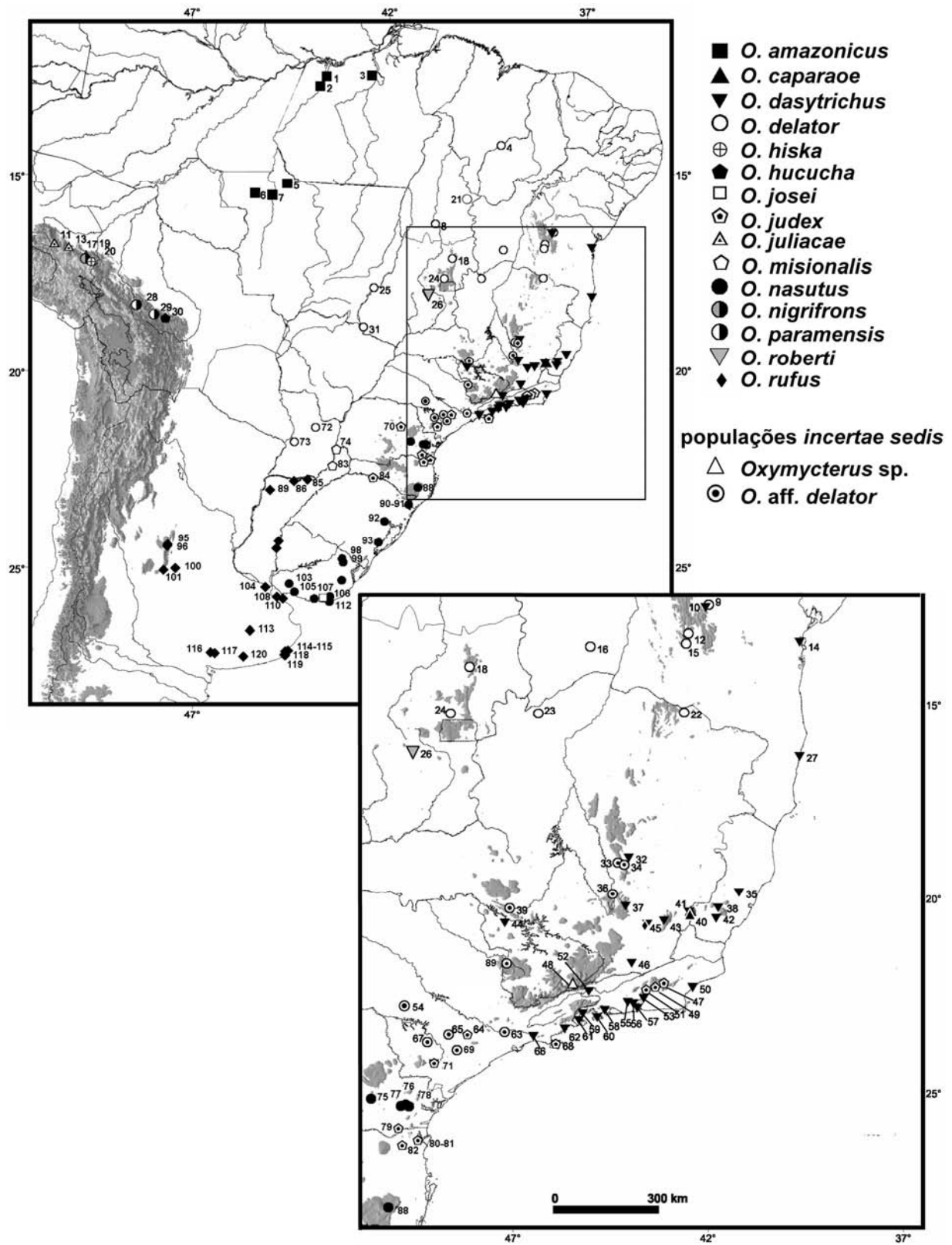


Figura 3.33. Amostras das espécies de *Oxymycterus* utilizadas nas análises morfológicas e/ou moleculares. Números correspondem às localidades relacionadas na Tabela 3.9.

Tabela 3.9. Espécies, localidades das amostras e número de espécimes do gênero *Oxymycterus* analisados para cada conjunto de caracteres. Número entre parênteses refere-se às localidades mapeadas na Figura 3.33. O arranjo de grupos de espécies e a identificação das amostras analisadas seguem Oliveira (1998), exceto quando mencionado.

Táxons	Localidades	Morf.	cytb	fgb17
<i>O. amazonicus</i>	BRASIL: (1) Tauari, rio Tapajós, PA; (2) Fordlândia, rio Tapajós, PA; (3) Cachoeira do Espelho, rio Xingú, PA; (5) Apiacás, MT; (6) Aripuanã, MT; (7) Juruena, MT.	16	10	9
<i>O. delator</i>	BRASIL: (4) Estação Ecológica de Urucui-Una, PI; (8) Peixe, TO; (9) Chapada Diamantina Lençóis, BA; (12) Mata do Tijuquinho, Abaíra, Chapada Diamantina, BA; (15) Rio de Contas, BA; (16) Fazenda Sertão Formoso, Cocos, BA; (18) Parque Nacional Chapada dos Veadeiros, GO; (21) Estação Ecológica Serra Geral do Tocantins, Ponte Alta do Tocantins, TO; (22) São João do Paraíso, MG; (23) Parque Nacional Grande Sertão Veredas, MG; (24) Parque Nacional de Brasília, DF; (25) Barra do Garças, MT; (31) Fazenda Mutum, Parque Nacional das Emas, GO/MS; PARAGUAI: (72) Curuguaty, Canendiyu; (73) 1.6km S Tobati, Cordillera.	125	36	32
<i>O. aff. delator</i>	BRASIL: (33) Cardeal, Santana do Riacho, MG; (34) Serra do Cipó, MG; (36) APE Mutuca (COPASA), Nova Lima, MG; (39) serra da Canastra, MG; (54) Estação Ecológica Santa Bárbara SP; (63) Butantan, São Paulo, SP; (65) Itapetininga, SP; (67) Buri, SP; (69) Paranapiacaba, SP; (87) Poços de Caldas, Morro do Ferro, MG (1200m)	16	2	2
<i>O. dasytrichus</i>	BRASIL: (10) Geraes da Fumaça, Chapada Diamantina, Palmeiras, BA; (14) Fazenda Subauma, Cairu, BA; (27) Reserva Biológica Pau Brasil, BA; (32) Conceição do Mato Dentro, MG; (35) Santa Teresa, ES; (37) Ouro Preto, MG; (38) Venda Nova do Imigrante, ES; (41) Fazenda Cardoso, 900m, serra do Caparaó, MG; (42) Castelo, ES; (43) Fazenda Neblina, Parque Estadual Serra do Brigadeiro, Fervedouro/Araponga, MG; (44) Passos, MG; (45) Viçosa, MG, Brasil; (46) Juiz de Fora, MG; (50) Macaé, RJ; (52) Resende, RJ; (53) Centro de Primatologia do Rio de Janeiro, Magé, RJ; (55) Nova Iguaçu, RJ; (56) Duque de Caxias, RJ; (57) Gávea, Rio de Janeiro, RJ; (58) Mangaratiba, RJ; (59) Tarituba, RJ; (60) Ilha Grande, Angra dos Reis, RJ; (61) Parati, RJ; (62) Ubatuba, SP; (66) Estação Biológica Boracéia, SP; (68) Ilha de São Sebastião, SP; (71) Fazenda Intervalles, (base do Carmo), Capão Bonito, SP (700m)	166	10	—
<i>O. roberti</i>	BRASIL: (26) Anápolis, GO	12	—	—
<i>O. judex</i>	BRASIL: (47) Conquista, Nova Friburgo, RJ; (49) Vale das Antas, PARNA Serra dos Órgãos, Teresópolis, RJ; (51) Teresópolis, RJ; (64) Salto de Pirapora, Bairro da Ilha, SP; (68) Ilha de São Sebastião, SP; (70) Telêmaco Borba, Paraná; (71) Fazenda Intervalles, (base do Carmo), Capão Bonito, SP, (700m); (79) Fazenda Panagro, Lagoinha, Tijucas do Sul, PR; (80) Joinville, SC; (81) Salto Pirai, Joinville, SC (120m); (82) Corupá, SC; (84) Aratiba, RS; (88) Parque Nac. São Joaquim, Urubici, SC; (94) Parque Nacional de Serra Geral, Cambará do Sul, RS	59	18	17

Tabela 3.9 (continuação).

Táxons	Localidades	Morf.	<i>cytb</i>	<i>fgb17</i>
<i>O. misionalis</i>	ARGENTINA: (74) Puerto Aguirre, junção do rio Iguacú, Misiones; (83) Caraguatay, Rio Paraná, Misiones	9	—	—
<i>O. nasutus</i>	BRASIL: (75) Parque Estadual Vila Velha, Ponta Grossa, PR (1000m); (76) Estação Ecológica Canguiri, Piraquara, PR (900m); (77) Reserva Biológica do Cambuí, ADEA, Curitiba, PR; (78) Mananciais da Serra, Piraquara, serra do Mar, PR (1200-1300m); (88) Parque Nacional São Joaquim, Urubici, SC; (90) Cambará do Sul, RS; (91) Parque Nacional de Serra Geral, Cambará do Sul, RS; (92) Eldorado do Sul, Charqueadas, RS; (93) São Lourenço, RS. URUGUAI: (98) 6km SE Melo, Cerro Largo; (99) 20km SE Melo, Cerro Largo; (102) 22km SE Lascano, Rocha; (103) 3km E Cardona, Soriano; (105) Ecilda, San Jose; (106) San Carlos, Maldonado; (107) Las Flores, Maldonado; (109) Arroyo Tropa Vieja, 36km E Montevideo, Canelones; (111) El Peñasco, Maldonado; (112) 9km SE Punta del Este, Barra del Arroyo Maldonado, Maldonado.	148	16	14
<i>O. rufus</i>	ARGENTINA: (80) Santa Tecla, Ituzaingó, Corrientes, Argentina; (81) San Juan Poriahu, San Miguel, Corrientes; (84) Yacyretá, Saladas, Corrientes; (93) Yuqueri, Entre Rios; (94) Pampa de Achala, Calamuchita, Córdoba; (95) Pampa de Achala, 14km E Cura Brochero, Cordoba; (96) Parque Nacional El Palmar, Entre Rios; (99) Rio Cuarto, Córdoba; (100) Villa del Carmen, San Luis; (103) Otamendi, Parana Delta, Buenos Aires; (108) Berazategui, Buenos Aires; (110) Ensenada, Buenos Aires; (113) 25km S Azul, 1000ft, Buenos Aires; (114) Arroyo de las Corrientes, Buenos Aires; (115) Chapadmalal, Buenos Aires; (116) Abra de la Ventana, Tornquist, Buenos Aires; (117) Sierra de la Ventana, Buenos Aires; (118) Arroyo Brusquitas, Buenos Aires; (119) Miramar, Buenos Aires; (120) Arroyo Seco, Buenos Aires.	194	8	—
<i>O. josei</i> ^b	URUGUAI: (111) Las Flores, Maldonado	3	2	—
<i>O. juliacae</i>	PERU: (11) Cosñipata, Villa Carmen, Cuzco; (13) Marcapata, Cuzco; (17) Segrario, Puno	8	—	—
<i>O. hiska</i>	PERU: (20) 14km W Yanahuaga, Puno (2210m)	3	1	—
<i>O. nigrifrons</i>	PERU: (19) Limbani, Puno.	8	—	—
<i>O. paramensis</i>	BOLÍVIA: (28) Ayopaca, Choro, Cochabamba, Bolívia; (29) Tirague, Cochabamba.	10	1	—
<i>O. hucucha</i>	BOLÍVIA: (30) Totorá, Cochabamba	1	—	—
TOTAL		813	122	79

a — topótipos e série-tipo

b — topótipos sequenciados e mencionados na descrição de Hoffman *et al.* (2002)

As análises filogenéticas do *cytb* foram realizadas com a inclusão de *Sigmodon alstoni*, *Blarinomys breviceps* e *Brucepattersonius soricinus* como grupos externos. Haplótipos idênticos

foram representados somente por um indivíduo na matriz submetida às análises filogenéticas. A matriz final conteve portanto 80 táxons terminais com 1140 caracteres, totalizando 91200 células. Dentre estas, 9253 células (10% dos dados) apresentaram dados ausentes representando na maior parte indivíduos com apenas 801pb do *cytb* sequenciados.

Os dados de sequência para o *fgbI7* tiveram uma cobertura taxonômica menor, sendo restritas a 79 exemplares representando *Oxymycterus amazonicus*, *O. caparaoe*, *O. delator*, *O. aff. delator*, *O. judex*, *O. nasutus*, *O. aff. nasutus*, e *Oxymycterus* sp. Além das espécies de *Oxymycterus*, foram incluídas nas análises filogenéticas sequências de representantes dos gêneros *Akodon* (*A. montensis*), *Necromys* (*N. lasiurus*), *Deltamys* (*Deltamys* sp.), *Juliomys* (*J. pictipes*), *Delomys* (*D. dorsalis*) e *Sigmodon* (*S. alstoni*), que foram utilizados como grupos externos nas análises filogenéticas. Os alinhamentos das sequências destes táxons resultaram em um segmento de 720 sítios. Como nas análises filogenéticas do *cytb*, cada haplótipo foi representado por somente um indivíduo, compondo uma matriz de 63 táxons terminais submetida às análises filogenéticas.

3.3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.3.1 Inferência filogenética

Citocromo b

Dos 1140 caracteres fornecidos pelas sequências do *cytb*, 323 se mostraram filogeneticamente informativos. As buscas utilizando o procedimento *ratchet* resultaram em 881 árvores igualmente parcimoniosas de 1216 passos. As análises excluindo os caracteres ausentes e reduzindo o segmento analisado para 801pb (214 caracteres informativos) revelaram um número maior de árvores (905) parcimoniosas com 833 passos. A topologia consensual do conjunto de

árvores obtido nas análises de 801pb se mostrou melhor resolvida do que o consenso entre as 881 árvores estimadas a partir de 1140pb. Na topologia consensual obtida a partir de todos os caracteres, o gênero *Oxymycterus* é representado como uma grande politomia basal e várias relações dúbias são aparentes em diferentes porções da árvore, principalmente em clados contendo sequências com somente 801pb. Portanto, as inferências filogenéticas foram restritas à topologia representada na Figura 3.34, a qual foi obtida em análises com a matriz mais completa de 801 caracteres. As análises de verossimilhança também foram conduzidas a partir da matriz 801pb, evitando a inclusão de dados ausentes, e revelaram duas topologias bastante similares ao consenso estrito das 905 árvores parcimoniosas.

Os grupos de espécies delineados por Oliveira (1998) foram mapeados no cladograma possibilitando uma avaliação direta das suas correspondências com a genealogia mitocondrial. Os resultados prontamente revelaram que as duas formas alto-montanas, *Oxymycterus caparaoe* e *Oxymycterus* sp., não são filogeneticamente próximas e encontram-se associadas aos grupos *nasutus* e *delator* que ocupam posições bem distantes na árvore (Figura 3.34). Dentro do grupo *nasutus*, *O. caparaoe* apresenta-se reciprocamente monofilética em relação a um clado bem suportado contendo populações da serra do Mar do Paraná e dos campos sulinos do Brasil e Uruguai, incluindo topótipos de *O. nasutus*. O grupo *nasutus* reúne, portanto, dois clados geograficamente descontínuos e moderadamente diferenciados entre si, com níveis 4.5% e 3.6% de diferença em sequência. A diferenciação interna destas duas linhagens contudo não ultrapassa 2.2%, mesmo no caso de *O. nasutus*, onde as populações estão dispersas por uma extensão

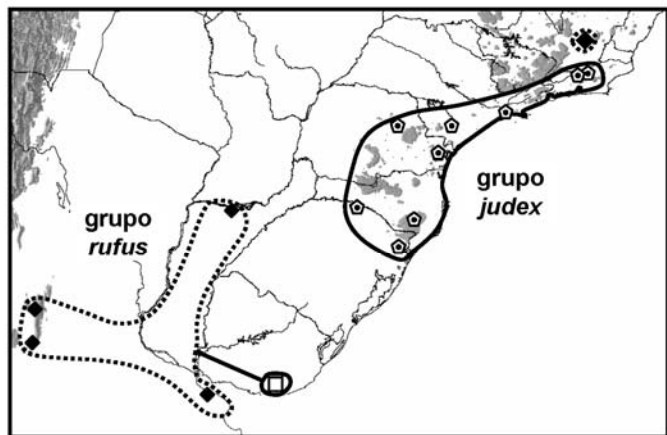
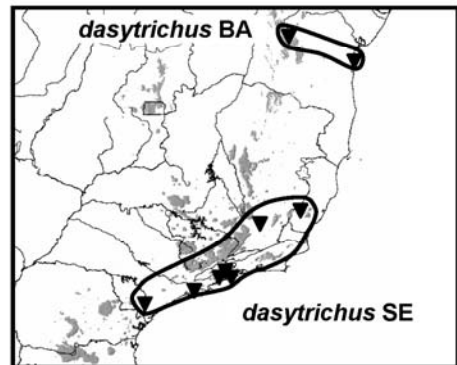
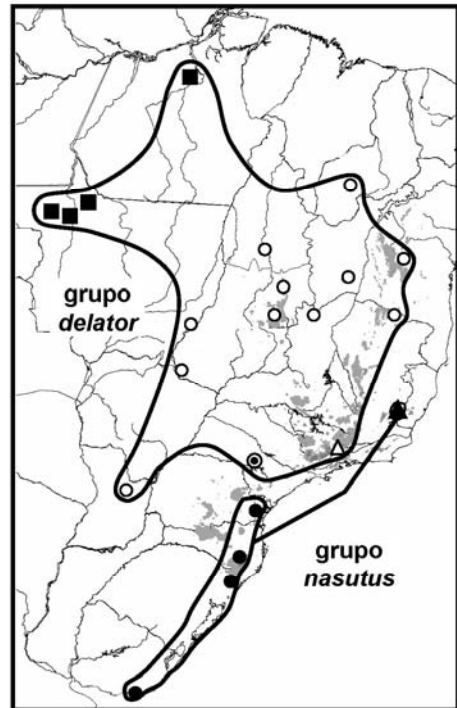
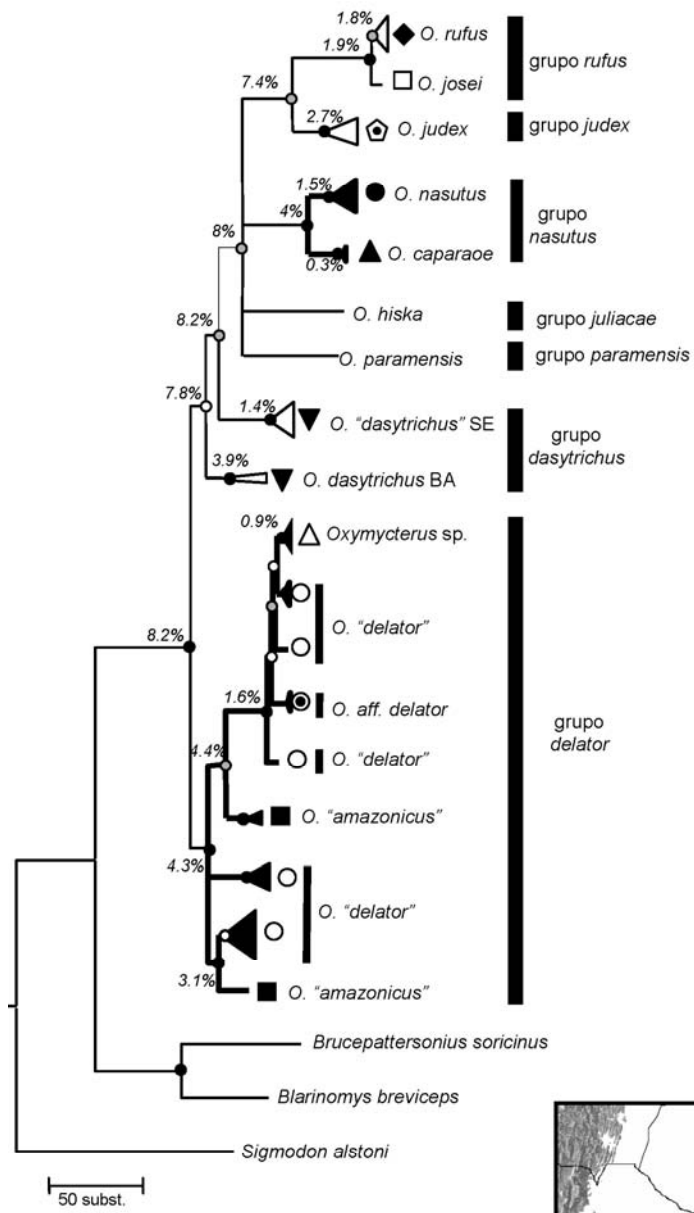


Figura 3.34. Relacionamentos filogenéticos de *Oxymycterus caparaoe* e de *Oxymycterus* sp. inferidos pelas a partir das sequências de 801pb do citocromo *b*. (A) Topologia de consenso estrito de 905 árvores igualmente parcimoniosas de 833 passos (214 caracteres filogeneticamente informativos, CI 0.48, RI 0.84); valores próximos aos nós equivalem à divergência genética média entre linhagens irmãs estimada a partir de 1140pb e expressa em percentagem de sítios diferentes em relação à sequência total; clados destacados em negrito representam grupos de espécies que incluem as formas alto-montanas de *Oxymycterus* da Mata Atlântica. (B) Distribuições de alguns clados reunindo populações geneticamente analisadas do leste do Brasil conforme sugerido pelas genealogias do citocromo *b*.

geográfica moderada. A variação entre haplótipos de *O. caparaoe* é mínima não ultrapassando 0.5%.

A forma do Itatiaia, *Oxymycterus* sp., ao contrário das predições de Oliveira (1998), apresentou-se inserida dentro do grupo *delator* que se revelou como um clado taxonomicamente heterogêneo, contendo tanto populações referidas a *O. amazonicus* do domínio amazônico como representantes de *O. delator* e *O. aff. delator* do Cerrado das regiões central, leste e sudeste do Brasil (Figura 3.34). *Oxymycterus* sp. revelou-se como um grupo monofilético bem suportado, com diferenciação genética interna mínima (0.9% em média), ao contrário das demais amostras anteriormente incluídas no grupo cujos limites atualmente compreendidos não correspondem a clados mitocondriais monofiléticos. As populações de *O. amazonicus* encontram-se distribuídas em duas linhagens que apresentam relacionamentos mais próximos com populações de *O. delator* do planalto central do que entre si. Da mesma forma, populações identificadas como pertencentes a *O. delator* nunca formam um grupo monofilético, encontrando-se dispersas por vários ramos do grupo *delator* que têm *Oxymycterus* sp. ou linhagens de *O. amazonicus* como clados mais próximos. A divergência média entre haplótipos dentro do grupo *delator* varia de 0 a 5.9% de diferença em sequência, algumas vezes superando o nível de diferenciação visto no grupo *nasutus* entre *O. caparaoe* e *O. nasutus*. As formas incluídas no clado *delator* foram consideradas

por Oliveira (1998) como pertencentes a três grupos de espécies distintos (*amazonicus*, *delator* e *nasutus* parte) indicando uma diversidade morfológica moderada para essa linhagem mitocondrial referida aqui como grupo *delator*, e uma certa incongruência com os limites morfológicos anteriormente definidos, temas que serão tratados mais adiante.

Alguns outros grupos de espécies tiveram melhor correspondência com os clados mitocondriais. O grupo *rufus*, segundo as análises filogenéticas do *cytb*, inclui populações com distribuição quase contígua na região nordeste da Argentina e representantes isolados no leste do Brasil (veja Gonçalves & Oliveira, 2004) e sul do Uruguai (*O. josei*; Hoffman et al., 2002). A diferenciação genética dentro deste grupo é relativamente reduzida (1.5%, o que dificulta a reconstrução precisa das relações entre seus membros. As análises de parcimônia revelam as populações argentinas e brasileira em um clado monofilético, mas sem suporte estatístico, sugerindo que *O. josei* esteja tão proximamente relacionado às populações argentinas quanto a população brasileira. Contudo, conforme discutido em Gonçalves & Oliveira (2004), os padrões de variação morfológica até o momento permitem o reconhecimento de apenas duas espécies no grupo, *O. rufus* e *O. josei*. O grupo *judex* aparece representado nas análises moleculares exclusivamente por *O. judex*, uma espécie distribuída pelas florestas ombrófilas serranas e costeiras de São Paulo e Rio de Janeiro e que chega ao interior da Mata Atlântica pelo planalto meridional nos estados do Paraná e Santa Catarina. A diferenciação entre populações desta espécie varia entre 1% e 3.3% de diferença em sequência, incluindo populações de Teresópolis, Rio de Janeiro, referidas por Oliveira (1998) a *O. quaestor*. *Oxymycterus misionalis*, restrita à Mata Atlântica da província de Misiones, Argentina, não foi representada nas análises moleculares, mas também constitui uma forma nominal incluída no grupo *judex* segundo Oliveira (1998).

Oliveira (1998) tratou as formas nominais *O. dasytrichus*, *O. roberti*, *O. hispidus* dentro do grupo de espécies *dasytrichus*, constituído por populações distribuídas ao longo de boa parte da Mata Atlântica, incluindo até mesmo algumas populações de enclaves de florestas semidecíduais inseridos no Cerrado. As análises filogenéticas mostram que as populações do leste do Brasil identificadas como *O. dasytrichus* em Oliveira (1998) e Gonçalves & Oliveira (2004) constituem na verdade dois clados geograficamente e filogeneticamente descontínuos. O primeiro clado, mais setentrional, inclui um exemplar coletado próximo da localidade tipo de *Mus dosytrichos* Schinz, 1821 (Camamú, Bahia) e outro obtido nos altiplanos úmidos da Chapada Diamantina no centro da Bahia, uma área fisionomicamente complexa e cercada por domínios mais secos como o Cerrado e a Caatinga. A divergência entre as duas amostras da Bahia é moderada (3.9%), sendo que a ausência de amostras geograficamente intermediárias sugere que a população da Chapada Diamantina seja relictual. A consistência deste padrão de distribuição fica evidentemente dependente de uma maior amostragem de populações de *Oxymycterus* na região leste da Bahia. Segundo Oliveira (1998), *O. hispidus* Pictet, 1843, a outra forma nominal disponível para amostras da Bahia, estaria restrita exclusivamente ao hipodigma de Pictet (Pictet, 1843). A eventual relação desta forma nominal com amostras atuais e com *O. dasytrichus* também depende de uma melhor compreensão da distribuição do gênero no estado.

O segundo clado, que também contém amostras identificadas como *O. dasytrichus* por Oliveira (1998) e Gonçalves & Oliveira (2004), reúne populações do sudeste do Brasil e apresenta níveis de divergência bem menores entre suas populações em comparação ao clado da Bahia. Gonçalves & Oliveira (2004) ressaltaram a diferenciação deste grupo em relação à amostra da Bahia e os arranjos obtidos nas análises filogenéticas de *cytb* sugerem a presença de duas espécies. Devido à maior proximidade da localidade-tipo, *O. dasytrichus* ficaria restrita ao

clado da Bahia enquanto o clado de populações do sudeste necessitaria de um outro nome. De qualquer modo, a taxonomia deste clado sudeste depende do esclarecimento de suas relações com *O. roberti*, uma terceira forma nominal associada ao grupo *dasytrichus* e aparentemente restrita a enclaves de Mata Atlântica no extremo sudoeste de Minas Gerais (Oliveira, 1998). A inclusão de representantes desta forma interiorana do grupo *dasytrichus* nas análises moleculares seria essencial para decidir entre a aplicação de *O. roberti* a populações do sudeste brasileiro ou a descrição de um novo nome.

Os grupos andinos *juliacae* e *paramensis* foram representados por sequências únicas de *O. paramensis* e *O. hiska* e uma melhor apreciação da variação genética destes grupos não é possível a partir de uma amostragem tão reduzida. Estas duas linhagens divergem entre si por 6.8% e suas relações não puderam ser resolvidas com precisão a partir dos 801pb de *cytb*. Entretanto, nas análises de 1140pb, as duas espécies aparecem como irmãs, embora com suporte de *bootstrap* fraco (51%). À despeito da proximidade entre as duas formas andinas, a sugestão de Hershkovitz (1994) de que os grupos de espécies de *Oxymycterus* estariam organizados em duas divisões geográficas não é correspondida pelas genealogias mitocondriais, já que os grupos de espécies atlânticos e andinos não se encontram organizados em dois clados principais dentro do gênero. As relações entre os grupos de espécies de *Oxymycterus* não são completamente resolvidas pelas análises do *cytb*, que ainda revela vários clados supraespecíficos com pouco suporte estatístico. De qualquer modo, as topologias de consenso nas análises de 801pb e 1140pb sempre mostram os grupos *rufus* e *judex* como mais relacionados entre si, formando um dos clados melhor suportados neste nível taxonômico. A posição mais basal do grupo *delator* também é sugerida pela topologia consensual, mas a falta de suporte estatístico do clado reunindo *O.*

dasytrichus e as demais formas de *Oxymycterus* não permite uma inferência mais precisa sobre a raiz da diversificação no gênero.

Hershkovitz (1994) propôs que as espécies de *Oxymycterus* ter-se-iam diversificado a partir de um ancestral que teria habitado a porção mais meridional da distribuição atual do gênero. Este cenário dispersionista foi sustentado na época pela observação de que as distribuições das duas divisões geográficas do gênero estariam mais próximas entre si na porção meridional da extensão do gênero, onde conseqüentemente um maior número de espécies era aparente. Entretanto, tanto o reconhecimento de maior diversidade em outras regiões da América do Sul (Hershkovitz, 1998; Hoffman et al., 2002), quanto a falta de monofilia de divisões geográficas andina e atlântica, não suportam o cenário proposto por Hershkovitz (1994). Assumindo o posicionamento basal do grupo *delator* em relação aos demais grupos de espécies a discussão sobre a diversificação inicial do gênero fica voltada para a disjunção entre o Cerrado e as demais fisionomias campestres da América do Sul. As espécies andinas poderiam neste contexto representar múltiplas invasões das encostas e altiplanos andinos. A proposição de um modelo biogeográfico mais geral para o gênero *Oxymycterus* depende contudo da melhor resolução do posicionamento de várias linhagens do leste da América do Sul, bem como uma maior amostragem das formas andinas representadas aqui somente por duas espécies.

Íntron 7 beta-fibrinogênio

Dentre os 720 caracteres fornecidos pelo íntron 7 do beta-fibrinogênio, apenas 122 se mostraram variáveis, dos quais 80 foram filogeneticamente informativos sob o critério de parcimônia. Ao contrário das análises nos gêneros *Akodon* e *Delomys*, um número de alelos (52)

bem menor do que o de indivíduos (79) foi revelado em *Oxymycterus*, evidenciando menor variabilidade para este marcador. Nos dois primeiros gêneros os números de haplótipos sempre ultrapassaram o número de indivíduos sequenciados, com uma proporção de heterozigotos concomitantemente alta. Em *Oxymycterus*, apenas 50% (40) dos 79 indivíduos sequenciados se mostraram heterozigotos. As buscas de *ratchet* resultaram em 313 árvores igualmente parcimoniosas de 263 passos e o consenso destas topologias é mostrado na Figura 3.35. A topologia consensual não evidenciou uma boa resolução de relacionamentos intragenéricos em *Oxymycterus*, sendo que o gênero foi representado como um grande politomia basal. Alguns clados melhor suportados contudo podem ser identificados dentro do gênero, fornecendo informação sobre os relacionamentos das formas alto-montanas *Oxymycterus* sp. e *O. caparae*, ainda que os grupos *delator* e *nasutus* não tenham sido reconstruídos integralmente como unidades monofiléticas. Os haplótipos de *Oxymycterus* sp. encontram-se agrupados junto a alguns haplótipos de *O. delator* e *O. amazonicus*, assim como os alelos de *Oxymycterus caparae*, que se apresentam incluídos em um clado bem suportado composto também por alguns haplótipos de *O. nasutus*. Os demais alelos de *O. delator* e *O. nasutus* não relacionados às formas alto-montanas encontram-se espalhados pela árvore e com posição incerta. *Oxymycterus dasytrichus* foi representado nas análises por somente um indivíduo da Bahia que se revelou heterozigoto, sendo os dois alelos mais relacionados entre si do que com qualquer outro identificado no gênero. *Oxymycterus judex* foi a única espécie reportada como monofilética nas análises de *fgb17*, mas que todavia não apresenta bom suporte de *bootstrap* (68%). Com exceção dos representantes do grupo *delator* (*O. delator*, *O. amazonicus* e *Oxymycterus* sp.), espécies distintas geralmente não compartilham alelos em comum apesar de seus padrões de relacionamento raramente demonstrarem arranjos monofiléticos.

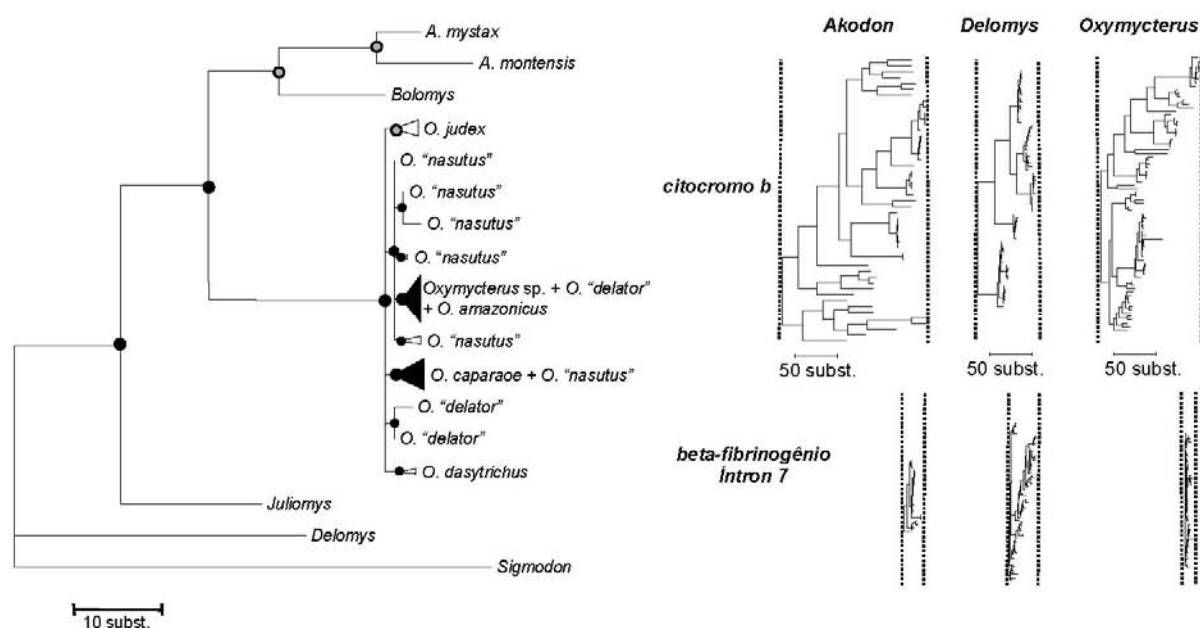


Figura 3.35. (a) Genealogia do íntron 7 do beta-fibrinogênio no gênero *Oxymycterus* ilustrando as afinidades de *Oxymycterus* sp. e *O. caparae* a *O. delator*, *O. amazonicus* e *O. nasutus*. A topologia representa o consenso de 313 árvores de 263 passos (80 caracteres filogeneticamente informativos, CI = 0.85, RI = 0.15). Cores dos nós indicam níveis de suporte de *bootstrap*: nós pretos = 100-70%, nós cinza = 69-50% e nós brancos <50%. (b) Comparações das extensões das genealogias do citocromo *b* e do íntron 7 do beta fibrinogênio nos gêneros *Akodon*, *Delomys* e *Oxymycterus*.

Os resultados sugerem que a variabilidade exibida pelo *fgbI7* em *Oxymycterus* não possui um sinal filogenético claro o suficiente para que as relações intragenéricas sejam completamente resolvidas. A baixa resolução filogenética desse gene já havia sido revelada em análises do gênero *Delomys*, mas o padrão genealógico fornecido pelo *fgbI7* em *Oxymycterus* parece ser ainda menos útil para a delimitação de grupos de espécies. Uma razão provável seria a variabilidade notavelmente mais reduzida desse gene em *Oxymycterus* do que em outros gêneros, fato que é exemplificado pelo baixo número de alelos e heterozigotos identificados em relação ao total de indivíduos sequenciados. Intrigante é o fato de que em níveis taxonômicos similares

(diversificação dentro de gêneros) a variabilidade do *fgbI7* se expresse de forma tão diferente entre linhagens. As razões para estas diferenças em variabilidade podem refletir taxas evolutivas distintas para o *fgbI7* em cada táxon ou simplesmente idades diferentes de diversificação intragenérica. Uma escolha entre estas alternativas fica dificultada sem a determinação de idades absolutas de origem e de diversificação para cada um dos gêneros em questão. É importante enfatizar, também, que estas explicações não são mutuamente exclusivas, uma vez que as diferenças nos dois parâmetros (taxas e idades) também poderiam ser responsáveis pelos padrões de variabilidade intragenérica do *fgbI7*.

As comparações dos níveis de diferenciação entre haplótipos do *cytb* nos três gêneros não são decisivas neste sentido, apesar de sugerirem uma irradiação mais rápida no gênero *Oxymycterus*. A divergência média entre espécies e grupos de espécies no gênero *Akodon* é de 13% de diferença em sequência, enquanto no gênero *Oxymycterus* linhagens em níveis taxonômicos similares diferem em 8.2% de sequência. Portanto, se o nível de diferenciação do genoma mitocondrial está relacionado com a idade de divergência entre linhagens, sugerir-se-ia que *Oxymycterus* sofreu diversificação mais recente do que *Akodon*, o que explicaria as diferenças no número relativo de alelos. Contudo, esta inferência é complicada pelo fato de que o gênero *Delomys* apresenta níveis de diferenciação entre espécies próximos aos de *Oxymycterus* (8.5%), mas ainda exibe uma variabilidade elevada para o *fgbI7*. Esta última comparação sugere que os dois táxons de mesma idade (nível de diferenciação de *cytb*) possam apresentar taxas evolutivas distintas para o *fgbI7*.

As diferenças nas taxas de diversificação entre os gêneros podem ser melhor comparadas quando as genealogias de *cytb* e *fgbI7* são representadas com seus comprimentos de ramos em uma mesma escala (Figura 3.35b). Nestas representações é possível notar que os comprimentos

das genealogias do citocromo *b* diferem substancialmente de um gênero para outro, onde *Delomys* apresenta os ramos mais curtos dentre os demais gêneros. Por outro lado, nas genealogias do *fgbI7*, *Oxymycterus* apresenta-se como uma irradiação bem mais curta do que os gêneros *Akodon* e *Delomys*, este último apresentando a diversificação genealógica mais extensa. Portanto, dependendo do marcador analisado, os gêneros aparecem como irradiações mais extensas ou mais curtas. Um gênero representado por uma genealogia mais curta na perspectiva de um marcador pode ser revelado como a genealogia mais extensa por outro marcador (e.g. *Delomys*), sem que necessariamente exista correlação entre as extensões das genealogias dos genomas mitocondrial e nuclear. Este padrão é bastante sugestivo de que não só o tempo de divergência estaria influenciando a variabilidade genética nos três gêneros, mas que as taxas de evolução dos marcadores moleculares também variam entre os táxons. Caso os tempos de diversificação diferentes representassem o único parâmetro responsável pelas diferenças taxonômicas em variabilidade, esperar-se-ia que os gêneros com diversificação mais recente sempre fossem revelados como irradiações mais curtas, independentemente do marcador utilizado. Este tópico voltará a ser discutido no capítulo 4, onde informações sobre as idades dos clados serão consideradas.

