

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

RELAÇÕES FILOGENÉTICAS ENTRE AS ESPÉCIES DE ROEDORES SUL-AMERICANOS DA TRIBO ORYZOMYINI ANALISADAS PELOS GENES CITOCROMO *b* E IRBP

GUSTAVO BORBA DE MIRANDA

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular da UFRGS como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em Ciências

Orientadora: **Dr^a Margarete Suñé Mattevi**

Porto Alegre

Junho/2007

Este trabalho foi desenvolvido no Dept° de Genética da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e financiado pelos seguintes órgãos: CNPq, G7/FINEP, FAPERGS e OEA.

AGRADECIMENTOS

À Professora Dr^a Margarete Suñé Mattevi pela orientação, dedicação, confiança e, acima de tudo, amizade.

Aos Drs. Luiz Flamarion B. de Oliveira, Alfredo Langguth, Andréa Nunes e José L. P. Cordeiro por parte da amostra utilizada neste trabalho.

À Professora Dr^a Sidia M. Callegari-Jacques pelo auxílio nos artigos e, principalmente, nas questões estatísticas deste trabalho.

À minha esposa Jaqueline, por sua paciência, companheirismo, amor e auxílio em todas as etapas deste trabalho.

A todos os meus familiares, representados pelos meus pais Wilson e Salomé, por todo o apoio e carinho.

Aos Drs. Marcelo Weksler e Valéria Muschner por importantes informações técnicas.

Aos meus colegas da sala 107, do laboratório de Biodiversidade Animal e da Pós-Graduação: Aline Moraes, Ana Letícia, Ângela Mascali, Bianca Carvalho, Cristina Freygang, Francine Marques, Gustavo Borges, Gustavo Trainini, Hugo Bock, Martin Montes, Mônica Fontan, Rafael Dihl, Taiana Haag, Teresa Freire e Vanessa Mengue pela amizade e trocas de idéias.

Ao Luciano Silva e Clênio Machado pelo companheirismo e discussões futebolísticas durante a “Hora do Café”.

Aos secretários Elmo, Ellen e Lúcia Andréia pelo suporte técnico.

Aos meus amigos Carlos André, Luís Henrique, Paulo, Roberto, entre tantos outros não mencionados.

À família Jacobi pela grande amizade.

Ao CNPq pela bolsa fornecida.

Ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Ao laboratório de Biodiversidade Animal do Programa de Pós-Graduação em Genética e Toxicologia Aplicada da Universidade Luterana do Brasil.

SUMÁRIO

Agradecimentos	ii
Sumário	iii
Lista de Figuras	iv
Lista de Tabelas	viii
RESUMO	ix
ABSTRACT	xi
Capítulo 1: INTRODUÇÃO	01
1.1. O roedor Oryzomyini.....	01
1.1.1. Classificação e história taxonômica dos Oryzomyini.....	02
1.1.2. Gêneros e espécies.....	05
1.1.3. Gêneros extintos.....	24
1.2. Filogenia da tribo Oryzomyini.....	24
1.3. Filogeografia dos roedores.....	27
CAPÍTULO 2: OBJETIVOS	29
Capítulo 3: ARTIGO 1	30
Capítulo 4: ARTIGO 2	54
Capítulo 5: ARTIGO 3	83
Capítulo 6: ARTIGO 4	103
CAPÍTULO 7: DISCUSSÃO	130
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	153
APÊNDICE	165

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 1

- Figura 1: Classificação atual da tribo *Oryzomyini*.....4

Capítulo 3

- Figura 1: Árvore consenso gerada a partir da análise bayesiana com seqüências do gene *cyt-b*. Números acima dos ramos são os valores das probabilidades posteriores. Símbolos ao lado das espécies representam suas categorias biogeográficas: ■ Trans-Andino, ● Andino, ◆ Cis-Andino e # mais de uma categoria biogeográfica. As letras nos nodos assinalam os distintos clados.....51
- Figura 2: Árvore consenso gerada a partir da análise bayesiana com seqüências do gene *IRBP*. Números acima dos ramos são os valores das probabilidades posteriores. Símbolos ao lado das espécies representam suas categorias biogeográficas: ■ Trans-Andino, ● Andino, ◆ Cis-Andino e # mais de uma categoria biogeográfica. As letras nos nodos assinalam os distintos clados.....52
- Figura 3: Árvore consenso gerada a partir da análise bayesiana com seqüências dos genes *cyt-b* e *IRPB* concatenadas. Números acima dos ramos são os valores das probabilidades posteriores. Símbolos ao lado das espécies representam suas categorias biogeográficas: ■ Trans-Andino, ● Andino, ◆ Cis-Andino e # mais de uma categoria biogeográfica. As letras nos nodos assinalam os distintos clados..... 53

Capítulo 4

- Figure 1: Map of collection sites (coordinates in Table 1): 1. Taim Ecological Station, Rio Grande, Rio Grande do Sul state (RS); 2. Bagé (RS); 3. Capão do Leão, Mostardas (RS); 4. Including the localities: (4) northern Tapes Bay, Tapes (RS), (5) Porto Alegre (RS), and (6) Charqueadas (RS); 7. Including the localities: (7) Tramandaí Lagoon, Tramandaí (RS), (8) Osório (RS), (9) Riozinho (RS), (10) Sapiranga (RS), and (11) São Francisco de Paula (RS); 12. Including the localities: (12) Torres (RS), (13) Tainhas (RS), and (14) Caxias do Sul (RS); 15. Parque Nacional do Turvo, Tenente Portela (RS); 16. Costa de Dentro, Florianópolis, Santa Catarina state (SC); 17. Including the locality: (17) Nonoai (RS), and (18) Concórdia (SC); 19. Parque Nacional de Iguaçu, Paraná state (PR); 20. Monte Verde, Espírito Santo state (ES); 21. Ipameri, Caldas Novas, Goiás state (GO); 22. Regalito Farm (GO); 23. Including the localities: (23) Serra da Mesa – Rio Tocantinzinho (GO), (24) Serra da Mesa – Rio Maranhão (GO), and (25) Serra da Mesa – Rio do Peixe (GO); 26. São Bento Farm, Tartarugalzinho, Amapá state (AP); 27. Surumu, Roraima state (RR); a. Rio Penitente, Chile; b. Bariloche, Argentina; c. Bahía San

Blas, Argentina; d. Misiones, Paraguay; e. Mineros, Bolivia; and f. Teresina de Goiás, Brazil.....77

- Figure 2: Strict consensus of 100 minimum-length trees resulting from parsimony analysis of *cyt-b* sequences of genus *Oligorizomys* (parsimony-informative characters = 229, tree length = 946, CI = 0.45, RI = 0.84). Exemplars analysed are those of Table 1 plus eight specimens of *O. longicaudatus* investigated by Palma and others (2005) in Argentina and Chile and one specimen of *O. microtis* collected by Patton and da Silva (1995) in Brazil. Numbers above branches and to the left of the nodes are bootstrap values; in front each branch acronyms and numbers corresponding to the locality and of the haplotype (in parenthesis). Acronyms are listed in Table 1.78
- Figure 3: Strict consensus tree resulting from likelihood analysis of *cyt-b* sequences of genus *Oligorizomys*. Numbers above branches are bootstrap values. Acronyms are listed in Table 1. □Andean biome; ○Pampa biome; ■Cerrado biome; ●Amazon biome; ◆ More than one biome.....79
- Figure 4: Spatial correlogram of the genus *Oligoryzomys*. The axis-X represents the classes of geographical distances; axis-Y represents the values of the index of Moran (II). (**) Indicates $p < .005$, (*) indicates $p < .05$, and asterisk absence indicates no significance.....80
- Figure 5: Median joining network of *cyt-b* haplotypes among species of *Oligoryzomys*. Numbers above the branches indicate the number of the base changes between connected taxa. Acronyms are listed in Table 1. □Andean biome; ○Pampa biome; ■Cerrado biome; ●Amazon biome; ◆ More than one biome.....81
- Figure 6: **6A.** Strict consensus tree resulting from likelihood analysis of IRBP sequences of genus *Oligorizomys*. Numbers above branches are bootstrap values. **6B.** Median joining network of genus *Oligoryzomys* sequences (IRBP gene). Numbers above the branches indicate the number of the base changes between connected taxa. **6C.** Strict consensus tree resulting from likelihood analysis of the concatenated genes (*cyt-b* + IRBP) sequences of *Oligoryzomys*. Numbers above branches are bootstrap values. **6D.** Median joining network of haplotypes of genus *Oligoryzomys* (*cyt-b* + IRBP genes). Numbers above the branches indicate the number of the base changes between connected taxa. Acronyms are listed in Table 1.....82

Capítulo 5

- Figura 1: Map of collection sites (coordinates in Table 1): 1. Taim Ecological Station, Rio Grande, Rio Grande do Sul state (RS); 2. Bagé (RS); 3. Capão do Leão, Mostardas (RS); 4. Including the localities: (4) northern Tapes Bay, Tapes (RS), (5) Porto Alegre (RS), and (6) Charqueadas (RS); 7. Including the localities: (7) Tramandaí Lagoon, Tramandaí (RS), (8) Osório (RS), (9) Riozinho (RS), (10) Sapiranga (RS), and (11) São

Francisco de Paula (RS); 12. Including the localities: (12) Torres (RS), (13) Tainhas (RS), and (14) Caxias do Sul (RS); 15. Parque Nacional do Turvo, Tenente Portela (RS); 16. Costa de Dentro, Florianópolis, Santa Catarina state (SC); 17. Including the locality: (17) Nonoai (RS), and (18) Concórdia (SC); 19. Parque Nacional de Iguaçu, Paraná state (PR); 20. Monte Verde, Espírito Santo state (ES); 21. Ipameri, Caldas Novas, Goiás state (GO); 22. Serra da Mesa – Rio Tocantinzinho (GO), 23. Including the localities: (23) Serra da Mesa – Rio Maranhão (GO), and (24) Serra da Mesa – Rio do Peixe (GO).....100

Figura 2: Strict consensus tree resulting from likelihood analysis of *cyt-b* sequences of genus *Oligorizomys*. Numbers above branches are bootstrap values. Acronyms and numbers of localities are listed in Table 1. Haplotypes numbers in parenthesis, see Appendix.....101

Figura 3: (A) Patterns of mismatch distributions of the *cyt-b* haplotypes of *O. nigripes*. (B) Median joining Network. Numbers inside the circle correspond to haplotypes (see Appendix); numbers above the branches indicate the number of the base changes between connected haplotypes. (C) Patterns of mismatch distributions of the *cyt-b* haplotypes of *O. flavescens*. (D) Median joining networks. Numbers inside the circle correspond to haplotypes (see Appendix); numbers above the branches indicate the number of the base changes between connected haplotypes. (E) Patterns of mismatch distributions of the *cyt-b* haplotypes of *O. moojeni*. (F) Median joining networks. Numbers inside the circle correspond to haplotypes (see Appendix); numbers above the branches indicate the number of the base changes between connected haplotypes.....102

Capítulo 6

Figura 1: Map of collection localities (coordinates in Appendix): 1. Surama (Guyana); 2. Bolívar (Venezuela); 3. Saramacca (Surinam); 4. Jaú River (Brazil); 5. Xingu River (Brazil); 6. Jamari River (Brazil); 7. Valença (Brazil); 8. Serra da Mesa (Brazil); 9. Mambaí (Brazil); 10. Ipameri (Brazil); 11. Monte Verde (Brazil); 12. Parque Estadual do Desengano (Brazil); 13. Teresópolis, and Guapimirim (Brazil); 14. Ilha Bela (Brazil); 15. Intervalles farm (Brazil); 16. Paraguay; 17. Florianópolis (Brazil); 18. Torres (Brazil), Tainhas (Brazil), and Caxias do Sul (Brazil); 19. Osório (Brazil), and Sapiranga (Brazil); 20. Tramandaí (Brazil); and 21. Mostardas (Brazil). ★*Euryoryzomys russatus*, ●*Hylaeamys megacephalus*, ✚*Sooretamys angouya*, and ▲ *E. russatus* + *S. angouya*.....126

Figura 2: Analyse of *Euryoryzomys russatus*'s cytochrome *b* sequences. (A) Consensus bootstrap tree (Maximum-likelihood/Maximum-parsimony/Neighbor-joining). # bootstrap with value lesser them 50%. In each branch: acronym, locality number, and in paranthesis haplotype number (detail in Table I). (B) Network (Median-joining): numbers inside the circle correspond to haplotypes; numbers in the branches indicate the

number of the base changes between connected haplotypes. (C) Spatial correlogram: the X-axis represents geographic distance classes; the Y-axis represents I values (Moran). Two asterisks (**) indicate that $p < .01$, one asterisks (*) indicate that $p < .05$, and an absence of asterisks indicates that values are not significantly different from zero. (D) Mismatch distribution: this curve represent the frequency distribution of pairwise differences..127

Figura 3: Analyse of *Hylaeamys megacephalus*'s cytochrome *b* sequences. (A) Consensus bootstrap tree (Maximum-likelihood/Maximum-parsimony/Neighbor-joining). # bootstrap with value lesser them 50%. In each branch: acronym, locality number, and in paranthesis haplotype number (detail in Table I). (B) Network (Median-joining): numbers inside the circle correspond to haplotypes; numbers in the branches indicate the number of the base changes between connected haplotypes. (C) Spatial correlogram: the X-axis represents geographic distance classes; the Y-axis represents I values (Moran). Two asterisks (**) indicate that $p < .01$, one asterisks (*) indicate that $p < .05$, and an absence of asterisks indicates that values are not significantly different from zero. (D) Mismatch distribution: this curve represent the frequency distribution of pairwise differences..128

Figura 4: Analyse of *Sooretamys angouya*'s cytochrome *b* sequences. (A) Consensus bootstrap tree (Maximum-likelihood/Maximum-parsimony/Neighbor-joining). # bootstrap with value lesser them 50%. In each branch: acronym, locality number, and in paranthesis haplotype number (detail in Table I). (B) Network (Median-joining): numbers inside the circle correspond to haplotypes; numbers in the branches indicate the number of the base changes between connected haplotypes. (C) Spatial correlogram: the X-axis represents geographic distance classes; the Y-axis represents I values (Moran). Two asterisks (**) indicate that $p < .01$, one asterisks (*) indicate that $p < .05$, and an absence of asterisks indicates that values are not significantly different from zero. (D) Mismatch distribution: this curve represent the frequency distribution of pairwise differences..129

LISTA DE TABELAS

Capítulo 1

Tabela 1: Cinco agrupamentos diferentes de gêneros propostos para a tribo Oryzomyini. Em negrito os gêneros em comum a todas as propostas.....2

Capítulo 3

Tabela 1: Lista dos 73 táxons Oryzomyini e outgroups usados nas análises bayesianas.....47

Tabela 2: Sumário da composição de bases das 73 seqüências dos táxons Oryzomyini.....49

Capítulo 4

Table 1: Species (acronyms), 2n/NF, number of exemplars, morphoclimatic domain of the collect sites, localities, and Genbank accessions numbers of specimens analysed.....73

Table 2: The pairwise K2p distances with *cyt-b* gene among the 12 taxa of *Oligoryzomys*.....76

Capítulo 5

Table 1: Species (acronyms), number of exemplars, morphoclimatic domain of the collect sites, localities, and Genbank accessions numbers of specimens analysed.....97

Capítulo 6

Table 1: Morphoclimatic domain of the collect sites, localities, haplotype (H) numbers (*cyt-b* gene) and letters (IRBP gene), GenBank accession number, and species (acronyms) of specimens analysed.....122

RESUMO

Os roedores compõem a mais numerosa ordem dos mamíferos com, aproximadamente, 43 famílias, 354 gêneros e 1.700 espécies vivas. São membros importantes de quase todas as faunas, sendo cosmopolitas e nativos na maioria das áreas terrestres, exceto em algumas ilhas árticas e oceânicas, Nova Zelândia e Antártica. Possuem hábitos terrestres, fossorial, (semi) arborícola, semi-aquático ou palustre. Usualmente herbívoros, mas podem ser insetívoros, piscívoros ou carnívoros. A enorme variação na morfologia, nos hábitos de vida e alimentar são atributos que fizeram da ordem um dos grupos de mamíferos com maior sucesso evolutivo. Em nosso continente a ordem apresenta enorme importância na composição de sua fauna, pois perfaz, aproximadamente, 42% das espécies de mamíferos que aqui habitam. Entre os roedores sul-americanos, mais de 50% das espécies pertencem à família Cricetidae, distribuídos em apenas uma subfamília, Sigmodontinae, com aproximadamente 80 gêneros e 370 espécies. Oryzomyini é uma das sete tribos reconhecidas de Sigmodontinae, compreendendo cerca de 35% das espécies descritas para esta subfamília. Atualmente são descritos 27 gêneros e cerca de 120 espécies para esta tribo, incluindo propostas atuais que envolvem a descrição de novas espécies e, até mesmo, de novos gêneros. Os oryzomyinos habitam florestas, savanas, banhados, campos e ambientes semi-áridos, além de serem, na maioria das vezes, os mais abundantes pequenos mamíferos destes habitats. Seus hábitos alimentar vão de onívoros a insetívoros. A maioria possui hábito escansorial, mas alguns podem desenvolver hábitos arbóreos (*Oecomys*) ou até semi-aquáticos (*Nectomys*), constituindo um dos mais claramente definidos grupos multi-gênericos de muróides. A distribuição geográfica desta tribo é a mais ampla dentro dos Sigmodontinae, desde o extremo sul da América do Sul (Terra do Fogo) até o sudoeste dos Estados Unidos. Os objetivos desta tese, além de analisar as relações filogenéticas da tribo Oryzomyini com diferentes marcadores moleculares (citocromo *b* e IRBP), foi comprovar a validade das recentes mudanças propostas na classificação da tribo. Esta validação passa pela observação do caráter monofilético de cada um dos novos gêneros, bem como a comprovação da monofilia dos gêneros previamente reconhecidos. Também tivemos como objetivos estudar a filogenia e a filogeografia de um dos táxons da tribo, o gênero *Oligoryzomys* e traçar a rota de ocupação deste táxon nos ambientes sul-americanos. Além disto, foram examinadas a filogeografia e as estruturas genéticas

das populações de seis espécies da tribo Oryzomyini (*Euryoryzomys russatus*, *Hylaeamys megacephalus*, *Oligoryzomys flavescens*, *O. moojeni*, *O. nigripes* e *Sooretamys angouya*). Com relação à análise filogenética da tribo Oryzomyini, observamos que esta se comporta de forma monofilética tanto nos resultados com o gene citocromo *b*, como com o gene IRBP. Além disso, os resultados encontrados neste trabalho dão suporte às reformulações na classificação ocorrida na tribo Oryzomyini, com a proposição de 10 novos gêneros, onde a maioria dos gêneros da tribo Oryzomyini, tanto os antigos como os novos, são monofiléticos. A exceção foi o novo gênero *Hylaeamys* que se mostrou polifilético na análise com o gene citocromo *b*, em que cinco espécies se reuniram em um único agrupamento e a espécie *H. yunganus* se posicionou em um outro agrupamento. Todavia, *Hylaeamys* apresentou-se monofilético nas análises com o gene IRBP isolado e citocromo *b* e IRBP concatenados. As análises com o gênero *Oligoryzomys* mostraram que este táxon se apresenta de forma monofilética e com suas espécies distribuídas em dois grupos denominados, de acordo com suas origens geográficas, de grupo “Amazônico-Cerrado” e clado “Andino-Pampiano”. Estas espécies também apresentaram um gradiente geográfico no sentido norte-sul que fortemente suporta a hipótese de que o gênero iniciou sua ocupação no continente sul-americano a partir da Amazônia. Estudos filogeográficos e das estruturas genéticas das populações de seis espécies da tribo Oryzomyini observou-se a falta de diferenciação populacional, através da ausência de associação entre os haplótipos e suas distribuições geográficas, em duas das três espécies do gênero *Oligoryzomys* (*O. flavescens* e *O. moojeni*) analisadas. Estes resultados sugerem que a ausência intraespecíficas de populações pode ser um padrão geral do gênero. Já as outras três espécies analisadas apresentaram estruturação populacional e geográfica, além de estarem em equilíbrio demográfico. Nas análises filogenéticas realizadas, *E. russatus* e *H. megacephalus* mostraram seus espécimes agrupados em três clados distintos distribuídos em gradientes geográficos, sendo que o gradiente geográfico de *H. megacephalus* ocorre no sentido Norte-Sul. A divergência genética intraespecífica foi maior em *H. megacephalus*, seguida de *E. russatus* e sendo menor em *S. angouya*. Estes resultados podem fornecer subsídios para a elaboração de programas de conservação e manejo destas espécies e dos respectivos biomas que habitam, se necessário.

ABSTRACT

Rodents constitute the most numerous order of mammals with approximately 43 families, 354 genera and 1,700 living species. They are important members of almost all faunas, cosmopolitan and native to most terrestrial areas, except a few arctic and oceanic islands, New Zealand and Antarctica. They have terrestrial, fossorial, (semi) arboreal, semi-aquatic or palustrial habits. They are usually herbivore, but they may be insectivore, piscivore or carnivore. The huge variation in morphology, life and feeding habits are attributes that have made the order one of the mammal groups with the greatest success in evolution. On our continent, the order is very important as to fauna composition, because it makes up about 42% of the mammal species that inhabit here. Among the South American rodents, more than 50% of the species belong to the Cricetidae family, distributed into only a single subfamily, Sigmodontinae, with approximately 80 genera and 370 species. Oryzomyini is one of the seven acknowledged Sigmodontinae tribes, consisting of about 35% of the species described for this subfamily. Currently, 27 genera and about 120 species are described for this tribe, including current proposals that involve the description of new species and even new genera. The oryzomyines inhabit forests, savannahs, swamps, fields and semi-arid environments, besides often being the most abundant small mammals in these habitats. Their feeding habits range from omnivorous to insectivorous. Most of them have a scansorial habit, but some of them may develop arboreous habits (*Oecomys*) or even semi-aquatic habits (*Nectomys*), constituting one of the most clearly defined multi-genera groups of muroids. The geographical distribution of this tribe is the broadest within the Sigmodontinae, from the far south of South American (Tierra del Fuego) to the southwest of the United States. The objective of this thesis, besides analyzing the phylogenetic relations of the tribe Oryzomyini with different molecular markers (cytochrome *b* and IRBP), was to prove the validities of the recent changes proposed in the classification of the tribe. This validation includes the observation of the monophyletic character of each of the new genera, as well as proving the monophyly of previously recognized genera. Our objectives were also to study the phylogeny and phylogeography of one of the taxa of the tribe, genus *Oligoryzomys*, and to trace the occupation route of this taxon in the South American environments. The phylogeography and genetic structures of the populations of six species of the tribe