3.3.3.2 Integridade e diferenciação morfológica dos grupos *delator* e *nasutus*

A correspondência entre os padrões filogenéticos sugeridos pela genealogia do citocromo *b* e pela estrutura da variabilidade morfológica nesses dois grupos foi avaliada em uma série de comparações morfológicas envolvendo representantes das formas alto-montanas e de mais 14 espécies. Inicialmente, para visualizar os padrões mais gerais de diferenciação morfológica no

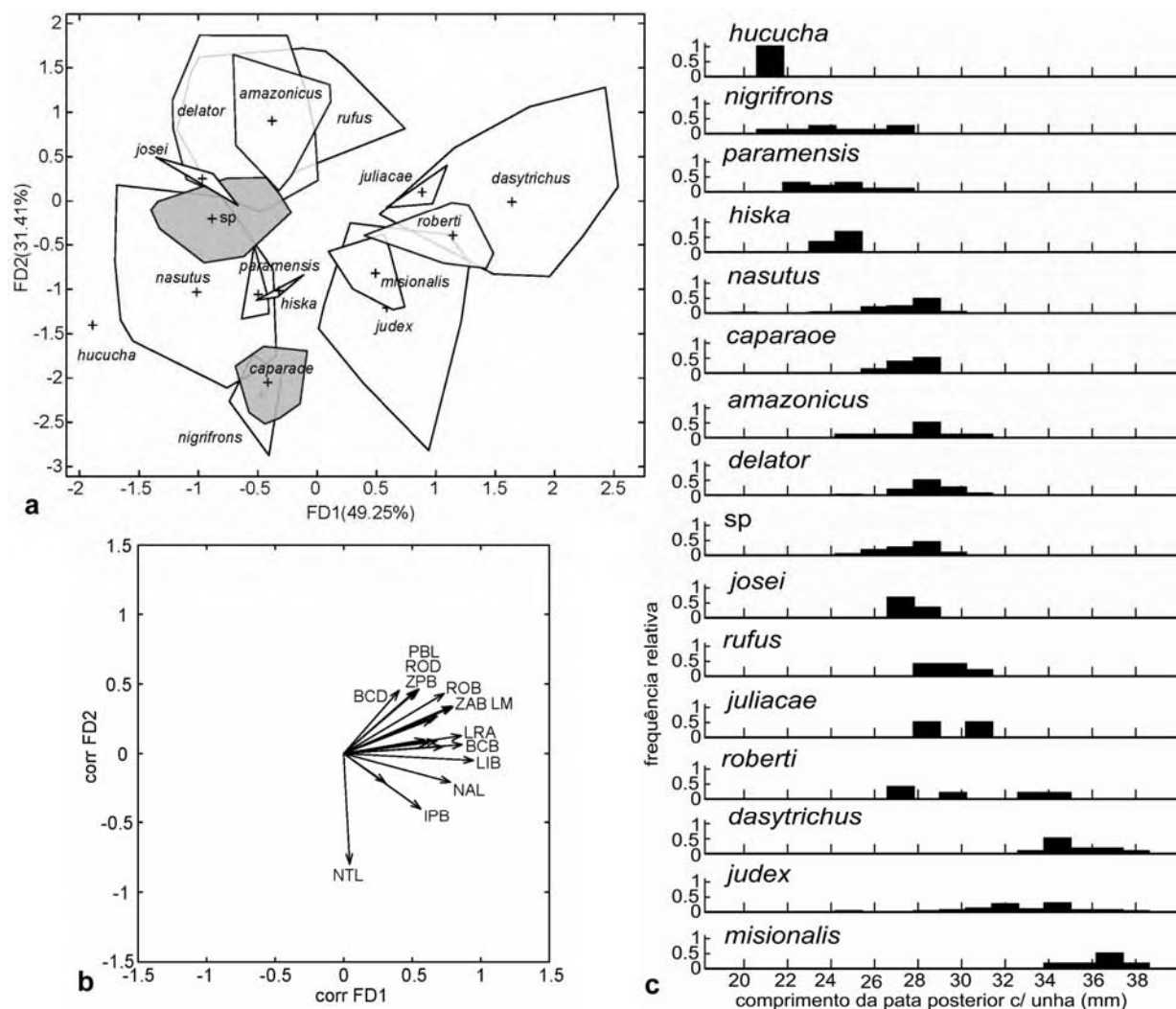


Figura 3.36. Padrão de diferenciação morfométrica das formas alto-montanas *Oxymycterus* sp. e *O. caparaoe* dentre 14 espécies do gênero *Oxymycterus*: (A) Escores individuais das espécies em relação às duas funções discriminantes (FD1 e FD2) com formas alto-montanas da Mata Atlântica destacadas em cinza; (B) vetores de correlação das variáveis craniométricas originais com funções discriminantes expressando as tendências de variação na forma e tamanho do crânio no espaço multivariado; (C) histograma ilustrando as frequências relativas dos valores de comprimento da pata posterior (incluindo a unguis) das espécies de *Oxymycterus* examinadas.

gênero e a estruturação dos grupos de espécies, uma análise discriminante de Variáveis Canônicas foi realizada incluindo adultos das 16 unidades taxonômicas consideradas nesta monografia (Tabela 3.9). Espécies contendo poucos indivíduos ($n < 5$), como *O. hiska*, *O. hucucha*

e *O. josei*, foram incluídas no espaço multivariado *a posteriori*, tendo seus escores calculados a partir das funções discriminantes estimadas na análise de amostras maiores. O único conjunto de amostras não incluído na análise foi *O. aff. delator*, cujo tratamento mais detalhado é dado em análises de variação geográfica dentro do grupo *delator*.

Os dois primeiros eixos discriminantes (FD1 e FD2) sumarizam 80.7% da variabilidade craniométrica entre espécies e revelam dois grandes conjuntos de espécies dispersos no espaço multivariado (Figura 3.36). Os vetores de correlação entre os caracteres craniométricos e as funções discriminantes sugerem o primeiro eixo como uma tendência de incremento para a maior parte dos caracteres cranianos, notavelmente aqueles relacionados à caixa craniana, região interorbital e série molar superior. O único caráter indiferente às tendências alométricas expressas pelo FD1 é o comprimento do tubo nasal (NTL), cuja variação está fortemente correlacionada com o segundo eixo discriminante. A correlação destacada deste caráter com FD2 sugere que este eixo expressaria essencialmente transformações no tubo nasal, e em menor grau, variações na profundidade da caixa craniana e larguras da placa zigomática e interparietal.

O primeiro conjunto de espécies reconhecível no espaço multivariado é formado por *O. judex*, *O. misionalis*, *O. roberti*, *O. dasytrichus* e a forma andina *O. juliacae*, espécies que apresentam os maiores crânios dentro do gênero. *Oxymycterus judex* e *O. misionalis* ainda se destacam ao longo da FD2 por apresentarem tubos nasais relativamente mais pronunciados do que as demais espécies de grande tamanho. O segundo conjunto de amostras apresenta-se caracterizado por crânios relativamente menores do que os do primeiro conjunto e reúne um maior número de espécies. As formas alto-montanas *Oxymycterus* sp. e *O. Caparaoe*, além de várias espécies andinas e atlânticas de várias partes da América do Sul, encontram-se inseridas neste conjunto de espécies. Além da maior diversidade taxonômica em relação ao grupo de

formas grandes, este conjunto possui uma maior heterogeneidade interna que pode ser notada pelo maior espectro de variação ao longo da FD2 (Figura 3.36), refletindo maior variabilidade associada à projeção do tubo nasal. *Oxymycterus delator*, *O. amazonicus*, *O. rufus* e *O. josei*, todas situadas em uma região de altos escores para FD2, destacam-se por apresentarem rostros e tubos nasais relativamente curtos em relação às demais espécies do gênero. O intervalo morfológico entre estas espécies de rostró curto e as demais formas de tamanho pequeno é preenchido por *Oxymycterus* sp. que, portanto, se apresenta intermediária para a magnitude de extensão rostral. *Oxymycterus nasutus*, *O. caparaoe* e as espécies andinas de menor tamanho (*O. hiska*, *O. paramensis*, *O. nigrifrons* e *O. hucucha*) são todas caracterizadas por tubos nasais prolongados, onde *O. nigrifrons* representa o caso extremo de prolongamento desta estrutura neste conjunto de espécies. Em termos de tamanho geral do crânio, *O. hucucha* se destaca como a menor espécie dentro do gênero, apresentando os menores escores para a FD1.

A divergência em tamanho entre os dois grandes conjuntos de espécies analisados se manifesta também em caracteres externos, especialmente no comprimento da pata posterior, uma das medidas enfatizadas por Hershkovitz (1994) nas delimitações de grupos de espécies no gênero. As espécies integrantes do conjunto de formas menores geralmente apresentam pés que variam de 22 a 30 mm de comprimento, incluindo a unguis, enquanto as formas maiores do gênero possuem pés variando de 29 a 38mm (Figura 3.36c). Os menores pés são encontrados entre as espécies andinas *O. hucucha*, *O. nigrifrons* e *O. paramensis*, enquanto os maiores são vistos em espécies orientais de grande tamanho como *O. dasytrichus* e *O. misionalis*. Grande parte das espécies de menor tamanho possui comprimentos de pata intermediários, variando entre 27 e 31mm e sobrepondo parcialmente com o intervalo de variação de algumas espécies de maior tamanho, como *O. juliacae*, *O. roberti* e *O. judex*. Portanto, apesar do comprimento da pata

posterior estar bastante correlacionado com as diferenças de tamanho craniano entre as espécies, a natureza contínua de variação deste caráter dificulta uma subdivisão discreta de classes de tamanho sem que outros caracteres sejam apreciados.

Vários pontos dos resultados das análises morfométricas se revelam concordantes com a estrutura de grupos de espécies sugerida por Oliveira (1998), especialmente para as formas maiores do gênero. Os membros do grupo *dasytrichus* (*Oxymycterus dasytrichus* e *O. roberti*), por exemplo, se mostram de fato mais similares morfometricamente entre si e bem divergentes de *O. rufus* e *O. delator*, duas formas nominais que vinham sendo tradicionalmente associadas às que foram alocadas ao grupo *dasytrichus* por Oliveira, 1998 e por Gonçalves & Oliveira, 2004. Do mesmo modo, *O. judex* e *O. misionalis* se apresentam mais similares entre si, em concordância com o grupo *judex* proposto por Oliveira, 1998 para conter *O. judex*, *O. misionalis* e *O. quaestor*, formas grandes do gênero, com rostros pronunciados. Por outro lado, alguns outros grupos de espécies não podem ser reconstituídos nas análises morfométricas com a mesma estrutura sugerida por Oliveira (1998). Este seria o caso dos grupos *nasutus* (*O. caparaoe* e *O. nasutus*), *juliaca* (*O. nigrifrons*, *O. hiska*, *O. juliaca*) e *paramensis* (*O. hucucha*, *O. paramensis*) cujos membros encontram-se dispersos em diferentes regiões do espaço multivariado, não refletindo padrões de coesão morfométrica coincidentes com sua alocação a um mesmo complexo de espécies.

As formas alto-montanas da Mata Atlântica, *Oxymycterus* sp. e *O. caparaoe*, possuem comprimento de pata posterior similares e também exibem sobreposição para os escores da FD1, mas divergem notavelmente entre si ao longo de FD2, eixo que também sumariza a divergência desta duas formas em relação às linhagens filogeneticamente mais próximas, *O. delator* e *O. nasutus*, respectivamente. No sentido de obter padrões mais detalhados de diferenciação

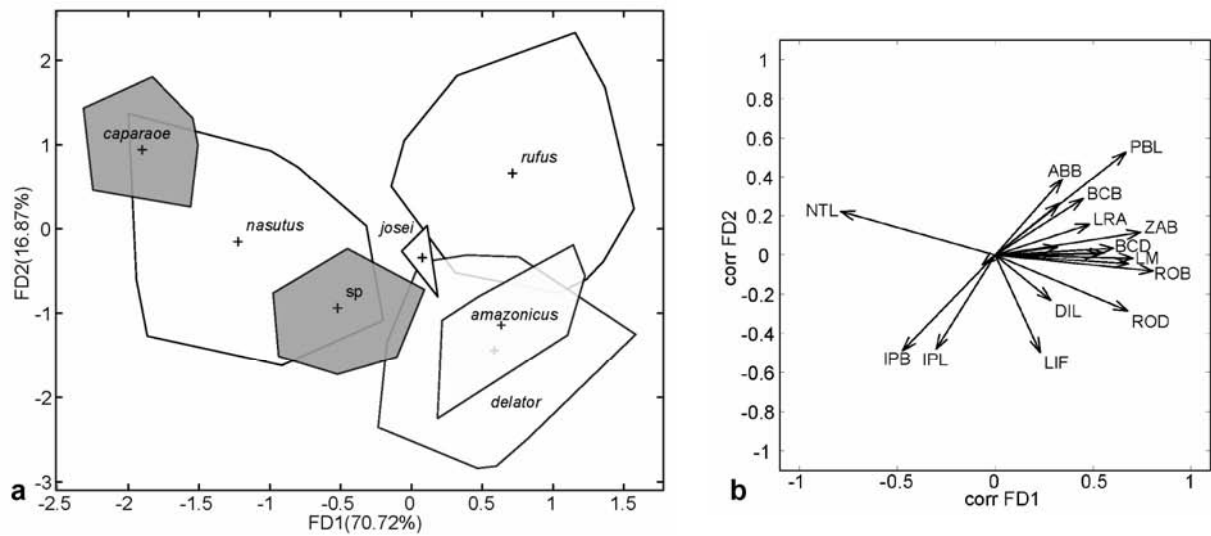


Figura 3.37. Diferenciação morfométrica entre *Oxymycterus* sp., *O. caparae* e formas de mesmo tamanho do gênero *Oxymycterus* com distribuição mais oriental: (A) Escores individuais das espécies em relação às duas funções discriminantes (FD1 e FD2) com formas alto-montanas da Mata Atlântica destacadas em cinza; (B) vetores de correlação das variáveis craniométricas originais com funções discriminantes expressando as tendências de variação na forma e tamanho do crânio no espaço multivariado.

morfológica das formas alto-montanas em relação a outras linhagens de mesmo tamanho, uma segunda análise discriminante foi realizada incluindo somente as espécies atlânticas do conjunto de formas menores identificado na primeira análise craniométrica. Os resultados mostram que a maior diferenciação entre as espécies está sumarizada na FD1 (70.7%) e que a extensão do tubo nasal (NTL) representa um dos caracteres que mais contribuem para discriminação entre espécies (Figura 3.37b). Vários outros caracteres também aparecem fortemente correlacionados com FD1 mas em sentido oposto ao do tubo nasal, indicando que uma redução na extensão desta estrutura (maiores escores na FD1), está associada a um incremento dos demais componentes do crânio e vice-versa. A largura e profundidade rostral (ROB, ROD) e o comprimento da série molar (LM), neste contexto, representam os caracteres cuja variação está mais negativamente correlacionada

com a extensão do tubo nasal. O segundo eixo discriminante (FD2) sintetiza somente 16.9% da variação entre espécies estando associada a ele a variação do osso interparietal (IPB, IPL) e das regiões palatal (PBL, LIF) e auditiva (ABB). A divergência do grupo *rufus* em relação ao grupo *delator* se expressa essencialmente neste eixo (Figura 3.37b).

Oxymycterus caparaoe e *O. nasutus* divergem de membros dos grupos *delator* e *rufus* por apresentarem tubos nasais relativamente mais longos, rostros mais estreitos e séries molares menores. A forma alto-montana do Caparaó ainda se diferencia sutilmente ao longo de FD2 devido a pontes palatais mais extensas e forâmenes incisivos mais curtos do que a média de *O. nasutus* e de membros do grupo *delator*. De qualquer modo a sobreposição entre *O. caparaoe* e *O. nasutus* ainda é extensa, evidenciando similaridade morfométrica entre estas duas espécies e concordância com seus padrões de relacionamento que as colocam como linhagens-irmãs. *Oxymycterus* sp., como na análise craniométrica anterior, se mantém intermediária entre os grupos *nasutus* e *delator*, apresentando tubos nasais relativamente mais longos do que a maioria dos representantes dos grupos *delator* e *rufus*, mas não tão pronunciados quanto a média do grupo *nasutus*. A sobreposição de *Oxymycterus* sp. com membros do grupo *nasutus* é ainda maior do que com linhagens filogeneticamente mais próximas do grupo *delator*, como *O. amazonicus* e *O. delator*, tornando evidente a discordância entre os padrões de similaridade morfométrica e a genealogia mitocondrial. Por outro lado, os resultados da análise morfométrica sobre a diferenciação entre *O. amazonicus* e *O. delator* são concordantes com o relacionamento filogenético mais próximo entre estas duas formas, uma vez que ambas estão extensivamente sobrepostas no espaço multivariado. Portanto, dentro do grupo *delator*, a única discordância aparente entre morfologia e filogenia molecular é a divergência morfológica excepcional de

Oxymycterus sp. em relação a formas evolutivamente mais próximas, ao ponto em que as similaridades morfométricas sejam maiores entre linhagens filogeneticamente distantes.

A morfologia divergente de *Oxymycterus* sp. certamente contribuiu para as incertezas sobre sua alocação morfológica aos grupos de espécies delineados nas análises de Oliveira (1998). Entretanto, quando a variação em alguns caracteres quantitativos e qualitativos é considerada em maior detalhe, é possível identificar algumas similaridades compartilhadas entre *Oxymycterus* sp. e membros do grupo *delator* que também contribuem para o reconhecimento do grupo *nasutus* como um conjunto de espécies distinto.

A variação na região rostral se apresenta bastante informativa para diferenciação entre grupos de espécies. Quando a variabilidade do tubo nasal exibida pelas várias espécies de *Oxymycterus* é examinada em maior detalhe, é possível notar que *Oxymycterus* sp. não compartilha exatamente a mesma condição desta estrutura com o grupo *nasutus*. A magnitude com que os premaxilares e nasais se projetam conjuntamente além do nível dos incisivos varia de forma contínua, mas a diferença modal da extensão relativa do tubo nasal (NTL/LM) entre as espécies permite uma subdivisão do intervalo de variação do tubo nasal em duas condições que apresentam pouco polimorfismo intraespecífico (linha divisora nos histogramas da Figura 3.38). A primeira condição caracteriza-se então por tubos nasais relativamente curtos ($NTL/LM < 0.6$) e pouco projetados anteriormente em relação aos incisivos, sendo apresentada por *Oxymycterus* sp., *O. juliacae* e membros dos grupos *delator*, *rufus* e *dasytrichus* (Fig.3.38). Nesta condição, o terço anterior dos nasais geralmente termina no mesmo plano geral do rostro sem que nenhuma flexão dorsal seja aparente, um efeito já descrito por Oliveira (1998) e Gonçalves & Oliveira (2004). *Oxymycterus hucucha*, *O. hiska*, *O. nigrifrons* e integrantes dos grupos *nasutus*, *paramensis* e *judex* ilustram uma segunda condição de desenvolvimento do tubo nasal, onde os pré-maxilares e

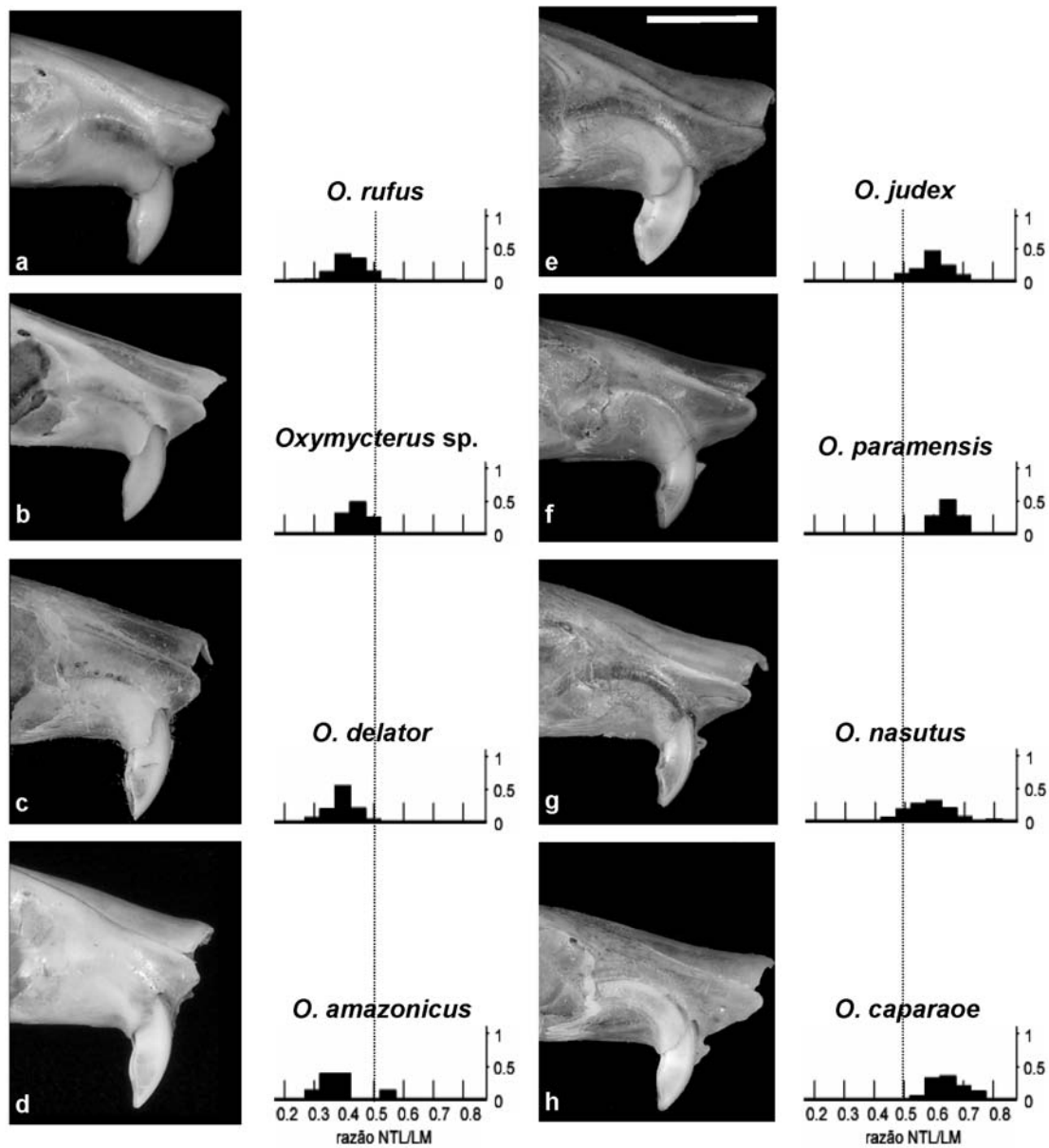


Figura 3.38. Variação na extensão relativa do tubo nasal medida pela razão entre NTL e LM. À esquerda estão representados rostros relativamente curtos (moda NTL/LM <0.5) e à direita rostros longos (moda NTL/LM >0.5) com nasais flexionados dorsalmente em seu terço anterior. Espécies figuradas: *O. rufus* (a, MVZ134242, 35km S Sierra Azul, Buenos Aires), *Oxymycterus* sp. (b, JAO1512, Pq. Nac. do Itatiaia, RL), *O. delator* (c, APC486, Parque Nacional das Emas, GO), *O. amazonicus* (d, FMNH94524, rio Tapajós, Pará), *O. judex* (e, LMT293, Pq. Nac. de Aparados da Serra, RS), *O. paramensis* (f, FMNH74899, Cochabamba, Bolívia), *O. nasutus* (g, LMT377, Pq. Nac. São Joaquim, SC), *O. caparae* (h, MN69612, Pq. Nac. Caparaó, MG). Barra = 5mm.

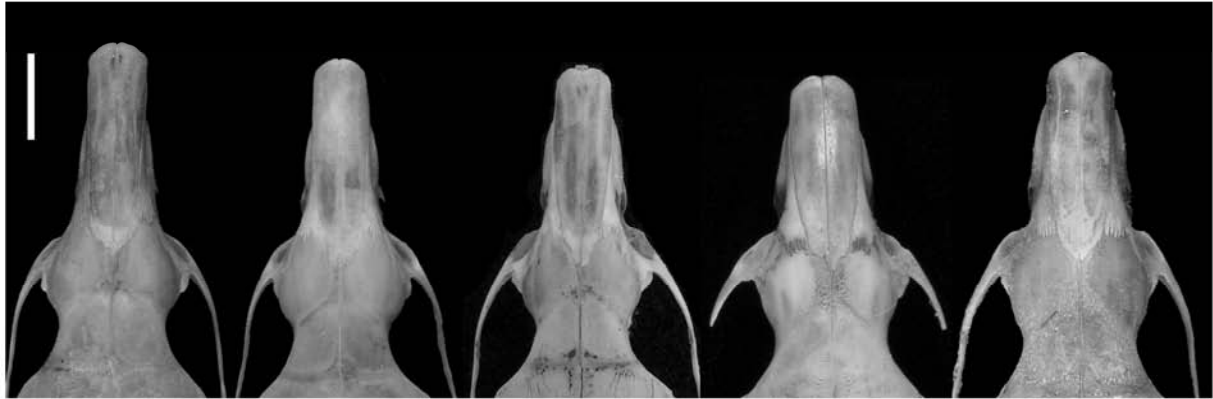


Figura 3.39. Regiões rostral e interorbital de representantes dos grupos *nasutus* e *delator* do gênero *Oxymycterus* ilustrando variação na expansão lateral dos pré-maxilares e extensão do tubo nasal. (NTL/LM). Espécies figuradas da esquerda para a direita: *O. caparae* (MN69612, Pq. Nac. Caparaó, MG), *O. nasutus* (b, LMT377, Pq. Nac. São Joaquim, SC), *Oxymycterus* sp. (c, JAO1512, Pq. Nac. Itatiaia, RJ), *O. amazonicus* (e, FMNH94524, Fordlândia, rio Tapajós, Pará), *O. delator* (f, APC486, Parque Nacional das Emas, Goiás). Barra = 5mm.

nasais projetam-se bem além dos incisivos ($NTL/LM > 0.6$) formando um tubo cuja extensão é maior do que a espessura longitudinal dos incisivos (Figura 3.38). Neste caso, os nasais frequentemente se apresentam flexionados dorsalmente em seu terço anterior, terminando em um plano quase paralelo ao plano diastemal, ainda que em alguns espécimes esta flexão seja bem sutil.

Diferenças qualitativas na região rostral também podem ser percebidas em vista dorsal. *Oxymycterus* sp. e membros do grupo *delator* apresentam rostros relativamente largos com premaxilares expandidos lateralmente, de modo que a cápsula nasolacrimal e a proeminência lateral do alvéolo incisivo são bem visíveis (Figura 3.39). Integrantes do grupo *nasutus* possuem rostros relativamente mais estreitos com premaxilares restritos lateralmente e cápsulas nasolacrimais dificilmente visíveis em vista dorsal. A maior extensão do tubo nasal nos membros

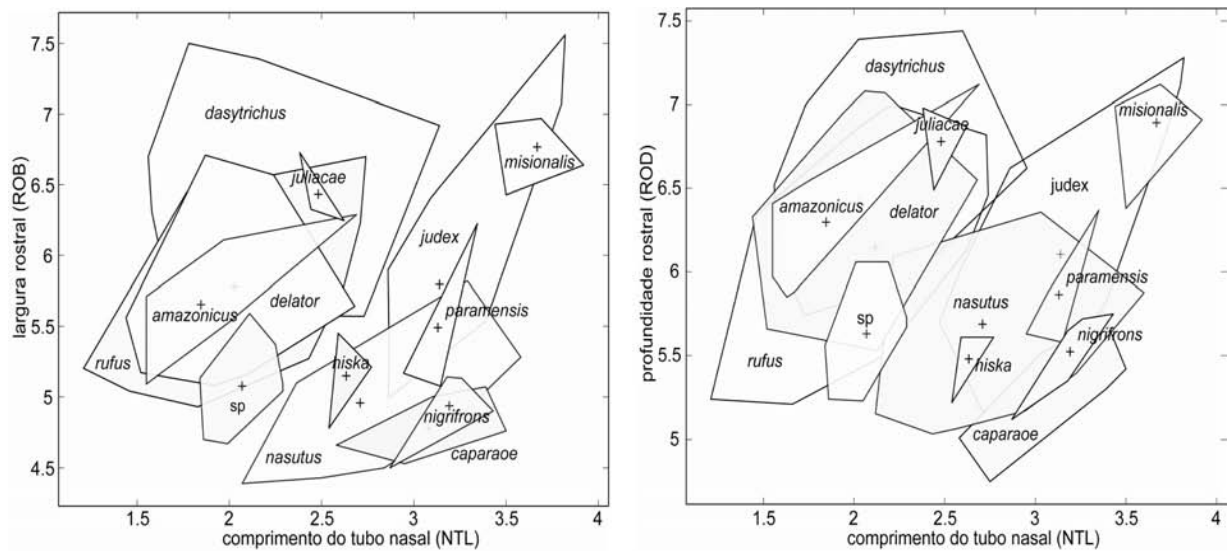


Figura 3.40. Diferenciação morfométrica relacionada a caracteres da região rostral em *Oxymycterus*. Todas as medidas estão em milímetros.

do grupo *nasutus* pode ser notada também em vista dorsal, onde os estreitos premaxilares são ocluídos dorsalmente pelos nasais na porção terminal do rostro em um ponto ainda bem posterior aos incisivos. Este ponto de desaparecimento dorsal dos pré-maxilares marca também a origem do tubo nasal. No grupo *delator* os pré-maxilares permanecem dorsalmente visíveis até o nível dos incisivos, ponto a partir do qual se tornam menos pronunciados lateralmente para formarem as paredes laterais do tubo nasal.

A expansão lateral dos premaxilares não está necessariamente correlacionada com a magnitude com que o tubo nasal se projeta anteriormente. Uma melhor apreciação da covariância entre estes dois caracteres e de suas condições nas demais espécies é fornecida pelas distribuições dos valores para largura (ROB) e profundidade rostral (ROD) e para o comprimento do tubo nasal (NTL) (Figura 3.40a, b). A partir da distribuição combinada destes caracteres é possível verificar que a condição exibida por *Oxymycterus* sp. de rostros curtos e expandidos lateralmente



Figura 3.41. Variação na placa zigomática ilustrada pela profundidade do entalhe zigomático (em vista dorsal) e pelo posicionamento da face anterior da barra superior do zigomático (linha pontilhada) em relação ao primeiro molar superior (em vista lateral). Seta indica entalhe produzido pela placa zigomática.

e dorso-ventralmente é compartilhada também por *O. rufus*, *O. dasytrichus* e *O. juliacae*, além dos membros do grupo *delator* (*O. amazonicus* e *O. delator*). O segundo morfótipo, caracterizado por rostros alongados e comprimidos lateralmente e dorso-ventralmente, é ilustrado pelo grupo *nasutus* e constatado também em *O. hiska*, *O. paramensis*, *O. nigrifrons* e parte das amostras de *O. judex*. As demais amostras desta última espécie apresentam, juntamente com *O. misionalis*, uma terceira morfologia rostral, na qual os tubos nasais são bem pronunciados anteriormente mas com pré-maxilares bem expandidos lateralmente e dorso-ventralmente.

Oxymycterus sp. e os demais representantes do grupo *delator* divergem do grupo *nasutus* também na amplitude do entalhe produzido pelas raízes da placa zigomática em vista dorsal. No grupo *delator* o entalhe zigomático é relativamente profundo e amplo, resultado de uma placa zigomática inclinada lateralmente em um ângulo relativamente mais aberto, que produz um largo forâmen infraorbital. Esta parece ser a condição predominante no gênero e todos os grupos de espécies examinados exibem entalhes bem desenvolvidos e forâmenes infraorbitais largos, com

exceção única do grupo *nasutus*. *Oxymycterus nasutus* e *O. caparaoe* caracterizam-se por apresentar entalhes zigomáticos e forâmenes infraorbitais relativamente mais estreitos, como resultado do ângulo mais agudo com que a placa zigomática se inclina lateralmente. A menor inclinação da placa no grupo *nasutus* pode ser notada também pela redução da raiz superior do zigomático, mais aparente em vista dorsal. Outro caráter relacionado à placa zigomática é a posição da raiz superior do zigomático em relação ao primeiro molar (Figura 3.41). No grupo *delator* o limite mais caudal do entalhe zigomático geralmente termina em um nível anterior ao primeiro molar enquanto no grupo *nasutus* o limite atinge o mesmo nível do procíngulo do primeiro molar. Este caráter varia de maneira contínua e condições similares às exibidas pelo grupo *nasutus* são apresentadas por *O. amazonicus*, inibindo o uso deste caráter para distinguir entre os grupos *delator* e *nasutus*. De qualquer modo, *Oxymycterus* sp. e as amostras identificadas como *O. delator* ilustram bem o posicionamento mais anterior da raiz superior do zigomático, uma condição bem discernível e distinta da maioria dos representantes do grupo *nasutus*.

As inclusões de *Oxymycterus* sp. e *O. amazonicus* no grupo *delator* claramente amplificam a variabilidade morfológica deste complexo de espécies em comparação ao seu conceito original proposto por Oliveira (1998). Os *sinus* frontais mais inflados de *O. delator*, por exemplo, foram enfatizados por Oliveira (1998) na caracterização do grupo, mas *Oxymycterus* sp. se apresenta intermediária para este caráter e *O. amazonicus* não exibe uma intumescência tão significativa da região anterorbital, diminuindo o potencial diagnóstico deste caráter para o grupo *delator*. Oliveira (1998) também mencionou caracteres distintivos quantitativos, como a placa zigomática mais larga e o basicrânio relativamente mais longo em relação ao comprimento total do crânio. Para avaliar a distribuição destes caracteres nos grupos *delator* e *nasutus* redefinidos

aqui, histogramas de frequências relativas dos valores destes caracteres foram obtidos para as 16 espécies analisadas. As dimensões do neurocrânio foram estimadas de duas formas, uma subtraindo o comprimento nasal (componente rostral) do comprimento total do crânio e outra subtraindo os comprimentos palatal e do tubo nasal do comprimento total. Estas medidas não são exatamente equivalentes às tomadas por Oliveira (1998) mas fornecem uma impressão sobre as dimensões do basicrânio. *Oxymycterus delator* de fato apresenta placas mais largas do que as dos membros do grupo *nasutus*. Contudo, *Oxymycterus* sp. e *O. amazonicus* se sobrepõem tanto com *O. delator* quanto com membros do grupo *nasutus* por apresentarem valores intermediários de largura da placa zigomática. *Oxymycterus amazonicus* ainda se apresenta mais variável para este caráter do que as demais espécies do gênero, apresentando um amplo intervalo de variação. As maiores placas zigomáticas são mais frequentemente encontradas em representantes do grupo *judex* (*O. misionalis* e *O. judex*), enquanto as menores são vistas nas formas pequenas andinas *O. hucucha*, *O. hiska* e *O. nigrifrons*. As distribuições das dimensões do neurocrânio e basicrânio de membros do grupo *nasutus* se sobrepõem extensamente com as de *O. delator*, *O. amazonicus* e *Oxymycterus* sp. As maiores dimensões são vistas em membros do grupo *dasytrichus* e, novamente, em representantes do grupo *judex*, indicando claramente a grande influência do tamanho geral das espécies nestas medidas.

Por outro lado, a inclusão de *O. caparaoe* no grupo *nasutus* mantém a delimitação morfológica deste complexo de espécies em concordância com as concepções de Hershkovitz (1998) e de Oliveira (1998). Ambos os autores enfatizaram a região rostral diferenciada de *O. caparaoe* e *O. nasutus* em suas descrições e os caracteres relacionados a esta parte do crânio contribuem para o reconhecimento destas duas formas como integrantes de um mesmo grupo de espécies.

Tendo em vista as delimitações genealógica (citocromo *b*) e morfológica dos grupos *delator* e *nasutus*, que incluem as formas alto-montanas do Caparaó e Itatiaia, a próxima etapa nas análises consistiu em investigar a estrutura da variabilidade genética e fenotípica dentro destes agrupamentos de forma que o nível de diferenciação de suas linhagens pudesse ser determinado, especialmente aquelas restritas às zonas alto-montanas da Mata Atlântica. Portanto, as seções seguintes se dedicam a uma descrição mais detalhada dos padrões de diversificação genética e morfológica dentro dos grupos *delator* e *nasutus*, discutindo os possíveis processos evolutivos responsáveis por estes padrões e o delineamento de espécies nestes complexos.

3.3.3.3 Diferenciação geográfica no grupo *delator*

A inclusão de *Oxymycterus* sp. e *O. amazonicus* fazem do grupo *delator* o complexo de espécies mais amplamente distribuído do gênero *Oxymycterus*. As populações referidas a *O. delator* por Oliveira (1998) habitam tipicamente as fisionomias campestres mais úmidas do Cerrado (Carmignotto, 2005), mas o espectro ecológico é consideravelmente ampliado pelas outras duas formas. Os exemplares identificados como *O. amazonicus* foram obtidos em extensos bambuzais em plena Floresta Ombrófila Densa na Amazônia (A. P. Carmignotto com. pess.), enquanto *Oxymycterus* sp. ocupa os campos de altitude frios e úmidos do Itatiaia situados a mais de 2000m de altitude. A ampla distribuição geográfica e ecológica do grupo favorece a atuação simultânea de processos evolutivos distintos, como isolamento geográfico entre populações distantes ou a divergência ao longo de gradientes ecológicos ocupados por populações contíguas ou próximas. A ação integrada destes processos poderia gerar padrões complexos de variação genética e morfológica que dificultariam uma delimitação taxonômica simplificada da diversidade de espécies presente. As análises filogenéticas do citocromo *b* discutidas

anteriormente já adiantaram parte da problemática. Dentre as três formas nominais alocadas ao grupo (*Oxymycterus* sp., *O. delator* e *O. amazonicus*), apenas *Oxymycterus* sp. se apresenta monofilética sob a perspectiva do gene mitocondrial, sugerindo que os limites morfológicos e o status destas formas requerem reconsideração. O primeiro passo nesta reavaliação foi detalhar o padrão filogeográfico do grupo *delator* de forma que as relações históricas entre suas populações pudesse ser traçada. Um segundo passo foi descrever os padrões de variação morfológica entre as populações e contrastá-los com a estrutura filogenética e contexto ambiental das populações do grupo, possibilitando a avaliação de critérios alternativos para delimitação taxonômica no complexo *delator*.

Filogeografia no grupo delator

Uma nova análise filogenética foi realizada utilizando todas as sequências completas (1140pb) e parciais (801) referidas ao grupo *delator* além dos haplótipos de *O. dasytrichus* da Bahia, utilizados como grupo externo. A árvore de consenso estrito representando 483 árvores igualmente parcimoniosas é ilustrada na Figura 3.42, e os 40 haplótipos identificados no grupo *delator* estão relacionados na Tabela 3.10.