Oryzomyini (*Euryoryzomys russatus*, *Hylaeamys megacephalus*, *Oligoryzomys flavescens*, *O. moojeni*, *O. nigripes* and *Sooretamys angouya*) were also examined. As to the phylogenetic analysis of the tribe Oryzomyini, we observed that the latter behaves in a monophyletic form, both in the results with the cytochrome *b* gene, and with gene IRBP. In addition the results found in this study support the reformulations in the classification that occurred for the tribe Oryzomyini, with the proposition of 10 new genera, where most of the genera of the tribe Oryzomyini both the old and the new, are monophyletic. The exception was the new genus *Hylaeamys* which proved be polyphyletic in the analysis with the cytochrome *b* gene, in which five species assembled in a single group and the species *H. yunganus* took a position in another group. However, *Hylaeamys* was monophyletic in the analyses with the isolated gene IRBP and cytochrome *b* and IRBP genes concatenated. The analyses of genus *Oligoryzomys* showed that this taxon was monophyletic and with its species distributed in two groups named, according to their geographic origins, the “Amazon-Cerrado” group and the “Pampa-Andean” clade. These species also presented a geographical gradient in the North-South direction which strongly supports the hypothesis that the genus began its occupation of the South American continent in the Amazon. Studies of phylogeography and of the genetic structures of the populations of six species of the tribe Oryzomyini showed a lack of population differentiation in two of the three species of genus *Oligoryzomys* (*O. flavescens* and *O. moojeni*) analyzed by the absence of association between the haplotypes and their geographic distributions. These results suggest that the intraspecific absence of populations may be a general pattern of the genus. On the other hand the three other species analyzed presented a population and geographic structuring, besides being in demographic equilibrium. In the phylogenetic analyses performed, *E. russatus* and *H. megacephalus* showed their specimens grouped in three distinct clades, distributed in geographic gradients, in which the geographic gradient of *H. megacephalus* occurs in the North-South direction. The intraspecific genetic divergence was greater in *H. megacephalus*, followed by *E. russatus* and smaller in *S. angouya*. These can aid to the elaboration of conservation and management programs of these species and biomes studied which they inhabit, if necessary.

INTRODUÇÃO

1.1. O roedor *Oryzomyino*

A tribo *Oryzomyini* pertence à ordem Rodentia, superfamília Muroidea, família Cricetidae e subfamília Sigmodontinae. O primeiro autor a estabelecer a noção de tribos dentro da subfamília Sigmodontinae foi Vorontsov (1959), já Reig (1980, 1984 e 1986), definiu as espécies incluídas em cada uma das tribos. Atualmente são reconhecidas sete tribos (*Akodontini*, *Ichthyomyini*, *Oryzomyini*, *Phyllotini*, *Sigmodontini*, *Thomasomyini* e *Wiedomyini*), além de um clado andino e gêneros “*incertae sedis*” (Smith e Patton, 1999). A tribo *Oryzomyini* foi cladisticamente definida por Voss e Carleton (1993) quando estabelecem cinco sinapomorfias para a tribo: ausência de vesícula biliar, presença de um par peitoral de mamas, ausência de cobertura timpânica, ausência da barra do alisfenóide e presença de um palato longo. Além disso, a maioria é pentalofodonte. Esta tribo compreende cerca de 35% das espécies de Sigmodontinae descritas atualmente. Muitos autores apontam os *Oryzomyini* como o grupo mais primitivo dentro dos Sigmodontinae baseado no estudo de caracteres dentários, cranianos, fálcos (Hershkovitz, 1966, 1972; Hooper e Musser, 1964; Reig, 1977, 1980, 1981, 1986; Voss e Linzey, 1981) e cromossômicos (Bianchi *et al.*, 1971; Gardner e Patton, 1976). Porém, através de dados moleculares, esta afirmação está sendo contestada por muitos autores (D’Elia, 2003; Engel *et al.*, 1998; Smith e Patton, 1999; Weksler, 2003, 2006), que colocam, principalmente, os Sigmodontini como sendo a provável tribo mais primitiva dentro dos Sigmodontinae.

Os *Oryzomyinos* habitam florestas, savanas, banhados, campos e ambientes semi-áridos, além de serem, na maioria das vezes, os mais abundantes pequenos mamíferos destes habitats. Seus hábitos alimentares vão de onívoros a insetívoros (Reig, 1984, Eisenberg e Redford, 1999). Eles possuem uma ampla diversidade morfológica, variando no tamanho corporal, de pequenos (10g) até grandes (300g). Hershkovitz (1966) propõe que a maioria tem hábito escansorial, mas alguns podem desenvolver hábitos arbóreos (*Oecomys*) ou até semi-aquáticos (*Nectomys*), constituindo um dos mais claramente definidos grupos multi-genéricos de muróides. A distribuição geográfica desta tribo é a mais ampla dentro dos Sigmodontinae, desde o extremo sul da América do Sul (Terra do Fogo) até o sudoeste dos Estados Unidos.

1.1.1. Classificação e História Taxonômica dos Oryzomyini

Atualmente existe uma grande controvérsia quanto ao número e quais os gêneros pertencentes à tribo Oryzomyini. O número de gêneros, dependendo do autor, varia de 11 a 27 (McKenna e Bell, 1997; Reig, 1986; Smith e Patton, 1999; Musser e Carleton, 2005; Weksler *et al.*, 2006) e descritas para a tribo Oryzomyini de 90 a 120 espécies. Esta discrepância no número de gêneros é devida, principalmente, à inclusão ou retirada de gêneros de tribos mais ou menos relacionadas, especialmente Thomazomyini, Sigmodontini e Phyllotini. Porém, alguns gêneros sempre fizeram parte da tribo Oryzomyini, independente do autor. São eles: *Neacomys*, *Nectomys*, *Nesoryzomys*, *Oecomys*, *Oryzomys* e *Oligoryzomys*, este último não está nominado na classificação de Reig (1986) pelo fato de que na época ele era considerado subgênero de *Oryzomys* (Tabela 1).

Tabela 1. Cinco agrupamentos diferentes de gêneros propostos para a tribo Oryzomyini. Em negrito os gêneros em comum a todas as propostas.

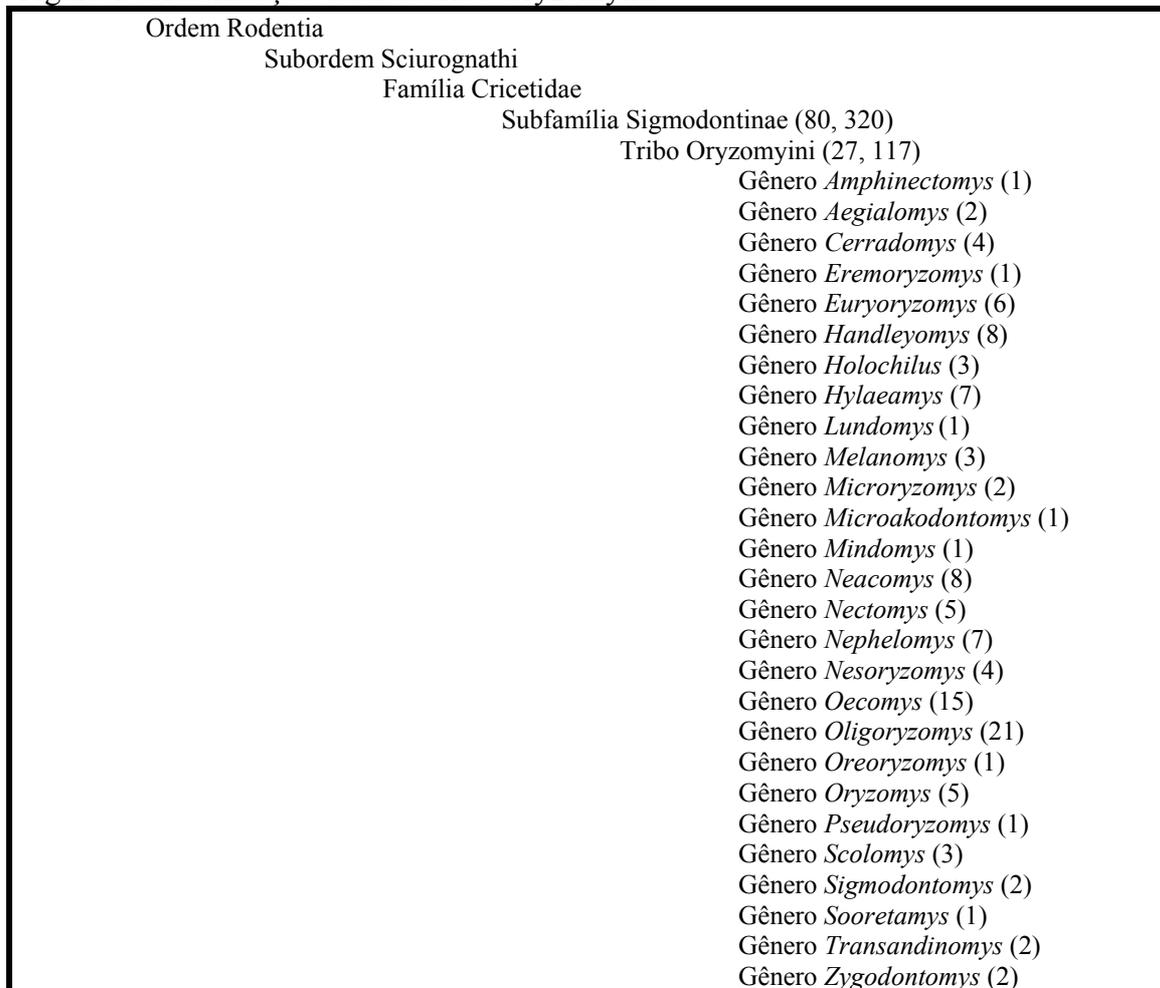
Reig (1986)	McKenna e Bell (1997)	Smith e Patton (1999)
<i>Aepeomys</i>	<i>Amphinectomys</i>	<i>Holochilus</i>
<i>Chilomys</i>	<i>Holochilus</i>	<i>Lundomys</i>
<i>Delomys</i>	<i>Melanomys</i>	<i>Melanomys</i>
<i>Neacomys</i>	<i>Lundomys</i>	<i>Microryzomys</i>
<i>Nectomys</i>	<i>Microakodontomys</i>	<i>Neacomys</i>
<i>Nesoryzomys</i>	<i>Microryzomys</i>	<i>Nectomys</i>
<i>Oecomys</i>	<i>Neacomys</i>	<i>Nesoryzomys</i>
<i>Oryzomys</i>	<i>Nectomys</i>	<i>Oecomys</i>
<i>Phaenomys</i>	<i>Nesoryzomys</i>	<i>Oligoryzomys</i>
<i>Rhipidomys</i>	<i>Oecomys</i>	<i>Oryzomys</i>
<i>Scolomys</i>	<i>Oligoryzomys</i>	<i>Pseudoryzomys</i>
<i>Thomazomys</i>	<i>Oryzomys</i>	<i>Sigmodontomys</i>
<i>Wilfredomys</i>	<i>Pseudoryzomys</i>	<i>Zygodontomys</i>
	<i>Scolomys</i>	
	<i>Sigmodontomys</i>	
	<i>Zygodontomys</i>	
Musser e Carleton (2005)		Mattevi e Andrades-Miranda (2006)
<i>Amphinectomys</i>		<i>Amphinectomys</i>
<i>Handleyomys</i>		<i>Handleyomys</i>
<i>Holochilus</i>		<i>Holochilus</i>
<i>Lundomys</i>		<i>Lundomys</i>
<i>Melanomys</i>		<i>Melanomys</i>
<i>Microakodontomys</i>		<i>Microryzomys</i>
<i>Microryzomys</i>		<i>Neacomys</i>
<i>Neacomys</i>		<i>Nectomys</i>
<i>Nectomys</i>		<i>Nesoryzomys</i>
<i>Nesoryzomys</i>		<i>Oecomys</i>
<i>Oecomys</i>		<i>Oligoryzomys</i>
<i>Oligoryzomys</i>		<i>Oryzomys</i>
<i>Oryzomys</i>		<i>Pseudoryzomys</i>
<i>Pseudoryzomys</i>		<i>Scolomys</i>
<i>Sigmodontomys</i>		<i>Sigmodontomys</i>
<i>Zygodontomys</i>		<i>Zygodontomys</i>