Quando a genealogia do citocromo *b* é contextualizada geograficamente, quatro clados regionais geneticamente diferenciados entre si e com bom suporte estatístico são aparentes (“leste”, “central”, “centro-oeste” e “Juruena”; Figura 3.42). Os clados leste, central e centro-oeste estão parcialmente sobrepostos na região do planalto central, onde haplótipos de clados geneticamente distintos frequentemente coexistem em uma mesma localidade. Este é o caso para as populações de Brasília (loc. 23), Cocos (loc. 16) e Peixe (loc. 8) onde no mínimo dois clados mitocondriais encontram-se representados. A população de Cocos, Bahia, ainda se destaca por

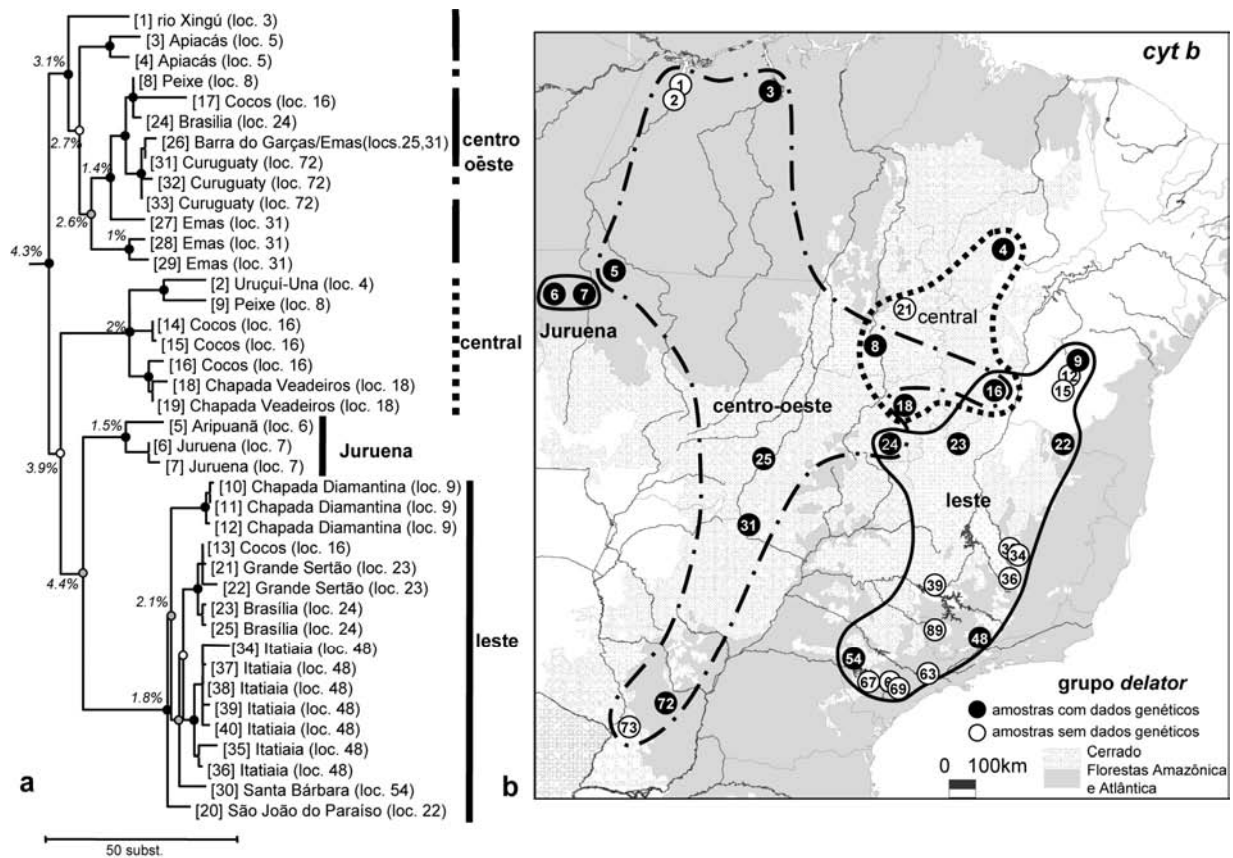


Figura 3.42. Padrão filogeográfico no grupo *delator* do gênero *Oxymycterus* sob a perspectiva do gene mitocondrial citocromo *b*. **(A)** Árvore de consenso estrito evidenciando os quatro clados geneticamente diferenciados dentro do grupo *delator*. Cores dos nós indicam níveis de suporte de *bootstrap*: nós pretos = 100-70%, nós cinza = 69-50% e nós brancos <50%. Valores próximos aos nós equivalem à divergência genética média entre linhagens irmãs expressa em porcentagem de sítios diferentes. Números entre colchetes identificam haplótipos e espécimes-testemunho relacionados na Tabela 3.10 **(B)** Clados mitocondriais revelados e localidades das amostras de representantes do grupo *delator* mapeados em relação aos domínios morfoclimáticos amazônico, atlântico e do Cerrado.

exibir haplótipos de três clados mitocondriais, apresentando a maior diversidade genealógica do grupo.

Apesar da sobreposição geográfica, os clados encontram-se bem segregados geograficamente ao longo da maior parte de suas distribuições. O clado centro-oeste é o mais

amplamente distribuído, incluindo desde populações situadas em áreas de Cerrado do Paraguai e Brasil até amostras obtidas no domínio amazônico representadas aqui por Cachoeira do Espelho no Pará (loc. 3 na Figura 3.42, rio Xingú) e Apiacás no extremo norte do Mato Grosso (loc. 5). Apenas as populações do extremo oriental deste clado são compartilhadas com os demais clados mitocondriais. As demais amostras, que representam os extremos norte e sul do complexo *delator* (locs. 3 e 72), apresentam somente haplótipos deste clado, o que torna plausível associar as populações 1, 2 e 73 desprovidas de dados genéticos com este clado mitocondrial. Além da extensa distribuição, o clado “centro-oeste” também exhibe a maior amplitude de diferenciação genética entre seus haplótipos, variando de 0.3 a 5.8% de diferença em sequência, este último valor sendo constatado em comparações entre haplótipos de Brasília e Cocos, Bahia. Os haplótipos de localidades distintas da Amazônia diferem entre si por 2.2 a 2.7% de divergência e, quando comparados a haplótipos do Cerrado, divergem de 2.2 a 5% de diferença em sequência. As relações entre haplótipos da Amazônia e do Cerrado não são estatisticamente consistentes, mas a topologia consensual aparentemente não fornece nenhum indício de monofilia recíproca para populações situadas em domínios morfoclimáticos distintos, já que os alelos de Apiacás parecem mais relacionados com alelos do Cerrado do que com o da localidade amazônica do rio Xingú.

Os clados “central” e “Juruena” constituem grupos genéticos mais restritos geograficamente. O clado “central” inclui populações de Goiás e Tocantins, compartilhadas com os clados centro-oeste e leste, uma amostra da Estação Ecológica Uruçuí-Una no Piauí, e possivelmente uma população da Estação Ecológica Serra Geral do Tocantins, sobre a qual dados genéticos não estão disponíveis. O clado Juruena é o único grupo genético que não compartilha populações com nenhum outro clado mitocondrial, apesar de sua proximidade geográfica com o

clado centro-oeste, mostrando-se exclusivamente restrito a duas localidades (locs. 6 e 7) à margem oeste do rio Juruena. Além da distribuição relativamente mais localizada, os clados central e Juruena também se mostram menos diversos geneticamente, uma vez a diferenciação interna de seus haplótipos não ultrapassa 2.6%.

O clado “leste” inclui desde populações do planalto central, frequentemente compartilhadas com os clados centro-oeste e central, até populações do extremo oriental da distribuição do grupo *delator*, dentre as quais está a forma alto-montana do Itatiaia identificada anteriormente como *Oxymycterus* sp. (loc. 48). Várias populações do sudeste do Brasil morfologicamente referíveis ao grupo *delator* são abrangidas pela distribuição do clado “leste”. Estas amostras, que infelizmente não possuem dados genéticos associados, incluem em sua maior parte exemplares com identificação duvidosa (*O. aff. delator*) que habitam enclaves orientais de Cerrado na Mata Atlântica ou áreas de transição entre estes dois domínios, frequentemente situadas em ou próximas a serras das cadeias do Espinhaço (locs. 33, 34 e 36), Mantiqueira (locs. 39e 89) e Mar (locs. 63, 37). A amostra da Estação Ecológica de Santa Bárbara (loc. 54) constitui a única população com identificação dúbia que possui dados genéticos. A inclusão inequívoca dos haplótipos de Santa Bárbara no clado “leste” e a abrangência geográfica deste clado sugerem que as demais populações referidas como *O. aff. delator* podem ser alocadas a este grupo. Apesar de sua ampla distribuição geográfica, ecogeográfica e taxonômica (inclui *O. aff. delator* e *Oxymycterus* sp.), o clado leste exibe níveis relativamente baixos de diferenciação genética interna e estruturação geográfica. Os haplótipos da forma alto-montana do Itatiaia divergem de haplótipos do Cerrado do planalto central por apenas 1 a 2% de diferença em sequência. Os valores máximos de divergência são exibidos em contrastes com haplótipos da Chapada Diamantina que formam um subgrupo levemente mais diferenciado. A população do Itatiaia

também pode ser reconhecida como um subgrupo monofilético mas filogeneticamente mais próximo de populações do Cerrado do planalto central do que da população de Santa Bárbara (loc. 54), que está geograficamente mais próxima.

As sequências do íntron 7 do beta-fibrinogênio (*fgbI7*) dentro do grupo *delator* oferecem poucos caracteres informativos (apenas 13 de 720) para uma reconstrução filogenética como a realizada a partir do citocromo *b*. Foi possível identificar 19 haplótipos no grupo *delator* que, em sua maior parte, diferem entre si por uma ou duas mutações somente. Considerando os baixos níveis de variação, as estimativas de relacionamentos entre os haplótipos do *fgbI7* foram realizadas por meio de redes genealógicas. Os resultados revelaram que a maioria dos haplótipos é derivada de um único haplótipo (1) amplamente disseminado pelas populações do grupo (Figura 3.43). Os haplótipos mais diferenciados entre si apresentam suas interconexões pouco resolvidas (ex. haplótipo 9) não possibilitando a identificação de qualquer agrupamento genealógico claro. Padrões mais informativos sobre as afinidades entre populações são fornecidos pelas distribuições dos haplótipos nas populações do grupo, sugerindo até mesmo concordância com a estrutura filogeográfica do *cytb*. O haplótipo 1, por exemplo, apresenta um padrão de distribuição concordante em grande parte com o clado mitocondrial centro-oeste, abrangendo populações do Cerrado do Brasil central e do norte do Mato Grosso nas zonas limítrofes da Amazônia. Já o haplótipo 17, o segundo mais amplamente distribuído, relembra o padrão de distribuição do clado mitocondrial leste, ocorrendo na população do Itatiaia (loc. 48), de Santa Bárbara (loc. 54) e em Brasília (loc. 24), no Cerrado do Brasil central. A similaridade entre as distribuições dos haplótipos nucleares e dos clados mitocondriais reconstruídos filogeneticamente sugere que o compartilhamento de alelos do *fgbI7* é produto da ancestralidade comum entre populações.

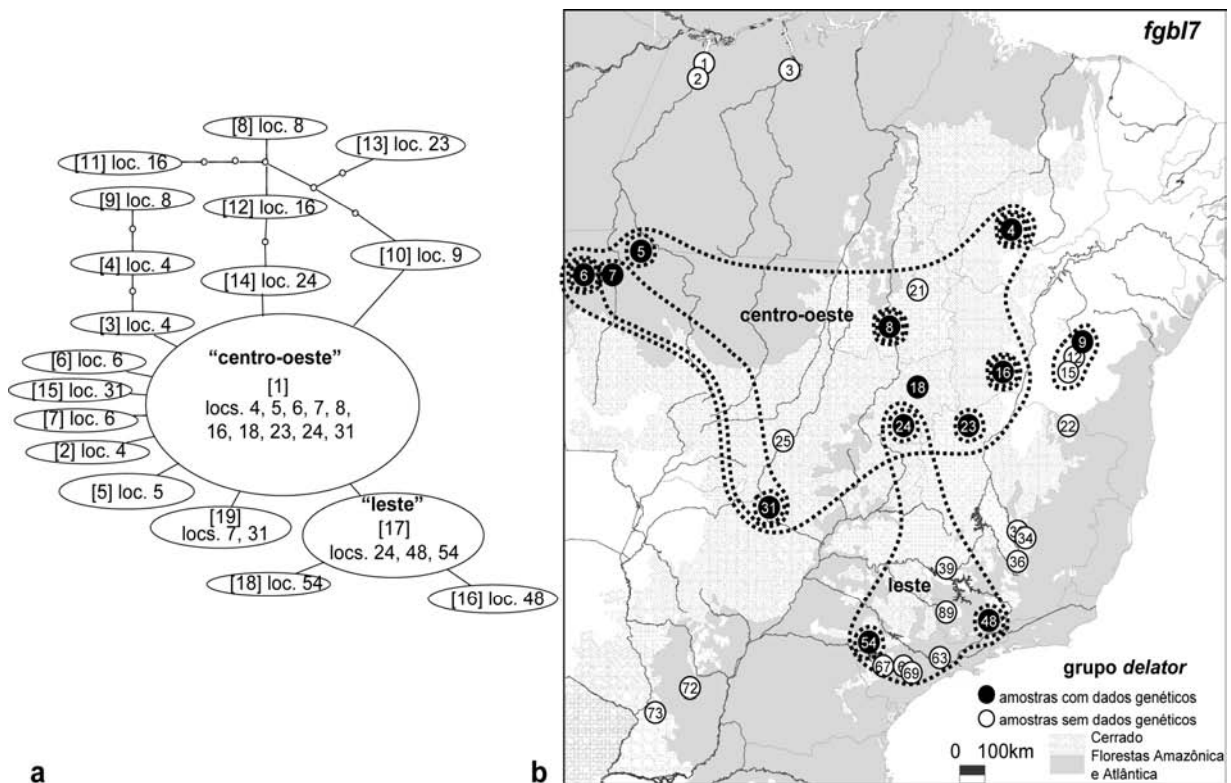


Figura 3.43. (a) Rede genealógica e (b) distribuição geográfica dos haplótipos do íntron 7 do beta fibrinogênio no grupo *delator*. Números entre colchetes identificam haplótipos distintos e respectivas localidades de ocorrências.

Algumas populações que se revelaram como clados diferenciados na genealogia mitocondrial também possuem um maior número de alelos de *fgbI7* únicos ou que não compartilham alelos com as demais populações. Neste contexto, se destaca a população da Chapada Diamantina (loc. 9), a única que não contém os alelos de *fgbI7* mais cosmopolitas 1 e 17 e que permanece diagnosticada pela presença do haplótipo 10. A diferenciação desta população foi revelada também na genealogia mitocondrial, como um clado bem definido dentro do clado leste, reforçando sua descontinuidade filogenética em relação às demais populações do grupo. Outro traço congruente diz respeito às sobreposições entre as distribuições de alelos e haplogrupos na região do planalto central. Neste sentido, a população de Brasília (loc. 24)

evidencia sobreposição entre os alelos nucleares 1 e 17 e também entre os clados mitocondriais leste e centro-oeste. A sobreposição revelada pelo genoma mitocondrial é ainda mais extensa, mas os demais pontos de co-ocorrência de grupos genéticos distintos (ex. locs. 8 e 16) não foram detectados nos padrões de distribuição dos alelos do *fgb17*.

Uma primeira hipótese a ser cogitada para explicar a sobreposição geográfica entre grupos genéticos distintos seria a existência de três espécies distintas (uma para cada clado mitocondrial) que apresentariam simpatria nas localidades onde mais de uma linhagem mitocondrial foi detectada. Para avaliar esta possibilidade, a variabilidade fenotípica entre as populações do grupo foi analisada. No caso de corroboração da hipótese de heteroespecificidade, esperar-se-ia que traços de diferenciação entre espécimes genealogicamente distintos fossem vistos em caracteres morfológicos. Uma análise discriminante de variáveis canônicas foi então realizada com as amostras indexadas segundo sua filiação aos três clados mitocondriais que apresentam sobreposição geográfica (centro-oeste, central e leste). As populações genealogicamente heterotípicas (locs. 8, 16 e 24) foram representadas apenas por indivíduos geneticamente analisados. A distribuição dos escores em relação às duas primeiras funções discriminantes sugere dois grupos morfométricos segregados ao longo da FD1, ainda que com alguma sobreposição (Figura 3.44). Os clados centro-oeste e central se sobrepõem mais extensivamente, não sendo possível distingui-los morfometricamente. Já o clado leste se diferencia ao longo da FD1, ainda apresentando alguns indivíduos sobrepostos com os clados central e centro-oeste. Os indivíduos do clado leste responsáveis pela diferenciação ao longo de FD1 (aqueles com menores escores para FD1) provém da população do Itatiaia, enquanto os espécimes que se apresentam sobrepostos com os grupos central e centro-oeste pertencem às populações do planalto central. As análises demonstram, portanto, que os indivíduos pertencentes

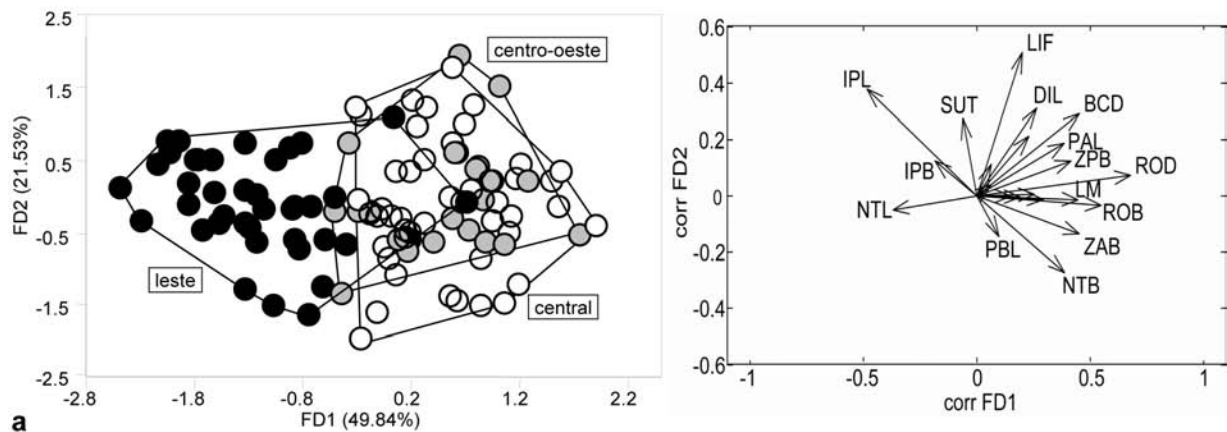


Figura 3.44. Padrão de diferenciação morfométrica entre clados mitocondriais identificados no grupo *delator*. **(a)** Escores individuais resultantes de uma análise discriminante de variáveis canônicas entre representantes dos três clados mitocondriais com sobreposição geográfica; cores identificam a afiliação dos indivíduos a cada clado mitocondrial (preto=leste, cinza=centro-oeste, branco=central). **(b)** Vetores de correlação das variáveis craniométricas originais com funções discriminantes expressando as tendências de variação na forma e tamanho do crânio no espaço multivariado.

às populações genealogicamente compostas do planalto central não são diferentes entre si, refutando a possibilidade de que mais de uma espécie estaria representada nestas amostras.

Duas outras hipóteses relacionadas a história demográfica e genética das populações envolvidas podem ser então consideradas — retenção de polimorfismos ancestrais e introgressão secundária. Estes dois processos são de difícil distinção em casos onde as linhagens divergiram recentemente ou quando a natureza da disjunção entre linhagens é desconhecida. De qualquer modo, suas implicações genealógicas são bem distintas quanto ao relacionamento e grau de diferenciação dos alelos envolvidos (Avice, 2000). A retenção de polimorfismos ancestrais consiste na herança de alelos que originalmente constituíam parte do conjunto gênico da população ancestral às populações recentes. Os alelos ancestrais, ou seus descendentes diretos, frequentemente ocupam posições mais basais na genealogia e diferem profundamente dos alelos

filogeneticamente mais próximos por terem divergido destes antes do momento de cladogênese (Avice, 2000; Funk & Omland, 2003). Este não parece ser o caso para os haplótipos de *cytb* responsáveis pela heterogeneidade genealógica das populações do planalto central, já que eles ocupam posições mais terminais na árvore filogenética dentro de subgrupos mais derivados dos clados leste, centro-oeste e central. A origem desses haplótipos provavelmente ocorreu muito depois da disjunção entre estes três grupos genéticos, refutando a retenção de linhagens ancestrais como causa do padrão filogeográfico atual.

Um modelo mais condizente com os padrões de relacionamento e distribuição dos haplótipos é o de fluxo gênico entre grupos geneticamente diferenciados – introgressão secundária. Neste caso, os conjuntos gênicos de unidades divergentes há algum tempo voltariam a se misturar parcialmente devido à extinção de alguma barreira ao fluxo gênico ou re-expansão recente de suas distribuições (Avice 2000). Os haplótipos intercambiados entre populações geralmente diferem pouco em relação aos demais alelos por terem se originado em um momento bem posterior ao de isolamento geográfico entre grupos regionais. Esta condição caracteriza todos os haplótipos intercambiados entre as três populações do planalto central, pois estes diferem por 0.1 a 1.6 % em relação a seus respectivos haplótipos-irmãos e estão localizados em clados terminais bem suportados da árvore. Outra evidência que também corrobora a hipótese de fluxo gênico entre estas populações diz respeito à frequência desses haplótipos. Apesar do tamanho populacional efetivo de marcadores mitocondriais (haplóides) ser normalmente reduzido, favorecendo a rápida fixação/extinção de haplótipos por deriva gênica e consequente manutenção de baixa diversidade de alelos (Avice *et al.* 1987), é notável o fato de que haplótipos simpátricos tão divergentes sejam revelados a partir de uma amostragem relativamente baixa ($n < 5$ indivíduos por localidade) das três populações heterotípicas do

planalto central. A detecção destes haplótipos sugere que eles estejam em frequências relativamente altas nestas populações, uma condição provavelmente favorecida pelo fluxo gênico relativamente alto. De fato, as estimativas de diferenciação gênica entre as três populações heterotípicas (valores de Φ_{st}) são mínimas, variando de 0 a 0.16 %, fortalecendo a idéia de coesão genética entre grupos anteriormente disjuntos.

O padrão filogeográfico exibido pelos haplótipos do *fgb17* parece sugerir um cenário distinto ao de diferenciação inicial e fluxo gênico secundário. Os dois haplótipos compartilhados pela maior parte das populações ocupam uma posição central na rede, o que sugere que estes seriam haplótipos ancestrais. Entretanto, uma vez que as sequências do *fgb17* não mostraram resolução suficiente para evidenciar os clados “Jurueña” e “central”, pode-se concluir que os eventos de subdivisão e reunião das populações centrais do grupo *delator* ocorreram em período insuficientemente longo para deixar impressões neste marcador nuclear. O panorama fornecido pelo *fgb17*, portanto, parece remontar um período inicial de disjunção entre populações das regiões leste e centro-oeste.

Diferenciação morfológica no grupo delator e suas causas

Os indícios de grande diversificação morfológica no grupo *delator* derivam do próprio número de formas nominais (*O. amazonicus*, *O. delator* e *Oxymycterus* sp.) que se mostram incluídas neste grupo de espécies. Além disso, a análise morfométrica realizada acima para testar divergência entre clados e populações heterotípicas também revelou variabilidade fenotípica, especialmente em populações do clado leste, apesar da organização geográfica desta variabilidade não ter sido claramente mostrada. Visando refinar a resolução dos padrões geográficos de variação morfométrica no grupo, uma nova análise discriminante de variáveis

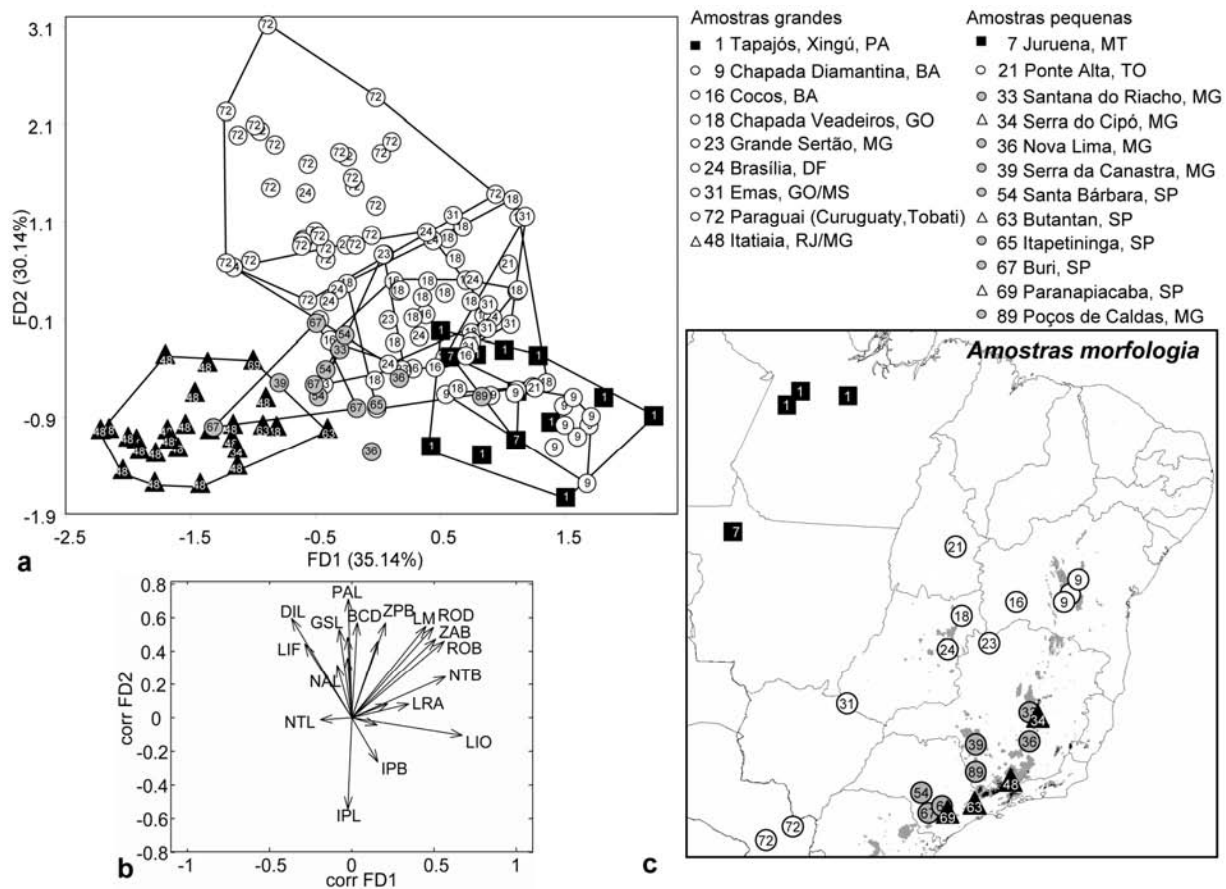


Figura 3.45.. Padrão de diferenciação morfométrica entre populações do grupo *delator*. **(a)** Escores individuais resultantes de uma análise discriminante de variáveis canônicas entre populações alocadas ao grupo; números inscritos e polígonos identificam as populações enquanto símbolos identificam as formas nominais originalmente referidas a cada população na Tabela ... (triângulo = *Oxymycterus* sp., círculo cinza = *O. aff. delator*, círculo branco = *O. delator*, quadrado = *O. amazonicus*). **(b)** Vetores de correlação das variáveis craniométricas originais com funções discriminantes expressando as tendências de variação na forma e tamanho do crânio no espaço multivariado.

canônicas foi realizada com todas as populações. Como a unidade de análise se restringiu às melhores amostras das localidades (enumeradas na Figura 3.45), o cálculo das funções discriminantes se baseou apenas nas amostras com 10 ou mais indivíduos. As afinidades das amostras menores foram avaliadas a partir de sua representação posterior no espaço multivariado.

As populações do grupo *delator* se apresentaram segregadas ao longo das duas primeiras funções discriminantes, que juntas sumarizam cerca de 65% da variabilidade craniométrica interpopulacional (FD1 e FD2 na Figura 3.45). Os vetores de correlação entre os caracteres e as duas funções indicam extensa variação associada à forma craniana, já que as correlações dos caracteres diferem em sinal e orientação. As populações estão dispostas ao longo de um contínuo morfométrico cujos extremos são representados pelas amostras do Itatiaia (loc. 48), Paraguai (loc. 72) e Amazônia (loc. 1), a primeira identificada aqui anteriormente como *Oxymycterus* sp., e as duas últimas representando *Oxymycterus delator* e *O. amazonicus*. Nesta representação, é possível notar que a forma do Itatiaia se destaca das demais populações do grupo ao longo das FD1 e FD2, apresentando rostros relativamente mais alongados (NTL), estreitos (ROB, NTB) e baixos (ROD), além de região interorbital (LIO) mais estreita e série molar menor (LM). A amostra do Paraguai (loc. 72) diverge das demais do grupo especialmente ao longo de FD2, apresentando maiores palatos (PAL), diástemas (DIL), placas zigomáticas (ZPB), séries molares (LM) e comprimento máximo do crânio (GSL), condições que caracterizam os crânios mais robustos vistos nesta amostra. Já as amostras da Amazônia são caracterizadas por regiões interorbitais mais largas (LIO) e rostros relativamente curtos (NTL, DIL) em relação às amostras do Itatiaia e do Paraguai.

As populações do Cerrado do planalto central brasileiro encontram-se preenchendo o intervalo morfométrico entre as populações mais extremas, com as quais apresentam sobreposição parcial. A amostra da Chapada Diamantina (loc. 9) destaca-se mais notavelmente dentre as amostras do Cerrado, por apresentar condições craniométricas similares às das populações da Amazônia, enquanto divergindo consideravelmente de amostras geograficamente mais próximas do planalto central. O posicionamento das amostras pequenas do sudeste

(destacadas em cinza) foi variável, algumas se mostrando inseridas dentro do espectro de variação das populações do Cerrado do planalto central e outras apresentando forte associação com a amostra do Itatiaia. As mesmas associações foram detectadas em uma análise classificatória probabilística dos espécimes destas amostras com base nas distâncias de Mahalanobis (Tabela 3.11). As amostras reduzidas de Nova Lima (MG, loc. 36) e Buri (SP, loc. 67) apresentaram indivíduos alocados a populações diferentes, um resultado também aparente na representação dos escores individuais na Figura 3.45. As alocações foram consistentes o suficiente para demonstrar que amostras adicionais dos estados de São Paulo e Minas Gerais apresentam um morfótipo bastante similar ao da forma do Itatiaia, ampliando sua distribuição para incluir populações situadas nos campos rupestres da serra do Cipó (MG, loc. 33) e pequenos enclaves de Cerrado na borda do planalto paulista formada pela serra do Mar (locs. 63, 67, 69).

Quando a divergência morfométrica entre as populações é contextualizada geograficamente, é possível notar que as funções discriminantes sugerem tendências de variação clinal ao longo da distribuição do grupo. A variação altimétrica está fortemente correlacionada com a primeira função discriminante, uma vez que os extremos deste eixo são representados por amostras que também representam extremos altimétricos (*e.g.*, Itatiaia, 2400m vs Amazônia, 110m). A segunda função discriminante, por outro lado, representa preferencialmente um gradiente norte-sul de variação na forma (r, p) que se manifesta desde as populações amazônicas até as paraguaias.

Para avaliar a correspondência entre o cline morfométrico do grupo *delator* e um maior número de fatores ambientais, duas abordagens foram adotadas. Primeiramente, as variações dos escores das FD1 e FD2 foram mapeadas em relação às diferentes fisionomias ocupadas pelos grupos de populações amostradas (Figura 3.46a). A fisionomia regional é geralmente resultado de

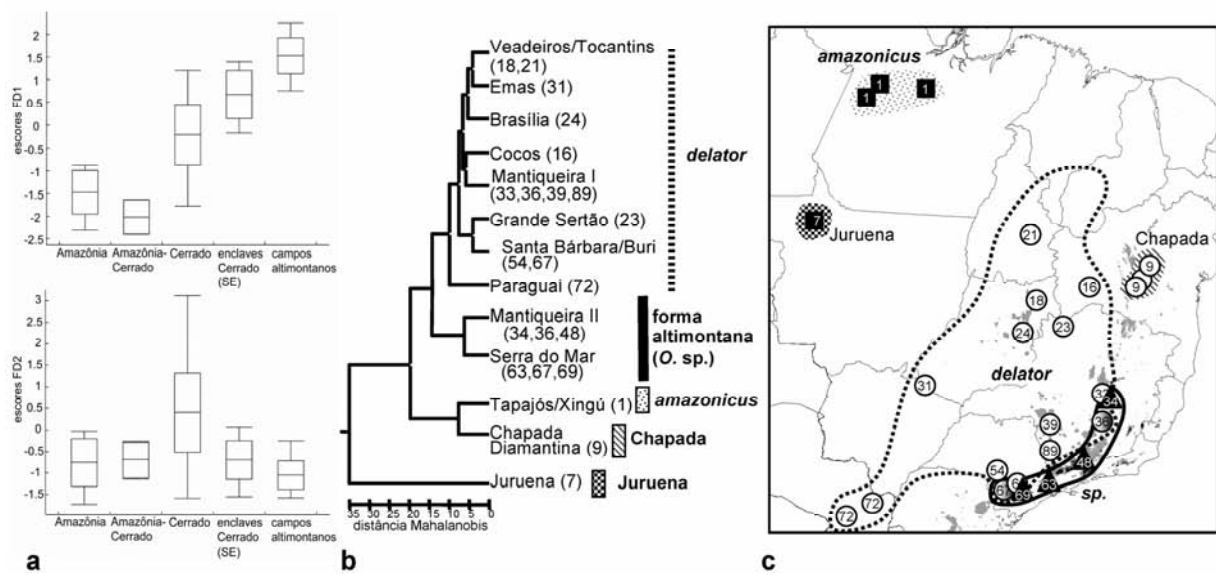


Figura 3.46. Relações entre diferenciação morfológica multivariada e heterogeneidade ambiental. (a) Correlações entre variação na forma craniana (expressa pelos escores das funções discriminantes) e tipos de fisionomias ocupadas pelas populações. (b) Grupos morfológicos delineados a partir de um análise de agrupamento (UPGMA) baseada em distâncias de Mahalanobis entre amostras populacionais (números indicam amostras pequenas agrupadas para compor amostras maiores). (c) Distribuições dos grupos morfológicos; símbolos refletem identificações originais (triângulo = *Oxymycterus* sp., círculo = *O. delator*, quadrado = *O. amazonicus*)

uma combinação de fatores e processos ambientais (solo, clima, altitude, orogenia) e sua inclusão no mapeamento garantiu que um maior número de componentes ambientais fosse representado. As fisionomias consideradas foram: *Floresta Amazônica* representada pelas populações do Xingú (loc. 3) e Tapajós (locs. 1, 2); *transição ou ecótono entre Floresta Amazônica e Cerrado* representada pela população de Juruena (loc. 7), *Cerrado* representado pelas populações do planalto central (locs. 18, 21, 23, 24, 31), Bahia (locs. 9, 16), Paraguai (loc. 72) e sudeste (locs. 39, 54, 89), *ecótono entre Cerrado e Floresta Atlântica* representado por algumas populações em elevações médias no complexo da Mantiqueira em Minas Gerais (locs. e enclaves de Cerrado no estado de São Paulo (locs. 67, 69). A segunda abordagem consistiu em quantificar os níveis de

similaridade morfométrica (representado pelas distâncias de Mahalanobis) entre populações e representar os grupos identificados na geografia.

Na primeira avaliação (representada na Figura 3.44) é possível notar uma correspondência clara entre o cline morfométrico no grupo *delator* expresso pela FD1 e o gradiente ambiental representado pelas transições entre fisionomias. Portanto, os caracteres estreitamente correlacionados com esta função, como os ligados à região rostral, interorbital e série molar são consideravelmente influenciados por diferenças ambientais, refletindo respostas adaptivas locais às condições ecológicas impostas às populações de cada fisionomia. A diferenciação fisionômica, entretanto, não afeta de forma significativa a variabilidade morfométrica sumarizada pela FD2. As populações do Cerrado apresentam um espectro bem amplo de escores para FD2, enquanto os demais grupos regionais se mostram pouco variáveis para este eixo. Isto sugere que os caracteres fortemente correlacionados com a segunda função provavelmente refletem outros fatores que não aqueles relacionados à diferenciação fisionômica.

Um panorama mais detalhado das correspondências entre diferenciação ambiental e morfológica é fornecido quando grupos morfometricamente mais homogêneos são identificados no fenograma da Figura 3.66 e mapeados na geografia. Neste caso, cinco grupos regionais são aparentes e suas distribuições se mostram bem concordantes com os limites entre as distintas fisionomias ocupadas pelo grupo *delator*. Um grupo central mais amplamente distribuído inclui populações do Cerrado do Paraguai e Brasil central e sudeste identificadas originalmente como *O. delator* (nomeada “*delator*”), enquanto três outros grupos periféricos e geograficamente mais restritos incluem populações da forma alto-montana (*Oxymycterus* sp.) e formas amazônicas (Juruena e *amazonicus*). A divergência entre “*delator*” e a forma alto-montana do sudeste é coincidente com a estreita faixa de transição entre o Cerrado e a fisionomia campestre dos

altiplanos da Mantiqueira e da serra do Mar. Já nos demais casos, os grupos morfológicos se encontram geograficamente mais distanciados entre si, uma vez que populações intermediárias não foram amostradas.

Os resultados do fenograma ainda revelam que o grupo regional da Chapada Diamantina é bem diferenciado em relação às demais populações do Cerrado tradicionalmente referidas a *O. delator* (“*delator*”). O mesmo pode-se dizer das populações amazônicas (“Juruena” e “*amazonicus*”), que divergem consideravelmente apesar de sua maior proximidade geográfica. A constatação de divergência morfológica dentro de uma mesma unidade fisionômica sugere que escalas ainda menores de variação ambiental podem ocasionar diferenciação morfológica sensível. A Chapada Diamantina, por exemplo, apesar de incluída no domínio do Cerrado constitui uma subárea fitogeograficamente complexa e diferenciada, já que exibe níveis moderados de isolamento em relação às formações mais úmidas por estar circundada pelo domínio semi-árido do nordeste. Pouco se sabe sobre os ambientes onde as populações amazônicas do grupo *delator* são encontradas, mas os dados de coleta sugerem habitats mais abertos (e.g., bambuzais - A. P. Carmignotto com. pess.) e diferenciados em relação à floresta ombrófila densa circundante.

Além da divergência sugerida pelas distâncias morfométricas multivariadas, variações significativas entre populações com respeito a caracteres qualitativos da morfologia craniana puderam ser notadas (Figura 3.47). Os representantes de *amazonicus* apresentam crânios geralmente menores, forâmenes incisivos amplos e expandidos lateralmente, especialmente em seu terço posterior, além de um septo palatino relativamente curto, condições que diferenciam membros desta forma de espécimes das populações de Juruena, *delator*, Chapada Diamantina e da forma alto-montana. Os crânios de populações do planalto central e Chapada Diamantina



Figura 3.47. Vistas dorsal, ventral e lateral dos crânios de representantes dos cinco grupos morfológicos identificados dentro do complexo *delator*. (a) *amazonicus* (holótipo, Fordlândia, Tapajós, PA); (b) Jurueña (MT); (c) *delator* (Parque Nacional das Emas, GO/MS); (d) Chapada Diamantina (Pq. Nac. Chapada Diamantina, Lençóis, BA); (e) forma altimontana (Campos do Itatiaia, 2400m, Pq. Nac. Itatiaia, RJ).

(Figuras 3.47c, d) são em geral mais robustos, dotados de rostros relativamente curtos e largos, caixa craniana ampla e *sinus* frontonasais relativamente inflados, proporcionando um aspecto mais expandido à região anterorbital (Oliveira, 1998a). Já a forma alto-montana difere dos

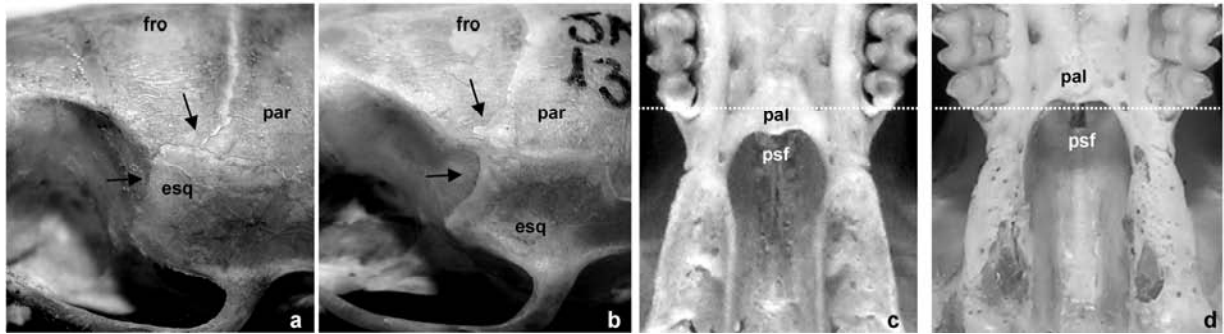


Figura 3.48. Variação em alguns caracteres qualitativos cranianos no grupo *delator*: (a, b) vista lateral da região supraorbital mostrando as duas condições de contato entre o esquamosal e a face dorsal do frontal; (c, d) vista ventral da fossa mesoptergóide ilustrando as condições de extensão do palato em relação ao M3 e ponto de término anterior do pré-esfenóide. Abreviações: esq – esquamosal, fro – frontal, pal – palato posterior, par – parietal, psf – pré-esfenóide.

demais grupos morfológicos por exibir crânios menores e mais delicados, rostros estreitos e curtos, tubo nasal pronunciado e região interorbital consideravelmente estreita.