Inicialmente os roedores muróides neotropicais foram divididos em dois grupos baseados na ausência/presença do mesolofo nos molares superiores e inferiores (Winge, 1887), os pentalofoodontes e os tetralofoodontes. Hershkovitz (1962) propôs um cenário evolutivo em que os oryzomyinos eram descendentes diretos dos thomazomyinos, os quais seriam o estoque original dos muróide pentalofoodontes silvícolas que invadiram a América do Sul durante o Terciário. Neste cenário, três gêneros reconhecidamente como oryzomyinos foram recolocados em outros grupos supragenéricos por serem tetralofoodontes: *Holochilus* foi atribuído ao “grupo sigmodontino”, enquanto *Pseudoryzomys* e *Zygodontomys* foram considerados phyllotinos. Hooper e Musser (1964), descrevendo a morfologia da glândula peniana dos sigmodontinos, observaram que o falo de *Holochilus* era similar aos dos oryzomyinos. Eles propuseram uma hipótese de relação evolutiva em que *Holochilus* foi colocado como grupo-irmão dos oryzomyinos, baseado em caracteres penianos.

Voss (1991) observou que a presença de um palato longo, uma sinapomorfia presente apenas nos oryzomyinos (Hershkovitz, 1944), também era compartilhada por três gêneros tetralofoodontes pertencentes a outros grupos (*Holochilus*, *Pseudoryzomys* e *Zygodontomys*), além disso, a ausência de glândula biliar, outra sinapomorfia dos oryzomyinos, também era compartilhada por estes três gêneros. Evidências morfológicas e cariológicas que relacionavam *Pseudoryzomys* mais proximamente aos oryzomyinos e não aos phyllotinos (Voss e Myers, 1991), e que o “grupo sigmodontino”, ao qual pertencia *Holochilus*, era polifilético (Voss, 1992), fizeram Voss (1993) concluir que a característica ligando os oryzomyinos aos thomazomyinos (presença do mesolofo) era provavelmente uma simplesiomorfia. Com isso, a posição taxonômica atual, baseada principalmente neste tipo de caráter morfológico, tende a considerar como oryzomyinos, além dos gêneros pentalofoodontes, os gêneros tetralofoodontes *Holochilus*, *Lundomys*, *Pseudoryzomys* e *Zygodontomys* e a excluir da tribo os gêneros thomazomyinos *Thomasomys*, *Rhipidomys*, *Delomys*, *Aepeomys*, *Phaenomys*, *Chilomys* e *Wilfredomys* (Tabela 1). Esta posição taxonômica também é confirmada através de estudos com marcadores moleculares, principalmente, utilizando-se o gene mitocondrial citocromo *b* e o primeiro exon do gene nuclear IRBP (*Interphotoreceptor Retinoid Binding Protein*) (D’Elia, 2003; Smith e Patton, 1999; Weksler, 2003, 2006). Atualmente a tribo Oryzomyini compreende 27 gêneros e cerca de 120 espécies que estão relacionadas na Figura 1, organizada segundo classificação básica de Voss e Carleton (1993) e Musser e Carleton (2005), incluindo propostas atuais

que envolvem a descrição de novas espécies e, até mesmo, de novos gêneros. Weksler *et al.* (2006), através de estudos morfológicos e com marcadores moleculares, reclassificaram as espécies do polifilético gênero *Oryzomys* em dez novos gêneros: *Aegialomys*, *Cerradomys*, *Eremoryzomys*, *Euryoryzomys*, *Hylaeamys*, *Mindomys*, *Nephelomys*, *Oreoryzomys*, *Sooretamys* e *Transandinomys*. No entanto, a validade destas inclusões e exclusões não é consensual, permanecendo o assunto ainda muito controverso. Com relação à distribuição das espécies dentro dos 27 gêneros oryzomyinos, cerca de 30% das espécies pertencem a apenas dois gêneros, *Oecomys* e *Oligoryzomys* (Fig. 1). Estes 27 gêneros vêm sendo investigados de forma esporádica e com intensidades diferentes, tanto do ponto de vista de sua taxonomia e história natural, como da quantificação de sua variabilidade genética e de suas relações filogenéticas.

Figura 1. Classificação atual da tribo Oryzomyini



Os números entre parênteses referem-se, respectivamente, aos números de gêneros e espécies.

1.1.2. Gêneros e espécies

Os 27 gêneros da tribo Oryzomyini serão brevemente descritos a seguir.

***Amphinectomys* Malygin *et al.*, 1994**

O morfotipo corresponde a um rato d'água morfologicamente similar a *Nectomys*, mas com membranas interdigitais maiores e região interorbital mais larga (Malygin *et al.*, 1994). O cariótipo deste gênero ($2n = 52$) se encontra dentro da variação documentada para as espécies de *Nectomys* ($2n = 38-59$; Andrades-Miranda *et al.*, 2001a). Geneticamente pode ser considerado como gênero irmão de *Nectomys*, baseado em filogenias molecular com o gene nuclear IRBP (Weksler, 2003, 2006). Este gênero possui apenas uma espécie, *Amphinectomys savamis*, que tem sua distribuição, até o momento, restrita a Província de Requena no Peru.

***Aegialomys* Weksler *et al.*, 2006**

A duas espécies (*galapagoensis* e *xanthaeolus*) que pertencem a este novo gênero, originalmente foram descritas dentro do gênero *Oryzomys*. A espécie *Aegialomys galapagoensis* tem sua distribuição restrita às ilhas San Cristobal e Santa Fé do arquipélago de Galápagos, tem como sinonímia *bauri*, seu status é como extinta para *A.g. galapagoensis* e de vulnerável para *A.g. bauri* pela IUCN; já a espécie *A. xanthaeolus* tem sua distribuição desde o centro-oeste do Equador até o oeste do Peru, esta espécie é descrita como a espécie-tipo deste gênero e tem como sinónímias *baroni* e *ica*.

***Cerradomys* Weksler *et al.*, 2006**

Este novo gênero abriga quatro espécies que pertenciam ao grupo *subflavus* do gênero *Oryzomys*: *Cerradomys maracajuensis*, *C. marinus*, *C. scotti* e *C. subflavus* (Musser e Carleton, 2005). Este gênero se caracteriza por uma grande diversidade cariotípica de suas espécies, desde de $2n=46$ a $2n=58$ (Andrades-Miranda *et al.*, 2002; Langguth e Bonvicino, 2002; Bonvicino, 2003) e de sua distribuição geográfica, habitando as florestas secas tropicais e subtropicais da Caatinga, Cerrado e Chaco, desde o nordeste do Brasil até o leste da Bolívia. *Cerradomys maracajuensis* tem sua distribuição conhecida somente para a localidade-tipo, no município de Maracaju, no estado do Mato Grosso do Sul. Esta espécie possui o número diplóide ($2n$) de 56 e número fundamental (FN) de 58. *Cerradomys marinhuis* só foi encontrada somente em sua localidade-tipo, o município de Jaborandi, no estado de Goiás. O cariótipo descrito

para esta espécie foi de $2n=56/FN=54$. *Cerradomys scotti* ocorre no Cerrado, desde o Mato Grosso do Sul a Goiás e oeste de Minas Gerais e Rondônia. Esta espécie possui o cariótipo de $2n=58/FN=70-72$. *Cerradomys subflavus* habita as florestas de terras baixas do leste do Brasil (Ceará e Rio Grande do Norte, estendendo-se até São Paulo). Para esta espécie estão descritos três cariomorfos: $2n=46,48-50/FN=56$, encontrado nos estados de Tocantins, Pernambuco e Paraíba; $2n=50/FN=64$, presente nos estados de Sergipe, Bahia e Minas Gerais; e $2n=54-56/FN=62,63$, que ocorre nos estados de Minas Gerais e São Paulo.

***Eremoryzomys* Weksler et al., 2006**

Gênero monotípico ao qual pertence a espécie *Eremoryzomys polius*, espécie esta que fazia parte do grupo denominado por Musser e Carleton (2005) de resíduo muito heterogêneo da América do Sul do gênero *Oryzomys*. *Eremoryzomys polius* tem sua distribuição no centro-norte do Peru, no vale do rio Marañón.

***Euryoryzomys* Weksler et al., 2006**

Este novo gênero, proposto por Weksler et al. (2006), abriga as espécies que pertenciam ao antigo grupo *nitidus* do gênero *Oryzomys*. *Euryoryzomys* se caracteriza pela ampla distribuição de suas espécies, abrangendo mais da metade da área total da América do Sul. A área de ocorrência deste gênero vai desde o norte da América do Sul, o que inclui a Amazônia, passando pelo Cerrado e Chaco (Paraguai), a costa leste brasileira (Mata Atlântica), da Bahia ao Rio Grande do Sul e norte da Argentina, abrangendo partes dos territórios de 11 países deste continente. Atualmente este gênero possui seis espécies reconhecidas, *Euryoryzomys emmonsae*, *E. lamia*, *E. legatus*, *E. macconnelli*, *E. nitidus* e *E. russatus* (Musser e Carleton, 2005; Weksler et al., 2006). *Euryoryzomys emmonsae* é, até o momento, a espécie que possui a distribuição mais restrita dentre as espécies do gênero. Ela ocorre na Amazônia brasileira em uma área ao sul do rio Amazonas, entre os rios Xingu e Tocantins. Inicialmente os exemplares desta espécie foram identificados como *Oryzomys macconnelli* e posteriormente como *O. nitidus*. Musser et al. (1998) descreveram estes exemplares como uma nova espécie, a qual denominaram *O. emmonsae*, atualmente *E. emmonsae*. Esta espécie possui cariótipo alto ($2n=80/FN=86$; Musser et al., 1998), o que também é característico deste gênero. Já *E. lamia* é uma espécie que está restrita ao Cerrado, sendo a única do gênero a ocupar este bioma. Esta espécie possui dois cariomorfos distintos, $2n=58/FN=84$ e

2n=60/FN=84 (Bonvicino *et al.*, 1998; Andrades-Miranda *et al.*, 2001b). Como o FN dos dois cariomorfos é o mesmo, o mais provável é que tenha ocorrido uma fusão cêntrica, originando o cariomorfo de 2n=58. Além disso, Lima-Rosa *et al.* (2000) analisando DNA microssatélite desta espécie mostraram que os exemplares de *E. lamia* com 2n=60 possuíam as mesmas bandas (“alelos”) observadas nos exemplares com 2n=58, sendo bandas espécie-específicas. *Euryoryzomys legatus* tem sua distribuição na encosta oriental dos Andes desde o centro-sul da Bolívia até o noroeste da Argentina. Das seis espécies deste gênero, *E. legatus* é a única que não possui cariótipo conhecido. *Euryoryzomys macconnelli*, juntamente com *E. russatus*, é a espécie de mais ampla distribuição geográfica do gênero. Distribui-se desde o norte do Brasil, Guianas, sul da Venezuela, centro-sul da Colômbia e leste do Equador e Peru. Esta espécie possui três cariomorfos distintos, o 2n=64/FN=64 encontrado no Peru (Gardner e Patton, 1976), o 2n=64/FN=70 encontrado no Brasil (Musser *et al.*, 1998; Patton *et al.*, 2000) e o 2n=76/FN=85 encontrado na Venezuela (Musser *et al.*, 1998). Devido a estas diferenças cariotípicas, associadas a diferenças entre haplótipos (citocromo *b*), Patton *et al.* (2000) sugerem que *E. macconnelli* não seja apenas uma espécie, mas sim duas espécies distintas, sendo os exemplares com 2n=64/FN=70 como os legítimos representantes desta espécie. Esta espécie tem como sinônimas *incertus* e *mureliae*, além disso, é considerada a espécie-tipo para o gênero, porém descrita sob a denominação *Oryzomys macconnelli* por Thomas (1910). Os espécimes de *E. nitidus* habitam as florestas úmidas das terras baixas e sopés andinos, entre as altitudes de 50 a 1.985 m, do leste do Peru e Bolívia e centro-oeste do Brasil (Acre e Mato Grosso). Esta espécie possui 2n=80/FN=86 (Gardner e Patton, 1976; Volobouev e Aniskin, 2000) e a sinônima *boliviae*. *Euryoryzomys russatus*, além de possuir o mesmo cariótipo das espécies *E. emmonsae* e *E. nitidus* (2n=80/FN=86; Andrades-Miranda *et al.*, 2001b), é a única espécie, deste gênero, que ocorre na Mata Atlântica. Sua ocorrência se dá na região costeira do Brasil, indo da Bahia ao Rio Grande do Sul (sendo que neste estado ainda ocupa uma área de transição entre este bioma e o bioma Pampa, latitude de 29°S), no leste do Paraguai e no nordeste da Argentina. Esta espécie também foi descrita com os sinônimos *coronatus*, *intermedia*, *kelloggi*, *moojeni* e *phylodes*.

***Handleyomys* Voss *et al.*, 2002**

Este gênero, originalmente, abrigou duas espécies (*fuscatus* e *intectus*) que anteriormente tinham sido descritas como membros problemáticos dos gêneros

Aepeomys e *Oryzomys*, respectivamente (Musser e Carleton, 1993). Geneticamente este gênero estava intimamente relacionado com espécies do gênero *Oryzomys* pertencentes ao grupo *alfaroi* (Weksler, 2003, 2006), o que levou Weksler *et al.* (2006) a incluírem as espécies deste grupo no gênero *Handleyomys*. Uma descrição mais detalhada do gênero foi feita por Voss *et al.* (2002). A espécie *Handleyomys alfaroi* distribuiu-se desde a região central do México até o oeste da Colômbia e Equador, possui como sinônimos *agrestis*, *dariensis*, *gloriaensis*, *gracilis*, *incertus*, *intagensis*, *palatinus* e *palmirae*; *H. chapmani* tem sua distribuição na Sierra Madre Oriental, Sistema Montañosa e Sierra Madre del Sur no México, além de ter os sinônimos *caudatus*, *dilutior*, *guerrerensis* e *huastecae*; *H. fuscatus* ocorre na cordilheira ocidental da Colômbia, entre 1.700 a 2.580 m de altitude e foi descrita como a espécie-tipo, porém ainda com a denominação de *Aepeomys fuscatus*; já a espécie *H. intectus* é encontrada na cordilheira central da Colômbia, entre 1.500 a 2.800 m de altitude; *H. melanotis* habita as elevações de baixas a intermediárias do estado de Jalisco no México e também é conhecida como *colimensis*; *H. rhabdops* distribuiu-se nas terras altas do estado de Chiapas no México e Guatemala central, seu sinônimo é *angusticeps*; *H. rostratus* ocorre nas florestas decíduas e perenes ao sul do México até a península de Yucatán, Guatemala, El Salvador, Honduras até o sul da Nicarágua e tem como sinônimos *carrorum*, *megadon*, *salvadorensis* e *yucatanensis*; e *H. saturatior* ocorre nas florestas elevadas dos estados de Oaxaca e Chiapas no México, Guatemala, Honduras, El Salvador e centro-norte da Nicarágua.

***Holochilus* Brandt, 1835**

Gênero revisado por Hershkovitz (1955) que agrupou 13 espécies nominadas dentro de *Holochilus brasiliensis* e descreveu uma nova, *H. magnus*, posteriormente removida para o gênero *Lundomys* (Musser e Carleton, 1993). Estudos têm revelado que *brasiliensis* de Hershkovitz (1955) é composta de três ou mais espécies (Gardner e Patton, 1976; Massoia, 1980, 1981; Reig, 1986; Aguilera e Perez-Zapata, 1989). São roedores de hábito noturno e possivelmente diurno, terrestres e solitários. Alimentam-se de gramíneas e outras plantas verdes e são freqüentemente encontrados em campos úmidos, banhados e áreas cultivadas (Emmons e Feers, 1999). Este gênero possui três espécies descritas com vários sinônimos. *Holochilus brasiliensis* é encontrada no sudeste do Brasil, Uruguai e centro-leste da Argentina, possui os sinônimos *anguyu*, *cancellinus*, *darwini*, *leucogaster* e *vulpinus*; *H. chacarius* é encontrada no Paraguai e

nordeste da Argentina, *balnearum* é o único sinônimo e número diplóide altamente variável ($2n = 48-56$; Vidal *et al.*, 1976; Nachman e Myers, 1989; Nachman, 1992); *H. sciureus* é a espécie tipo para o gênero, é encontrada nas bacias dos rios Orinoco e Amazonas, Venezuela, Guianas, norte e centro do Brasil e regiões amazônicas da Colômbia, Equador, Peru e Bolívia, sendo também descrita como *amazonicus*, *berbericensis*, *guianae*, *incarun*, *multannus*, *nanus* e *venezuelae*, o número diplóide é caracterizado pelo $2n=55-56$ para as populações amazônicas (Patton *et al.*, 2000) e $2n=44$ para populações venezuelanas (Aguilera e Pérez-Zapata, 1989).

***Hylaeamys* Weksler *et al.*, 2006**

Este gênero abrange espécies pertencentes ao grupo *megacephalus* do antigo gênero *Oryzomys* (Musser *et al.*, 1998; Musser e Carleton, 2005). As espécies deste gênero são encontradas desde o norte da América do Sul (Guianas) até o sul do Brasil e norte da Argentina. Este gênero inclui sete espécies reconhecidas: *Hylaeamys acritus*, *H. laticeps*, *H. megacephalus*, *H. perenensis*, *H. seuanezi*, *H. tatei* e *H. yunganus* (Musser e Carleton, 2005; Emmons e Patton, 2005). *Hylaeamys acritus* ocorre no norte e nordeste da Bolívia, nos Departamentos de Beni e Santa Cruz, não tendo seu cariótipo sido descrito. *Hylaeamys laticeps* distribuiu-se na região da Mata Atlântica do sudeste do Brasil, porém os limites de sua distribuição ainda são incertos, existindo registros de sua ocorrência em Pernambuco, Paraíba, Bahia, Minas Gerais, Goiás e Mato Grosso. Esta apresenta um $2n=52/FN=62$ (Maia, 1990; Musser *et al.*, 1998; Andrades-Miranda *et al.*, 2001b). Os sinônimos atribuídos à *H. laticeps* são: *saltator* e *oniscus*, sendo esta última considerada como espécie plena por Weksler *et al.* (2006). *Hylaeamys megacephalus*, além de ser considerada a espécie-tipo do gênero, descrita como *Mus megacephalus* por Fischer (1814), é a espécie de maior distribuição geográfica do gênero, ocorrendo desde as Guianas (norte da América do Sul), sul da Venezuela, leste da Colômbia, Amazônia brasileira, o Cerrado, estendendo-se até o sudeste do Paraguai, porém o limite oeste de sua distribuição ainda é incerto. Vários autores, a partir de exemplares provenientes de distintas localidades, descreveram o mesmo cariótipo para *H. megacephalus*: $2n=54/FN=62$ (Pérez-Zapata *et al.*, 1986; Svartman e Almeida, 1992; Musser *et al.*, 1998; Volobouev e Aniskin, 2000; Andrades-Miranda *et al.*, 2001b). A esta espécie são atribuídos os sinônimos *capito*, *cephalotes*, *goeldi*, *modestus* e *velutinus*. Já *H. perenensis* ocorre no lado oeste da Amazônia, que inclui o centro e sudeste da Colômbia, leste do Equador, Peru e Bolívia e extremo oeste do Brasil (oeste do

Amazonas e Rondônia e o Acre). Também é considerada, por Musser *et al.* (1998), como *H. megacephalus* para as populações do oeste da Amazônia. Possui o cariótipo de $2n=52/FN=62$ (Musser *et al.*, 1998; Volobouev e Aniskin, 2000). *Hylaeamys seuanezi* ocorre na Mata Atlântica do sudeste do Brasil. Esta espécie é a que possui o mais baixo cariótipo dentre as espécies do gênero, $2n=48/FN=64$ (Weksler *et al.*, 1999; Andrades-Miranda *et al.*, 2001b). *Hylaeamys seuanezi* está sendo considerada, por Weksler *et al.* (2006), como sinônimo de *H. laticeps*. *Hylaeamys tatei* tem distribuição conhecida somente em três localidades ao longo dos Andes orientais (1.128-1.524 m) da região central do Equador. Esta espécie não tem seu cariótipo descrito e mostra relação muito próxima à *H. yunganus*, com a qual se encontra em simpatria em sua área de distribuição. *Hylaeamys yunganus* possui uma ampla distribuição pelas florestas perenes da Amazônia, ocorrendo desde as Guianas, norte do Brasil, sul da Venezuela, região central da Colômbia, leste do Equador e Peru e norte da Bolívia. Esta espécie possui três cariomorfos descritos: $2n=58/FN=62$ (Patton e Gardner, 1976; Patton *et al.*, 2001b; Volobouev e Aniskin, 2000), $2n=60/FN=64$ (Andrades-Miranda *et al.*, 2001b) e $2n=60/FN=66$ (Patton e Gardner, 1976).

Lundomys Voss e Carleton, 1993

Gênero tetralofodonte aparentado com *Holochilus*, *Noronhomys* (gênero extinto) e *Pseudoryzomys* (Voss e Carleton, 1993; Carleton e Olson, 1999; Weksler, 2003, 2006). Este gênero possui apenas uma espécie descrita (*Lundomys molitor*) que tem sua distribuição no sudeste do Brasil e Uruguai e tem como sinônimo *magnus*. O cariótipo de $2n=52/FN=58$ foi descrito para esta espécie por Freitas *et al.* (1983), com a denominação de *Holochilus magnus*, e por Voss e Carleton (1993).