A região supraorbital também se mostrou variável, especialmente na população da Chapada Diamantina (Figura 3.48). Na maioria das populações do grupo *delator*, o esquamosal contacta a face dorsal do frontal ao longo de uma sutura lateral retílinea que se estende desde a sutura fronto-parietal até a extremidade anterodorsal do esquamosal (tal como descrito para *Oryzomyini* por (Weksler, 2006). As amostras da Chapada Diamantina exibem uma segunda condição, única dentro do grupo *delator*, onde não há contato entre o esquamosal e a face dorsal do frontal, de modo que as suturas fronto-parietal e fronto-esquamosal são quase colineares (figura). Por último, a região palatal fornece evidência de diferenciação das formas da Amazônia e dos campos alto-montanos do sudeste em relação às formas do Cerrado. As populações amazônicas e alto-montanas compartilham palatos relativamente curtos que não se estendem posteriormente além do M3, deixando visível a terminação anterior do pré-esfenóide (Figura

3.48). As populações do Cerrado (“*delator*” e Chapada Diamantina”) apresentam palatos mais longos, com limites posteriores ao M3 cobrindo a terminação anterior do pré-esfenóide e não a deixando visível ventralmente (Figura 3.48).

Este conjunto de caracteres reforça a consistência morfológica e geográfica dos cinco grupos regionais identificados. Entretanto, uma comparação entre a estrutura da variabilidade morfológica e o padrão filogenético do grupo *delator* sugerido pelo citocromo *b* revela que as unidades identificadas morfológicamente não refletem grupos reciprocamente monofiléticos, especialmente em relação à forma do planalto central (“*delator*”). Em geral, linhagens filogeneticamente próximas divergem consideravelmente em suas morfologias, enquanto linhagens filogeneticamente descontínuas compartilham morfótipos muito similares, sugerindo independência entre diferenciação morfológica e nível de divergência genealógica. Uma quantificação direta da correlação entre os graus de diferenciação fenotípica e genética revelam mais claramente esta dissociação (Figura 3.49). A representação gráfica da diferenciação morfológica conforme o grau de divergência genética mostra que as populações pertencentes a grupos morfológicos distintos não apresentam maior divergência genética entre si do que populações pertencentes a um mesmo grupo morfológico. O mesmo pode ser constatado para populações ocupando fisionomias distintas, que apesar de diferirem morfológicamente não exibem níveis de divergência genética maiores do que amostras habitando uma mesma fisionomia. Um teste de Mantel finalmente indica que não há correlação significativa entre as distâncias morfométricas multivariadas e as distâncias genéticas entre populações ($r = 0.05$, $p = 0.24$, 10000 permutações). Estes resultados constituem um forte indício de que a evolução morfológica no grupo *delator* tem sido desvinculada de eventos históricos de isolamento genético entre populações. As pressões seletivas diferenciais sofridas por populações ocupando hábitats

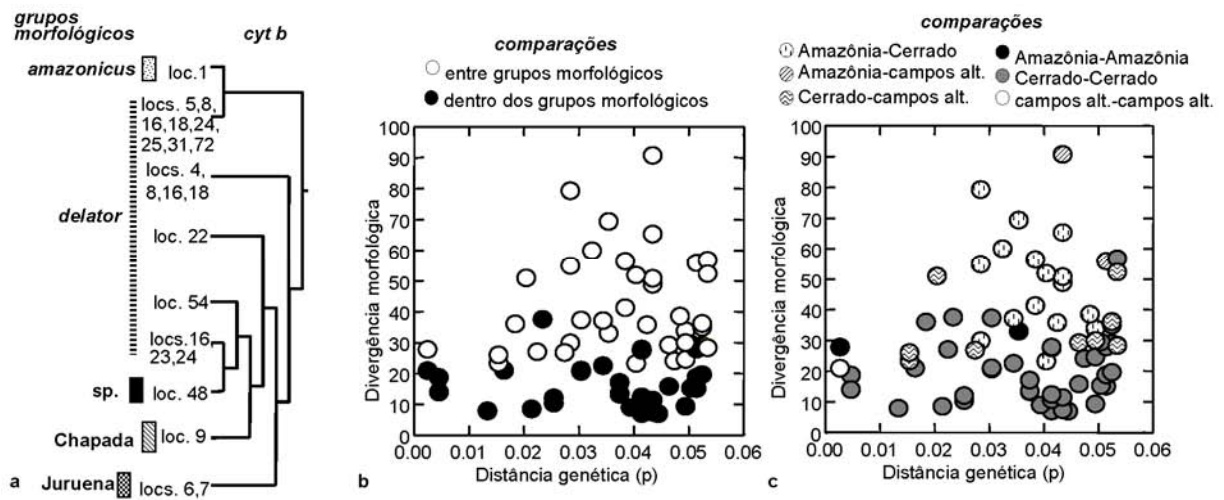


Figura 3.49. (a) Nível de concordância entre grupos morfológicos e genealogia mitocondrial (citocromo *b*) e (b, c) contrastes entre diferenciação morfológica multivariada (distância de Mahalanobis) e divergência genética (distância *p*) em populações do grupo *delator*

contrastantes (*e.g.*, campo de altitude x Cerrado) neste contexto constituiriam a força motriz no processo de diferenciação, gerando respostas adaptativas locais que culminariam com a fixação de morfótipos (Endler, 1977).

Neste contexto de diferenciação guiada primordialmente por fatores ambientais, o reconhecimento de unidades taxonômicas fica dificultado. Combinando os critérios de monofilia recíproca, presença de caracteres diagnósticos e coesão genética para se delimitar espécies, a única entidade a ser reconhecida fica sendo o próprio grupo *delator*. Entretanto, dada a diversificação morfológica considerável deste táxon e sua consistência geográfica e ambiental, o reconhecimento de unidades taxonômicas intraespecíficas ou subespécies parece justificado. Uma subespécie representa um grupo de populações fenotipicamente similares circunscritas a uma parte da distribuição da espécie que difere taxonomicamente (por caracteres diagnósticos) em relação a outros grupos de populações da mesma espécie (Mayr, 1963); (Mayr & Ashlock, 1991).

As cinco unidades morfológicas constituem grupos regionais fenotipicamente diferenciados que podem ser reconhecidos por caracteres morfológicos. Ao mesmo tempo, a baixa diferenciação genética e a ausência de monofilia recíproca entre estas unidades sugerem que estes grupos regionais ainda gozam de certa conectividade genética em níveis típicos daqueles encontrados entre populações de uma mesma espécie (Baker & Bradley, 2006), justificando o uso de uma categoria intraespecífica para se referir a estas populações. Esses táxons serão apropriadamente descritos em outro trabalho (Gonçalves, Oliveira & Carmignotto, *in prep*).

A falta de melhores amostras morfológicas de outros segmentos da distribuição do grupo *delator* impossibilita a inclusão acertada de um número maior de populações nestas subespécies. De qualquer modo, com base na distância geográfica e fisionomia ocupada as amostras do norte do Mato Grosso (Apiacás, Aripuanã), analisadas somente geneticamente, possivelmente constituem representantes adicionais da forma de Juruena. O mesmo não se pode dizer das populações do Piauí em relação às suas afinidades com “*delator*” do Brasil central. Estas populações habitam ambientes diferenciados em relação à área nuclear do Cerrado do planalto central pois situam-se em zonas de transição com a Caatinga do nordeste do Brasil. Em resumo, o estudo morfológico e genético de populações nas zonas limítrofes da distribuição do grupo *delator* deve revelar subespécies adicionais.

Tabela 3.10 Haplótipos de citocromo *b* (1140pb) identificados no grupo *delator* do gênero *Oxymycterus*, espécimes-testemunho e localidades associadas. Localidades encontram-se mapeadas na figura 3.42

Haplótipos e espécimes		Localidades	
1	MZUSP21317	Cachoeira do Espelho, rio Xingú, PA (loc. 1)	
2	UUPI18, 319	Estação Ecológica de Uruçuí-Una, PI (loc. 4)	
3	CIT431, 442	4 CIT435	Apiacás, MT (loc. 5)
5	APC206, 218, 223		Aripuanã, MT (loc. 6)
6	APC160, 164	7 APC170	Juruena, MT (loc. 7)
8	APC805	9 APC806	Peixe, TO (loc. 8)
10	LMP236	12 JAO1364	Chapada Diamantina, Lençóis, BA (loc. 9)
11	JAO1338, LMP237		Chapada Diamantina, Lençóis, BA (loc. 9)
13	CRB1574	16 CRB1671	Fazenda Sertão Formoso, Cocos, BA (loc. 16)
14	CRB1581	17 CRB1832	Fazenda Sertão Formoso, Cocos, BA (loc. 16)
15	CRB1597		Fazenda Sertão Formoso, Cocos, BA (loc. 16)
18	CRB1131	19 CRB1132	Parque Nacional Chapada dos Veadeiros, GO (loc. 18)
20	EGM28		São João do Paraíso, MG (loc. 22)
21	APC714, 750	22 APC762	Parque Nacional Grande Sertão Veredas, MG (loc. 23)
23	APC816	25 APC845, 853	Parque Nacional de Brasília, DF (loc. 24)
24	APC837, 854		Parque Nacional de Brasília, DF (loc. 24)
26	LPC481, APC578		Barra do Garças, MT (loc. 25); Fazenda Mutum, Parque Nacional das Emas, GO/MS (loc. 31)
27	APC563	29 APC580	Fazenda Mutum, Parque Nacional das Emas, GO/MS (loc. 31)
28	APC564		Fazenda Mutum, Parque Nacional das Emas, GO/MS (loc. 31)
30	APC1160, 1178 UMMZ133939, 133942,		Estação Ecológica de Santa Bárbara, SP (loc. 54)
31	134407	33 UMMZ175101	Curuguaty, Canendiyu, Paraguai (loc. 72)
32	UMMZ137077		Curuguaty, Canendiyu, Paraguai (loc. 72)
34	CRB1293	36 CRB1349	Brejo da Lapa, Itamonte, MG (loc. 48)
35	CRB1306		Brejo da Lapa, Itamonte, MG (loc. 48)
37	JAO1504, 1520	39 JAO1525	Campos do Itatiaia, Itatiaia, RJ (loc. 48)
38	JAO1514, 1516, 1530, 1555	40 JAO1550	Campos do Itatiaia, Itatiaia, RJ (loc. 48)

Tabela 3.11. Probabilidades de alocação *a posteriori* de representantes das amostras pequenas em relação a amostras maiores do grupo *delator* baseadas nas distâncias de Mahalanobis calculadas em 10000 iterações de *bootstrap*. Exceto pela amostra da Chapada Diamantina, somente estão representadas as amostras grandes às quais os espécimes de amostras pequenas foram alocados em mais de 50% das iterações de *bootstrap*.

Amostras pequenas		Amostras grandes						
Espécimes	Localidades	Chapada Diamantina a (loc. 9)	Veadeiros (loc. 18)	Serra Geral do Tocantins (loc. 21)	Grande Sertão (loc. 23)	Brasília (loc. 24)	Emas (loc. 31)	Itatiaia (loc. 48)
MCN-PUCMG973	Cardeal, Santana do Riacho, MG (loc. 33)	0	1	0	0	0	0	0
MO76	Serra do Cipó, MG (loc. 34)	0	0	0	0	0	0	1
MN66335	Nova Lima, MG (loc. 36)	0	0.11	0	0.01	0	0.24	0.64
MN66336	Nova Lima, MG (loc. 36)	0	0.91	0	0	0	0.09	0
DQM42	Serra da Canastra, MG (loc. 39)	0	0	0	0.99	0	0	0
APC1160	EE Santa Bárbara, SP (loc. 54)	0	0	0	0.99	0	0	0
APC1173	EE Santa Bárbara, SP (loc. 54)	0	0	0	1	0	0	0
MZUSP26740	EE Santa Bárbara, SP (loc. 54)	0	0	0	0	0.95	0	0
AMNH139812	Butantan, Sao Paulo, SP (loc. 63)	0	0	0	0	0	0	0.99
AMNH139813	Butantan, Sao Paulo, SP (loc. 63)	0	0	0	0	0	0	0.99
FMNH136923	Itapetinga, SP (loc. 65)	0.32	0	0	0.63	0	0	0
MZUSP30739	Buri, SP (loc. 67)	0	0.09	0	0	0.05	0.86	0
MZUSP30756	Buri, SP (loc. 67)	0	0.35	0	0	0.64	0	0
MZUSP30766	Buri, SP (loc. 67)	0	0	0	0	0	0	1
MZUSP30963	Buri, SP (loc. 67)	0	0	0	0.95	0	0	0
MZUSP-DM01	Paranapiacaba, SP (loc. 69)	0	0	0	0.19	0.29	0	0.52
MZUSP11425	Poços de Caldas, MG (loc. 87)	0	0	0.82	0	0	0	0

3.3.3.4 Diferenciação geográfica no grupo *nasutus*

O grupo *nasutus* apresenta um padrão de distribuição bem distinto do que foi revelado para o grupo *delator*. *Oxymycterus caparae* e *O. nasutus*, as duas formas nominais incluídas no grupo, estão separadas por um amplo hiato geográfico que também representa o ponto de disjunção entre as fisionomias campestres ocupadas pelos representantes do grupo. *Oxymycterus caparae* está restrita às zonas alto-montanas do maciço do Caparaó (Minas Gerais/Espírito Santo), sendo abundante nos campos de altitude que dominam as cotas acima de 1800m (Bonvicino *et al.* 1997), ao passo que *O. nasutus* ocorre nas Estepes e Campos Sulinos que se estendem do Uruguai ao estado do Paraná, onde as fisionomias campestres ocorrem entremeadas às florestas ombrófilas que penetram o planalto meridional. Apesar da grande amplitude latitudinal ocupada pelo grupo *nasutus*, suas populações estão sujeitas a uma heterogeneidade ambiental e climática bem menor do que a abrangida pelo grupo *delator*. Os campos e estepes que cobrem a planície gaúcha poucos metros acima do nível do mar alcançam sua extensão setentrional máxima através do planalto meridional que, por apresentar uma faixa altitudinal quase contínua de 900m, abriga climas frios e similares aos encontrados em latitudes maiores. O estudo dos padrões de diversificação do grupo *nasutus* oferecem então uma oportunidade de investigar como a diversificação pode proceder em regiões em boa parte ecologicamente equivalentes.

Filogeografia do grupo nasutus

Uma matriz contendo os 10 haplótipos de citocromo *b* identificados em populações do grupo *nasutus* foi submetida a uma análise de parcimônia, tendo *O. hiska* como grupo externo.

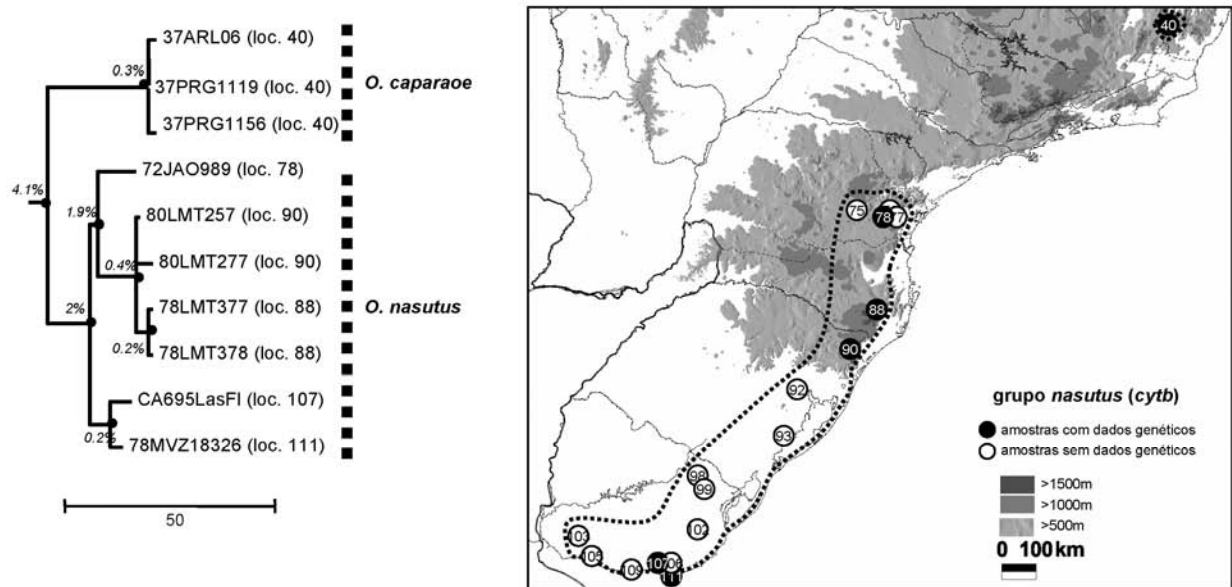


Figura. 3.50. Padrão filogeográfico no grupo *nasutus* do gênero *Oxymycteris* sob a perspectiva do gene mitocondrial citocromo *b*. **(A)** Topologia de consenso estrito entre 3 árvores igualmente parcimonosas de 154 passos (CI= 0.92; RI=0.89). Cores dos nós indicam níveis de suporte de *bootstrap*: nós pretos = 100-70%, nós cinza = 69-50% e nós brancos <50%. Valores próximos aos nós equivalem à divergência genética média entre linhagens irmãs expressa em porcentagem de sítios diferentes. Números correspondem a espécimes-testemunho representantes de cada haplótipo e respectivas localidades de ocorrência **(B)** Distribuição dos clados mitocondriais revelados e localidades das amostras de representantes do grupo *delator* mapeada em relação à fisiografia do sudeste e sul do Brasil e Uruguai.

Devido ao número reduzido de terminais (<20), uma busca exaustiva de *branch-and-bound* foi possível, retornando três árvores igualmente parcimoniosas de 154 passos, representadas pela topologia consensual da Figura 3.50.

Oxymycteris caparae e *O. nasutus* são reconstituídas como dois clados reciprocamente monofiléticos e estatisticamente bem suportados na genealogia do citocromo *b*. A descontinuidade geográfica entre as duas espécies é acompanhada de uma divergência moderada entre seus haplótipos que diferem de 3.6% a 4.4% de distância *p*. A diferenciação interna de *O. caparae* é mínima, não ultrapassando 0.37% de divergência. Já *O. nasutus* apresenta maior

diferenciação interna, incluindo três clados que divergem em média por 2% de diferença em sequência e se encontram geograficamente segregados. O primeiro é representado por um único haplótipo identificado em 4 espécimes de Piraquara (loc. 78), na serra do Mar do estado do Paraná, enquanto o segundo abrange haplótipos de duas populações (locs. 88 e 90) da borda mais oriental da serra Geral nos estados de Santa Catarina e Rio Grande do Sul. O último grupo é representado por haplótipos do extremo sul da distribuição de *O. nasutus* no departamento de Maldonado, Uruguai, próximo à localidade tipo da espécie. A diferenciação interna dos três clados não ultrapassa 0.5% e até mesmo o clado da serra Geral, que inclui populações um pouco mais distanciadas entre si, não mostra indícios de estruturação geográfica adicional já que haplótipos de diferentes áreas não constituem clados monofiléticos. Mesmo a estruturação dentro de *O. nasutus* não pode ser inferida com precisão, tendo em vista a existência de várias populações intermediárias entre os três clados que não foram geneticamente analisadas. O sinal mais claro de subdivisão dado pela genealogia mitocondrial consiste na disjunção entre *O. caparaoe* e *O. nasutus*.

Para verificar sinais de divergência entre *O. caparaoe* e *O. nasutus*, a genealogia dos 16 alelos do íntron 7 do beta-fibrinogênio foi reconstruída pelo método de parcimônia estatística. Dois grupos de haplótipos geograficamente consistentes podem ser identificados na rede genealógica (Figura 3.51), um representando os 5 alelos encontrados em *O. caparaoe* (haplótipos 1, 2, 3, 4 e 5) e o outro incluindo alelos da serra do Mar do Paraná (haplótipos 12, 13, 14, 15 e 16). Com exceção de um único haplótipo compartilhado com uma população da serra Geral (haplótipo 12), o haplogrupo da serra do Mar paranaense se mostra geograficamente exclusivo e diferenciado em relação aos demais do grupo. O mesmo vale para *O. caparaoe*, que pode ser reconhecido como um haplogrupo distinto dentro do grupo *nasutus*. Apesar disso, o *fgbI7* não

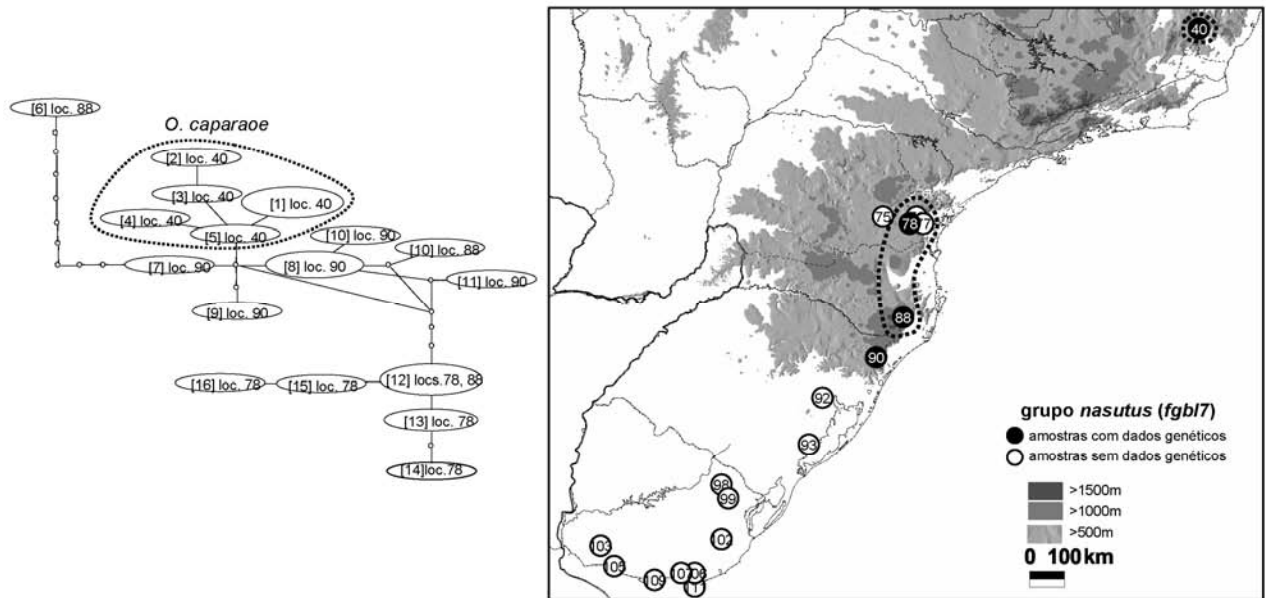


Figura 3.51. Rede genealógica e distribuição geográfica de haplótipos e haplogrupos do íntron 7 do beta fibrinogênio no grupo *nasutus*. Números entre colchetes identificam haplótipos distintos e respectivas localidades de ocorrência.

fornece indício de monofilia recíproca entre *O. caparae* e *O. nasutus*, e poucas mutações separam haplótipos das duas formas a despeito da distância geográfica. Os traços da disjunção geográfica entre as duas espécies só podem ser percebidos na genealogia do *fgbI7* a partir da exclusividade geográfica dos alelos de *O. caparae* e sua posição terminal na rede genealógica. Aparentemente, vários haplótipos ancestrais ainda são mantidos em *O. nasutus*, especialmente na população de Aparados da Serra (loc. 90), sugerindo que o panorama dado pelo *fgbI7* remonta um período em que a subdivisão geográfica entre as populações de *O. caparae* e *O. nasutus* ainda não era tão pronunciada.

O acúmulo de divergência em marcadores neutros encontra-se fortemente ligado a eventos de isolamento genético entre populações. Sob esta premissa, espera-se que maiores concordâncias entre padrões de divergência morfológica e genética em porções neutras do

genoma fossem verificadas em casos de diferenciação acompanhada de isolamento geográfico. O padrão filogeográfico revelado para o grupo *nasutus* parece se adequar bem a este caso onde a descontinuidade filogenética coincide com os limites geográficos propostos para as duas espécies. Os traços do isolamento geográfico entre as populações são portanto aparentes.

Limites morfológicos entre espécies do grupo nasutus

A diferenciação morfológica entre *O. caparae* e *O. nasutus* foi inicialmente estimada via uma análise discriminante de variáveis canônicas, considerando-se cada amostra populacional como uma unidade operacional. A representação dos escores das duas primeiras funções discriminantes evidenciam as populações de *Oxymycterus caparae* e *O. nasutus* como duas unidades divergentes ao longo da primeira função, que responde por 45.13% da variabilidade craniométrica entre populações (Figura 3.52a). A segunda função não fornece bases para discriminação entre as duas espécies, resumindo a diferenciação entre populações de *O. nasutus*. A diferenciação entre as duas espécies envolve modificações significativas na forma craniana, uma vez que vários caracteres se mostram correlacionados com FD1 em sentidos opostos. Dentre os caracteres mais informativos para discriminação se destacam aqueles relacionados ao rosto, como os comprimentos nasais e do tubo nasal, maiores em *O. caparae*, e a profundidade do rosto mais pronunciada em *O. nasutus*. *Oxymycterus caparae* também apresenta região interorbital relativamente mais larga e ponte palatal mais extensa do que *O. nasutus*. Quando combinados, os caracteres relacionados ao rosto fornecem uma base razoavelmente precisa para distinção entre as duas espécies (Figura 3.52c). Menos do que 5% (5 em 109 espécimes) dos exemplares de *O. nasutus* exibem morfologia rostral coincidente com a de representantes de *O. caparae*. A variabilidade da morfologia rostral é grande em *O. nasutus*, mas grandes

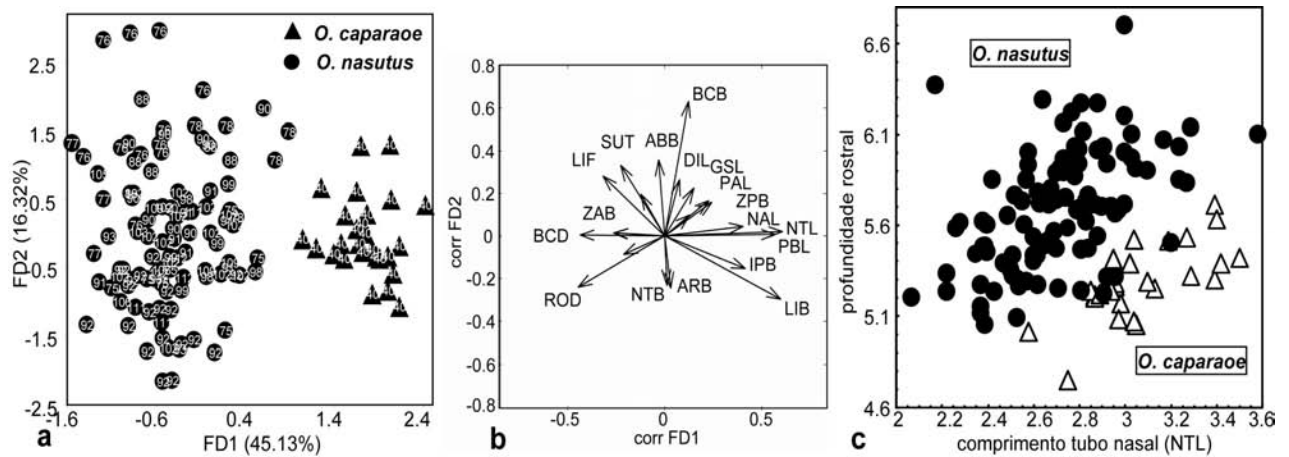


Figura 3.52 Diferenciação morfométrica entre *Oxymycterus caparae* e *O. nasutus*: (a) escores individuais em relação às duas primeiras funções discriminantes, (b) vetores de correlação entre caracteres e funções discriminantes, (c) distribuição dos valores para caracteres quantitativos mais informativos para discriminação entre as espécies

incrementos na profundidade do rostro geralmente resultam em pequeno alongamento do tubo nasal. A covariância entre estes dois caracteres é modificada em *O. caparae*, de modo que pequenas modificações na profundidade rostral incorrem em grandes extensões do tubo nasal.

A diferenciação entre as espécies pode ser percebida também em aspectos qualitativos do crânio (Figura 3.53). A região interorbital mais ampla de *O. caparae* pode ser notada de forma qualitativa, em vista ventral, onde as margens laterais dos frontais são aparentes no nível do segundo molar. Em *O. nasutus* as margens dos frontais são visíveis somente até o nível do terceiro molar. A bula timpânica também é mais expandida antero-posteriormente em *O. caparae*, especialmente o ectotimpânico que apresenta sua porção antero-lateral ampliada, dando um aspecto mais quadrangular à bula. *Oxymycterus nasutus* apresenta uma bula menor e com formato mais cônico, já que o ectotimpânico não se apresenta tão expandido antero-lateralmente.

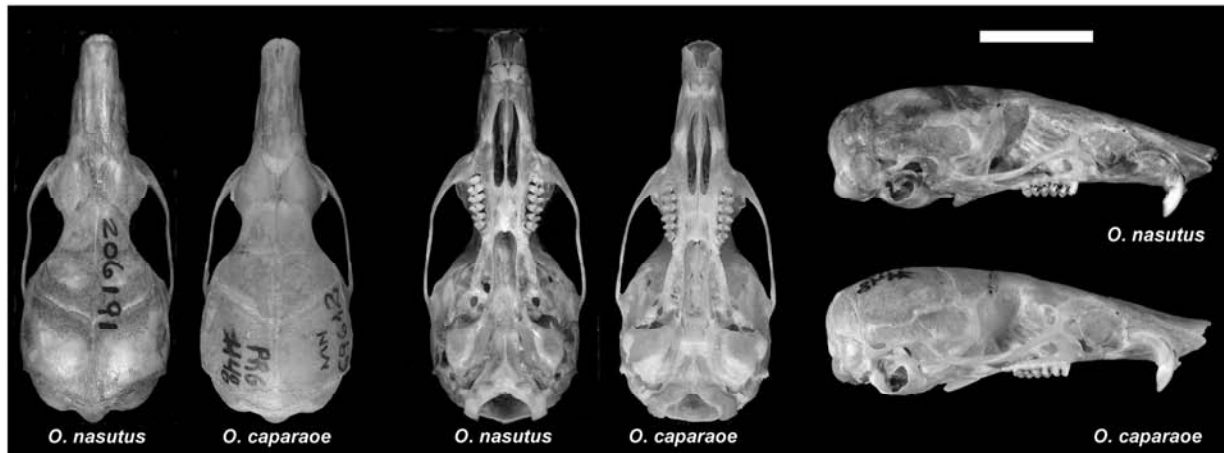


Figura 3.53. Vistas dorsal, ventral e lateral dos crânios de representantes de *Oxymycterus nasutus* (Rocha, Uruguai) e *O. caparae* (Terreirão, 2500m, Pq. Nac. Caparaó).

Existe variabilidade relacionada à extensão posterior do forâmen incisivo em relação ao nível demarcado pela face posterior da placa zigomática (Figura 3.54). Representantes de *Oxymycterus nasutus* apresentam forâmenes longos que se estendem posteriormente bem além da placa zigomática, enquanto que em exemplares de *O. caparae* os forâmenes dificilmente ultrapassam o plano da placa zigomática. Alguns caracteres não fornecem uma boa base para diagnose e distinção inequívoca entre as duas espécies já que exibem polimorfismo intrapopulacional, embora seus padrões de distribuição geográfica reforcem a diferenciação entre *O. caparae* e *O. nasutus*. A sutura entre os frontais e os parietais apresenta-se tanto em forma de um “V”, apresentando um ângulo mais fechado, como na forma de “U” aberto (Hershkovitz, 1966). As populações das duas espécies apresentam as duas configurações da sutura fronto-parietal, mas *O. caparae* apresenta a maior frequência de suturas em “V” em relação a todas as populações de *O. nasutus*. A barra óssea do alisfenóide envolvida na separação entre o forâmen oval e o canal bucinador-mastigatório (Carleton & Musser, 1989) também apresenta frequências variáveis entre as espécies.

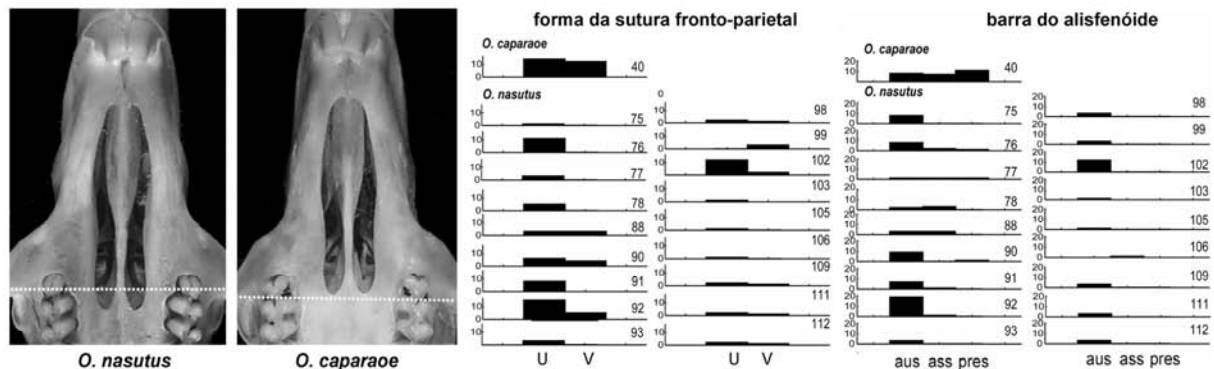


Figura 3.54. Variação em caracteres qualitativos entre *Oxymycterus nasutus* e *O. caparae*: (a) condições de extensão do forâmen incisivo em relação à face posterior da placa zigomática, (b) frequências absolutas para a forma da sutura fronto-parietal e ocorrência da barra do alisfenóide nas populações de *O. caparae* e *O. nasutus*. Abreviações: aus – barra ausente nos dois lados, ass – barra presente em somente um lado (assimetria), pres – barra presente nos dois lados.

Oxymycterus caparae apresenta as maiores frequências de condições de assimetria (presença em somente um dos lados do crânio) e presença da barra, enquanto que nas populações de *O. nasutus* predomina a ausência da barra.

Hershkovitz (1998) enfatizou caracteres externos ao diferenciar *O. caparae* de *O. nasutus*, destacando a coloração mais escura da forma do Caparaó em relação à sua espécie irmã. Todos os espécimes da série de *O. caparae* examinada possuem um tom geral do dorso brúneo-escuro devido à redução das bandas feomelânicas. A coloração dorsal de *O. nasutus* é, na maior parte das vezes, mais clara e com tom ferrugíneo mais vívido devido às marcas feomelânicas mais extensas nos pêlos. A face dorsal da cauda também é nitidamente mais alaranjada e bicolor do que em *O. caparae*, e os pêlos que cobrem os pés são mais claros. Vale destacar que existe um grande espectro de variação cromática em *O. nasutus*, e em alguns exemplares do Rio Grande do Sul (locs. 90, 92 e 93) a tonalidade é distintamente mais escura e desprovida do tom canela típico da espécie, se aproximando da coloração exibida por *O. caparae*. Um representante deste tipo cromático de *O. nasutus* foi analisado geneticamente (LMT 292) e foi possível verificar que

este exemplar compartilha o mesmo haplótipo de citocromo *b* com espécimes de coloração canela mais clara.

Variação altitudinal em Oxymycterus nasutus

Como discutido anteriormente, *O. nasutus* encontra-se distribuído por áreas climaticamente similares e apresenta uma preferência marcada pelos tipos campestres de formação vegetal no sul do Brasil e Uruguai. A espécie, contudo, distribui-se por um gradiente altitudinal amplo, estendendo-se desde o nível do mar, na planície gaúcha e no Uruguai, até aproximadamente 1300m em partes mais elevadas do planalto meridional. Quando o perfil altimétrico das populações amostradas é representado em relação à latitude (Figura 3.55), pode-se notar que a transição da planície para o planalto é um tanto abrupta, apresentando um desnível de quase 1000m. No sentido de testar se a variação altitudinal é refletida fenotipicamente pelas populações de *O. nasutus*, uma análise discriminante de variáveis canônicas foi realizada em que as amostras populacionais foram tratadas como grupos. Os escores das duas primeiras funções discriminantes foram então indexados por localidade e latitude e mapeados em relação ao gradiente altitudinal. Dentre as três funções discriminantes calculadas, a primeira e a segunda se mostram mais relacionadas com a variação altitudinal apresentada. Populações do planalto meridional apresentam escores em média maiores do que as populações da planície. A diferenciação altitudinal pode ser notada também nas representações dos escores individuais das três primeiras funções, rotulados de acordo com as faixas altitudinais (Figura 3.55). Existe extensa variação na forma do crânio e os caracteres mais relacionados com a segregação altitudinal são as larguras da região interorbital, rostral e caixa craniana.

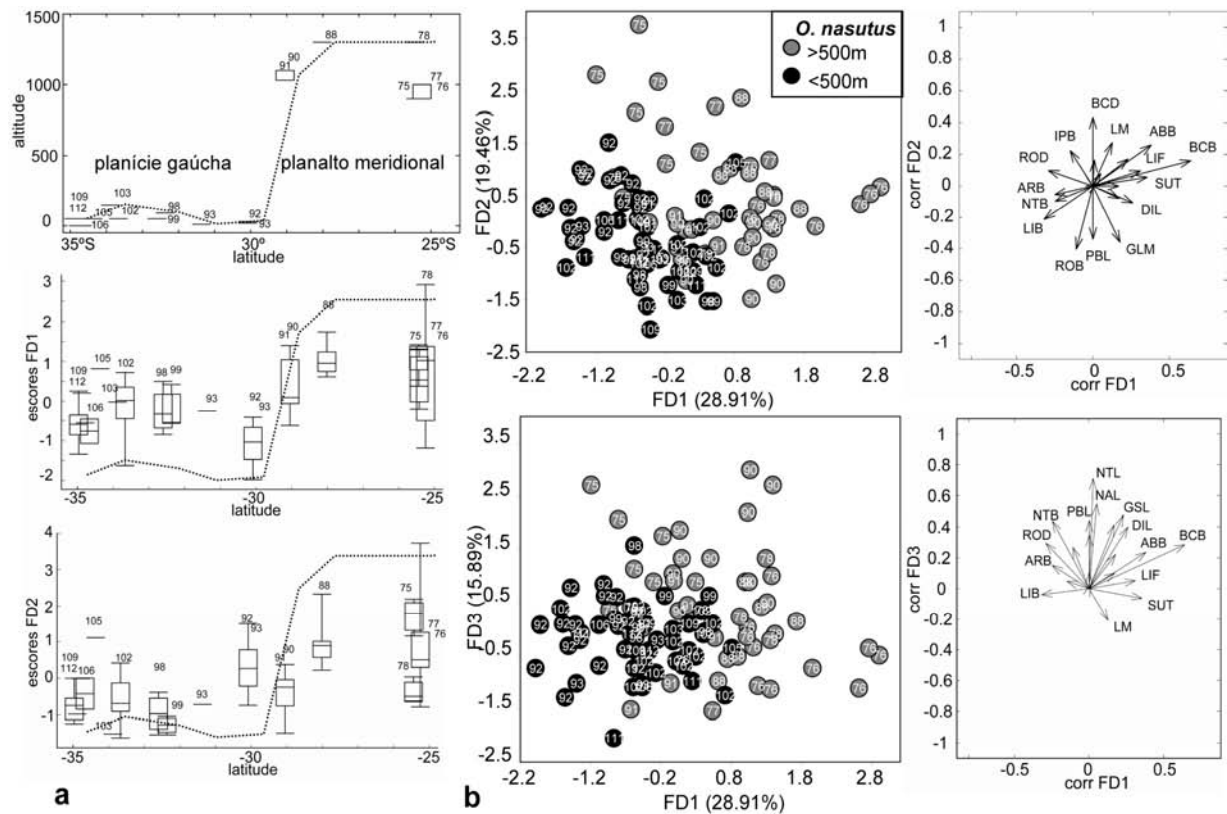


Figura 3.55. Diferenciação morfométrica entre populações de *O. nasutus*: **(a)** contrastes entre o perfil altimétrico latitudinal (linha pontilhada) das populações e a distribuição dos escores das duas primeiras funções discriminantes, **(b)** escores individuais das populações de *O. nasutus* rotulados em relação à faixa altitudinal ocupada e correspondentes vetores de correlação entre caracteres e funções discriminantes.

A divergência não é pronunciada a ponto de dois grupos morfológicos poderem ser reconhecidos em *O. nasutus*, já que há sobreposição entre escores de populações da planície e do planalto. Embora exista diferenciação significativa entre populações de faixas altitudinais distintas, estas diferenças são menores do que o esperado considerando a transição altitudinal abrupta entre planície e planalto. Uma hipótese para explicar este resultado seria a ocorrência de populações intermediárias distribuídas de forma quase contígua a despeito do gradiente súbito, diminuindo os níveis de isolamento e diferenciação genética e morfológica das populações. Esta possibilidade não pode ser descartada, mesmo considerando a detecção de clados geneticamente

diferenciados dentro de *O. nasutus*, pois há lacunas de amostragem entre os três grupos identificados.

Capítulo 4. BIOGEOGRAFIA DAS ZONAS ALTO-MONTANAS DA MATA ATLÂNTICA

4.1 MODELOS DE DIVERSIFICAÇÃO

Uma motivação do presente estudo surgiu da expectativa de que os padrões de diferenciação geográfica exibidos pelos pequenos mamíferos alto-montanos revelassem traços de como a diversificação biológica teria procedido nas zonas alto-montanas da Mata Atlântica, resultando no acúmulo excepcional de endemitas atualmente encontrado nestas áreas. Os táxons-foco e sistema de caracteres foram selecionados de forma que os padrões de diversificação obtidos pudessem ser utilizados para testar diferentes modelos de diversificação propostos para explicar a origem de centros de endemismo em sistemas tropicais.

Com a síntese dos modos geográficos de especiação alopátrica, parapátrica e simpátrica (Mayr, 1942; Maynard-Smith, 1966; Bush, 1975; Endler, 1977) vários modelos de diversificação foram propostos. A crença de que o isolamento geográfico seria o mecanismo quase universal de surgimento de novas espécies (Mayr, 1942) fez do modo de especiação alopátrica a base de um grande número de modelos de diversificação. Estas hipóteses também se baseiam na importante premissa de que o planeta teria passado por uma história bastante dinâmica de perturbações climáticas e geológicas que tiveram implicações fundamentais para a formação das paisagens e biotas atuais.

Os modelos alopátricos de especiação geralmente enfatizam uma relação causal entre o surgimento de barreiras geográficas naturais e a diferenciação das populações situadas em lados opostos destas barreiras. Uma grande classe de modelos tem se concentrado nos efeitos dos ciclos

de oscilações climáticas na diferenciação entre populações e comunidades. Esses “modelos de refúgios” variam basicamente nas estimativas de idade dos eventos paleoclimáticos relacionados à diferenciação entre espécies. O desenvolvimento dessas hipóteses foi influenciado em grande parte pela Glaciologia (Agassiz, 1840), mais especificamente pela descoberta dos ciclos de Milankovitch, ciclos periódicos de oscilação climática de grande importância para as biotas do planeta. As alterações periódicas na excentricidade da órbita planetária (ciclos de 100 mil anos), na obliquidade (ciclos de 41 mil anos) e na precessão (ciclos de 22 mil anos) do eixo terrestre causam flutuações substanciais na quantidade de energia solar recebida pelo planeta, criando pulsos alternados de glaciação e tropicalização dos climas (Bennet, 1990). Uma das consequências bióticas mais importantes das passagens de um período climático para outro seria a extensa reorganização espacial das formações florestais úmidas e das fisionomias campestres, promovendo uma sucessão de eventos de fragmentação ou expansão das espécies e populações a elas associadas. Inicialmente, as evidências mais claras apontavam para uma atuação bastante pronunciada destas oscilações ao longo do Pleistoceno, onde as condições glaciais mais extremas teriam ocorrido no Último Glacial Máximo (UGM), no final do Pleistoceno (18 a 10 mil anos atrás), suportando o modelo de refúgios pleistocênicos (Haffer, 1969; Vanzolini & Williams, 1970; Brown & Ab Saber, 1979). Entretanto, evidências paleoambientais estendem as raízes destes ciclos climáticos para períodos cada vez mais antigos do que o Quaternário, sugerindo sua ocorrência por praticamente toda a era Cenozóica (Jansson & Dynesius, 2002b). De fato, os estudos mais recentes revelam idades bem mais antigas para a maioria das espécies de vertebrados da Mata Atlântica investigadas até o momento, sugerindo que a dinâmica climática do Pleistoceno pode não ter sido tão fundamental para determinar a diversidade faunística deste domínio (Mustrangi & Patton, 1997; Lara & Patton, 2000; Pellegrino *et al.* 2005).

O modelo de refúgios já foi evocado para explicar a distribuição dos campos de altitude, cuja fragmentação e restrição atual às zonas altitudinais mais elevadas teria sido promovida pela chegada de climas mais quentes e úmidos logo após o UGM (Ab Saber, 1977; Rizzini, 1979; Safford, 1999c). As evidências palinológicas modernas claramente mostram a dominância de formações campestres pelo leste do Brasil durante o UGM em áreas hoje cobertas por florestas, um cenário que teria evoluído para a condição atual ao longo da primeira metade do Holoceno (Behling & Lichte, 1997; Behling & Negrelle, 2001; Behling, 2002). Contudo, pouco se sabe sobre a relevância destas flutuações climáticas nos processos de especiação e diferenciação dos mamíferos das regiões serranas, uma vez que nenhum estudo voltou-se diretamente à evolução da mastofauna endêmica destas áreas. Múltiplos ciclos climáticos ocorreram durante o Quaternário e, a princípio, qualquer um deles poderia ter promovido disjunção entre biotas.

Uma segunda classe de hipóteses oriundas de importantes críticas à idéia do isolamento geográfico como fator promotor de diversificação consiste no modelo de especiação parapátrica ao longo de gradientes ecológicos. A idéia por trás desta teoria, introduzida inicialmente por Endler (1973; 1977; 1982), baseia-se no fato de que a grande divergência de condições ecológicas e pressões seletivas entre habitats adjacentes ocupados por uma espécie promoveria diferenciação de suas populações em virtude das respostas adaptativas específicas às pressões de cada tipo de habitat. Neste contexto, mesmo apresentando algum fluxo gênico entre si, espécies-irmãs divergiriam sensivelmente em aspectos fenotípicos como consequência de seleção disruptiva, resultando em limites morfológicos concordantes com as isoclinas ecológicas que definem os habitats ocupados (Moritz *et al.* 2000). Esta importante predição sobre diferenciação regional consitiuiu a base das críticas ao modelo de refúgios, pois a concentração regional de linhagens diferenciadas poderia ser explicada também pela adaptação local das populações de

uma espécie a áreas ecologicamente únicas (Endler, 1982). Os indícios suportando a aplicabilidade deste modelo à diversificação biótica derivaram inicialmente de estudos experimentais sobre variação clinal em populações distribuídas ao longo de amplos gradientes ambientais mas submetidas a altos níveis de fluxo gênico (Endler, 1973). Apesar destes experimentos já demonstrarem a possibilidade de “diferenciação com fluxo gênico”, as evidências deste mecanismo de diversificação na natureza têm crescido apenas recentemente (Smith *et al.* 1997; Schneider *et al.* 1999; Moritz *et al.* 2000; Smith, Kelt & Patton, 2001). Considerando seu padrão de distribuição atual e contato com fisionomias distintas, os campos de altitude oferecem uma chance especial para testar a pertinência das hipóteses de diferenciação alopátrica e parapátrica em ecossistemas neotropicais.

4.2 TESTANDO OS MODELOS A PARTIR DOS PADRÕES DE DIVERSIFICAÇÃO DAS LINHAGENS ALTO-MONTANAS

4.2.1 Referência temporal para os padrões nos sigmodontíneos

De uma forma geral, as evidências utilizadas na avaliação dos modelos biogeográficos evolutivos raramente ultrapassam as fornecidas pelos padrões de distribuição atual, carecendo de informações cruciais para a inferência dos processos subjacentes à formação dos padrões atuais de endemismo, como a idade dos táxons, que tem se mostrado um componente fundamental para se testar hipóteses biogeográficas

As estimativas de tempo de divergência utilizadas aqui foram baseadas em uma topologia taxonomicamente mais abrangente do que aquelas reportadas para cada gênero estudado. A amostragem taxonômica contou com uma representatividade mais extensa da tribo Akodontini, à qual dois dos gêneros estudados pertencem (*Akodon* e *Oxymycterus*), e com a inclusão de gêneros

exemplares das tribos Oryzomyini (*Oryzomys* e *Oecomys*), Phyllotini (*Calomys*), Thomasomyini (*Rhipidomys* e *Thomasomys*) e Sigmodontini (*Sigmodon*), além de *Delomys*, o terceiro táxon-foco do estudo. O maior escopo desta análise visou contextualizar os três gêneros estudados em uma mesma escala temporal e filogenética, possibilitando o uso dos mesmos pontos de calibragem de taxas evolutivas para o citocromo *b*. Espécies de Neotominae norte-americanos dos gêneros *Peromyscus* e *Neotoma* foram utilizados como grupo externo.

As matrizes originais com dados de sequência do citocromo *b* utilizadas para estimativas filogenéticas em cada táxon separado foram então combinadas em uma única matriz de 177 terminais e 1140 caracteres. Como nos procedimentos anteriores, procurou-se priorizar o maior número de sequências completas, salvo nos casos em que populações ou táxons inteiros estavam exclusivamente representados por sequências incompletas, como no gênero *Delomys* (sequências de 801pb). A matriz final foi submetida a uma análise de parcimônia onde 443 árvores igualmente parcimoniosas foram obtidas. A topologia consensual destas árvores foi então otimizada sob o critério de verossimilhança máxima, considerando as estimativas dos parâmetros do modelo evolutivo GTR+I+ Γ obtidas no programa ModelTest 3.7. O filograma obtido na análise de verossimilhança é mostrado na figura 4.1a., onde dois pontos em comum podem ser notados em comparação às estimativas multigênicas prévias do relacionamento dos roedores muróideos (Steppan, Adkins & Anderson, 2004). Primeiro, os roedores Sigmodontinae são representados como um grupo monofilético e, segundo, o gênero *Sigmodon* se destaca como linhagem mais basal em relação aos demais gêneros da subfamília que aparecem agrupados em um clado monofilético reconhecido por Steppan *et al.* (2004) como “Oryzomyalia”. Esta congruência permitiu que as datas de divergência estimadas por Steppan *et al.* (2004) para os ancestrais destes dois grupos fossem utilizadas para calibrar a genealogia do citocromo *b*

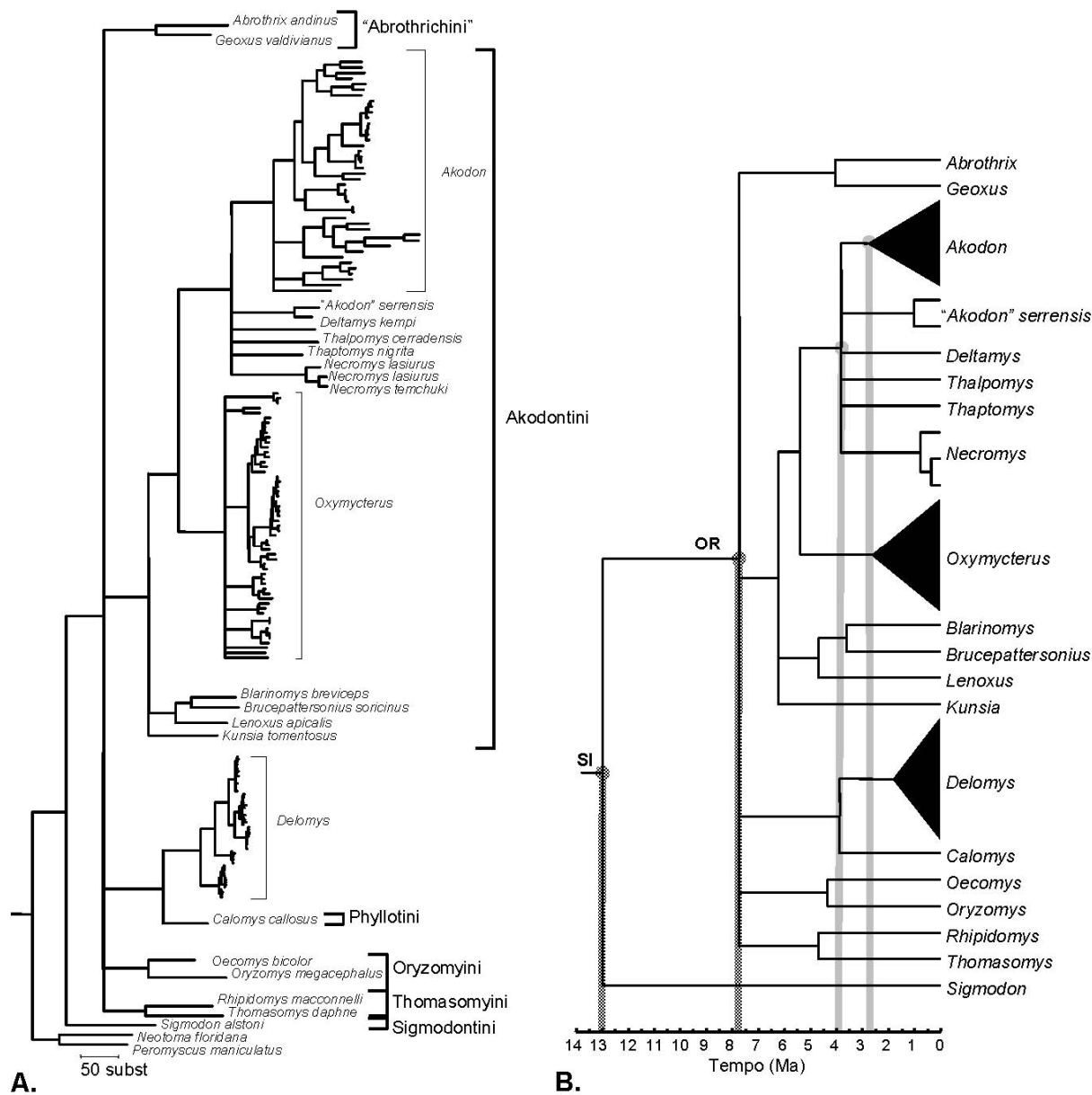


Figura 4.1. Esquema de datação utilizado: (A) Topologia estimada sob o critério de verossimilhança máxima seguindo o modelo evolutivo GTR+I+ Γ (parâmetros: $-\ln L = 21681.37866$, $\alpha = 0.72$, $\text{freqA} = 0.35$, $\text{freqC} = 0.37$, $\text{freqG} = 0.05$) a partir de sequências do citocromo *b* (1140pb) e (B) cronograma inferido através do método de verossimilhança penalizada (*penalized likelihood*) tendo as datas do ancestral de Sigmodontinae (SI = 13.1Ma) e do ancestral de Oryzomyia (OR = 7.8Ma) como pontos de calibragem do relógio molecular (Steppan *et al.*, 2004); nós cinza representam estimativas de idade dos táxons concordantes com o registro fóssil (*Necromys* = 3.8Ma; *Akodon* = 2.8Ma)

e inferir idades para os clados mais exclusivos dentro da irradiação sigmodontínea, incluindo as linhagens alto-montanas (Figura 4.1b).

As estimativas de idades para alguns gêneros utilizando esta abordagem se mostraram bastante concordantes com a cronologia dada pelo registro fóssil dos Sigmodontinae na América do Sul. O gênero *Necromys*, por exemplo, tem sua primeira aparição paleontológica registrada para o piso Chapadmalalense inferior da Argentina (*Necromys bonapartei* Reig, 1978), com idade estimada em 3.55 milhões de anos atrás (Reig, 1987; Pardiñas *et al.* 2002), uma data bem próxima daquela estimada em termos moleculares para a origem do gênero (3.8Ma, figura 4.1b). Concordância maior ainda pode ser vista com relação à aparição de *Akodon* no registro fóssil, estimada em 2.8-2.5Ma (*Akodon lorenzini* Reig, 1987 do piso Vorohuense — Pardiñas *et al.*, 2002) e inferida pela análise molecular como 2.8Ma. Estas correspondências fortalecem o poder inferencial das estimativas moleculares utilizando o método de verossimilhança penalizada, bem como o esquema de calibração adotado aqui.

4.2.2 Predições filogeográficas implícitas nos modelos

Uma perspectiva interessante sobre o processo de especiação é fornecida pela filogeografia, que basicamente faz uso das genealogias de alelos (haplótipos) encontrados dentro de grupos de espécies próximas para contextualizar os padrões de diferenciação entre linhagens de genes no espaço e tempo (Avice, 2000; Emerson, Paradis & Thebaud, 2001). Ao contrário das abordagens sistemáticas tradicionais voltadas para análises em níveis supraespecíficos, a filogeografia se preocupa especificamente com os fenômenos intraespecíficos e populacionais responsáveis pela distribuição de linhagens evolutivas no espaço, processos que estão envolvidos

na formação de novas espécies. Com o avanço progressivo das técnicas filogeográficas, tem sido constatado que processos populacionais tais como expansão demográfica recente, reduções populacionais drásticas, subdivisão geográfica e dispersão deixam traços distintos nos padrões de relacionamento, diferenciação e distribuição espacial dos haplótipos (Harrison *et al.* 1991; Rogers & Harpending, 1992; Patton & Silva, 1998; Avise, 2000; Templeton, 2001). Em situações de isolamento relativamente antigo e pronunciado, por exemplo, haplótipos encerrados em uma mesma população tendem a apresentar relações mais próximas entre si do que com haplótipos geograficamente mais distantes (de outras populações), resultando em situações de monofilia recíproca entre clados circunscritos a regiões geográficas distintas. Por outro lado, situações de grande fluxo gênico entre populações promovem grande dispersão de haplótipos por extensas regiões geográficas, de modo que a correspondência entre proximidade filogenética e proximidade geográfica não é atendida na maior parte das vezes, o que resulta em clados amplamente dispersos geograficamente ou grupos regionais parafiléticos. Obviamente existem situações e cenários intermediários e Avise (2000) ilustra pelo menos cinco categorias de estruturação geográfica e genealógica que podem ser encontradas em diferentes organismos devido às suas peculiaridades evolutivas e bionômicas. Mas o corolário fundamental da abordagem filogeográfica que a torna interessante para o presente contexto é que os diferentes eventos e processos evolutivos implícitos em cada modelo de diversificação possuem expectativas claras com relação à organização espacial e temporal das linhagens evolutivas.

A figura 4.2 ilustra os processos envolvidos na diferenciação de linhagens alto-montanas que podem ser aplicados no contexto dos campos de altitude. Basicamente, estão representados três táxons restritos às formações campestres (“*d*”, “*e*” e “*f*”) e dois táxons florestais e seus respectivos padrões genealógicos e fenotípicos esperados sob os modelos de refúgios e gradientes

ecológicos. No modelo de refúgios a retração dos campos ocasionada pela entrada em um período interglacial promove o isolamento geográfico e diferenciação da espécie “a” nas espécies “d”, “e” e “f”, todas restritas a áreas campestres alto-montanas ou austrais. Neste caso, seria esperado que as espécies “e” e “f” restritas aos relictos campestres alto-montanos e a espécie “d” dos campos do sul integrassem um grupo monofilético como consequência de sua ancestralidade comum (i.e. todas descendem exclusivamente do ancestral “a”). Existem implicações também relacionadas ao tempo de separação entre as linhagens campestres, que deve coincidir com a transição de um período glacial para um interglacial, ou então com a retração das fisionomias campestres, apontando uma causalidade direta das oscilações climáticas na diversificação do grupo. Na figura 4.2, por exemplo, encontra-se representada a transição do último glacial máximo para o *optimum* climático da primeira metade do Holoceno.

O modelo de especiação parapátrica ao longo de gradientes ecológicos exemplifica uma hipótese alternativa. Conforme ilustrado na figura 4.2, as formas florestais “b” e “c” poderiam simplesmente expandir sua distribuição, dispersando da floresta para o campo. Nesta situação, as populações de “b” e “c” estariam sujeitas a um regime bem amplo de pressões seletivas, ocupando tanto habitats florestais nas encostas quanto campos nos altiplanos. Dadas as condições ambientais bem distintas destes habitats, a seleção natural aprofundaria a divergência fenotípica entre populações que ocupassem extremos opostos do gradiente ambiental, dando origem às linhagens campestres “d”, “e” e “f”, respectivamente relacionadas às espécies geograficamente próximas “b” e “c”. Mesmo apresentando algum fluxo gênico, linhagens irmãs como “b” e “e” divergiriam fenotipicamente de forma concordante com os habitats ocupados, já que a heterogeneidade ambiental seria o fator promotor de diferenciação. Consequentemente, espécies

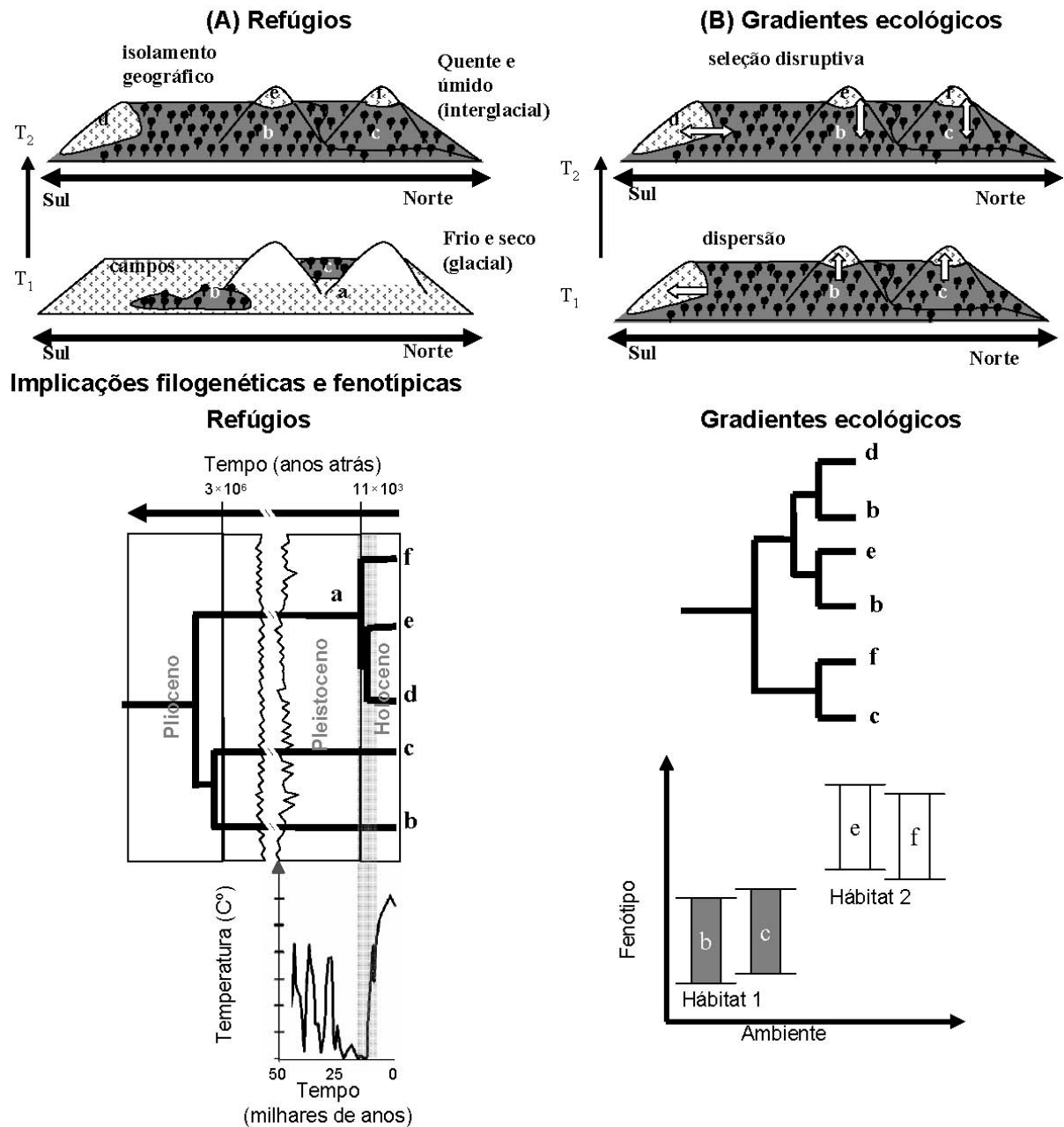


Figura 4.2. Modelos de diversificação envolvendo formas alto-montanas da Mata Atlântica e suas previsões filogenéticas. (A) Refúgios glaciais: a espécie campestre *a* encontra-se amplamente distribuída enquanto as espécies florestais *b* e *c* estão restritas a refúgios florestais durante o período glacial T₁; com a passagem para um período interglacial T₂, ocorre a expansão florestal e retração das formações campestres para latitudes maiores ou para as zonas altitudinais mais elevadas (refúgios glaciais), ocasionando isolamento geográfico do ancestral *a* e sua diferenciação em *d*, *e*, e *f*. Gradientes ecológicos: dispersão das espécies *b* e *c* para colonizar os habitats campestres alto-montanos e austrais; devido às pressões seletivas distintas entre habitats as populações florestais e campestres

estão sujeitas à seleção disruptiva, que ao longo do tempo promove a divergência morfológica das populações *b* e *c* em espécies *d*, *e* e *f*. (B) Refúgios glaciais: espécies alto-montanas e espécies austrais constituem um grupo monofilético com diversificação concordante com a entrada em período interglacial mais quente e úmido, no exemplo acima, a primeira metade do holoceno após o último glacial máximo. Gradientes ecológicos: cada espécie alto-montana tem como linhagem-irmã uma espécie geograficamente próxima ou adjacente; espécies ocupando habitats similares tendem a apresentar fenótipos similares, mesmo não compartilhando um ancestral comum exclusivo.

ocupando habitats ecologicamente parecidos, e portanto, sujeitas às mesmas pressões seletivas, tenderiam a apresentar fenótipos similares mesmo não constituindo entidades monofiléticas (ex. linhagem “*b*”). Estas previsões sobre os padrões filogeográficos esperados sob cada modelo tornam o teste de hipóteses de diversificação bastante objetivo uma vez que informações sobre a genealogia, idade e distribuição geográfica das espécies são obtidas.

4.3 TEMPO E MODO DE DIVERSIFICAÇÃO

4.3.1 Diversificação geográfica

Considerando a estrutura taxonômica e filogeográfica dos grupos de sigmodontíneos investigados, os padrões de diversificação obtidos neste estudo oferecem 6 casos independentes de diferenciação de linhagens montanas contra os quais as hipóteses de diversificação podem ser testadas. Pelo menos 4 casos se adequam a um modo alopátrico de divergência, já que os clados alto-montanos exibem uma estrutura filogeográfica bem pronunciada e têm como linhagens-irmãs clados geograficamente distantes. Contudo, uma análise mais detalhada da localização geográfica das linhagens-irmãs aos endemitas alto-montanos sugere que nenhum padrão filogeográfico corrobora integralmente um modelo de refúgios glaciais conforme enunciado na figura 4.2.

Dentre os padrões alopátricos de divergência, dois sugerem que os campos de altitude do Caparaó e Itatiaia se separaram dos campos sulinos. A divergência entre *Oxymycterus caparaoe* e *O. nasutus* marca um evento de separação entre os campos de altitude do Caparaó e as comunidades campestres mais austrais do planalto meridional e planície gaúcha (figura 4.3a,b). Um segundo evento entre os campos do Itatiaia e os campos sulinos é representado pela subdivisão entre as populações setentrional e meridional de *Akodon paranaensis* do planalto meridional (figura 4.3b). Apesar de congruentes e orientados em uma mesma direção (sudeste-sul), os dois clados não fornecem informações sobre as relações entre as comunidades dos dois maciços em questão, já que não há compartilhamento de endemitas do gênero *Oxymycterus* entre estas duas áreas. As conexões entre os campos de altitude e os campos sulinos têm amplo respaldo fitogeográfico devido ao compartilhamento de vários táxons vegetais austrais, incluindo representantes dos gêneros *Araucária* (pinheiro-do-Paraná), *Chusquea* (bambu-andino), *Cortadeira*, *Drimys*, *Dicksonia* e *Weinmannia*, que constituem elementos típicos de ambas as comunidades (Clark, 1992; Safford, 1999c).

Um outro evento de disjunção envolve os campos do Caparaó e o Cerrado do Brasil central e é sugerido pela diversificação do grupo *lindberghi* (*A. mystax* e *A. lindberghi*, Fig. 4.3c). Os campos de altitude e o Cerrado compartilham vários gêneros de plantas em comum, especialmente formas xerofílicas adaptadas a afloramentos rochosos e com representantes nos campos rupestres da cadeia do Espinhaço (Safford, 1999c). Dada a proximidade entre os grandes maciços da Mata Atlântica e a cadeia do Espinhaço, é bem possível que estas comunidades

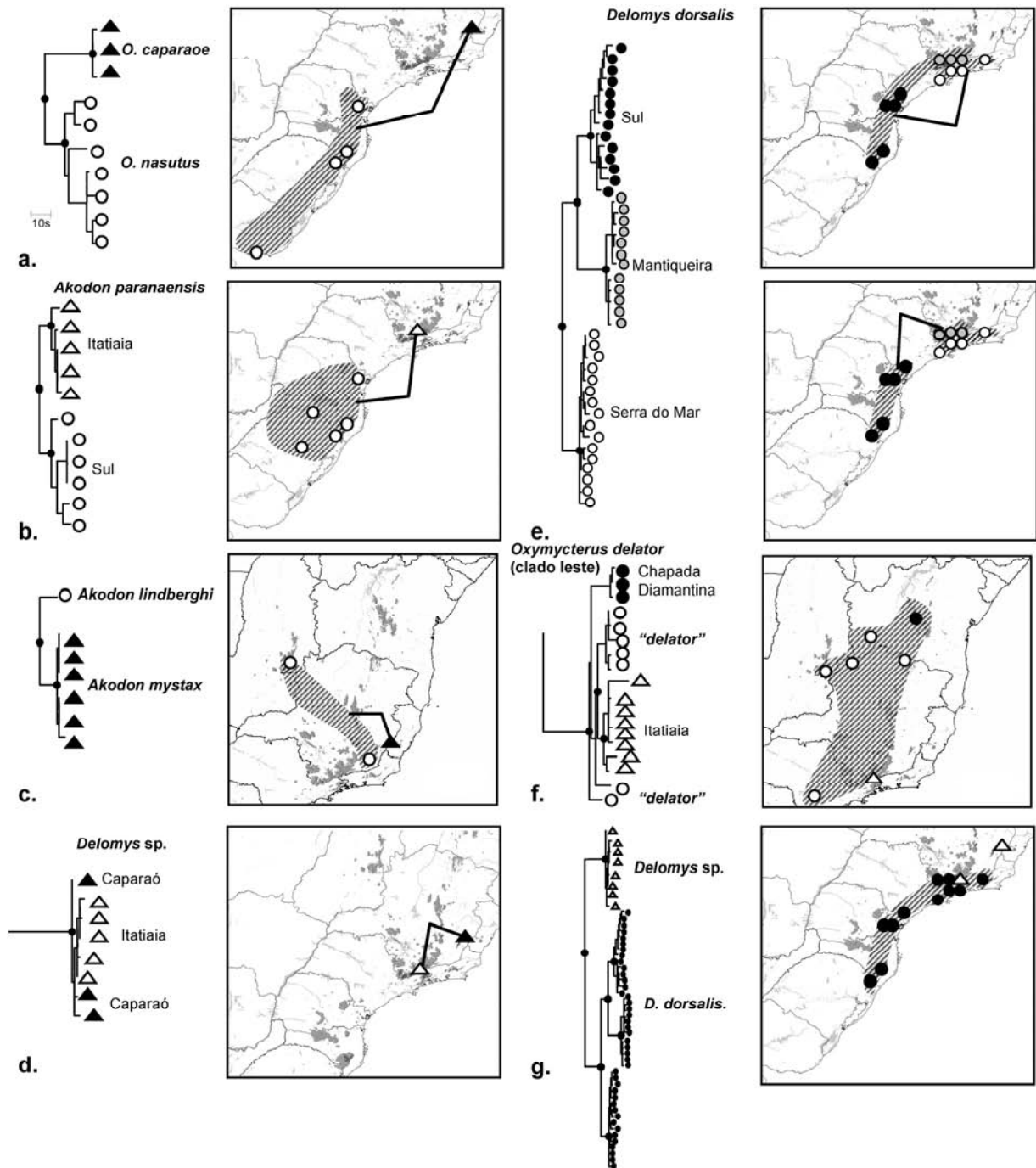


Figura 4.3. Estrutura filogeográfica e modos geográficos de diversificação em 7 clados incluindo linhagens montanas (triângulos). Os casos *a*, *b* e *c* ilustram episódios de disjunção entre endemitas alto-montanas e componentes das fisionomias abertas do leste brasileiro. O caso *d* evidencia conexões recentes entre populações alto-montanas dos dois grandes maciços da Mata Atlântica. O caso *e* exemplifica uma sequência histórica de fragmentações das florestas ombrófilas montanas do sudeste brasileiro. O caso *f* ilustra a dissociação entre os padrões morfológicos

(símbolos) e filogeográficos emergentes de um processo de diversificação ao longo de gradientes ecológicos. O caso g mostra o padrão de diversificação mais antigo envolvendo linhagens alto-montanas, cujo modo de especiação não pode ser precisamente inferido.

tenham sido conectadas repetidas vezes. Indícios sobre estas conexões são fornecidos pela presença de numerosos enclaves de Cerrado na Mantiqueira, ou mesmo pela presença de *A. lindberghi* a menos de 200km dos maciços do Caparaó e Itatiaia. Outra possibilidade consiste no fato de que a tênue faixa de florestas estacionais semidecíduas que as separam atualmente pode não atuar como uma barreira efetiva para alguns táxons. O grupo *lindberghi* ilustra um tipo de conexão que não é exatamente a esperada a partir de um modelo de refúgios glaciais, já que o Cerrado constitui uma comunidade bem mais diferenciada ecologicamente em relação aos campos de altitude do que os campos sulinos (Rizzini, 1979). Além disso, como no caso de *Oxymycterus*, este clado aparentemente representa mais uma diferenciação alopátrica isolada, uma vez que apenas um maciço montanhoso está envolvido.

A maior parte dos padrões obtidos reforça a idéia de que os conjuntos de endemitas de maciços distintos não são necessariamente mais relacionados historicamente entre si do que com outras comunidades da América do Sul. O único caso de conexão entre os campos alto-montanos de mais de um maciço montanhoso é exemplificado por *Delomys* sp (Fig. 4.3d). Notavelmente, os haplótipos dos diferentes maciços nem mesmo apresentam-se reciprocamente monofiléticos sugerindo que a disjunção entre as populações não foi suficientemente antiga para gerar um padrão de monofilia recíproca. A persistência de conexões recentes entre as populações dos maciços do Itatiaia e Caparaó, apesar de notável, pode não refletir continuidades efetivas entre campos de altitude. Dentre os habitats das zonas mais elevadas, as fisionomias florestais alto-montanas interpostas entre os campos de altitude em vales bem drenados parecem ser preferidas

por *Delomys* sp, uma vez que esta espécie não tem sido capturada em habitats tipicamente campestres (dados de captura). Estas formações florestais poderiam então ter permanecido em contato por mais tempo do que os campos de altitude, garantindo maior conectividade entre as populações da espécie por ocorrerem em zonas altitudinais mais baixas.

Uma outra sucessão de eventos vicariantes mais relacionados à dinâmica das florestas ombrófilas montanas também pôde ser inferida a partir dos padrões de diferenciação regional de *Delomys dorsalis*. Neste caso, os clados geográficos da espécie aparentemente registram disjunções entre as florestas úmidas das encostas dos grandes maciços das serras do Mar, Mantiqueira e Geral. Uma primeira fragmentação é evidenciada pela dicotomia entre o clado Serra do Mar e o clado Mantiqueira+Sul. A segunda, que aparentemente deu origem à estrutura filogeográfica atual, envolveu a disjunção entre os clados Mantiqueira e Sul. Neste caso, o vale do Paraíba pode ser identificado como uma possível barreira entre os clados Mantiqueira e Serra do Mar, que aparentemente não ocorrem nas altitudes baixas do vale. Padrões de estruturação filogeográfica relativamente profunda em táxons florestais têm sido constatados em outros pequenos mamíferos típicos das formações montanas, como o marsupial *Marmosops paulensis* (Mustringi & Patton, 1997) e o roedor *Akodon montensis* (Lara *et al.* 2005), indicando que a fragmentação das formações ombrófilas montanas pode ter influenciado vários táxons florestais. As encostas dos maciços provavelmente serviram como refúgios florestais montanos para táxons incapazes de ocupar as planícies da Mata Atlântica, mas sem promover diferenciação taxonomicamente reconhecível.

A maioria dos padrões de diversificação fornecem indício de especiação alopátrica, mas dois parecem não conformar a um modelo alopátrico. Um caso notável consiste na diversificação do grupo *delator*. As populações do leste do Cerrado e dos campos alto-montanos fazem parte de

um clado com baixa diferenciação genética mas com uma extensa variação morfológica concordante com as diferenças ecológicas entre as fitofisionomias ocupadas. Apesar de várias amostras ainda carecerem de dados genéticos, especialmente em populações do sudeste, estes resultados são indicativos de um processo de divergência com fluxo gênico (Endler, 1977; Smith et al., 1997) guiada pelas adaptações locais dentro de um gradiente ambiental. As evidências de aplicabilidade deste modelo para explicar a diversificação em biotas de várias partes do mundo vêm crescendo rapidamente (Smith et al., 1997; Schneider et al., 1999; Smith et al., 2001). Os resultados têm tipicamente revelado situações de alta conectividade ou baixa diferenciação genética entre formas fenotipicamente diferenciadas e adaptadas a condições ecológicas opostas. A possibilidade de se detectarem sinais deste processo, entretanto, diminui a medida em que a idade das linhagens aumenta (Fitzpatrick & Turelli, 2006). Endler (1977) prevê que, sob o contexto de adaptação local, seria esperado que mecanismos de isolamento reprodutivo evoluíssem entre populações habitando ambientes distintos, como forma de prevenir combinações genéticas com menor valor adaptativo. Uma vez isoladas, as populações tenderão a apresentar relações reciprocamente monofiléticas dificultando o discernimento sobre qual processo teria atuado primeiro no surgimento das espécies, adaptação local ou isolamento genético. Outra complicação vem da possibilidade do gradiente ecológico desaparecer com o tempo, ou das distribuições das espécies mudarem de tal forma que o sinal filogeográfico seja apagado.