Melanomys Thomas, 1902

Usualmente colocado como subgênero de *Oryzomys*, todavia, Allen (1913) forneceu critérios morfológicos defendendo a sua manutenção como gênero, além de reconhecer nove espécies. Já Gyldenstolpe (1932) listou apenas oito espécies. Este táxon não teve revisão recente e as três espécies nominais reconhecidas por Cabrera (1961) foram baseadas somente na literatura. Musser e Carleton (2005) reconhecem três espécies: *Melanomys caliginosus* tem sua distribuição nas terras baixas da América Central (Honduras e Panamá) e na América do Sul no norte e oeste da Colômbia, sudoeste do Equador e noroeste da Venezuela e os sinônimos *affinis*, *buenavistae*,

chrysomelas, *columbianus*, *idoneus*, *lomitensis*, *monticola*, *obscurior*, *olivinus*, *oroensis*, *tolimensis*, *vallicola* e *phaeopus*, sendo descrita como espécie-tipo do gênero sob a denominação *Oryzomys phaeopus* por Thomas (1894; = *Hesperomys calliginosus* Tomes, 1860); *M. robustulus* tem sua distribuição restrita ao sudeste do Equador; *M. zunigae* distribui-se no centro-oeste do Peru.

***Microakodontomys* Hershkovitz, 1993**

Provisoriamente este gênero foi alocado como Sigmodontinae “*incertae sedis*” por Hershkovitz (1993) que comentou que, num âmbito geral, este gênero é muito semelhante à *Microryzomys* e *Oligoryzomys* sugerindo uma diferenciação a partir de um estoque oryzomyino de transição de habitat entre floresta e savana, porém considerado por Musser e Carleton (1993) como possuidor de claras características de Oryzomyini. Uma única espécie está descrita para este gênero (*Microakodontomys transitorius*), além de ter tido apenas um exemplar coletado no Parque Nacional de Brasília, único registro de sua distribuição.

***Microryzomys* Thomas, 1917**

Inicialmente classificado como subgênero de *Oryzomys* ou sinônimo de *Oligoryzomys*, foi elevado a gênero por Carleton e Musser (1984) e mais tarde revisado por eles (1989). Cladisticamente considerado um membro primitivo de Oryzomyini, compartilhando traços morfológicos com *Oligoryzomys* (Carleton e Musser, 1989; Carleton e Olson, 1999), sendo gênero-irmão de *Neacomys* de acordo com estudos de seqüências gênicas (Myers *et al.*, 1995; Smith e Patton, 1999) ou pertencendo ao clado *Neacomys-Oligoryzomys* de acordo com análises de alozimas (Dickerman e Yates, 1995). Duas espécies são descritas para este gênero, *Microryzomys altissimus* que tem sua distribuição nas montanhas norte do Cerro de Pasco (3.536 m) no Peru e os sinônimos *chotanus* e *hylaeus*; e *M. minutus* encontrado na floresta subalpina (2.000-3.500 m) do norte da Venezuela, Colômbia, Equador, Peru e centro oeste da Bolívia, tendo como sinônimos *aurillus*, *dryas*, *fulvistris* e *humilior*, sendo esta a espécie-tipo para o gênero.

***Mindomys* Weksler *et al.*, 2006**

Gênero que apresenta apenas uma espécie, *Mindomys hammondi*, que inicialmente foi descrita como pertencendo ao gênero *Nectomys* por Thomas (1913),

posteriormente como *Oryzomys*, até a classificação atual. Esta espécie tem sua distribuição no sopé dos Andes no noroeste do Equador na província de Pichincha.

***Neacomys* Thomas, 1900**

Gênero-irmão de *Microrizomys* de acordo com estudos com os genes mitocondrial citocromo *b* e nuclear IRBP (Myers *et al.*, 1995; Patton e da Silva, 1995; Smith e Patton, 1999; Weksler, 2003, 2006) ou de *Oligoryzomys* de acordo com análises de alozimas (Dickerman e Yates, 1995). Recentes descrições taxonômicas e detalhadas comparações regionais têm fornecido a compreensão da diversidade de espécies do gênero e suas descrições morfológicas (Patton *et al.*, 2000; Voss *et al.*, 2001). São oito espécies reconhecidas: *Neacomys dubosti* com distribuição à sudeste do Suriname, Guiana Francesa e Amapá, no Brasil; *N. guianae* com ocorrência nas Guianas, sul da Venezuela e norte do Brasil; *N. minutus* distribuiu-se na região central do rio Juruá, Amazonas, Brasil, apresentando um $2n$ variando de 35 a 36 cromossomos (Patton *et al.*, 2000); *N. musseri* ocorrendo na cabeceira do rio Juruá, à sudeste do Peru e extremo oeste do Brasil (Acre), apresentando $2n=34$ (Patton *et al.*, 2000); *N. paracou* com distribuição à sudeste da Venezuela, Guiana, Suriname, Guiana Francesa, no Amapá chegando ao sul do Amazonas e Pará, no Brasil; *N. pictus* com distribuição restrita ao extremo leste do Panamá; *N. spinosus* distribuída no centro-oeste do Brasil até o sopé dos Andes e planícies do sudeste colombiano, leste do Equador e Peru e norte e centro da Bolívia, possui os sinônimos *amoenus*, *carceleni* e *typicus* e foi descrita como a espécie-tipo do gênero, porém no gênero *Hesperomys* por Thomas (1882); *N. tenuipes* com distribuição à oeste e centro-norte da Colômbia e norte da Venezuela, tem como sinônimo *pusillus*.

***Nectomys* Peters 1861**

Este gênero inclui roedores de hábitos noturnos, semi-aquáticos e solitários. Alimentam-se de artrópodes e outros invertebrados, frutas e fungos. Estes ratos d'água são adaptados para nadar e quase sempre são encontrados próximos a cursos d'água. Distribuem-se desde o leste dos Andes colombianos e sul da Venezuela até o norte da Argentina e leste da América do Sul (Emmons e Feer, 1999).

Hershkovitz (1944), em sua revisão, considerou este gênero como sendo monotípico, baseado em caracteres morfológicos, mais tarde, através de dados cariotípicos, observou-se um status politípico para o gênero. Musser e Carleton (1993)

determinaram três espécies: *N. parvipes* e *N. palmipes*, habitando áreas restritas e a macroespécie *N. squamipes*, amplamente distribuída, desde a Venezuela até o Uruguai, com muitos sinônimos e/ou subespécies. *Nectomys parvipes*, descrita somente na Guiana Francesa, não tem o cariótipo conhecido e *N. palmipes* (ilha de Trinidad e nordeste da Venezuela) mostra um cariótipo distinto com $2n=16, 17$. Gardner e Patton (1976) relataram o cariótipo com $2n=38-42$ no Peru, ao qual, mais tarde, foi atribuído à espécie *N. apicalis* (Patton *et al.*, 2000). Voss *et al.* (2001) descreveram *N. melanius* com $2n=52-56$ e com ocorrência na Guiana Francesa, Venezuela e Suriname. *Nectomys squamipes* apresentou dois cariótipos básicos ($2n=52$ e $2n=56$) ambos com um sistema de cromossomos acessórios e grande variação na morfologia do par sexual, com duas fusões “in tandem” diferenciando os dois cariótipos. Como o citotipo com $2n=56-59$ foi observado em São Paulo, localidade tipo de *N. squamipes*, este cariótipo foi atribuído a esta espécie e o $2n=52$ à *N. rattus*, um sinônimo de *N. squamipes*, proposto a ser elevado à categoria de espécie por Andrades-Miranda *et al.* (2001a), no entanto, Patton *et al.* (2000) sugerem o nome *N. mattensis*. *N. squamipes* ($2n=56-59$) é encontrado em Pernambuco, Bahia, Espírito Santo, Rio de Janeiro, São Paulo, Mato Grosso do Sul, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul e também na Argentina, já *N. rattus* ($2n=52-55$), é encontrado no Amazonas, Pará, Maranhão, Piauí, Pernambuco, Bahia, Goiás, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul, além do Peru.

Assim como o cariótipo, seqüências moleculares têm sido descritas para algumas espécies de *Nectomys*. Seqüências parciais do gene mitocondrial citocromo *b* já foram descritas para *N. squamipes* (Bonvicino e Moreira, 2001; Myers *et al.*, 1995; Patton e da Silva, 1995; Smith e Patton, 1993) e *N. garleppii* (Bonvicino e Moreira, 2001), além da seqüência completa deste mesmo gene para *N. apicalis* (Smith e Patton, 1999). Também foi descrita a seqüência parcial do primeiro exon do gene nuclear IRBP para *N. squamipes* (Jansa e Weksler, 2004; Weksler, 2003).

Musser e Carleton (2005) reconhecem cinco espécies para este gênero: *N. apicalis* com distribuição no extremo oeste do Brasil (Acre e Amazonas), planícies contíguas e sopé dos Andes da região central e leste do Equador, leste do Peru e centro-oeste da Bolívia, também descrita como *fulvinus*, *garleppii*, *mantanus*, *napensis*, *saturatus* e *vallensis* e com $2n=38-42$ (Patton *et al.*, 2000); *N. magdalenae* com distribuição nas bacias dos rios Magdalena e Cauca no norte da Colômbia, possui o sinônimo *grandis* e tendo $2n=34$ (Gómez-Laverde *et al.*, 1999); *N. palmipes* com distribuição na ilha de Trinidad e regiões próximas do nordeste da Venezuela, possui o

sinônimo *tatei* e tendo $2n=16-17$ (Barros *et al.*, 1992); *N. rattus* com distribuição na Amazônia à leste da Colômbia, noroeste e sul da Venezuela, Guianas, regiões norte e central do Brasil e, talvez, nas terras baixas à leste do Peru, tem os sinônimos *amazonicus*, *mattensis*, *melanius*, *parvipes* e *tarrensis*, possui $2n=52-55$ (Andrades-Miranda *et al.*, 2001a) e, pela IUCN, é considerada uma espécie criticamente ameaçada, porém com a denominação *N. parvipes*; *N. squamipes* com distribuição no leste e sul do Brasil (de Pernambuco ao Rio Grande do Sul), nordeste da Argentina (Misiones) e leste do Paraguai, possui as denominações sinônimas *aquaticus*, *brasiliensis*, *olivaceus*, *pollens* e *robustus*, tendo $2n = 56-59$ (Andrades-Miranda *et al.*, 2001a) e foi descrita como espécie-tipo do gênero, porém como *Mus* por Brants (1827).

***Nephelomys* Weksler *et al.*, 2006**

Gênero composto por espécies pertencentes ao antigo grupo *albigularis* do gênero *Oryzomys*. Este gênero possui, dependendo do autor a ser citado, sete a 13 espécies reconhecidas. Musser e Carleton (2005) reconhecem apenas sete espécies: *Nephelomys albigularis* que ocorre no norte e oeste da Venezuela, extremo leste do Panamá, Andes da Colômbia e Equador até o norte do Peru. Esta é a espécie-tipo do gênero, descrita como *Hesperomys albigularis* e possui os sinônimos *childi*, *maculiventer*, *moerex*, *oconnelli*, *pectoralis*, *pirrensis* e *villosus*. *Nephelomys auriventer* tem sua distribuição à leste do Equador e norte do Peru, além de possuir o sinônimo *nimbosus*. *Nephelomys caracolus* distribuiu-se na costa central das Cordilheiras no centro-norte da Venezuela. *Nephelomys devius* ocorre nas terras altas da Costa Rica e extremo oeste do Panamá. *Nephelomys keaysi* ocorre nas florestas equatoriais dos Andes orientais peruanos, tem como sinônimo *obtusirostris*. *Nephelomys levipes* distribuiu-se nas florestas altas do sudeste do Peru ao centro-oeste da Bolívia; e *N. meridensis* habita a Sierra de Mérida no oeste da Venezuela. As seguintes nomações, já citadas anteriormente como sinônimos por Musser e Carleton (2005) para algumas espécies do gênero, são consideradas como espécies para Weksler *et al.* (2006): *N. childi*, *N. maculiventer*, *N. moerex*, *N. nimbosus*, *N. pectoralis* e *N. pirrensis*.

***Nesoryzomys* Heller, 1904**

Este gênero tem suas espécies distribuídas exclusivamente nas ilhas do arquipélago de Galápagos, tendo para lá imigrado há, aproximadamente, 3 a 3,5 milhões de anos. Inicialmente descrito como subgênero de *Oryzomys* por Ellerman (1941)

segundo os comentários de Goldman (1918). Porém informações morfológicas, gênicas e cariológicas sustentam seu status de gênero (Beaufort, 1963; Gardner e Patton, 1976; Patton e Hafner, 1983; Smith e Patton, 1999; Weksler, 2003, 2006). Quatro espécies são descritas para este gênero: *Nesoryzomys darwini* com distribuição na ilha de Santa Cruz e provavelmente extinta, pois o último registro foi em 1930; *N. fernandinae* com distribuição na ilha Fernandina, possui status de espécie vulnerável pela IUCN; *N. indefessus* com distribuição nas ilhas Santa Cruz, Baltra e Fernandina, possui a sinônimo *narboroughi*, sendo descrita com espécie-tipo do gênero com esta denominação e é dada como extinta pela IUCN, porém populações de *N.i. narboroughi* na ilha Fernandina parecem estáveis (ver Patton e Hafner, 1983; Dowler *et al.*, 2000); *N. swarthi* com distribuição na ilha San Salvador, pela IUCN seu status é de vulnerável.

***Oecomys* Thomas 1906**

Este gênero apresenta roedores de hábitos noturnos e solitários. Comem frutas e sementes verdes. Estes roedores usam todos os níveis das florestas, inclusive o solo (Emmons e Feer, 1999).

Este gênero, primariamente, foi incluído no gênero *Rhipidomys* e depois foi considerado um subgênero de *Oryzomys*. Posteriormente, por ser fortemente diferenciado sob o ponto de vista cariotípico, *Oecomys* foi reconhecido como gênero pleno (Gardner e Patton, 1976).

Hershkovitz (1960) reconheceu duas espécies de *Oecomys*: *O. concolor* e *O. bicolor*. Já Cerqueira (1982) considerou que constituem dois grupos de espécies com distribuições disjuntas como resultado da expansão e retração das florestas sul-americanas no passado. Musser e Carleton (1993) alocaram estes dois grupos em 13 espécies diferentes: *O. bicolor*, *O. cleberi*, *O. concolor*, *O. flavicans*, *O. mamorae*, *O. paricola*, *O. phaeotis*, *O. rex*, *O. roberti*, *O. rutilus*, *O. speciosus*, *O. superans* e *O. trinitatis* e classificam *tapajinus* como sinônimo de *roberti* e *cinnamoneus* e *catherinae* como sinônimo de *trinitatis*. Outras duas espécies (mais três não nominais) foram recentemente descritas: *O. auyantepui* e *O. bahiensis* (Voss *et al.*, 2001; Langguth *et al.*, 2005). Estas espécies estão distribuídas pelas florestas tropicais e subtropicais da Costa Rica, Panamá, Trinidad e Tobago, Venezuela, Guianas, Colômbia, Equador, Peru, Bolívia, Brasil e norte do Paraguai. Mares *et al.* (1989) e Mares e Ernest (1995) registram a presença de *O. bicolor* e *O. concolor* nas florestas de galerias (Cerrado) do

Brasil central e Andrades-Miranda *et al.* (2001a) amostraram três espécies de *Oecomys* em duas localidades do Cerrado e em duas da Amazônia brasileira.

O cariótipo de *Oecomys* é muito variável ($2n=58$ a $2n=82$). *Oecomys trinitatis* (Patton *et al.*, 2000) apresenta $2n=58$, já *O. concolor* e *O. bahiensis* apresentam $2n=60$ (Gardner e Patton, 1976; Furtado, 1981; Baker *et al.*, 1983; Andrades-Miranda *et al.*, 2001a; Andrade e Bonvicino, 2003; Langguth *et al.*, 2005). *Oecomys superans* e *O. bicolor* possuem $2n=80$ (Gardner e Patton, 1976; Baker *et al.*, 1983; Patton *et al.*, 2000; Andrades-Miranda *et al.*, 2001a; Andrade e Bonvicino, 2003), enquanto que *O. roberti* apresenta dois cariótipos diferentes, $2n=80$ (Patton *et al.*, 2000) e $2n=82$ (Andrades-Miranda *et al.*, 2001a).

Além dos cariótipos, dois genes (mtCitocromo b e nuIRBP) foram seqüenciados para algumas espécies. Sequências parciais e completas do gene mitocondrial citocromo b foram descritas para *O. auyantepui*, *O. bicolor*, *O. rex*, *O. roberti*, *O. rutilus*, *O. superans* e *O. trinitatis*, além de três espécies não nominadas (Patton e da Silva, 1995; Smith e Patton, 1999; Andrade e Bonvicino, 2003; D'Elia, 2003; Mauffrey *et al.*, não publicado). Também foram publicadas seqüências parciais do primeiro exon do gene nuclear IRBP para as espécies *O. bicolor*, *O. catherinae*, *O. concolor*, *O. mamorae* e *O. trinitatis* (Weksler, 2003).

Musser e Carleton (2005) reconhecem 15 espécies para este gênero: *O. auyantepui* com distribuição no centro-sul da Venezuela e do leste da Guiana até o Brasil (Amapá) e sul do Amazonas (norte do rio Amazonas). *O. bicolor* com distribuição do leste do Panamá até o oeste da Colômbia e Equador, Venezuela, Guiana, regiões norte e central do Brasil e regiões drenadas da Amazônia da Bolívia, Peru, Equador e Colômbia, conhecida também com os sinônimos *benevolens*, *dryas*, *enderse*, *florenciae*, *milleri*, *nitedulus*, *occidentalis*, *phelpsi*, *rosilia* e *trabeatus*, tendo $2n=80$ e foi descrita como espécie-tipo do gênero como *Rhipidomys benevolens* (= *Hesperomys bicolor*). *Oecomys catherinae* com distribuição nas regiões leste e sudeste da Floresta Atlântica da Bahia a Santa Catarina e ao longo de matas ciliares do Cerrado e Caatinga, possui os sinônimos *bahiensis* e *cinnamomeus*. *Oecomys cleberi* com distribuição na Fazenda Água Limpa, Universidade de Brasília, DF, Brasil. *Oecomys concolor* com distribuição ao sul da Venezuela, noroeste do Brasil, leste da Colômbia e nordeste da Bolívia, possui o sinônimo *marmorsurus* e tendo $2n=60-61$. *Oecomys flavicans* com distribuição na costa e cordilheira de Mérida no norte e oeste da Venezuela, oeste da serra de Santa Marta (nordeste da Colômbia) e talvez inclua a cordilheira oriental,

também reconhecida como *illectus* e *mincae*. *Oecomys mamorae* distribui-se nas regiões norte e central da Bolívia, norte do Paraguai e centro-oeste do Brasil. *Oecomys paricola* ocorre no centro do Brasil ao sul do rio Amazonas. *Oecomys phaeotis* tem sua distribuição na escarpa leste dos Andes peruanos. *Oecomys rex* é encontrado no extremo leste da Venezuela, Guianas e norte do Brasil (Amapá e Amazonas), possui o sinônimo *regalis*. *Oecomys roberti* com distribuição no sul da Venezuela, Guianas e região amazônica do oeste do Brasil, leste do Peru e extremo norte da Bolívia, é reconhecido pelos sinônimos *guianae* e *tapajinus*, tendo $2n=82$. *Oecomys rutilus* distribui-se no extremo leste da Venezuela, Guiana, Suriname e Guiana Francesa até o Brasil (Amazonas). *Oecomys speciosus* habita as savanas do nordeste da Colômbia centro e norte da Venezuela e Trinidad, possui os sinônimos *caicarae* e *trichurus*. *Oecomys superans* com distribuição na escarpa baixa dos Andes do leste da Colômbia, Equador e Peru, incluindo as terras baixas contíguas do oeste da Amazônia, também foi nominados com os sinônimos *melleus* e *palmeri*. *Oecomys trinitatis* ocorre nas florestas Tropicais do sudoeste da Costa Rica ao Brasil central, incluindo as Guianas, Trinidad e Tobago e na escarpa leste dos Andes do centro-oeste da Colômbia ao centro-sul do Peru, esta espécie apresenta os sinônimos *frontalis*, *fulviventer helvolus*, *klagesi*, *osgoodi*, *palmarius*, *splendens*, *subluteus*, *tectus* e *vicencianus*.

Gênero *Oligoryzomys* Bangs 1900

O táxon sul-americano *Oligoryzomys* foi proposto como um subgênero de *Oryzomys* por Bangs em 1900. São noturnos, terrestres e solitários, provavelmente se alimentam de sementes, frutos e insetos (Dickerman e Yates, 1995; Emmons e Feer, 1999). Alguns táxons podem ser pragas na agricultura de arroz ou em silos de armazenagem de grãos. Outras espécies podem ser hospedeiras de hantavírus (Powers *et al.*, 1999).

O gênero *Oligoryzomys* é amplamente distribuído, ocupando tanto a América do Sul como a América Central. Sua distribuição inclui o sul do México, oeste do Panamá, Guianas, oeste da Venezuela, Oeste e sul da Colômbia, Equador, oeste do Peru, Bolívia, Paraguai, região central e leste da Argentina e Brasil. Seu número estimado de espécies varia de uma a 30 e tanto o seu status como gênero ou as relações entre suas espécies têm sido controversos.