Um exemplo deste paradoxo é justamente ilustrado pelo padrão de diversificação entre *Delomys* sp. e *D. dorsalis*, espécies proximamente relacionadas que apresentam simpatria parcial no Itatiaia. Um modo alopátrico de especiação neste caso só seria justificado se as duas espécies tivessem se originado em locais distantes e posteriormente expandido suas distribuições,

encontrando-se no Itatiaia. Este é o modelo parátrico descrito por Mayr & Ashlock (1991), onde o isolamento geográfico promove a divergência inicial. Entretanto, um modo parapátrico, conforme proposto por Endler, também poderia se aplicar considerando que as espécies estão distribuídas ao longo de um gradiente altitudinal que possivelmente existe desde a formação dos maciços da Mantiqueira. Outro fato importante é que *Delomys* sp. e *D. dorsalis* diferem por rearranjos cromossômicos (número fundamental) que aparentemente constituem barreiras reprodutivas efetivas, já que nenhum indício de introgressão foi detectado nos marcadores moleculares. Em um contexto de adaptação local, as modificações cromossômicas poderiam ter sido selecionadas para evitar intercruzamentos que resultassem em fenótipos menos aptos. Entretanto, os efeitos dos rearranjos cromossômicos no valor adaptativo são imprevisíveis e dificilmente testados empiricamente (Rieseberg, 2001). Este último caso ilustra como as inferências sobre os modos geográficos de especiação podem ser dificultadas se analisadas simplesmente a partir das distribuições atuais de organismos sujeitos a um grande dinamismo geográfico.

4.3.2. Cronologia da diversificação e a dinâmica ambiental do Quaternário

Várias conexões e disjunções entre fisionomias campestres foram inferidas a partir dos padrões de diversificação dos sigmodontíneos nas regiões serranas. Contudo, estas disjunções somente constituem eventos vicariantes se as divergências dos endemitas alto-montanos estão relacionadas com os movimentos históricos de retração e expansão das formações campestres no leste brasileiro. Portanto, para avaliar a causalidade direta entre a história geológica e climática

da Terra e o surgimento de linhagens alto-montanas, a cronologia dos sigmodontíneos foi contrastada com o perfil ambiental do Quaternário.

Os registros palinológicos constituem as fontes mais diretas de informação sobre as fitofisionomias do passado. Infelizmente, os registros fósseis de pólen para o leste do Brasil dificilmente ultrapassam a faixa de 100 mil anos atrás (Ledru *et al.* 1996; 2005), não abrangendo nenhum período de diversificação dos grupos estudados até o momento. Por outro lado, estes registros documentam de forma notavelmente detalhada as alterações ocorridas no último ciclo glacial (40-10 mil anos atrás) e apresentam-se correlacionados com outros parâmetros ambientais de registro mais longo. As estimativas destes parâmetros advém de estratos profundos de “gelo fóssil” preservado em geleiras da Antártida e Groelândia, que trazem consigo informações sobre o nível do mar, volume das calotas polares, aridez e composição atmosférica, fatores que podem ser usados para inferir as condições destes ambientes em períodos mais remotos.

Os sedimentos e palinofloras do sudeste e sul do Brasil trazam indícios abundantes de que as condições durante o último glacial máximo (UGM, 25-10 mil anos atrás) seriam mais secas e frias do que hoje, de forma que as florestas mais úmidas estariam restritas a altitudes bem baixas, enquanto as formações campestres distribuir-se-iam mais amplamente atingindo áreas bem mais orientais e setentrionais do que hoje. Registros do morro de Itapeva (Campos do Jordão, SP), na cordilheira meridional da Mantiqueira (próximo do maciço do Itatiaia), e em Catas Altas (cadeia do Espinhaço) mostram que no período de 35-17 mil anos os campos de altitude ocupavam faixas altimétricas bem mais baixas (ca. 1800m) do que hoje e que as florestas úmidas da região estariam restritas a altitudes bem mais baixas (Behling & Lichte, 1997; Behling, 1997; Behling, 2002). As estimativas de temperatura mínima anual nesse período giram em torno de -7°C, 3-7 graus mais baixas do que hoje. Sedimentos orgânicos cobrindo o mesmo período na planície

costeira da Mata Atlântica dos estados de São Paulo, Paraná e Santa Catarina também mostram uma predominância de formações campestres e táxons austrais adaptados a condições mais frias, enquanto grupos tropicais estariam quase ausentes em grande parte de suas distribuições atuais (Behling & Negrelle, 2001; Behling, 2002; Ledru *et al.* 2005). Neste momento, as condições nos altiplanos dos grandes maciços costeiros seriam possivelmente periglaciais e inviáveis para existência das coberturas vegetais que os caracterizam hoje.

A conectividade entre as formações campestres na Mata Atlântica foi aparentemente interrompida com a chegada dos climas mais quentes e úmidos do Holoceno (10 mil anos atrás). Uma expansão marcada das florestas é registrada no sudeste a partir de 3000 anos (Behling, 2002; Ledru *et al.* 2005), ocasionalmente descontinuada por pequenos períodos de maior aridez (Stevaux, 2000). A expansão florestal não se pronunciou de forma homogênea, e na região da serra Geral, acredita-se que as florestas teriam retomado sua distribuição atual muito recentemente (1500-1000 anos; Behling, 2002). Este modelo se adequa bem aos anteriormente propostos para outras montanhas tropicais, como os Andes (Flenley, 1979). Os registros palinológicos da cordilheira oriental na Colômbia demonstram que, durante o UGM, os páramos andinos estariam em altitude bem mais inferiores do que as de hoje e, portanto, apresentariam maior conectividade. Com a entrada no Holoceno, as florestas subandinas expandiram rapidamente seus limites altitudinais, comprimindo os páramos aos cumes e altiplanos (Flenley, 1979).

Os episódios de retração e expansão de formações na Mata Atlântica estão em geral relacionados com os perfis paleoclimáticos mais longos (Ledru *et al.*, 2005), suportando a idéia que climas e ambientes locais no leste brasileiro foram influenciados por processos climáticos de escala global. Com essa premissa em mente, registros extraídos das geleiras cobrindo boa parte

do Quaternário (EPICA, 2004) foram então correlacionados com o perfil palinológico da Mata Atlântica de São Paulo (Ledru *et al.* 2005). Os parâmetros considerados foram as oscilações históricas do nível do mar, temperatura e umidade inferida pela concentração de isótopos de oxigênio (O^{18} , deutério) e massa de poeira como estimativa de aridez. O contraste entre os vários perfis (proxy) é ilustrado na Figura 4.4 e a estreita correlação entre as frequências de pólen arbóreo com momentos de aumento na temperatura e nível do mar foi utilizada para “extrapolar o perfil palinológico por todo o Quaternário. Deste modo, picos altos no gráfico representam momentos de expansão florestal e fragmentação campestre no sudeste do Brasil e vice versa.

Finalmente, a cronologia de diferenciação dos cinco grupos de sigmodontíneos foi incluída permitindo a visualização direta das relações entre as flutuações climáticas e a diversificação das linhagens alto-montanas.

As disjunções entre linhagens alto-montanas mostram-se espalhadas ao longo de boa parte do Pleistoceno, mas em geral existe alguma correlação entre episódios de separação e momentos de transição climática mais abrupta ou incremento de temperatura, nível do mar e diminuição de aridez, modificações relacionadas com retração das fisionomias campestres. O evento de especiação mais antigo é representado pela separação entre *Delomys* sp. e *D. dorsalis*, ocorrido no Pleistoceno inferior, aproximadamente 1.11 milhões de anos atrás. Neste momento, as escarpas orientais da serra da Mantiqueira já estariam formadas desde do Terciário (Almeida, 1976), fornecendo um gradiente ambiental possivelmente similar ao de hoje. A maior antiguidade deste gradiente em relação ao evento de especiação sugere que o ancestral destas espécies poderia tê-lo ocupado. Se isto aconteceu, é possível que a divergência ao longo de gradientes tenha sido a causa de especiação. Ao mesmo, as flutuações climáticas no Pleistoceno inferior sugerem que os rearranjos das fisionomias campestres e florestais não foram tão intensos ou abruptos neste

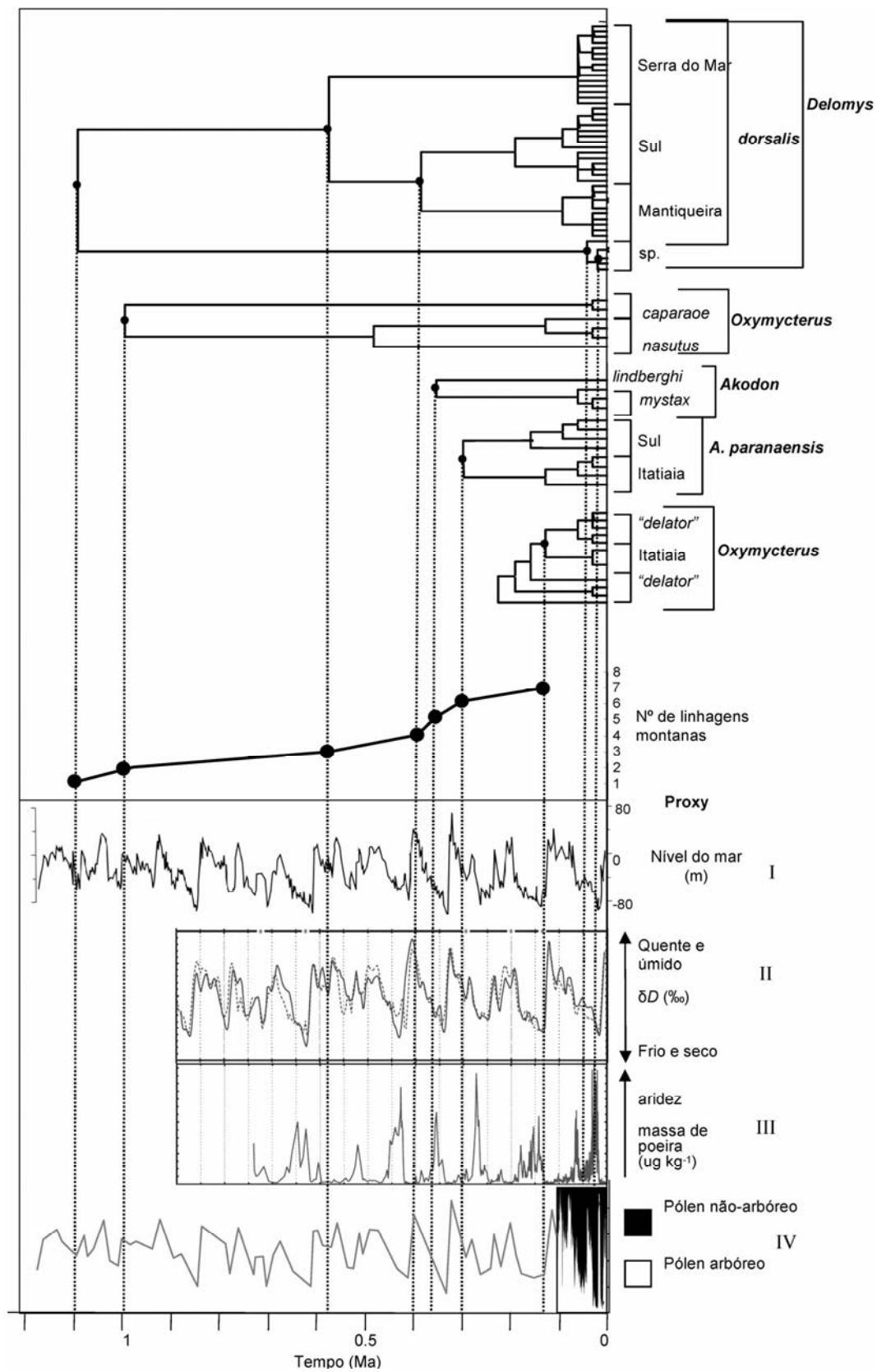


Figura 4.4. Cronologia dos eventos de surgimento de linhagens montanas e oscilações paleoclimáticas e paleoambientais ocorridas ao longo de grande parte do Quaternário. Os perfis climáticos representados são (I) flutuações no nível do mar, (II) variações na concentração marinha de deutério (O^{18}) e (III) massa de partículas no ar (poeira) medidos em perfurações de geleiras na Antártida (EPICA, 2004). O registro palinológico (IV) de uma localidade da Mata Atlântica (Colônia, São Paulo; Ledru *et al.*, 2005) foi representado em relação aos perfis climáticos permitindo uma extrapolação sobre os níveis históricos de fragmentação das fisionomias campestres.

período, enfraquecendo a hipótese de isolamento como fator causal da divergência entre *Delomys* sp. e *D. dorsalis*.

Um segundo evento tão antigo quanto a especiação em *Delomys*, consiste na divergência entre *O. nasutus* e *O. caparaoe*, ocorrida há 1Ma. Neste caso, entretanto, existe uma coincidência do momento de divergência com a entrada em um período interglacial que pode ter promovido fragmentação entre os campos de altitude e as formações campestres mais austrais. Este é o primeiro evento vicariante registrado para as zonas alto-montanas. Uma segunda disjunção é evidenciada somente 900 mil anos depois pela primeira subdivisão dos clados montanos de *D. dorsalis*, que coincide parcialmente com um momento de maior temperatura, umidade e nível do mar, sugerindo que as florestas montanas também teriam se fragmentando durante períodos interglaciais.

Apesar da grande dispersão temporal dos eventos de surgimento das linhagens alto-montanas, três episódios de disjunção estão concentrados numa janela temporal de 100 mil anos (400-300 mil anos). Este período consistiu num momento de grande variância climática em relação a outros e ao mesmo tempo incluiu um período interglacial excepcionalmente longo em relação aos demais ocorridos no Quaternário [“estágio isotópico marinho 11” (EPICA, 2004)]. Esta concordância sugere que a

variância climática de fato constituiu um importante fator de diversificação das biotas montanas. Nesse período geologicamente curto, em ordem cronológica, ocorreram disjunções entre as florestas montanas da Mantiqueira e do sul do Brasil, campos de altitude e Cerrado e campos de altitude e campos sulinos.

Um último episódio de especiação mais recente pode ser traçado a partir da divergência entre os haplótipos das populações do clado leste de *O. delator* e da forma alto-montana do Itatiaia. Neste momento, ocorreu uma transição abrupta de um período glacial para um interglacial que pode ter promovido estruturação das fisionomias campestres, e conseqüentemente, das populações mais orientais de *O. delator*. Entretanto, a existência de populações intermediárias entre estas duas refuta esta hipótese. A análise genética de um maior número de amostras provindas de enclaves de Cerrado no sudeste do Brasil é necessária para que um panorama mais completo sobre a estruturação geográfica do clado leste seja obtido.

Finalmente, *Delomys* sp. ilustra a conexão recente entre os ambientes alto-montanos do Itatiaia e Caparaó, há apenas 50 mil anos atrás. Os registros palinológicos de Colônia, São Paulo (Ledru *et al.*, 2005), mostram que este episódio aparentemente coincidiu com uma retomada das formações campestres, conforme indicado pelo aumento na abundância de pólen não-arbóreo. Aparentemente, uma reconexão ocorreu com a entrada no último glacial máximo, já que existem haplótipos do Caparaó e Itatiaia com idades de divergência deste período (22-18 mil de anos atrás). Esta reconexão pode ter “misturado” haplótipos oriundos na disjunção anterior, gerando o padrão atual de parafilia das populações de diferentes maciços. O padrão de diferenciação de *Delomys* sp. é o único que traz indícios da conectividade entre os ecossistemas montanos durante o

último glacial e que a entrada no interglacial atual não teria produzido estruturação filogeográfica significativa nas formas campestres.

Se conexões mais recentes ocorreram entre as comunidades alto-montanas de maciços distintos, por que estes maciços não compartilham um maior número de endemitas em comum? Por que atualmente só existem endemitas alto-montanos no Itatiaia e Caparaó?

Jansson & Dynesius (2002a) propõem um modelo onde clados com distribuições altamente influenciadas pelas flutuações climáticas na verdade apresentariam maiores taxas de extinção do que de diversificação em casos de variância climática extrema, devido à diminuição excessiva de suas populações. Esta hipótese ganha um grande poder explicativo quando a fisiografia e área dos cumes e altiplanos da Mata Atlântica são consideradas. Durante momentos de isolamento altitudinal, as populações relictuais provavelmente ficaram reduzidas a pequenos cumes mais elevados, extinguindo-se em áreas extremamente reduzidas por não manterem tamanhos viáveis para sua sobrevivência. Os grandes maciços do Caparaó e Itatiaia, por abrigarem as áreas alto-montanas mais extensas acima de 2000m, seriam as únicas montanhas capazes de manterem tamanhos populacionais razoáveis para a persistência de endemitas alto-montanos durante os períodos de isolamento altitudinal extremo. Ainda assim, os tamanhos populacionais para alguns táxons poderiam não ser suficientemente grandes para que sua sobrevivência por todo um interglacial fosse garantida no Itatiaia ou Caparaó. Deste modo, seria esperado que extinções estocásticas fossem ocorrendo a medida em que o tempo de isolamento aumentasse, aprofundando a dissimilaridade taxonômica entre as comunidades de maciços distintos. McDonald & Brown (1992), com

base nos padrões de endemismo altitudinal de mamíferos na América do Norte, desenvolveram um modelo de extinção de endemitas alto-montanos que prediz uma perda de 9-65% das espécies habitando cada maciço a cada incremento de 3°C na temperatura global.

Este cenário explicaria tanto a ausência de endemitas em altiplanos mais reduzidos e menos elevados da serra do Mar (*e.g.*, Bocaina, serra dos Órgãos) e da Mantiqueira (*e.g.*, serra do Brigadeiro) como a dissociação entre os maciços do Itatiaia e Caparaó. As oscilações climáticas na Mata Atlântica do sudeste do Brasil foram bem superiores do que 3°C e ocasionaram perda de um número bem maior de espécies. Considerando o conjunto de 5 endemitas alto-montanos estudados (*O. caparaoe*, *O. "delator"* [Itatiaia], *A. mystax*, *A. paranaensis*, *Delomys* sp.), a dissimilaridade entre os maciços do Caparaó e Itatiaia chega a 80%, corroborando esta predição (apenas *Delomys* sp. é compartilhada).

A diversificação de endemitas parece ser um evento extremamente aleatório ao longo dos vários interglaciais, uma vez que os relictos alto-montanos são altamente susceptíveis à extinção. Cada entrada em um interglacial representaria um risco para extinção ou uma nova oportunidade de especiação, caso as populações reduzidas ocasionalmente sobrevivessem à redução de hábitat. Deste modo, “que táxon teria sua população alto-montana preservada e diferenciada em uma nova espécie” consistiria numa questão meramente casual. Uma corroboração desta teoria vem justamente do fato de que as datas de surgimento dos endemitas alto-montanos não coincidem, o que reforça o papel do acaso na diversificação destas linhagens. Neste contexto, as comunidades alto-

montanas parecem então reunir mosaicos de linhagens moldadas por processos evolutivos distintos que por acaso sobreviveram a sucessivos interglaciais.

A extinção promovida nos interglaciais aparentemente não se restringiu somente aos endemitas alto-montanos, mas também envolveu outros táxons campestres da América do Sul. Vivo & Carmignotto (de Vivo & Carmignotto, 2004), contrastando os padrões de distribuição de grandes mamíferos das savanas africanas com a megafauna sulamericana, apontam o último *optimum* climático como o fator promotor de extinção de megamamíferos no neotrópico. Estudos filogeográficos de um número maior de táxons campestres devem mostrar panoramas cada vez mais detalhados sobre o papel dos interglaciais na estruturação da diversidade atual.

Por último, os resultados deste trabalho sugerem que a singularidade biótica das zonas alto-montanas da Mata Atlântica é produto de uma complexa história integrando múltiplos eventos vicariantes casuais e adaptação local. Uma atenção especial deve ser voltada para o estudo evolutivo e para conservação destes ecossistemas montanos, que, apesar de diminutos, preservam uma interessante parcela da história da diversificação neotropical.

5. CONCLUSÕES

- Populações alto-montanas de *Delomys* representam uma espécie distinta (*Delomys* sp) em relação a *D. dorsalis* e aparentemente dissociada da forma nominal *collinus* anteriormente proposta para estas populações.
- Populações de *Delomys dorsalis* se mostraram profundamente estruturadas geograficamente sob as perspectivas dos genomas mitocondrial e nuclear. A discordância do padrão geográfico de fórmulas mamárias com a estrutura genética

da espécie sugere que o ganho/perda de mamas pode ter influências ecológicas, uma hipótese rudimentarmente suportada com base nas relações entre número de mamas e tamanho da prole.

- *Akodon mystax* está relacionada a *A. lindberghi*, uma pequena espécie do Cerrado do Brasil central.
- A população de *Akodon* do Itatiaia com $2n=44$ não possui afinidades com *A. mystax* e representa na verdade um relicto altitudinal de *A. paranaensis*.
- As formas tipicamente alto-montanas de *Oxymycterus* pertencem a 2 grupos de espécies distintos e pouco relacionados, os grupos *nasutus* e *delator*.
- A variação morfológica no grupo *delator* parece estar mais associada a fatores ecológicos do que históricos (isolamento geográfico). Ainda assim, 5 unidades morfológicamente distintas puderam ser reconhecidas ao longo da distribuição do grupo, sugerindo uma estrutura subespecífica.
- Os padrões de diversificação estudados forneceram 6 casos de diferenciação de linhagens alto-montanas, dos quais 4 foram aparentemente guiados por eventos vicariantes relacionados às flutuações climáticas do Quaternário, corroborando um modelo de refúgios glaciais que teria atuado repetidas vezes.
- Um modelo de diversificação ao longo de gradientes ecológicos foi sugerido por pelo menos um caso de diferenciação, onde a divergência morfológica parece determinada predominantemente por fatores ecológicos, culminando em adaptação local.
- As comunidades alto-montanas devem ser vistas como mosaicos de linhagens moldadas por processos evolutivos distintos e historicamente dissociados.

Sucessivos eventos vicariantes e processos de adaptação local aos campos alto-montanos são indicados pelos padrões estudados, tornando a história dos centros alto-montanos de endemismo bem mais complexa do que o esperada a partir de um único evento vicariante.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ab Saber,A.N. (1977) Espaços ocupados pela expansão dos climas secos na América do Sul por ocasião dos períodos glaciais quaternários. *Paleoclimas* **3** 1-19.
- Ab Saber,A.N. (2003). *Os domínios de natureza no Brasil: Potencialidades paisagísticas*. São Paulo: Ateliê Editorial.
- Agassiz,J.L.P. (1840). *Studies of the glaciers*. Neuchatel.
- Almeida,F.F.M. (1976) The system of continental rifts bordering the Santos basin, Brazil. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* **48** 15-26.
- Auler,A.S., Piló,L.B., Smart,P.L., Wang,X., Hoffmann,D., Richards,D.A., Edwards,R.L., Neves,W.A. & Cheng,H. (2007) U-series dating and taphonomy of Quaternary vertebrates from Brazilian caves. *Palaeogeography,Palaeoclimatology,Palaeoecology* **xxx** xxx
- Avila-Pires,F.D. (1960) Roedores colecionados na região de Lagoa Santa, Minas Gerais, Brasil. *Arquivos do Museu Nacional* **50** 25-45.
- Avise,J.C. (2000). *Phylogeography: the history and formation of species*. 1 edn. Massachusetts: Harvard University Press.
- Avise,J.C., Arnold,J., Ball,R.M., Bermingham,E., Lamb,T., Neigel,J.E., Reeb,C.A. & Saunders,N.C. (1987) Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA

- bridge between population genetics and systematics. *Ann.Rev.Ecol.Syst.* **18** 489-522.
- Azevedo,A. (1950) Regiões climato-botânicas do Brasil. Estudo fitogeográfico e florestal. *Anuário Brasileiro de Economia Florestal* **11** 201-232.
- Baker,R.J. & Bradley,R.D. (2006). SPECIATION IN MAMMALS AND THE GENETIC SPECIES CONCEPT. *Journal of Mammalogy* **87**(4):643-662.
- Behling,H. & Lichte,M. (1997) Evidence of dry and cold climatic conditions at glacial times in tropical southeastern Brazil. *Quaternary Research* **48** 348-358.
- Behling,H. (1997). Late Quaternary vegetation, climate and fire history from the tropical mountain region of Morro de Itapeva, SE Brazil. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* **129**(3-4):407-422.
- Behling,H. (2002). South and southeast Brazilian grasslands during Late Quaternary times: a synthesis. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* **177**(1-2):19-27.
- Behling,H. & da Costa,M.L. (2000). Holocene Environmental Changes from the Rio Curua Record in the Caxiuana Region, Eastern Amazon Basin. *Quaternary Research* **53**(3):369-377.
- Behling,H. & Negrelle,R.R.B. (2001). Tropical Rain Forest and Climate Dynamics of the Atlantic Lowland, Southern Brazil, during the Late Quaternary. *Quaternary Research* **56**(3):383-389.
- Bennet,K.D. (1990) Milankovitch cycles and their effects on species in ecological and evolutionary time. *Paleobiology* **16** 11-21.
- Bonvicino,C.R. (2003). A new species of *Oryzomys* (Rodentia, Sigmodontinae) of the subflavus group from the Cerrado of Central Brazil. *Mammalian Biology - Zeitschrift fur Saugetierkunde* **68**(2):78-90.
- Bonvicino,C.R. & Geise,L. (1995). Taxonomic status of *Delomys dorsalis collinus* Thomas, 1917 (Rodentia, Cricetidae) and description of a new karyotype. *Zeitschrift fuer Sauegetierkunde* **60**(2):124-127.

- Bonvicino,C.R., Langguth,A., Lindbergh,S.M. & Paula,A.C. (1997). An elevational gradient study of small mammals at Caparaó National Park, South eastern Brazil. *Mammalia* **61**(4):547-560.
- Bonvicino,C.R., Lindbergh,S.M. & Maroja,L.S. (2002). Small non-flying mammals from conserved and altered areas of Atlantic forest and Cerrado: comments on their potential use for monitoring environment. *Braz.J.Biol.* **62**(4B):765-774.
- Bonvicino,C.R., Oliveira,J.A.d., D'Andrea,P.S. & Carvalho,R.W.d. (2001) The endemic atlantic forest rodent genus *Phaenomys ferrugineus* (Thomas, 1894) (Sigmodontinae): new data on its morphology and karyology. *Bol.Mus.Nac., Rio de Janeiro* **467** 1-12.
- Bonvicino,C.R., Penna-Firme,V. & Seuánez,H.N. (1998). The karyotype of *Brucepattersonius griserufescens* Hershkovitz, 1998 (Rodentia, Sigmodontinae) with comments on distribution and taxonomy. *Z.Saugetierkunde* **63**:329-335.
- Borchert,M. & Hansen,R.L. (1983). Effects of flooding and wildfire on valley side wet campo rodents in central Brazil. *Revista Brasileira de Biologia* **43**(3):229-240.
- Brade,A.C. (1956) A flora do Parque Nacional do Itatiaia. *Boletim do Parque Nacional do Itatiaia* **5** 1-112.
- Brown,K.S.Jr. & Ab Saber,A.N. (1979) Ice-age forest refuges and evolution in the Neotropics: correlation of paleoclimatological, geomorphological and pedological data with modern biological endemisms. *Paleoclimas* **5** 1-30.
- Bush,G.L. (1975) Modes of animal speciation. *Annual Review of Ecology and Systematics* **6** 339-364.
- Cabrera,A. (1961). Catalogo de los mamíferos de América del Sur. *Revista del Museo Argentino de Ciencias Naturales "Bernardino Rivadavia", Ciencias Zoológicas* **4**:309-732.
- Cademartori,C.V., Fabián,M.E. & Manegheti,J.O. (2005) Biología reproductiva de *Delomys dorsalis* (Hensel, 1872) - Rodentia, Sigmodontinae - em área de floresta ombrófila mista, Rio Grande do Sulm Brasil. *Mastozoología Neotropical* **12** (2):133-144.

- Capobianco, J.P., Verissimo, A., Moreira, A., Sawyer, D., Santos, I. & Pinto, L.P. (2004). *Biodiversity in the Brazilian Amazon*. São Paulo: Instituto Socioambiental.
- Carleton, M.D. (1973). A survey of gross stomach morphology in new world Cricetinae (Rodentia, Muroidea), with comments on functional interpretations. *Miscellaneous Publications Museum of Zoology, University of Michigan* **146**:1-43.
- Carleton, M.D. & Musser, G.G. (1989) Systematic studies of oryzomyine rodents (Muridae, Sigmodontinae): a synopsis of *Microroryzomys*. *Bull. Am. Mus. Nat. Hist.* **191** 1-83.
- Carmignotto, A.P. (2005) Pequenos mamíferos terrestres do bioma Cerrado: padrões faunísticos locais e regionais. Museu de Zoologia, Universidade de São Paulo.
- Carroll, D.S. & Bradley, R.D. (2003) Systematics of the genus *Sigmodon*: DNA sequences from beta-fibrinogen and cytochrome *b*. *Southwestern Naturalist* **50** (3):342-349.
- Christoff, A.U., Fagundes, V., Sbalqueiro, I.J., Mattevi, M.S. & Yonenaga-Yassuda, Y. (2000) Description of a new species of *Akodon* (Rodentia: Sigmodontinae) from southeastern Brazil. *J. Mamm.* **81** (3):838-851.
- Clapperton, C. (1993). *Quaternary geology and geomorphology of South America*. Amsterdam: Elsevier.
- Clark, L.G. (1992) *Chusquea* sect. *Swallenochloa* (Poacea: Bambusoidea) and allies in Brazil. *Brittonia* **44** 387-422.
- Clement, M., Posada, D. & Crandall, K.A. (2000). TCS: a computer program to estimate gene genealogies. *Molecular Ecology* **9**(10):1657-1659.
- Colwell, R. & Lees, D.C. (2000). The mid-domain effect: geometric constraints on the geography of species richness. *Trends in Ecology & Evolution* **15**(2):70-76.
- Costa, L.P., Leite, Y.L.R., Fonseca, G.A.B. & Fonseca, M.T. (2000) Biogeography of South American forest mammals: endemism and diversity in the Atlantic Forest. *Biotropica* **32** 872-881.

- Costa,L.P. (2003). The historical bridge between the Amazon and the Atlantic Forest of Brazil: a study of molecular phylogeography with small mammals. *Journal of Biogeography* **30**(1):71-86.
- Cruz,C.A.G. & Feio,R.N. (2007). Endemismos em anfíbios em áreas de altitude na Mata Atlântica no sudeste do Brasil. In (Anonymous).
- D'Elía,G. (2003). Phylogenetics of Sigmodontinae (Rodentia, Muroidea, Cricetidae), with special reference to the akodont group, and with additional comments on historical biogeography. *Cladistics* **19**(4):307-323.
- D'Elía,G., Gonzalez,E.M. & Pardinás,U.F.J. (2003). Phylogenetic analysis of sigmodontine rodents (Muroidea), with special reference to the akodont genus *Deltamys*. *Mammalian Biology - Zeitschrift für Säugetierkunde* **68**(6):351-364.
- Davis,D.E. (1945) The annual cycle of plants, mosquitoes, birds, and mammals in two brazilian forests. *Ecological Monographs* **15** (3):244-295.
- de Vivo,M. & Carmignotto,A.P. (2004). Holocene vegetation change and the mammal faunas of South America and Africa. *Journal of Biogeography* **31**(6):943-957.
- Dean,W. (1996). *A ferro e fogo: A história e a devastação da mata atlântica brasileira*. São Paulo: Editora Schwarcz Ltda.
- DeBry,R.W. & Seshadri,S. (2001). NUCLEAR INTRON SEQUENCES FOR PHYLOGENETICS OF CLOSELY RELATED MAMMALS: AN EXAMPLE USING THE PHYLOGENY OF MUS. *Journal of Mammalogy* **82**(2):280-288.
- Dempster,A.P., Laird,N.M. & Rubin,D.B. (1977) Maximum likelihood estimation from incomplete data via the EM algorithm. *Journal of the Royal Statistical Society* **B 39** 1-38.
- deQueiroz,K. & Good,D.A. (1997) Phenetic clustering in biology: a critique. *The Quarterly Review of Biology* **72** (1):1-30.
- Dietz,E.J. (1983) Permutation tests for association between two distance matrices. *Systematic Zoology* **32** (1):21-26.

- Emerson, B.C., Paradis, E. & Thebaud, C. (2001). Revealing the demographic histories of species using DNA sequences. *Trends in Ecology & Evolution* **16**(12):707-716.
- Emmons, L.H., Leite, Y.L.R., Kock, D. & Costa, L.P. (2002) A review of the named forms of *Phyllomys* (Rodentia: Echimyidae) with the description of a new species from coastal Brazil. *Amer. Mus. Novitates* **3380** 1-40.
- Endler, A.J. (1982) Problems in distinguishing historical from ecological factors in biogeography. *Amer. Zool.* **22** 441-452.
- Endler, A.J. (1973) Gene Flow and population differentiation. *Science* **176** 243-250.
- Endler, J.A. (1977). *Geographic variation, speciation, and clines*. Princeton: Princeton University Press.
- EPICA (2004). Eight glacial cycles from an Antarctic ice core. *Nature* **429**(6992):623-628.
- Espinosa, D. & Llorente-Bousquets, J. (1993). *Fundamentos de biogeografías filogenéticas*. 1 edn. Mexico, D.F.: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Excoffier, L., Smouse, P.E. & Quattro, J.M. (1992) Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics* **131** 479-491.
- Fagundes, V., Christoff, A.U. & Yonenaga-Yassuda, Y. (1998). Extraordinary chromosomal polymorphism with 28 different karyotypes in the neotropical species *Akodon cursor* (Muridae, Sigmodontinae), one of the smallest diploid number in rodents ($2n = 16, 15$ and 14). *Hereditas* **129**(3):263-274.
- Fagundes, V., Scalzi-Martin, J.M., Sims, K., Hozier, J. & Yonenaga-Yassuda, Y. (1997). ZOO-FISH of a microdissection DNA library and G-banding patterns reveal the homeology between the Brazilian rodents *Akodon cursor* and *Akodon montensis*. *Cytogenetics and Cell Genetics* **78**:224-228.
- Felsenstein, J. (1985) Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution* **39** 783-791.

- Fitzpatrick, B.M. & Turelli, M. (2006). THE GEOGRAPHY OF MAMMALIAN SPECIATION: MIXED SIGNALS FROM PHYLOGENIES AND RANGE MAPS. *Evolution* **60**(3):601-615.
- Flenley, J.R. (1979) The Late Quaternary vegetational history of the equatorial mountains. *Progress in Physical Geography* **3** 488-509.
- Fonseca, G.A.B., Herrmann, G. & Leite, Y.L.R. (1999). Macrogeography of Brazilian mammals. In *Mammals of the Neotropics: The Central Neotropics. Vol III. Ecuador, Peru, Bolivia, Brazil*, pp. 549-563. (Eds J. F. Eisenbergh and K. H. Redford). Chicago: Univeristy of Chicago Press].
- Fontes, L.E.F., Oliveira, J.C.L., Gomide, J.B., Barbosa, W.A. & Neto, P.S.F. (2000). Contribuições para Elaboração do Plano de Manejo Integrado e Participativo, relatório do meio abiótico. In *Anais do Simpósio Parque Estadual da Serra do Brigadeiro e Entorno*, pp. 1-141. (Anonymous). Viçosa: UFV].
- Funk, D.J. & Omland, K.E. (2003). SPECIES-LEVEL PARAPHYLY AND POLYPHYLY: Frequency, Causes, and Consequences, with Insights from Animal Mitochondrial DNA. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* **34**(1):397-423.
- Galindo-Leal, C. & Câmara, I.G. (2003). *The Atlantic forest of South America: biodiversity status, threats and outlook*. 1 edn. Washington: Island Press, Center for Applied Biodiversity Science at Conservation International.
- Geise, L. (1995) Os roedores Sigmodontinae do Estado do Rio de Janeiro (Rodentia, Muridae): sistemática, citogenética, distribuição e variação geográfica. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Departamento de Genética. pp.1-389.
- Geise, L., Cerqueira, R. & Seuánez, H.N. (1996) Karyological characterization of a new population of *Akodon lindberghi* (Rodentia, Sigmodontinae) in Minas Gerais state (Brazil). *Caryologia* **49** 57-63.
- Geise, L., Moraes, D.A. & Silva, H.S. (2005) Morphometric differentiation and distributional notes of three species of *Akodon* (Muridae, Sigmodontinae, Akodontini) in the Atlantic coastal area of Brazil. *Arq.Mus.Nacional, Rio de Janeiro* **63** 63-74.

- Geise,L., Pereira,L.G., Bossi,D.E.P. & Bergallo,H.G. (2004a) Pattern of elevational distribution and richness of nonvolant mammals in Itatiaia National Park and surroundings, in southeastern Brazil. *Braz.J.Biol.* **82** (1):92-101.
- Geise,L., Weksler,M. & Bonvicino,C.R. (2004b). Presence or absence of gall bladder in some Akodontini rodents (Muridae, Sigmodontinae). *Mammalian Biology - Zeitschrift fur Saugetierkunde* **69**(3):210-214.
- Geise,L., Smith,M.F. & Patton,J.L. (2001). Diversification in the genus *Akodon* (Rodentia: Sigmodontinae) in Southeastern South America: mitochondrial DNA sequence analysis. *Journal of Mammalogy* **82**(1):92-101.
- Gonçalves,P.R., Almeida,F.C. & Bonvicino,C.R. (2005). A new species of *Wiedomys* (Rodentia: Sigmodontinae) from Brazilian Cerrado. *Mammalian Biology - Zeitschrift fur Saugetierkunde* **70**(1):46-60.
- Gonçalves,P.R. & Oliveira,J.A.d. (2004). Morphological and genetic variation between two sympatric forms of *Oxymycterus* (Rodentia: Sigmodontinae): an evaluation of hypotheses of differentiation within the genus. *Journal of Mammalogy* **85**(1):148-161.
- Gonzalez,E.M. (2000) Un nuevo género de roedor sigmodontino de Argentina y Brasil (Mammalia: Rodentia: Sigmodontinae). *Comunicaciones Zoologicas del Museo de Historia Natural de Montevideo* **12** 1-12.
- Gonzalez,E.M., Langguth,A. & Oliveira,L.F.B.d. (1998) A new species of *Akodon* from Uruguay and southern Brazil (Mammalia: Rodentia: Sigmodontinae). *Comunicaciones Zoologicas del Museo de Historia Natural de Montevideo* **191** (12):1-8.
- Haffer,J. (1969) Speciation in amazonian forest birds. *Science* **165** (3889):131-137.
- Harrison,S.P., Kutzbach,J.E. & Behling,P. (1991). General circulation models, palaeoclimatic data and last interglacial climates. *Quaternary International* **10-12**:231-242.
- Hensel,R. (1872). *Beitrage zur Kenntniss der Saugethiere Sud-Brasiliens*. Berlin: Abh. Preuss. Akad. Wiss.

- Hershkovitz,P. (1966). South American swamp and fossorial rats of the Scapteromyine group (Cricetinae, Muridae) with comments on the glans penis in murid taxonomy. *Z.Saugetierkunde* **31**:82-149.
- Hershkovitz,P. (1994). The description of a new species of South American hociudo, or long-nose mouse, genus *Oxymycterus* (Sigmodontinae, Muroidea), with a critical review of the generic content. *Fieldiana Zoology* **79**:1-43.
- Hershkovitz,P. (1998a). Report on some sigmodontine rodents collected in southeastern Brazil with descriptions of a new genus and six new species. *Bonner Zoologische Beiträge* **47**(3-4):193-256.
- Hershkovitz,P. (1990). Mice of the *Akodon boliviensis* size class (Sigmodontinae, Cricetidae), with the description of tow new species form Brazil. *Fieldiana Zoology* **57**:1-35.
- Hershkovitz,P. (1998b). Report on some sigmodontine rodents collected in southeastern Brazil with descriptions of a new genus and six new species. *Bonner Zoologische Beiträge* **47**(3-4):193-256.
- Hinojosa P.,F., Anderson,S. & Patton,J.L. (1987). Two new species of *Oxymycterus* (Rodentia) from Peru and Bolivia. *American Museum Novitates* **2898**:1-17.
- Hoffmann,F.G., Lessa,E.P. & Smith,M.F. (2002). SYSTEMATICS OF OXYMYCTERUS WITH DESCRIPTION OF A NEW SPECIES FROM URUGUAY. *Journal of Mammalogy* **83**(2):408-420.
- Huelsenbeck,J.P. & Crandall,K.A. (1997). PHYLOGENY ESTIMATION AND HYPOTHESIS TESTING USING MAXIMUM LIKELIHOOD. *Annual Review of Ecology and Systematics* **28**(1):437-466.
- Hutchison,D.W. & Templeton,A.R. (1999) Correlation of pairwise genetic and geographic distance measures: inferring the relative influences of gene flow and drift on the distribution of genetic variability. *Genetics* **53** (6):1898-1914.
- Janis,C.M. (1993) Tertiary mammal evolution in the context of changing climates, vegetation, and tectonic Events. *Annual Review of Ecology and Systematics* **24** 467-500.

- Jansa,S.A. & Weksler,M. (2004). Phylogeny of muroid rodents: relationships within and among major lineages as determined by IRBP gene sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **31**(1):256-276.
- Jansson,R. & Dynesius,M. (2002b). The fate of clades in a world of recurrent climatic change: milankovitch oscillations and evolution. *Annual Review of Ecology and Systematics* **33**(1):741-777.
- Jansson,R. & Dynesius,M. (2002a). THE FATE OF CLADES IN A WORLD OF RECURRENT CLIMATIC CHANGE: Milankovitch Oscillations and Evolution. *Annual Review of Ecology and Systematics* **33**(1):741-777.
- Kajon,A.E., Scaglia,O., Horgan,C., Velazquez,M.S., Meriani,M.S. & Reig,O.A. (1984) Tres nuevos cariotipos de la tribu Akodontini Rodentia, Cricetidae. *Revista del Museo Argentino de Ciencias Naturales "Bernardino Rivadavia", Ciencias Zoológicas* **13** (1-60):461-469.
- Kimura,M. & Weiss,H.G. (1964) The stepping stone model of populaton structure and the decrease of genetic correlation with distance. *Genetics* **49** 561-576.
- Kumar,S., Tamura,K. & Nei,M. (2005) **MEGA3.1: Integrated software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and sequence alignment.** *Briefings in Bioinformatics* **5** 150-163.
- Landrum,L.R. (1981) The phylogeny and geography of *Myrceugenia*. *Brittonia* **33** 105-129.
- Lara,M.C., Geise,L. & Schneider,C.J. (2005). Diversification of small mammals in the Atlantic forest of Brazil: testing the alternatives. In *Mammalian Diversification: From Chromosomes to Phylogeography (a celebration of the career of James L. Patton)*, pp. 311-353. (Eds E. A. Lacey and P. Myers). Berkeley: University of California Press].
- Lara,M.C. & Patton,J.L. (2000) Evolutionary diversification of spiny rats (genus *Trinomys*, Rodentia: Echimyidae) in the Atlantic Forest of Brazil. *Zoological Journal of the Linnean Society* **130** 661-686.
- Leal,R.I., Tabarelli,M. & Silva,C.M.J. (2003). *Ecologia e conservação da caatinga*. Recife: Editora Universitária UFPE.

- Ledru, M.P., Braga, P.I.S., Soubiès, F., Fournier, M., Martin, L., Suguio, K. & Turcq, B. (1996) The last 50,000 years in the Neotropics (Southern Brazil): evolution of vegetation and climate. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* **123** 239-257.
- Ledru, M.P., Rousseau, D.D., Cruz, J., Riccomini, C., Karmann, I. & Martin, L. (2005). Paleoclimate changes during the last 100,000 yr from a record in the Brazilian Atlantic rainforest region and interhemispheric comparison. *Quaternary Research* **64**(3):444-450.
- Leite, Y.L.R. (2003) Evolution and Systematics of the Atlantic tree rats, genus *Phyllomys* (Rodentia, Echimyidae), with descriptions of two species. *University of California Publications on Zoology* **132** 1-118.
- Liascovich, R.C. & Reig, O.A. (1989) Low chromosome number in *Akodon cursor montensis* Thomas and karyologic confirmation of *A. serrensis*. *J.Mamm.* **70** 391-396.
- Lomolino, M.V., Riddle, B.R. & Brown, J.H. (2006). *Biogeography*. 3 edn. Sunderland: Sinauer Associates, Inc.
- Lougheed, S.C., Gascon, C., Jones, D.A., Bogart, J.P. & Boag, P.T. (1999) Ridges and rivers: a test of competing hypotheses of Amazonian diversification using a dart-poison frog, *Epipedobates femoralis*. *Proceedings of the Royal Society Series B* **266** 1829-1835.
- Mahalanobis, P.C. (1948) Historic note on the D2 statistic. *Sankhya* **9** 237
- Manduca, E.G. (2004) Descrição cariotípica dos pequenos roedores do Parque Estadual da Serra do Brigadeiro, Minas Gerais. Departamento de Biologia Animal, Universidade Federal de Viçosa.
- Marinho-Filho, J., Rodrigues, F.H. & Juarez, K.M. (2002). The Cerrado mammals: Diversity, Ecology, and Natural history. In *The Cerrados of Brazil. Ecology and Natural History of a Neotropical Savanna*, pp. 266-284. (Eds P. S. Oliveira and R. J. Marquis). New York: Columbia University Press].
- Marroig, G. & Cerqueira, R. (1997) Plio-pleistocene South American history and the Amazon Lagoon hypothesis: a piece in the puzzle of Amazonian diversification. *Journal of Comparative Biology* **2** (2):103-119.

- Martinelli,G. & Bandeira,J. (1989). *Campos de altitude*. Rio de Janeiro: Editora Index.
- Maynard-Smith,J. (1966) Sympatric speciation. *The American Naturalist* **100** (916):637-650.
- Mayr,E. (1942). *Systematics and the origin of species*. New York: Columbia Press.
- Mayr,E. (1963). *Populations, species and evolution*. 1 edn. Cambridge, Massachusetts: Harvard University Press.
- Mayr,E. & Ashlock,P.D. (1991). *Principles of systematic zoology*. 2 edn. New York: McGraw-Hill, Inc.
- McCain,C.M. (2004). The mid-domain effect applied to elevational gradients: species richness of small mammals in Costa Rica. *Journal of Biogeography* **31**(1):19-31.
- McDonald,K.A. & Brown,J.H. (1992) Using montane mammals to model extinctions due to global change. *Conservation Biology* **6** (3):409-415.
- Miranda-Ribeiro,A. (1905) Vertebrados do Itatiaia (Peixes, Serpentes, Saurios, Aves e Mammiferos). *Arquivos do Museu Nacional* 165-190.
- Mori,S.A., Boom,B.M. & Prance,G.T. (1981) Distributional patterns and conservation of eastern Brazilian coastal forest tree species. *Brittonia* **33** 233-245.
- Moritz,C., Patton,J.L., Schneider,C.J. & Smith,T.B. (2000) Diversification of rainforest faunas: an integrated molecular approach. *Annual Review of Ecology and Systematics* **31** 533-563.
- Moritz,C. (1994). Defining 'Evolutionarily Significant Units' for conservation. *Trends in Ecology & Evolution* **9**(10):373-375.
- Morrone,J.J. & Crisci,J.V. (1995) Historical biogeography: introduction to methods. *Annual Review of Ecology and Systematics* **26** 373-401.
- Musser,G.G. & Carleton,M.D. (2005). Order Rodentia. In 3 edn. (Anonymous). Washington: Smithsonian Institution Press].

- Musser, G.G. & Carleton, M.D. (1993). Family Muridae. In *Mammal species of the world: a taxonomic and geographic reference*, pp. 501-755. (Eds D. E. Wilson and D. H. Reeder). Washington, London: Smithsonian Institution Press].
- Mustrangi, M. & Patton, J.L. (1997) Phylogeography and systematics of the slender mouse opossum *Marmosops* (Marsupialia, Didelphidae). *University of California Publications on Zoology* **130** 1-86.
- Myers, N., Mittermeier, R.A., Mittermeier, C.G., Fonseca, G.A.B. & Kent, J. (2000) Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* **403** 853-859.
- Myers, P. (1989). A preliminary revision of the *varius* group of *Akodon* (*A. dayi*, *dolores*, *molinae*, *neocenus*, *simulator*, *toba*, and *varius*). In *Advances in Neotropical Mammalogy*, pp. 5-54. (Eds J. F. Eisenbergh and K. H. Redford). Gainesville: Sandhill Crane Press].
- Myers, P., Patton, J.L. & Smith, M.F. (1990) A review of the *boliviensis* group of *Akodon* (Muridae: Sigmodontinae), with emphasis on Peru and Bolivia. *Miscellaneous Publications Museum of Zoology, University of Michigan* **177** 1-104.
- Nichols, R. (2001) Gene trees and species trees are not the same. *Trends in Ecology and Evolution* **16** (7):358-364.
- Nimer, E. (1979). *Climatologia do Brasil*.
- Nixon, K.C. (1999). The Parsimony Ratchet, a New Method for Rapid Parsimony Analysis. *Cladistics* **15**(4):407-414.
- Oliveira, J.A. (1998b) Morphometric assessment of species groups in the South American rodent genus *Oxymycterus* (Sigmodontinae), with taxonomic notes based on the analysis of type material. Texas Tech University, Lubbock, Texas. pp.1-320. PhD.
- Oliveira, J.A. (1998a) Morphometric assessment of species groups in the South American rodent genus *Oxymycterus* (Sigmodontinae), with taxonomic notes based on the analysis of type material. Texas Tech University, Lubbock, Texas. pp.1-320. PhD.

- Oliveira, J.A.d. & Bonvicino, C.R. (2002). A new species of sigmodontine rodent from the Atlantic forest of eastern Brazil. *Acta Theriologica* **47**(3):307-322.
- Oliveira-Filho, A.T. & Fontes, M.A.L. (2000) Patterns of floristic differentiation among Atlantic forests in Southeastern Brazil and the influence of climate. *Biotropica* **32** (4b):793-810.
- Osgood, W.H. (1933). Two new rodents from Argentina. *Zoological Series of Field Museum of Natural History* **20**:11-14.
- Papavero, N., Llorente, J., Espinosa, D. & Mascarenhas, R. (2000). *História da Biologia Comparada*. 2 edn. Ribeirão Preto, SP: Editora Holos.
- Pardiñas, U.F.J., D'Elía, G. & Cirignoli, S. (2003). The genus *Akodon* (Muroidea: Sigmodontinae) in Misiones, Argentina. *Mammalian Biology - Zeitschrift für Säugetierkunde* **68**(3):129-143.
- Pardiñas, U.F.J., D'Elía, G., Cirignoli, S. & Suarez, P. (2005a). A new species of *Akodon* (Rodentia, Cricetidae) from the northern campos grasslands of Argentina. *Journal of Mammalogy* **86**(3):462-474.
- Pardiñas, U.F.J., D'Elía, G. & Ortiz, P.E. (2002) Sigmodontinos Fósiles (Rodentia, Muroidea, Sigmodontinae) de América del Sur: Estado actual de su conocimiento Y prospectiva. *Mastozoología Neotropical* **9**(2) 209-252.
- Patterson, B.D. (2000) Patterns and trends in the discovery of a new neotropical mammals. *Diversity and Distributions* **6** 145-151.
- Patton, J.L. & Silva, M.N.F. (1998). Rivers, refuges, and ridges: the geography of speciation of Amazonian mammals. In *Endless Forms: Species and Speciation*, pp. 203-213. (Eds D. J. Howard and S. H. Berlocher). New York: Oxford University Press].
- Patton, J.L., Silva, M.N.F. & Malcolm, J.R. (2000) Mammals of the Rio Juruá and the evolutionary and ecological diversifications of Amazonia. *Bull. Am. Mus. Nat. Hist.* **244** 1-306.

- Patton, J.L. & Smith, M.F. (1994). Paraphyly, polyphyly, and the nature of species boundaries in pocket gophers (genus *Thomomys*). *Systematic Biology* **43**(1):medidas11-26.
- Pellegrino, K.C.M., Rodrigues, M.T., Waite, A.N., Morando, M., Yassuda, Y.Y. & Sites Jr, J.W. (2005) Phylogeography and species limits in the *Gymnodactylus darwini* complex (Gekkonidae, Squamata): genetic structure coincides with river systems in the Brazilian Atlantic Forest. *Biological Journal of the Linnean Society* **85** 13-26.
- Percequillo, A.R., Gonçalves, P.R. & de Oliveira, J.A. (2004). The rediscovery of *Rhagomys rufescens* (Thomas, 1886), with a morphological redescription and comments on its systematic relationships based on morphological and molecular (cytochrome b) characters. *Mammalian Biology - Zeitschrift für Säugetierkunde* **69**(4):238-257.
- Pessoa, L.M., de Oliveira, J.A. & Lopes, M.O.G. (2004). Karyological and morphometric variation in the genus *Thrichomys* (Rodentia: Echimyidae). *Mammalian Biology - Zeitschrift für Säugetierkunde* **69**(4):258-269.
- Pictet, F.-J. (1843) Seconde notice sur les animaux nouveaux ou peu connus du Musée de Genève. *Memoires de la Societe de Physique et d'Histoire Naturelle de Geneve* **9,10** 201-214.
- Posada, D. & Crandall, K.A. (1998). MODELTEST: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics* **14**(9):817-818.
- Posada, D. & Crandall, K.A. (2001). Intraspecific gene genealogies: trees grafting into networks. *Trends in Ecology & Evolution* **16**(1):37-45.
- Prance, G.T. (1989). American tropical forests. In *Tropical rainforest ecosystems*, pp. 99-132. (Eds H. Lieth and M. J. A. Werger). Amsterdam: Elsevier].
- Prychitko, T.M. & Moore, W.S. (1997) The utility of DNA sequences of an intron from the b-fibrinogen gene in phylogenetic analysis of woodpeckers (Aves: Picidae). *Mol. Phylogenet. Evol.* **8** 193-204.
- Redford, K.H. (1984). Mammalian predation on termites: tests with the burrowing mouse (*Oxymycterus roberti*) and its prey. *Oecologia (Berlin)* **65**:145-152.

- Reig,O. (1977) A proposed nomenclature for the enamelled components of the molar teeth of the Cricetidae (Rodentia). *J.Zool., Lond.* **181** 227-241.
- Reig,O.A. (1987). An assessment of the systematics and evolution of the Akodontini, with the description of new fossil species of *Akodon* (Cricetidae: Sigmodontinae). *Fieldiana Zoology* **39**:347-399.
- Rieger,T.T., Langguth,A. & Waimer,T.A. (1995) allozymic characterization and evolutionary relationships in the Brazilian *Akodon cursor* species group (Rodentia—Cricetidae). *Biochemical Genetics* **33** 283-295.
- Rieseberg,L.H. (2001) Chromosomal rearrangements and speciation. *Trends in Ecology and Evolution* **16** (7):351-358.
- Rizzini,C.T. (1979). *Tratado de Fitogeografia do Brasil*. São Paulo: Editora Universidade de São Paulo.
- Rogers,A.R. & Harpending,H. (1992) Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences. *Mol Biol Evol* **9** (3):552-569.
- Ruschi,A. (1978). Mamíferos e Aves do Parque Nacional do Caparaó. *Boletim do Museu de Biologia Mello Leitão - Série Zoologia* **95**:1-28.
- Safford,H.D. (1999c). Brazilian Paramos I. An introduction to the physical environment and vegetation of the campos de altitude. *Journal of Biogeography* **26**(4):693-712.
- Safford,H.D. (2001). Brazilian Paramos. III. Patterns and Rates of Postfire Regeneration in the Campos de Altitude1. *Biotropica* **33**(2):282-302.
- Safford,H.D. (1999a). Brazilian Paramos II. Macro- and mesoclimate of the campos de altitude and affinities with high mountain climates of the tropical Andes and Costa Rica. *Journal of Biogeography* **26**(4):713-737.
- Safford,H.D. (1999b) Notas sobre a ecologia e a preservação de *Nothochilus coccineus* Radlkofer (Scrophulariaceae), espécie endêmica ao maciço do Caparaó, ES/MG. *Acta Botanica Brasilis* **13** (2):175-185.

Sambrook,J., Fritsch,E.F. & Maniatis,T. (1989). *Molecular cloning: a laboratory manual*. 2 edn. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press.

r8s, version 1.70, user's manual. Sanderson,M.J. (2004) 1.70. Davis: University of California, Davis.

Sanderson,M.J. (1997). A Nonparametric Approach to Estimating Divergence Times in the Absence of Rate Constancy. *Molecular Biology and Evolution* **14**(12):1218-1231.

Sanderson,M.J. (2002) Estimating absolute rates of molecular evolution and divergence times: a penalized likelihood approach. *Mol Biol Evol* **19** (1):101-109.

Schneider,C.J., Smith,T.B., Larison,B. & Moritz,C. (1999). A test of alternative models of diversification in tropical rainforests: Ecological gradients vs. rainforest refugia. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **96**(24):13869-13873.

ARLEQUIN 2.0. A software for population genetic data analysis. Schneider,S., Roessli,D. & Excoffier,L. (2000) 2.0. Distributed by the authors.

Segadas-Vianna,F. (1965) Ecology of the Itatiaia Range, southeastern Brazil I: altitudinal zonation of the vegetation. *Arquivos do Museu Nacional* **LIII** 7-30.

Segadas-Vianna,F. & Dau,L. (1965) Ecology of the Itatiaia Range, southeastern Brazil II: climates and altitudinal climatic zonation. *Arquivos do Museu Nacional* **LIII** 31-53.

PAUPRat: PAUP* implementation of the parsimony ratchet. Sikes,D.S. & Lewis,P.O. (2001) beta software, version 1. Department of Ecology and Evolutionary Biology, University of Connecticut, Storrs, USA: Distributed by the authors.

Silva,J.M.C. (2004) Areas of endemism for passerine birds in the Atlantic forest, South America. *Journal of Biogeography* **13** 85-92.

Simpson,G.G. (1948) The beginning of the age of mammals in South America. *Bull.Am.Mus.Nat.Hist.* **85** 1-350.

- Smith,M.F., Kelt,D.A. & Patton,J.L. (2001) Testing models of diversification in mice in the *Abrothrix olivaceus/xanthorhinus* complex in Chile and Argentina. *Molecular Ecology* **10** 397-405.
- Smith,M.F. & Patton,J.L. (1988) Subspecies of Pocket Gophers: Causal Bases for Geographic Differentiation in *Thomomys bottae*. *Systematic Zoology* **37** (2):163-178.
- Smith,M.F. & Patton,J.L. (1999). Phylogenetic relationships and the radiation of sigmodontine rodents in South America; evidence from cytochrome b. *Journal of Mammalian Evolution* **6**(2):89-128.
- Smith,M.F. & Patton,J.L. (1993) The diversification of South American murid rodents: evidence from mitochondrial DNA sequence data for the akodontine tribe. *Biological Journal of the Linnean Society* **50** 149-177.
- Smith,T.B., Wayne,R.K., Girman,D.J. & Bruford,M.W. (1997) A role for ecotones in generating rainforest biodiversity. *Science* **276** 1855-1858.
- Soderstrom,T.R., Judziewicz,E.J. & Clark,L.G. (1988). Distribution patterns of Neotropical bamboos. In *Proceedings of a workshop on Neotropical distribution patterns*, pp. 121-157. (Eds P. E. Vanzolini and W. R. Heyer). Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências].
- PHASE. Stephens,M., Smith,N.J. & Donnelly,P. (2004) 2.1. Seattle: University of Washington. Distributed by the authors.
- Stephens,M., Smith,N.J. & Donnelly,P. (2001) A new statistical method for haplotype reconstruction from population data. *Am.J.Hum.Genet.* **68** 978-989.
- Steppan,S., Adkins,R. & Anderson,J. (2004). Phylogeny and divergence-date estimates of rapid radiations in muroid rodents based on multiple nuclear genes. *Syst.Biol.* **53**(4):533-553.
- Steppan,S.J. (1995) Revision of the tribe Phyllotini (Rodentia: Sigmodontinae), with a phylogenetic hypothesis for the Sigmodontinae. *Fieldiana: Zoology n.s.* **80** 1-135.

- Stevaux, J.C. (2000) Climatic events during the Late Pleistocene and Holocene in the Upper Parana River: correlation with NE Argentina and South-Central Brazil. *Quaternary International* **72** 73-85.
- Strauss, R.E. (1985) Evolutionary allometry and variation in body form in the south american catfish genus *Corydoras* (Callichthyidae). *Systematic Zoology* **34** (4):381-396.
- Strauss, R.E., Atanassov, M.N. & Oliveira, J.A.d. (2003) Evaluation of the principal component and expectation-maximization methods for estimating missing data in morphometric studies. *Journal of Vertebrate Paleontology* **23** (2):284-296.
- PAUP 4.0*: phylogenetic analysis using parsimony and other methods. Swofford, D.L. (1999) 4.0 beta version. Washington, DC: Smithsonian Institute.
- Tate, G.H.H. (1932). The taxonomic history of the South and Central American akodont genera: *Thalpomys*, *Deltamys*, *Thaptomys*, *Hypsimys*, *Bolomys*, *Chroeomys*, *Abrothrix*, *Scotinomys*, *Akodon* (*Chalcomys* and *Akodon*), *Microxus*, *Podoxymys*, *Lenoxus*, *Oxymycterus*, *Notiomys* and *Blarinomys*. *American Museum Novitates* **582**:1-32.
- Templeton, A.R. (2001) Using phylogeographic analyses of gene trees to test species status and processes. *Molecular Ecology* **10** 779-791.
- Templeton, A.R., Crandall, K.A. & Sing, C.F. (1992) A cladistic analysis of phenotypic associations with haplotypes inferred from restriction endonuclease mapping and DNA sequence data. III. cladogram estimation. *Genetics* **132** 619-633.
- Thomas, O. (1916). Some notes on the Echimyinae. *Annals and Magazine of Natural History* **8**(18):294-301.
- Thomas, O. (1906). A new aquatic genus of Muridae discovered by consul L. Soderström in Ecuador. *Annals and Magazine of Natural History* **7**(17):86-88.
- Thomas, O. (1917) On the arrangement of South American rats allied to *Oryzomys* and *Rhipidomys*. *Ann. & Mag. N. Hist.* **8** (20):192-198.
- Trouessart, E.-L. (1898). *Catalogus mammalium tam viventium quam fossilium*. Nova Edition (prima completa) edn. Berlin: R. Friedländer & Sohn.

- Vanzolini,P.E. (1988). Distributional patterns of South American lizards. In *Proceedings of a workshop on Neotropical distribution patterns*, pp. 317-341. (Eds P. E. Vanzolini and W. R. Heyer). Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências].
- Vanzolini,P.E. & Williams,E.E. (1970) South American anoles: geographic differentiation and evolution of the *Anolis chrysolepis* species group (Sauria, Iguanidae). *Arq.Zool.Est.Sao Paulo* **19** 1-298.
- Veloso,H.P., Filho,L.C.O., Vaz,A.M.S.F., Lima,M.P.M., Marquete,R. & Brazão,J.E.M. (1992) Manual técnico da vegetação brasileira. *Manuais Técnicos em Geociências* **1** 1-92.
- Vitullo,A.D., Merani,M.S., Reig,O.A., Kajon,A.E., Scaglia,O., Espinosa,M.B. & Perez-Zapata,A. (1986) Cytogenetics of South American akodont rodents. XI. New karyotypes and chromosomal banding patterns of Argentinian and Uruguayan forms. *J.Mamm.* **67** (1):69-80.
- Voss,R.S. (1993) A revision of the Brazilian Muroid Rodent genus *Delomys* with remarks on "Thomasomyine" characters. *Amer.Mus.Novitates* **3073** 1-44.
- Voss,R.S. (1991) An introduction to the Neotropical muroid rodent genus *Zygodontomys*. *Bull.Am.Mus.Nat.Hist.* **210** 1-113.
- Voss,R.S. (1988) Systematics and ecology of ichthyomyine rodents (Muroidea): patterns of morphological evolution in a small adaptive radiation. *Bull.Am.Mus.Nat.Hist.* **188** 259-493.
- Voss,R.S. & Carleton,M.D. (1993). A new genus for *Hesperomys molitor* Winge and *Holochilus magnus* Hershkovitz (Mammalia, Muridae) with an analysis of its phylogenetic relationships. *American Museum Novitates* **3085**:1-39.
- Voss,R.S. & Emmons,L.H. (1996) Mammalian diversity in Neotropical lowland rainforests : a preliminary assessment. *Bull.Am.Mus.Nat.Hist.* **230** 1-115.
- Voss,R.S. & Marcus,L.F. (1992). Morphological evolution in muroid rodents II. Craniometric factor divergence in seven neotropical genera, with experimental results from *Zygodontomys*. *Evolution* **46**(6):1918-1934.

- Voss,R.S., Marcus,L.F. & Escalante,P. (1990) Morphological evolution in muroid rodents. I. Conservative patterns of craniometric covariance and their ontogenetic basis in the neotropical genus *Zygodontomys*. *Evolution* **44**, 1568-1587.(Abstract)
- Webb,S.D. (1977) A history of savanna vertebrates in the New World. II. South America and the great interchange. *Annual Review of Ecology and Systematics* **9** 393-426.
- Weksler,M. (2006) Phylogenetic relationships of Oryzomine rodents (Muroidea: Sigmodontinae): separate and combined analyses of morphological and molecular data. *Bull.Am.Mus.Nat.Hist.* **296** 1-149.
- Wickliffe,J.K., Hoffmann,F.G., Carroll,D.S., Dunina-Barkovskaya,Y.V., Bradley,R.D. & Baker,R.J. (2003) PCR and sequencing primers for intron 7 (*Fgb-I7*) of the fibrinogen, beta polypeptide (*Fgb*) in mammals: a novel nuclear DNA marker. *Occasional Papers, Museum of Texas Tech University* **219** 1-18.
- Wiens,J.J. (1995) Polymorphic characters in phylogenetic systematics. *Systematic Biology* **44** (4):482-500.
- Wiens,J.J. & Donoghue,M.J. (2004) Historical biogeography, ecology and species richness. *Trends in Ecology and Evolution* **19** 639-644.
- Wiley,E.O. (1988) Vicariance biogeography. *Annual Review of Ecology and Systematics* **19** 513-542.
- Wiley,E.O., Siegel-Causey,D., Brooks,D.R. & Funk,V.A. (1991) The compleat cladist: a primer of phylogenetic procedures. *The University of Kansas Museum of Natural History, Special Publication* **19** 1-158.
- Winge,H. (1887) Jordfundne og nulevende Gnavere (Rodentia) fra Lagoa Santa, Minas Geraes, Brasilien. *E Museo Lundii* **1** 1-200.
- Wright,S. (1943) Isolation by distance. *Genetics* **28** 114-138.
- Zanchin,N.I.T., Sbalqueiro,I.J., Langguth,A., Bossle,R.C., Castro,E.C., Oliveira,L.F.B. & Mattevi,M.S. (1992). Karyotype and species diversity of the genus *Delomys* (Rodentia, Cricetidae) in Brazil. *Acta Theriologica* **37**(1-2):163-169.

APÊNDICES

APÊNDICE I. ESPÉCIMES EXAMINADOS

As informações morfológicas e genéticas foram derivadas de análises de espécimes testemunhos depositados nas seguintes instituições: Museu Nacional, Rio de Janeiro (MN, números de campo FS, VA, LG, HGB, PRG, JAO, EDH, JR, LF, LMT); Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo (MZUSP, números de campo APC, CIT, DQ); Museu de Zoologia “João Moojen de Oliveira”, Viçosa (MZUFV, números de campo BRG, SLM); Museu Municipal de História Natural Capão da Imbuía, Curitiba (MHNCI); Museo Nacional de Historia Natural, Montevideo (MNHN); Centro Nacional Patagónico, Puerto Madryn (CNP); Museo de Ciencias Naturales y Tradicional de Mar del Plata “Lorenzo Scaglia” (MMP-Ma); Museo de La Plata, La Plata (MLP, números de campo AC, PY, UP, BAL); Museo Argentino de Ciencias Naturales “Bernardino Rivadavia” (MACN); Field Museum of Natural History, Chicago (FMNH); Museum of Natural Science, Louisiana State University (LSUMZ); Museum of Vertebrate Zoology, Berkeley (MVZ); Michigan State University, Lansing (MSU); University of Michigan Museum of Zoology, Ann Arbor (UMMZ); Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG, números de campo YL, LP). Os números entre colchetes precedendo os nomes das localidades referem-se aos pontos mapeados nas figuras 3.2, 3.13 e 3.33. As coordenadas geográficas são fornecidas em escala decimal. Espécimes geneticamente analisados estão marcados com um asterisco. Números de acesso do GenBank de espécimes incluídos em publicações já submetidas (e.g. Gonçalves, Myers, Vilela & Oliveira *in press. Miscellaneous Publications of the Museum of Zoology, University of Michigan*) estão entre parênteses; os demais códigos de acesso serão fornecidos mediante as futuras publicações.

Akodon aerosus – PERU: [6] 72km NE Paucartambo, Cuzco: MVZ171679 (M35703^s).

Akodon affinis – COLOMBIA: [1] Corregimiento La Florida, Risaralda (AY196164^d)

Akodon aff. cursor— BRAZIL: Estação Experimental Djalma, CEPLAC, Una, Bahia: EDH30 ([AF184053^b](#)).

Akodon albiventer — [17] CHILE: Parinacota, ca. 72 km E Arica, 10 km S Chapiquina, 22 km S Putna, Tarapaca,.: FMNH 129978 (AY494838^s).

Akodon azarae – PARAGUAY: [41] 24km NW Villa Hayes, Presidente Hayes: UMMZ133969, [42] 15.5km NW Chaco, Presidente Hayes: UMMZ126070; 5.8km by road NE Pilar, Neembucu: UMMZ134443 ([U03529^a](#)); [43] 83.2km NW Puerto Falcon, Presidente Hayes: UMMZ137561, ARGENTINA: [54] Pirayui, Capital, Corrientas, Argentina: MVZ166102-103, 173730-731, [60] Hurlingham, Buenos Aires: UMMZ109223, 109226, 111009, [61] Ezeiza, 20km S Buenos Aires: MVZ134234-236; [62] Capital Federal, Nunez, Costa do Rio La Plata: UMMZ111010, [63] Torrecita [Urdampilleta], Buenos Aires: FMNH23327-23343; [64] 35km Sierra Azul, Buenos Aires: MVZ134230-233; [65] INTA, Balcarce, Buenos Aires: MSU16695.

Akodon boliviensis – PERU: [13] 12km S Santa Rosa, Puno: MVZ171607 (M35691^s); BOLIVIA: [18] 10km SW Pazña, Oruro, 3750m: UMMZ155858, 156285

Akodon budini — BOLIVIA: Rinconada del Bufete, Chuquisaca (AY605060^s)

Akodon cursor – BRAZIL: [22] Fazenda Neblina, Pq. Est. Serra do Brigadeiro, Fervedouro, Minas Gerais: BRG12, 13, 17, 20, 21, 30, 33, 34, 39, 43, 46, 52, 67, 73-75, 85, 88, 91, 92, 111; [23] Mata do Paraíso, Viçosa, Minas Gerais: PRG208, 293, 298, 327, 378, 416, 927, 933, SLM190, 214, 219, 228, 258, 260; [32] Estação Ecológica Boracéia, Salesópolis, São Paulo: MVZ182780-783, 183026-030, MZUSP29257 ([AF184051^s](#));

[36] Fazenda Intervalles, Capão Bonito, São Paulo: MVZ182072, 182073, 182784, 183017-025, 183249, 183251.

Akodon dayi — BOLIVIA: El Refugio, Parque Nacional Noel Kempff Mercado, Santa Cruz (AY605059^s).

Akodon dolores – ARGENTINA: [58] Papagayos, San Luis (AY273904^c).

Akodon fumeus — BOLIVIA: Rinconada del Bufete, Chuquisaca (AY605061^s).

Akodon iniscatus – ARGENTINA: [66] 10km S Comallo, Rio Negro: MVZ182655 (AY273917^c).

Akodon juninensis – PERU: 22km N La Oroya, Junin: MVZ173038 (M35698^s).

Akodon kofordi – PERU: Agualani, Puno: MVZ171665 (M35697^s).

Akodon lindberghi – BRAZIL: [16] Matosa, Parque Nacional de Brasília, Brasília, Distrito Federal: FMNH128292-298; [25] Sitio Maglandia, Simão Pereira, Minas Gerais: MN33681-686, 33703, 48026 (AF184057^s).

Akodon lutescens – PERU: [14] 12km S Santa Rosa, Puno: MVZ171612 (M35710^s).

Akodon molinae – ARGENTINA: Ñacuñan MaB Reserve, Santa Rosa, Mendoza (AY494839^s).

Akodon mollis – PERU: [2] “Machete” on Zapalache Carmen trail, Piura: LSUMZ27007 (U03546^a).

Akodon montensis – BRAZIL: [32] Estação Ecológica Boracéia, Salesópolis, São Paulo: FMNH141602 ([AF184055^s](#)); [30] Pedreiras, São Paulo: MN50239, 50256-269, 50271-

278, 50280, 50301-304, 53668-63104; [44] Mananciais da Serra, Piraquara, Parana: JAO965, 966, 973, 974, 977, 984, 990, LMT425 (EF101873*), 428 (EF101874*). PARAGUAY: [34] Estancia Felicidad, Canindeyu, Paraguay: UMMZ174920-922, 174924, 174926, 174928, 174929, 174931, 174935-937, 174940-942, 174919, 174969 ([AY273905^c](#)); Parque Nacional Ybycuí, Paraguari: UMMZ133948-133952, 133954, 133955, 137113-137116, 137118, 137122, 137126-137128, 137130-137133 [47] Sapucay: UMMZ57075-075; ARGENTINA [48] Caragatay, Misiones, Argentina: FMNH26817, 26832-838, 26842, 26845-847; [49] Rio Paraná, Misiones: FMNH26831.

Akodon mystax – BRAZIL: [19] Arrozal: MN31910-912, PH10427, 10430, 10431, [20] Terreirão, Parq. Nac. Caparaó, Alto Caparaó, Minas Gerais: MN31896-909, 31913, 59113, 69565 (EF101875*), 69566 (EF101876*), 69567 (EF101877*), 69568-576, 69585-587, 69589, 69590, 69596, 69599, 69602, 69605, 69606, 69609, 69613, 69623, 69627 (EF101878*), 69628, 69629 (EF101879*), 69644, 69645, 69660 (EF101880*), 69664, 69665, PH10241.

Akodon orophilus – PERU: [3] 16km NNE Palca, Junin: MVZ173057 (M35699^s).

Akodon paranaensis – BRAZIL: [27] Brejo da Lapa, Itatiaia, Itamonte, Minas Gerais: MN48041 (AF184054^b), 48067, 48070 (AF273907^b), 63110; [28] Campos do Itatiaia, Abrigo Rebouças, Pq. Nac. Itatiaia, Rio de Janeiro: MN69677, 69679, 69681, 69682, 69685, 69686 (EF101886*), 69695, 69700 (EF101887*), 69710, 69719, 69724, 69726 (EF101888*), 69745; [45] Estação Ecológica de Canguiri, Piraquara, Parana: MZUSP29088-118 ; [46] Roça Nova, Piraquara, Parana: LMT405; [50] Tres Barras, margins of Uruguay river, Aratiba, Rio Grande do Sul: MZUSP29119-126; [53] Urubici, Santa Catarina: LMT301 (EF101883*), LMT304 (EF101884*); [55] Parq. Nac. Aparados da Serra, Rio Grande do Sul: LMT270 (EF101881*), LMT294 (EF101882*); [56] Venâncio Aires, Rio Grande do Sul: CIT1131 (AY195866^e).

Akodon philipmyersi – ARGENTINA: [51] Estancia Santa Inés, Posadas, Misiones, Argentina: CNP739 (AY702965), UMMZ176194 (AY702967).

Akodon reigi – URUGUAY: [59] Paso Averías, Lavalleja, Uruguay: MNHN3682 (AY195865^c).

Akodon sanctipaulensis – BRAZIL: [35] Morretinho, São Paulo: FMNH94520 [38] Primeiro Morro, São Paulo: 94514-519, [39] Quadro Penteado, São Paulo: FMNH94522 [40] Iporanga, São Paulo: FMNH94521.

Akodon serrensis —BRAZIL: [29] Vale das Antas, Parque Nacional da Serra dos Órgãos, Rio de Janeiro: VA1 ([AY273908^c](#)); [53] Urubici, Santa Catarina: LMT436 (EF101889*).

Akodon siberiae —BOLIVIA: 28km by road W Comarapa, Cochabamba (AY273909^c).

Akodon spegazzinii —ARGENTINA: [57] Pampa de Achala, Córdoba (AY196165).

Akodon subfuscus —PERU: 15km S Callali, Arequipa: MVZ174109 (M35695^g); [7] Tucumachay, Ayacucho, Peru 4250m: UMMZ120283, 120284; [8] Pacaicasa, Ayacucho, Peru 2650m: UMMZ120274, 120275, 120276, 120277, 120278; [9] Chunyacc, Ayacucho, Peru 3600m: UMMZ120279, 120280, 120281, 120282; [11] 55.4km N Calca, Cuzco, Peru 3560: UMMZ160533, 160534, 160793.

Akodon toba —PARAGUAY: [31] 9km NE Juan de Zalazar, Presidente Hayes: UMMZ 133966, 133967, 133965 (U03527); [26] 419km NW Villa Hayes, Boquerón: UMMZ125499, 125500, 125501; [21] 50km NW Fortin Madrejón, Cerro Leon: UMMZ125502, 125503, 125504, 125505.

Akodon torques —PERU: [10] 32km NE Paucartambo, Cuzco: UMMZ160475-160480, MVZ17120 (M35700); 90km SE Quillabamba, Cuzco, Peru, 3450m: UMMZ160481, 160482-160484, 160486-160496, 160498.

Abrothrix andinus — PERU: 2 km W Sumbay, Arequipa: MVZ 174066 (AF108671).

Blarinomys breviceps — BRAZIL: Estação Experimental Djalma, Una, Bahia: UFMG-MAS 17 ([AF108668](#)).

Brucepattersonious soricinus —BRAZIL: Estação Biológica de Boracéia, Salesópolis, São Paulo: MVZ 186036 (AY277486).

Delomys collinus — MINAS GERAIS: [6] "Terreirão, Parque Nacional Caparaó, Alto Caparaó" (20.43/41.85): PH10024, 10029, 10066, 10079*, 10080, 10088*, 10089, 10180, 10190, 10219, 10373, 10433, 10434, 10437, 10756*, PRG1128*,SGM11*; [17]"Brejo da Lapa, Itamonte" (22.35/44.69): JAO239, LG106*, LG205*, MN33698, 33700, 33701, 33702, MN60573/CRB1332*, MN60574, 60584, 60585/CRB1351*; RIO DE JANEIRO: [19] "Campos do Itatiaia, Abrigo Rebouças-Parque Nacional do Itatiaia, Itatiaia" (22.39/44.67): JAO1524*, JAO1558; SÃO PAULO: [29] Campos do Jordão (22.74/45.59): MZUSP2105.

Delomys dorsalis — ARGENTINA: [52] "Caraguatay, Misiones, Argentina" (26.62/54.77): FMNH26818; MINAS GERAIS: [17]"Brejo da Lapa, Itamonte" (22.35/44.69): LG139, LG141, MN33699, 44058, 44059/LG86*, 44062/LG76*, 44063, 44064, 60572/CRB1305*, 60575, 60576, 60577, 60578/CRB1321*, 60579/CRB1322*, 60580/CRB1341*, 60581/CRB1345*, 60582, 60583, 60586/CRB1352*, 60588, 60589, JAO231, JAO247; [18]"Fazenda do Itaguaré, 16km SW Passa Quatro, (1500m)" (22.47/45.08): "YL11*, YL13*"; [26]"Fazenda da Onça, 13km SW Delfim Moreira, (1850)" (22.60/45.33): "YL22*, LC18*"; PARANÁ: [42]"Castro, Fazenda Monte Alegre, Paraná" (24.78/50.00): MZUSP2501; [43]"Parque Estadual Pico Paraná, Campina Grande do Sul" (25.31/49.06): PRG1350*, 1351*, 1352*, 1354, 1355, 1357, 1358, 1359, 1364, 1366; [44]"Taquari, Casa Garbes, Graciosa, Quatro Barras" (25.37/49.08): MNHCI3053, 3058, 3059, 3060, 3064, 3065, 3072, 3080, 3093, 3095, 3100, 3121, 2211; [45]"Roca Nova, Piraquara (Serra do Mar)" (25.43/49.06): FMNH18177, LMT409*, LMT414*, LMT427*, LMT430*, LMT433*, LMT435*; [46]"Mananciais da Serra,

Piraquara" (25.44/49.06): JAO1001*, MNHCI3078, 3098, 3105; [47]"Estrada do Marumbi, Morretes" (25.48/48.83): MNHCI3102; [48]"Guaricana, São José dos Pinhais" (25.53/49.21): MHNCI1550, 1551, 1553, 1564, 1570, 1572, 1577, 1583, 1597, 1614, 1628, 1649, 1660; [49]"Limeira-Serra do Prata, Guaratuba" (25.88/48.57): MNHCI2624, 2625; RIO DE JANEIRO: [16] Serra de Macaé (22.32/42.33): MZUSP2786, 2787, 2789; [20] "Fazenda C. Guinle (Comari), Teresópolis" (22.41/42.97): FMNH53871, 53872, MN7009, 11608, 11609, 11665, 6339, 6340, 7001, 7004, 7005, 7007, 7008, 7010, 7011, 7012, 7013, 7015, 7016, 7064, 7082, 7085, 7087, 7089; [22]"Abrigo Paquequer (sede do Parque Nacional da Serra dos Órgãos), Teresopolis" (22.45/42.98): FS1010, FS1024, FS1055*, FS1058*, FS1074; [23] "Base Pedra do Sino - Campo das Antas, Teresopolis" (22.46/42.98): VA03*, VA04*, VA05, VA06, VA101, VA103, VA12, VA13, VA130, VA134*, VA37; [24] "Serrinha, Resende" (22.47/44.45): HGB 64*; [25]"PNI Psicina Maromba, Itatiaia" (22.50/44.56): HGB 19, HGB 20*; [27]"Parque Nacional da Bocaina, São José do Barreiro" (22.65/44.58): HGB 18*; [28]"Estação Ecológica do Bananal, Bananal" (22.68/44.32): EBB711*,712*; [29] Campos do Jordão (22.74/45.59): MZUSP2103, 2106, 2107, 2108, 2109, 2110, 2111, 2114; [30]"Pedra Branca, Parati" (23.22/44.71): MN6207, 6211, 6213, 6224, 6226, 6290, 8147, 8148, 8149, 8408, 8409, 8414, 8416, 8419, 8420; [31] "Casa Grande, Biritiba Mirim" (23.57/46.04): FMNH136940, MN32450, MZUSP22796, 22810, 22811; [32]"Estação Ecológica de Boracéia, Salesópolis" (23.65/45.90): MZUSP29274, 29275, 29276, 29277, 29278, 29279, 29280, 29281, 29282, 29283, 29284, 29285, 29286, 29287, 29289, MVZ182786, MVZ182787, MVZ182788, MVZ182789, 182790, 182791, 183054, 183064, 183065, 183067, FMNH136932, 136933, FMNH136934, 136935, 136936, 136937, 136938, 136939, 145365, 145369, 145370, 145371, 145372, 145381, 145382, MZUSP10034, 10035, 6643, 9467, 9718, 9719, 9720, 9721, 9722, 9723, 9724, 9725, 9726, 29288, MVZ183054*, 183056*, 182786*, 192890*, 192891*, 192894*, 192895*; [34]"Paranapiacaba, Alto da Serra" (23.78/46.30): MZUSP1777, MZUSP1780, 2059; [35] Bertiooga (23.85/46.15): MZUSP28401; [36] "São Miguel Arcanjo, Taquaral" (23.88/47.98): MZUSP3746; [37] Fazenda Intervales, Ribeirão Grande (24.10/48.37): MVZ183045, MVZ183047, MVZ183048, MVZ183049, MVZ183052, MVZ183053, FMNH143286, MZUSP26878, 27249, 27320, 27325, 27326, 27327, 27328, 27329,

27332, 27333, 27335, 27336, 27337, 27338, 27339, 27340, 27341, 27342, 27344, 27345, 27348, 27350, 27353, 27354, 27355, 27356, 27357, 27358, 27359, 27360, 27361, 27362, 27363, 27364, 27365, 27366, 27368, 27373, 27374, 27375, 27376, 27384, MVZ183051, 26893, MVZ183068*, MVZ183072*, MVZ183074*, MVZ192857*; [38] "Morro da Mina, CBE, Ribeirão Grande" (24.10/48.37): MNHCI5138, 5139, 5287; RIO GRANDE DO SUL: [54] "Canyon Itaimbezinho, Parque Nacional Aparados da Serra, Cambará, do Sul " (29.05/50.14): LMT258*, LMT259, LMT271*, LMT283, LMT310*, LMT332, LMT334*; SANTA CATARINA: [53]"Morro da Igreja, Parque Nacional São Joaquim, Urubici" (28.02/49.59): LMT363*, LMT372*.

Delomys sublineatus — ESPÍRITO SANTO: [2] "F. R. Nova Lombardia-Goipapoacú-Caixa D'água, Santa Teresa" (19.94/40.60): MN-M795,689, 5270, M228, M257, M305, M81, M106, M85, M90, M94, M96, M97, M118, MN5366, M143, M144; [5]"Pedra Azul, Domingos Martins" (20.41/41.00): PRG1040*; [7]"Castelinho, Cachoeiro do Itapemirim" (20.60/41.20): MN-M572; [8]"3km NE Forno Grande, Castelo" (20.60/41.18): MN-M38, M19, M22, M36, M39, M71, MN32677, 32685, 32816; [10]"4km N Castelinho, Cachoeiro do Itapemirim" (20.85/41.11): MN-M575; MINAS GERAIS: [1] "Mata do Dr. Daniel, Conceição do Mato Dentro km 14, Minas Gerais" (19.04/43.43): MN3653; [3]"Mata do Sossego, Simonésia" (20.13/42.00): YL177*; [9] "Faz. Neblina, Pq. Est. Serra do Brigadeiro, Minas Gerais" (20.67/42.52): MZUFV/BRG245, MZUFV/BRG267, MZUFV/BRG280, MZUFV/BRG053, MZUFV/BRG165, MZUFV1137, MZUFV1138, MZUFV1139, MZUFV1140, MZUFV1205, MZUFV554, MZUFV623, MZUFV678; RIO DE JANEIRO: [11] "Parque Estadual do Desengano, Santa Maria Madalena, Rio de Janeiro, 1750m" (21.96/42.01): MN28693; [13] "Fazenda São José da Serra, 8km N do km33 estrada Teresópolis-Friburgo(/30), Sumidouro" (22.05/42.67): MN31363; [14] Sumidouro (22.05/42.67): MCL32, MCL35, MCL39, MCL40, MN31361, 31362, 31364, MVZ192917*, MVZ192918*, MVZ192919*, MVZ200403*; [15]Nova Friburgo (22.28/42.53): LG44, MN44061; [21]"Fazenda Boa Fé, Teresópolis, Rio de Janeiro" (22.41/42.97): MN14874, 14890, FMNH53873, MN6335, MN6347, 6992, 6995, 6996, 6998, 6999, 7056, 7058, 7091, 7093; [22]"Abrigo Paquequer (sede do Parque Nacional da Serra dos Órgãos),

Teresopolis" (22.45/42.98): FS1010, FS1021*, FS1024, FS1058, FS1074, FS1032, FS1091; SANTA CATARINA: [51] Colônia Hansa (Corupá) (26.43/49.23): BMNH 28.10.11.29, BMNH 28.10.11.30; SÃO PAULO: [4] Ituverava (20.34/47.78): MZUSP2949; [12]"Serra da Fortuna, Boa Vista" (21.97/46.80): HGB DB31; [27]"Parque Nacional Bocaina, São José do Barreiro" (22.65/44.58): HGB10*; [32]"Estação Ecológica de Boracéia, Salesópolis" (23.65/45.90): MVZ183075, MVZ183076, FMNH136931, 141628, 141629, 145383, MZUSP10214; [33] "Reserva Morro Grande, Caucaia do Alto, Cotia" (23.69/47.02): PRG1303*, 1309*, 1317*, 1322*, 1325, 1329, 1330, 1339, 1341, 1346; [34]"Paranapiacaba, Alto da Serra" (23.78/46.30): MZUSP1776, 1778, MZUSP9918; [37]"Fazenda Intervales (base do Carmo), Ribeirão Grande" (24.10/48.37): MZUSP29306, 29307, 29308, 29309, MVZ183050, MVZ183069, MVZ183073, MVZ183074*, MZUSP27319, 27323, 27324, 27330, 27331, 27346, 27347, 27351, 27371, 27372, 27519, AB109*, MVZ183072*, MVZ183074*, MVZ192857*; [40]Vale do Ribeira (24.67/47.40): MHNCI2626; [41] Iguape (24.72/47.55): MZUSP22801, 26777, 26802, CIT278*, CIT328*; PARANÁ: [50] "Rio Cubatão-Rio São João, Guaratuba" (25.88/48.57): MNHCI4609, 4848.

Deltamys kempi —URUGUAY: San José: Ruta 1 sobre Arroyo Cufre: MNHN 4151 (AY195862).

Geoxus valdivianus —ARGENTINA: 43 km SSW Bariloche, Rio Negro: MVZ154601 (U03531).

Lenoxus apicalis —PERU: 14 km W Yanahuaya, Puno: MVZ 171752 (U03541).

Necromys lasiurus —BRAZIL: Telêmaco Borba, Paraná: JAO 1692. PARAGUAY: 8 km NE Juan de Zalazar, Presidente Hayes: UMMZ134431 ([U03528](#)).

Necromys temchucki —ARGENTINA: Estancia Santa Inés, Misiones: UP 22 (AY273914).

Oxymycterus caparaoe—MINAS GERAIS: [40] "Arrozal, Segredo, Terreirão, Parque Nacional do Caparaó, Alto Caparaó" (20.43/41.85): PH10060, PH10069, PH10094, 10421, 10154, 10168, 10211, PRG1119*, 1127*, 1130, 1131, 1136, 1139*, 1140, 1146, 1148, 1151*, 1155, 1156*, 1158, 1171, 1172, 1179, 1184, 1188, 1189, 1207, 1208.

Oxymycterus dasytrichus—BAHIA: [10] "Gerais da Fumaça, Chapada Diamantina, Palmeiras, "(12.60 -41.46): MN67798, 67802, 67804, 67690; [14] "Fazenda Subauma, Cairu"(13.48/39.05): UFMG-RM169* [27] "Reserva Biológica Pau Brasil, Porto Seguro" (16.43/39.05): UFPB 576; ESPÍRITO SANTO: [35] "Santa Teresa" (19.93/40.60): MN42431, 32886, 32890, 42429, 5474, 5665, 42428, 8249, 32878, 35886, 6483, 42430, 32874, 32877, 32889, 5313; [38] "Venda Nova do Imigrante" (20.33/41.13): UFPB524, 527, 532, 528, 526, 529, 525, 362, 365; [42] "Castelo"(20.60/41.18): MN42432, MUZU2497, MN42427; MINAS GERAIS [32] "Conceição do Mato Dentro"(19.04/43.43): MN13457; [37] "Ouro Preto"(20.29/43.51): MN14568; [41]"Fazenda Cardoso, Serra do Caparaó" (20.43/41.88): AMNH61832, 61833; [43]"Fazenda Neblina, Parque Estadual Serra do Brigadeiro, Fervedouro/Araponga"(20.67/42.52): MZUFV569, 628, 639. [44]"Passos"(20.72/46.60): MN12853, 32898, 42420, 32894, 32896, 32897, 42419. [45] "Viçosa" (20.75/42.95): MZUFV432, 715, 725, 659*, PRG197, 100, 131, 187, 212, 204, 703, 674, 712, 581, 641; [46]"Juiz de Fora"(21.76/43.35): MN42417; RIO DE JANEIRO: [50] "Macaé" (22.37/41.79): MZUSP2770. [52]"Resende" (22.47/44.45): MN47981, 47985, 47982, 47984, 42434. [53] "Centro de Primatologia do Rio de Janeiro, Magé"(22.65/43.04): UNB0473; [55] "Nova Iguaçu" (22.76/43.45): MN42824, 28829; [56] "Duque de Caxias"(22.79/43.31): MN5814; [57] "Gávea, Rio de Janeiro" (22.90/43.21): MN42433; [58] "Mangaratiba"(22.96/44.04): MN5278; [60] "Ilha Grande, Angra dos Reis"(23.15/44.23): MN24929, 24930, 62241-62261, 62263, 62313; [61] "Parati" (23.22/44.70): MN6189, 6293-6295, MN6297-6299; SÃO PAULO: [62]"Ubatuba" (23.43/45.07): MN24405, 24408-24410, 24416, 24421, 24426, 24427, 32860-32863, 32865-32867, 32869, 32870, 32873, 5269, 5285, 5288, 5289, 5304, 5305, 5306, 5312, 5318, 5325, 5370-5372, 5411, 5483; [66]"Estação Biológica Boracéia, Salesópolis" (23.63/45.87): FMNH145437, 145438, 145441, 145442, 145443, 145444, 145445;

[68]"Ilha de São Sebastião"(23.83/45.30): AMNH139814; [71] "Fazenda Intervalles (base do Carmo), Capão Bonito" (24.33/48.42): MVZ183125*-183127, 183132-183134, 183137, 183138.

Oxymycterus delator amazonicus — PARÁ: [1]"Tauary, Rio Tapajoz" (3.08/55.10): AMNH137220, 94802, 94803, 94804-94808, 94826; [2]"Fordlândia, Rio Tapajós" (3.67/55.50): FMNH94523; [3]"Cachoeira do Espelho, rio Xingú", (3.67/55.50): MZU21317*.

Oxymycterus delator delator – BAHIA: [16]"Fazenda Sertão Formoso, Cocos" (13.62/44.42): MN66037/CRB1573, MN66038/CRB1574*, MN66039/CRB1576, MN66040/CRB1573, MN66041/CRB1587, MN66042/CRB1599, MN66043/CRB1602, MN66044/CRB1604, MN66045/CRB1636, MN66046/CRB1637, MN66047/CRB1638, MN66048/CRB1643, MN66049/CRB1655, MN66050/CRB1664, MN66051/CRB1671*, CRB1581*, CRB1597*, CRB1832*; DISTRITO FEDERAL: [24]"Parque Nacional de Brasília", (15.33/48.00): FMNH128318-128324, MN34296, UNB101, UNB103, 108, 201, 202, 208, APC816*, APC853*, APC854*, 837*, 845*; GOIÁS: [18]"Parque Nacional da Chapada dos Veadeiros, ", (14.13/47.51): MN46619/CRB1131*, MN46620/CRB1132*, MN46621, 46622, 46624-46626, MN46628, CRB1137, MN46629-46642; [31]"Fazenda Mutum, Parque Nacional das Emas"(18.25/52.88): APC563*, APC564*, APC577, APC578, APC580*, APC586*; MATO GROSSO: [5] "Apiacás" (9.54/57.45): CIT442*, CIT431*, CIT435*; [25]"Barra do Garças" (15.88/52.25): UFMG-LPC481; MINAS GERAIS: [22]"São João do Paraíso"(15.31/42.01): EGM28*; [23]"Parque Nacional Grande Sertão Veredas"(15.33/45.75): APC716*, APC750*, APC762*; [33]"Cardeal, Santana do Riacho"(19.17/43.71): MCN-PUC973; [36]"APE Mutuca (COSA), Nova Lima" (19.99/43.85): MN66335; [39]"Serra da Canastra"(20.35/46.48): DQM42; [89]"Poços de Caldas, Morro do Ferro (1200m)" (21.79/46.56): MZUSP11425; PARAGUAI: [72] Curuguaty, Canendiyu (24.38/55.78): UMMZ126085-126091, 133940-133942*, 133943, 133944, 137072-137079, 124289-124298, 133937-133939*, UMMZ134407*; [73]"1.6km S Tobati, Cordillera"(25.25/57.07): UMMZ125953, 133945; PIAUÍ:

[4]"Estação Ecológica de Uruçuí-Una" (8.83/44.17): UUPI18*, 319*, 320; SÃO PAULO: [54] Estação Ecológica Santa Bárbara ,(22.88/49.24): APC1160*, APC1178*, APC1173; [67]"Buri"(23.80/48.59): MZUSP30739, 30756, 30766, 30963; TOCANTINS: [8]"Peixe" (12.05/48.53): APC805*, 806*; [21]"Estação Ecológica Serra Geral do Tocantins, Ponte Alta do Tocantins"(10.74/47.54): APC1194, 1202, 1211, 1268;

Oxymycterus delator ssp1 "Forma Alto-Montana" — RIO DE JANEIRO: [48]"Campos do Itatiaia-Brejo da Lapa, Parque Nacional do Itatiaia, Itamonte/Itatiaia" (22.28/44.87): AMNH61542, 1503, 1504*, 1508, 1514*, 1515, 1516*, 1519, 1520, 1525*, 1530*, 1540, 1541, 1542, 1545, 1546, 1550*, 1552, 1554, 1555*, 1560, MN46643/LF2170, MN46644/LF2172, MN46645/LF2178, MN46651/CRB1293*, CRB1306*, CRB1349*; MINAS GERAIS: [34]"Serra do Cipó" (19.23/43.55): MO76; SÃO PAULO: [63]"Butantan, São Paulo"(23.53/46.62): AMNH139812, 139813; [65] "Itapetininga" (23.60/48.05): FMNH136923; [69] "Paranapiacaba" (24.00/47.83): MZUSP-DM01; [36]"APE Mutuca (COPASA), Nova Lima" (19.99/43.85): MN66336.

Oxymycterus delator ssp2 "Chapada Diamantina"— BAHIA: [9]"Chapada Diamantina Lençóis" (12.55/41.38): MN67558*, 67563*, 67564*, 67569, 67687, 67716, 67741, 67742, 67743, 67744, 67748; [10]"Gerais da Fumaça, Chapada Diamantina, Palmeiras" (12.60/41.46): MN67793, 67795, 67808; [12]"Mata do Tijuquinho, Abaíra, Chapada Diamantina" (13.28/41.91): MN67832, 67835; [15]"Rio de Contas"(13.53/41.96): MN67600.

Oxymycterus delator ssp3 "Juruena" - MATO GROSSO: [6]"Aripuanã, ",(10.17/59.46): APC204*,APC206*,APC218*,APC223*; [7]"Juruena" (10.32/58.36): APC160*, APC164*, APC170*.

Oxymycterus hiska – PERU: [20]"14km W Yanahuaga, Puno, Perú", (14.32/69.35),.; MVZ171520, MVZ172659, MVZ172660*

Oxymycterus hucucha – BOLIVIA: [30]"Totora, Cochabamba, Bolivia"(17.70/64.87): MVZ119948*

Oxymycterus josei – URUGUAI: [107]"Las Flores, Maldonado, Uruguai" (34.75/55.33): MVZ183264, MVZ183266, MVZ182701*

Oxymycterus judex – PARANÁ: [70]"Telemaco Borba" (24.32/50.62): JAO1688*;
[79] "Fazenda Panagro, Lagoinha, Tijucas do Sul" (26.00/49.33): MNHCI1706; RIO DE JANEIRO: [47]"Conquista, Nova Friburgo" (22.28/42.53): MN50567, UNB0748; [49]"Vale das Antas, Parque Nacional da Serra dos Órgãos, Teresópolis "(22.37/42.75): MN67489/VA10, MN67490/VA39, MN67491/VA45, MN67492/VA63, MN67493/VA85, MN67494/VA94, MN67495/VA107, MN67496/VA109,SO17*;
[51]"Teresópolis" (22.43/42.98): FMNH26585-26588, 26590-26595, LMP 78, MN2026, MN2120, 2121, 2564, 2564, 42425, 6343, MN6393, LBCE2498*; RIO GRANDE DO SUL: [84]"Aratiba "(27.39/52.30): CRB1977*; [91]"Parque Nacional de Serra Geral, Cambará do Sul" (29.05/50.14): LMT293*; SANTA CATARINA: [80]"Joinville" (26.30/48.83): FMNH34374, 34375, 34377, 34378, 34380, 34383; [81]"Salto Pirahy " (26.30/48.83): AMNH75891; [82]"Hansa, SC"(26.43/49.23): FMNH35354, 35355, MZUSP865; SÃO PAULO[64]"Salto de Pirapora, Bairro da Ilha"(23.60/47.57): FMNH136924-136929, 136938; [71]"Fazenda Intervalles, (base do Carmo), Capão Bonito"(24.33/48.42): MVZ183135, 183136, 191465, 191466, 183128*.

Oxymycterus juliacae — PERU: [11]"Cosñipata, Villa Carmen, Cuzco " (13.19/71.58): FMNH84365; [13]"Marcapata, Cuzco, Peru" (13.40/70.72): FMNH65706, 66404-66406, 68617; [17]"Segrario, Puno "(13.92/69.68): FMNH52621, 52622.

Oxymycterus misionalis — ARGENTINA: [74]"Puerto Aguirre, junção do rio Iguazú, Misiones, "(25.25/53.83): FMNH23843; [83]"Caraguatay, Rio Paraná, Misiones " (26.62/54.77): FMNH26753-26757, 26841, 26856, 26857.

Oxymycterus nasutus — PARANÁ: [75]"Parque Estadual Vila Velha, Ponta Grossa"(25.25/50.03): MHNCI593, 642, 657, 674, 705, 709, 773, 838, 839, 843; [76] "Estação Ecológica Canguiri, Piraquara" (25.42/49.13): CAZ104, 115, 118, 121, 125, 129, 133, 138, 176, 53, 63, 98; [77] "Reserva Biológica do Cambuí, ADEA, Curitiba" (25.43/49.27): MHNCI1699-1701; [78]"Mananciais da Serra, Piraquara, Serra do Mar"(25.44/49.06): JAO1009*, 1012, 989*, 996*, 997*; RIO GRANDE DO SUL: [90]"Cambará do Sul" (29.05/50.14): JR417, 418, 490, JR22, JR32, JR33, JR64, LF2228, UFPB610, UFPB612; [91]"Parque Nacional de Serra Geral, Cambará do Sul"(29.05/50.14): LMT256, 257, 277, 279, 289, 291*, 292, 307, 331*; [92]"Eldorado do Sul, Charqueadas, RS" (30.08/51.62): LF2186, 2212, 2217, 2219, 2221, 2224, 2226, 2227, 2230, 2238, 2246, 2257, 2260, 2263, 2287, 2293, 2299, 2301, 2311, 2324, 2339, 2337; [93]"São Lourenço, RS (Enslén)",(31.37/51.98): MZUSP572; SANTA CATARINA: [88]"Parque Nacional São Joaquim, Urubici " (28.02/49.59): LMT371, 377*, 378*, 396*, 397, 398*; URUGUAI: [98]"6km SE Melo, Cerro Largo" (32.37/54.18): AMNH206173, 206174, 206172; [99]"20km SE Melo, Cerro Largo, Uruguai"(32.60/54.12): AMNH206176-206181; [102]"22km SE Lascano, Rocha, Uruguai"(33.67/54.20): AMNH206175, 206189, 206191-206201, 206202-206204; [103]"3km E Cardona, Soriano, Uruguai" (33.88/57.38): AMNH206205; [105]"Ecilda, San Jose, Uruguai" (34.37/57.07): FMNH27652; [106]"San Carlos, Maldonado, Uruguai" (34.67/54.92): FMNH29250-29254; [109]"Arroyo Trova Vieja, 36km E Montevideo, Canelones"(34.78/55.87): AMNH206166; [111]"El Peñasco, N de Maldonado, Maldonado, Uruguai" (34.90/54.95): MVZ183265*; [112]"9km SE Punta del Este, Barra del Arroyo Maldonado, Maldonado" (34.97/54.95): AMNH206182-206185.

Oxymycterus nigrifrons — PERU: [19]"Limbaní, Puno"(14.13/69.70): MVZ116113-116118, 139526, 139543.

Oxymycterus paramensis — BOLÍVIA: [28] "Ayopaca, Choro, Cochabamba" (16.92/66.62): FMNH74892-74894, 74896-74900; [29] "Tirague, Cochabamba" (17.47/65.55): MVZ119947*.

Oxymycterus roberti — GOIÁS: [26]"Anápolis " (16.33/48.97): AMNH134683, 134684, 134686, 134688, 134689, 134881, MN32890, 4363, 5199, 5200, 5212, 5213.

Oxymycterus rufus — ARGENTINA: [85]"Santa Tecla, Ituizaingó, Corrientes" (27.63/56.37): MLP 1.10.94.75; [86] "San Juan Poriahu, San Miguel, Corrientes " (27.70/57.18): MLP 163, 164, 191, 195, 196, 197; [89]"Yacyretá, Saladas, Corrientes" (28.25/58.63): MLP 1.10.94.1; [94] "Yuqueri, Entre Rios, Argentina" (31.38/58.12): MZUSP573; [95]"Pampa de Achala, Calamuchita, Córdoba" (31.58/64.83): MACN15297, 15305; [96]"Pampa de Achala, 14km E Cura Brochero, Cordoba" (31.68/64.85): MVZ165832-165835; [97]"Parque Nacional El Palmar, Entre Rios " (31.82/58.25): MACN17783-17785, 18595, 18596; [100]"Rio Cuarto, Córdoba" (33.02/64.37): MACN14778, AC05*, AC30*; [101]"Villa del Carmen, San Luis" (33.13/65.08): MACN15334, PY01*, PY02*; [104]"Otamendi, Parana Delta, Buenos Aires" (34.17/58.92): MACN20361, 20365, 20366, 20366, 20367, 20368, 20369, 20370, 20371, 20372, 20374, 20375, 20376, 20377, 20378, 20379, 20380, 20381, 20382, 20383, 20384, 20385; [108]"Berazategui, Buenos Aires, Argentina", (34.77/58.22),:, MLP 08.4.97.31, MLP 08.4.97.33, MLP 08.4.97.34, MLP 08.4.97.37, MLP 08.4.97.39, MLP 26.5.99.7, MLP 26.5.99.8, MLP 5.6.00.3, MLP 8.4.97.32, MLP 8.4.97.40, MLP 8.4.97.42, MLP 8.8.00.3, MLP 8.8.00.4; [110]"Ensenada, Buenos Aires", (34.85/57.85): MACN13319, 13320, 13446, 13447, 13448, 15402, 15403, 15406, 15407, 15410, 20344, 20345, 20347, 20348, 20349, 20350, 20351, 20352, 20353, 20354, 20355, 20356, 20358, 20359, 20360, MLP 10.8.00.1, MLP 10.8.00.3, MLP 8.4.97.41, MLP 8.4.97.43, MN33664, 33669-33673, 33675, BAL05011*; [113]"25km S Azul, 1000ft, Buenos Aires " (36.78/59.85): MACN14072, MVZ134241; [114] "Arroyo de las Corrientes, Buenos Aires" (38.00/57.55): MMCNLC 168, 178, 201, 208, 212, 214, 221, 222, 231, 8475, 8476, np MMCNLC212, np MMCNLC 3, np MMCNLC 4, np MMCNLC 5, np MMCNLC 6; [115]"Chapadmalal, Buenos Aires " (38.03/57.72): MACN15428, 15429; [116]"Abra de la Ventana, Tornquist, Buenos Aires" (38.10/62.23): MACN14939-14941, 14944-14946, 14948-14950, 14957, 14970, 14974, 15393, 15421, 15711-15714, 15717, 15722, 15724, 15725, 15728; [117] "Sierra de la Ventana, Buenos Aires" (38.15/61.98): MLP 5.2.96.63, 5.2.96.1, 5.2.96.17, 5.2.96.19, 5.2.96.20, 5.2.96.21, 5.2.96.22, 5.2.96.23,

5.2.96.25, 5.2.96.27, 5.2.96.28, 5.2.96.29, 5.2.96.31, 5.2.96.32, 5.2.96.35, 5.2.96.36, 5.2.96.37, 5.2.96.4, 5.2.96.51, 5.2.96.52, 5.2.96.56, 5.2.96.57, 5.2.96.59, 5.2.96.6, 5.2.96.60, 5.2.96.60, 5.2.96.61, 5.2.96.62, 5.2.96.64, 5.2.96.65, 5.2.96.66, 5.2.96.67, 5.2.96.68, 5.2.96.7, 5.2.96.71, 5.2.96.76, 5.2.96.8; [118] "Arroyo Brusquitas, Buenos Aires" (38.25/57.77): MMCNLC109, 87, 90; [119] "Miramar, Buenos Aires " (38.27/57.72): MLP 15.2.96.48, 15.2.96.53, 15.2.96.62, 15.2.96.63; [120]"Arroyo Seco, Buenos Aires " (38.37/60.25): MMCNLC 165, 175; MINAS GERAIS: [45]"Mata do Paraíso, Viçosa"(20.75/42.95): MZUFV713*.

Thalpomys cerradensis —BRAZIL: Jaborandi, Bahia: MN 59503 (AY310356).

Thaptomys nigrita —BRAZIL: Estação Biológica de Boracéia, Salesópolis, São Paulo: MVZ183044 (AF108666).

APÊNDICE II. ESTATÍSTICAS DESCRITIVAS

Estatísticas descritivas de medidas externas e cranianas de espécies selecionadas do gênero *Akodon*. São fornecidos o tamanho amostral, media seguida de desvio padrão e valores máximos e mínimos observados (em parenteses).

Carac.	<i>A. mystax</i> (n = 54)	<i>A. lindberghi</i> (n = 13)	<i>A. philipmyersi</i> (n = 1)	<i>A. azarae</i> (n = 34)	<i>A. sanctipaulensis</i> (n = 8)	Itatiaia population (n = 17)	<i>A. paranaensis</i> (n = 36)	<i>A. montensis</i> (n = 70)	<i>A. cursor</i> (n = 33)
HBL	85 ±8 (101-66)	83 ±8 (93-67)	--	94 ±9 (113-75)	81 ±9 (100-73)	108 ±7 (125-100)	106 ±9 (125-88)	107 ±19 (131-63)	104 ±10 (128-80)
HFL	19 ± 1 (22-16)	19 ±1 (20-17)	--	20 ±1 (23-19)	23 ±1 (24-23)	25 ±1 (26-22)	25 ±1 (26-23)	25 ±2 (31-22)	26 ±2 (30-22)
Ear	13 ±1 (18-11)	14 ±1.4 (16-11)	--	14 ±1 (16-12)	14 ±2 (16-12)	18 ±1 (19-17)	17 ±1 (19-13)	19 ±1 (22-17)	18 ±1 (21-14)
TL	68 ±6 (76-59)	65 ±7 (74-49)	--	67 ±8 (82-54)	65 ±5 (75-58)	97 ±6 (110-90)	79 ±8 (92-60)	89 ±9 (102-63)	93 ±9 (118-72)
GSL	24.33 ±0.56 (25.58-22.62)	23.79 ±0.6 (24.67-22.78)	23.13	24.66 ±1.25 (27.28-22.7)	23.49 ±1.1 (25.58-22.24)	29.23 ±0.85 (31.02- 28.27)	28.94 ±1.18 (31.41- 25.67)	28.30 ±1.19 (30.43-25.86)	29.32 ±1.35 (33.46-26.61)
ZB	12.03 ±0.3 (12.75-11.47)	11.88 ±0.3 (12.28-11.35)	11.77	12.31 ±0.57 (13.45-11.31)	11.80 ±0.42 (12.7-11.45)	14.92 ±0.49 (15.89- 14.28)	14.44 ±0.84 (16.16- 11.64)	13.83 ±0.51 (14.94-12.74)	14.96 ±0.59 (16.49-14.09)
CIL	22.52 ±0.57 (24.17-21.28)	21.84 ±0.65 (22.71-20.72)	21.36	22.61 ±1.33 (25.24-20.47)	20.97 ±1.05 (22.99- 20.14)	26.78 ±0.94 (28.66- 25.64)	26.26 ±1.26 (29.01- 23.23)	25.53 ±1.71 (27.49-23.26)	26.82 ±1.28 (30.9-24.76)
NL	8.84 ±0.29 (9.58-8.24)	8.43 ±0.24 (8.71-8)	8.39	8.98 ±0.60 (10.28-7.67)	8.91 ±0.62 (9.75-7.88)	11.62 ±0.55 (13.03- 10.92)	11.61 ±0.65 (12.84- 9.62)	11.19 ±0.72 (12.56-9.28)	11.25 ±0.75 (13.07-9.55)
LD	6.36 ±0.23 (7.22-5.9)	6.08 ±0.22 (6.53-5.74)	5.85	6.06 ±0.52 (7.24-5.1)	5.87 ±0.35 (6.54-5.54)	7.82 ±0.4 (8.54-7.26)	7.49 ±0.52 (8.38- 6.32)	7.35 ±0.49 (8.25-6.25)	7.69 ±0.46 (8.89- 6.8)
LPB	2.75 ±0.15 (3.21-2.53)	2.78 ±0.18 (3.04-2.29)	3.13	3.31 ±0.28 (4.07-2.8)	3.22 ±0.23 (3.65-2.85)	3.68 ±0.14 (4.09-3.5)	3.49 ±0.30 (4.19- 2.75)	3.38 ±0.22 (3.87-2.94)	3.77 ±0.27 (4.32- 3.15)
LM	3.89 ±0.10 (4.1- 3.63)	3.84 ±0.13 (4.1- 3.61)	3.78	4.09 ±0.13 (4.41-3.75)	4.29 ±0.18 (4.5-3.99)	4.7 ±0.16 (4.93-4.21)	4.64 ±0.14 (4.96- 4.35)	4.19 ±0.11 (4.49-3.92)	4.48 ±0.19 (4.83- 4.04)
BM1	1.09 ±0.04 (1.16-0.96)	1.11 ±0.06 (1.23-1)	1.06	1.17 ±0.05 (1.29-1.05)	1.22 ±0.04 (1.29-1.15)	1.32 ±0.05 (1.39-1.21)	1.25 ±0.06 (1.39- 1.12)	1.22 ±0.05 (1.31-1.06)	1.33 ±0.08 (1.49- 1.18)
LIF	6.17 ±0.2 (6.73- 5.68)	5.78 ±0.28 (6.41-5.41)	5.27	5.8 ±0.35 (6.59- 5.07)	5.23 ±0.36 (5.61-4.54)	6.99 ±0.32 (7.67-6.59)	6.8 ±0.37 (7.52-6.07)	6.64 ±0.38 (7.42-5.79)	6.62 ±0.35 (7.54- 6.12)
BR	4.48 ±0.21 (5.18-3.89)	5.55 ±0.18 (4.76-4.22)	4.5	4.45 ±0.32 (5.18-3.94)	4.34 ±0.24 (4.88-4.2)	5.35 ±0.28 (5.9-4.84)	5.07 ±0.33 (6.03- 4.6)	5.12 ±0.31 (5.68-4.19)	5.49 ±0.27 (6.08- 4.98)
DR	4.94 ±0.16 (5.56-4.69)	4.84 ±0.19 (5.21-4.61)	5.08	4.89 ±0.37 (5.82-4.3)	4.51 ±0.24 (4.88-4.2)	5.64 ±0.31 (6.25-5.18)	5.42 ±0.33 (6.23- 4.78)	5.33 ±0.27 (6.11-4.76)	5.87 ±0.42 (7.35- 5.28)
BPB	2.82 ±0.12 (3.1- 2.58)	2.62 ±0.15 (2.88-2.36)	2.42	2.46 ±0.22 (2.99-2.04)	2.37 ±0.1 (2.5-2.19)	3.15 ±0.15 (3.4-2.9)	2.91 ±0.25 (3.36- 2.45)	2.98 ±0.24 (3.5- 2.57)	3.21 ±0.20 (3.84- 2.76)
BZP	1.82 ±0.06 (2.01-1.7)	1.78 ±0.08 (1.89-1.61)	2	2.24 ±0.18 (2.63-1.87)	1.94 ±0.14 (2.15-1.64)	2.54 ±0.12 (2.9-2.4)	2.5 ±0.18 (2.88- 2.09)	2.42 ±0.18 (2.86-1.93)	2.53 ±0.19 (3.1- 2.11)

Estatísticas descritivas de medidas externas e cranianas de espécies e grupos geográficos do gênero *Delomys*. tamanho amostral, média seguida de desvio padrão e valores máximos e mínimos observados (em parenteses)

Caracteres	<i>Delomys dorsalis</i>						<i>Delomys</i> sp. (n = 22)		<i>Delomys</i> <i>sublineatus</i> (n = 109)	
	Mantiqueira (n = 23)		Serra do Mar (n = 105)		Sul (n = 86)					
CO	124.19	±9.48	129.07	±11.31	127.51	±14.10	131.76	±10.58	128.30	±11.36
	104.00	144.00	100.00	180.00	95.00	190.70	117.00	167.00	97.00	157.00
CA	125.32	±7.23	129.64	±11.93	136.56	±11.47	124.10	±14.16	105.64	±12.44
	110.00	139.00	89.00	165.00	108.00	168.00	95.00	148.00	75.00	135.00
O	21.50	±1.36	20.75	±2.18	20.89	±1.76	21.10	±1.51	20.92	±2.48
	19.50	24.00	14.00	25.00	15.00	27.00	17.00	24.00	10.00	30.00
CIL	29.06	±0.98	30.01	±1.26	29.59	±1.99	29.87	±1.03	28.79	±1.51
	27.05	30.68	25.71	35.41	25.32	36.97	27.53	31.61	26.44	32.90
NL	13.18	±0.58	13.22	±0.70	13.33	±0.87	13.80	±0.59	12.99	±0.78
	11.94	13.84	10.94	15.15	10.73	15.18	12.63	14.80	11.16	14.71
LD	8.66	±0.36	8.79	±0.44	8.81	±0.52	9.11	±0.45	8.20	±0.52
	7.76	9.09	7.38	10.18	7.33	9.83	8.03	9.81	7.04	9.74
LPB	5.33	±0.32	4.98	±0.26	5.02	±0.28	5.39	±0.24	5.04	±0.29
	4.71	6.01	4.16	5.69	4.31	5.59	4.84	5.87	4.35	5.67
LM	4.91	±0.15	4.91	±0.11	4.70	±0.17	5.04	±0.12	4.72	±0.18
	4.52	5.10	4.56	5.17	4.28	5.07	4.83	5.31	4.29	5.12
BM1	1.47	±0.05	1.49	±0.06	1.45	±0.06	1.58	±0.04	1.47	±0.07
	1.35	1.54	1.37	1.62	1.32	1.66	1.50	1.65	1.34	1.62
LIF	6.57	±0.32	6.98	±0.35	6.64	±0.42	6.87	±0.36	6.38	±0.38
	5.86	7.19	5.90	8.17	5.44	7.57	6.08	7.49	5.51	7.83
BR	6.09	±0.30	6.11	±0.30	6.02	±0.36	6.08	±0.30	6.12	±0.36
	5.54	6.55	5.51	7.10	5.04	6.82	5.62	6.78	5.00	7.14
DR	6.16	±0.29	6.43	±0.34	6.23	±0.37	6.26	±0.25	6.44	±0.36
	5.68	6.57	5.41	7.41	5.19	7.01	5.92	6.63	5.51	7.41
BPB	3.35	±0.19	3.30	±0.22	3.32	±0.28	3.41	±0.19	3.28	±0.24
	2.98	3.60	2.56	3.91	2.73	4.06	3.08	3.74	2.76	3.96
BZP	3.02	±0.16	2.96	±0.18	2.89	±0.22	3.01	±0.17	2.86	±0.23
	2.63	3.41	2.22	3.76	2.33	3.58	2.69	3.30	2.35	3.46
LIB	5.11	±0.15	5.45	±0.17	5.24	±0.19	5.21	±0.13	5.11	±0.23
	4.89	5.43	5.01	6.10	4.80	5.78	4.86	5.41	4.55	5.70
BB	12.34	±0.45	12.36	±0.45	12.38	±0.43	12.66	±0.38	11.98	±0.71
	11.54	13.05	11.12	13.25	11.55	13.82	12.00	13.59	6.13	12.94
DB	8.91	±0.29	9.18	±0.29	8.93	±0.29	8.98	±0.34	8.81	±0.34
	8.42	9.55	8.48	10.24	8.11	9.66	8.34	9.64	8.07	9.69