A categoria de gênero, sugerida por Gardner e Patton (1976) através de dados cariotípicos, foi posteriormente utilizada por Carleton e Musser (1989) e, atualmente, é aceita pela totalidade dos autores. Hershkovitz (1966) afirma que este gênero é o mais intrigante dos oryzomyinos em relação à taxonomia e classifica *fulvescens*, *flavescens* e *longicaudatus* como “raças” de *Oligoryzomys nigripes*. Olds e Anderson (1987) relatam a existência de três classes de *Oligoryzomys*. Já Carleton e Musser (1989) dividem 15 espécies deste gênero em cinco grupos: Grupo 1 – *fulvescens* (*O. fulvescens*, *O. arenalis* e *O. vegetus*); Grupo 2 – *microtis* (*O. microtis*); Grupo 3 – *andinus* (*O. andinus* e *O. chacoensis*); Grupo 4 – *flavescens* (*O. flavescens*, *O. sp. A*, *O. sp. B* e *O. sp. C*); e Grupo 5 – *nigripes* (*O. nigripes*, *O. eliurus*, *O. destructor*, *O. longicaudatus* e *O. delticola*). Myers *et al.* (1995) consideram este gênero monofilético e seus dados não confirmam alguns dos agrupamentos feitos por Carleton e Musser (1989). Das 19 espécies relacionadas no gênero por Musser e Carleton (1993), *O. chacoensis*, *O. delticola*, *O. eliurus*, *O. flavescens*, *O. fornesi*, *O. fulvescens*, *O. microtis*, *O. nigripes*, *O. stramineus*, *O. aff. messorius*, *O. andinus*, *O. arenalis*, *O. destructor*, *O. griseolus*, *O. longicaudatus*, *O. magellanicus*, *O. vegetus* e *O. victus*, as 11 primeiras ocorrem no Brasil. Mais recentemente cinco novas espécies foram descritas (Silva e Yonenaga-Yassuda, 1997; Bonvicino e Weksler, 1998; Weksler e Bonvicino, 2005). Voss *et al.* (2001) alocaram alguns espécimens descritos como *O. microtis* coletados no Amazonas e Pará, para a espécie *O. fulvescens*.

Vários trabalhos de citogenética foram feitos. Este gênero se caracteriza por possuir 2n e FN moderadamente altos (44-70 e 52-82, respectivamente). Estes estudos cariológicos ajudaram a esclarecer a sistemática deste complexo grupo. Os números diplóides das espécies de *Oligoryzomys*, até agora cariotipados, podem ser divididos em três grupos: (1) um grupo com o primeiro par acrocêntrico e 1,5 vez maior que o par 2; (2) um outro grupo com o primeiro par com dois braços e 1,5 vez maior que o segundo par; e (3) um último grupo com os primeiros 2-4 pares de tamanhos similares (Mattevi e Andrades-Miranda, 2006).

Trabalhos com análises de marcadores moleculares têm comprovado a monofilia do gênero *Oligoryzomys*. Tanto trabalhos com gene nuclear IRBP (Weksler, 2003) como com o gene mitocondrial citocromo *b* (Myers *et al.*, 1995) comprovam o caráter monofilético do gênero. Palma *et al.* (2005) em uma análise filogeográfica de *O. longicaudatus* no sul da América do Sul, observou que as populações desta espécie não

apresentavam estruturação geográfica definida, o que também foi encontrado por Perini *et al.* (2004) analisando polimorfismo enzimático de populações de *O. flavescens* e *O. nigripes*.

Musser e Carleton (2005) descrevem 18 espécies para este gênero e Weksler e Bonvicino (2005) acrescentam mais duas a esta lista: *O. andinus* com distribuição à oeste do Peru e centro-oeste da Bolívia, possui 2n/FN=60/70. *Oligoryzomys arenalis* habita o árido e semi-árido do Peru. *Oligoryzomys brendae* distribui-se nas províncias argentinas de Tucumán, Salta e Catamarca. *Oligoryzomys chacoensis* ocorre nas regiões secas do sudeste da Bolívia, oeste do Paraguai, sudoeste do Brasil e norte da Argentina, possui 2n/FN=58/74. *Oligoryzomys delticola*, com distribuição no centro-leste da Argentina, Uruguai e sul do Brasil, é considerada como sinônima de *O. nigripes* (Andrades-Miranda, 2001c; Francés e D'Elia, 2006). *Oligoryzomys destructor* distribui-se nas escarpas leste dos Andes ao sul da Colômbia junto ao Equador, Peru e centro-oeste da Bolívia até o noroeste da Argentina, possui as nomações sinônimas *maranonicus*, *melanostoma*, *spodiurus* e *stolzmanni*, tem 2n/FN=60/76. *Oligoryzomys eliurus*, ocorrendo no centro e sudeste do Brasil, possui os sinônimos *pygmaeus* e *utiaritensis* e 2n/FN=62/64-66. *Oligoryzomys flavescens* com distribuição à leste do Paraguai, sudeste do Brasil, Uruguai e norte e centro-sul da Argentina, é reconhecida também como *antoniae* e *occidentalis*, tendo 2n/FN=60-67/66-70. *Oligoryzomys fornesi* ocorre no nordeste da Argentina, leste do Paraguai e centro-sul do Brasil (Goiás a Paraíba), tendo 2n/FN=62-66/64-68. *Oligoryzomys fulvescens* distribui-se ao sul do México, junto a América Central até o Equador, norte e centro da Venezuela, Guianas e extremo norte do Brasil, possuía os sinônimos *costaricensis*, *delicatus*, *engractae*, *lenis*, *mayensis*, *munchiquensis*, *navus*, *nicaraguae*, *pacificus* e *tenuipes*, descrita na literatura com 2n/FN=54/68 (Gardner e Patton, 1976) e 60/74 (Haiduk *et al.*, 1979). Esta espécie foi descrita como tipo do gênero com o nome de *Oryzomys navus* (= *Hesperomys fulvenscens*). *Oligoryzomys griseolus* tem sua ocorrência no Andes Táchira no extremo oeste da Venezuela e na cordilheira oriental do leste da Colômbia. *Oligoryzomys longicaudatus* ocorre no norte do Chile e noroeste da Argentina, ao longo dos Andes até aproximadamente 50°S de latitude e, fora deste limite, centro-leste da Argentina (província de Buenos Aires), possui os sinônimos *agilis*, *amblyrrhynchus*, *araucanus*, *commutatus*, *coppingeri*, *diminutivus*, *dumetorum*, *exiguus*, *glaphyrus*, *macrocercus*, *malaenus*, *melanizon*, *mizurus*, *nigribarbis*, *pampanus*, *pernix*, *peteroanus*, *philippii* e *saltator*, tendo 2n/FN=56,58/64-66,74. *Oligoryzomys magellanicus* distribui-se ao sul

da região patagônica do Chile e Argentina (abaixo dos 50°S de latitude), incluindo a Terra do Fogo e tem 2n/FN=54/66. *Oligoryzomys microtis*, com distribuição na bacia amazônica no Brasil e na terras baixas contíguas do Peru, Bolívia e Paraguai, apresenta os sinônimos *chaparensis* e *mattogrossae* e seu 2n/FN=64/66. *Oligoryzomys nigripes* ocorre à leste do Paraguai, norte, centro e leste da Argentina, Uruguai e regiões da Mata Atlântica no Brasil (do Rio Grande do Sul até a Paraíba, interior de Goiás e Distrito Federal e também na Ilha Grande), possui os sinônimos *delticola* e *tarsonigro* e tem 2n/FN=62/78-82. *Oligoryzomys stramineus* habita o Cerrado (Goiás e Minas Gerais) e a Caatinga (Paraíba e Pernambuco), tendo 2n/FN=52/68. *Oligoryzomys vegetus* tem sua ocorrência na floresta úmida de montanhas (840-3.000 m) na Costa Rica central e oeste do Panamá, apresenta os sinônimos *creper* e *reventazoni*. *Oligoryzomys victus*, com distribuição nas Antilhas menores (Saint Vincent), é considerada uma espécie ameaçada pela IUCN. *Oligoryzomys moojeni* habita o Cerrado de Goiás e Minas Gerais e tem 2n/FN=70/74. *Oligoryzomys rupestris*, com distribuição em Alto Paraíso em Goiás e Pico das Almas na Bahia, tem 2n/FN=46/52. *Oligoryzomys messorius*, que se distribui no norte do Brasil (Roraima), é considerado como sinônimo de *O. fulvescens* por Musser e Carleton (2005), porém o cariótipo descrito para *O. messorius* (2n/FN=56/58) é diferente dos descritos para *O. fulvescens*.

***Oreoryzomys* Weksler et al., 2006**

Gênero monotípico, que teve sua espécie, *Oreoryzomys balneator*, previamente classificada no gênero *Oryzomys*. Esta espécie ocorre nas florestas úmidas no sul do Equador e norte do Peru, tem como sinônimo *hesperus*.

***Oryzomys* Baird 1859**

Este foi o gênero mais *speciose* da tribo Oryzomyini, com cerca de 40% das espécies descritas para a tribo. Musser e Carleton (2005) reconheceram 43 espécies para este gênero, reunidas em seis grupos: *albigularis*, *chapmani*, *megacephalus*, *nitidus*, *Oryzomys sensu stricto* e o resíduo heterogêneo da América do Sul, além de duas espécies que não se relacionaram a nenhum dos grupos. Devido ao caráter polifilético que apresenta, Weksler et al. (2006) criaram 10 novos gêneros que passaram a abrigar boa parte destas espécies. Estes novos gêneros tiveram como requisitos os agrupamentos das espécies já mencionados acima e serem monofiléticos, caráter este baseado em análises das relações filogenéticas das espécies do gênero *Oryzomys* a partir

de dados moleculares, morfológicos e em conjunto (Smith e Patton, 1999; Weksler, 2003, 2006). Os membros de *Oryzomys* ficaram restritos às espécies pertencentes ao antigo grupo *palustris* ou *Oryzomys sensu stricto*, isto é, passando das 43 espécies catalogadas por Musser e Carleton (2005) para as seis espécies (também catalogadas por estes autores) que atualmente fazem parte deste gênero: *Oryzomys couesi*, *O. curasae*, *O. dimidiatus*, *O. gorgasi*, *O. nelsoni* e *O. palustris*. *O. couesi* distribuiu-se desde o extremo sul do Texas (EUA), centro-sul do México, toda a América Central até o noroeste da Colômbia, incluindo a Jamaica, ilha Cozumel e populações alopátricas no sul do estado da Baja Califórnia Sur e centro-oeste do estado de Sonora e tem como sinônimos *albiventer*, *antillarum*, *apatelius*, *aquaticus*, *aztecus*, *azuereensis*, *bulleri*, *cozumelae*, *crinitus*, *fulgens*, *gatunensis*, *goldmani*, *jalapae*, *lambi*, *mexicanus*, *molestus*, *peninsulae*, *peragrus*, *pinicola*, *regillus*, *richardsoni*, *richmondi*, *rufinus*, *rufus*, *teapensis* e *zygomatikus*. *Oryzomys curasae* é uma espécie considerada extinta e de distribuição reconhecida somente para a ilha de Curaçao na Venezuela. *Oryzomys dimidiatus* tem sua distribuição ao sudeste da Nicarágua. *Oryzomys gorgasi* habita as terras baixas do noroeste da Colômbia e noroeste da Venezuela e possui o status de espécie criticamente ameaçada pela IUCN. *Oryzomys nelsoni* tem sua distribuição conhecida somente para a localidade tipo, isto é, na ilha María Madre no estado mexicano de Nayarit, além de ser uma espécie extinta. *Oryzomys palustris* ocorre no sudeste dos Estados Unidos, abrangendo o sudeste do Kansas, sul de Ilínois e sul de Nova Jersey, estendendo-se até o leste e região costeira do Texas e península da Flórida, incluído a Florida Keys. Também foi descrito com os sinônimos *argentatus*, *coloratus*, *natator*, *oryzivora*, *planirostris*, *sanibeli* e *texensis*, além de ser considerada a espécie-tipo para o gênero, descrita como *Mus palustris* por Harlan, 1837. Weksler *et al.* (2006) reconhecem como espécie deste gênero *O. antillarum*, considerada sinonímia de *O. couesi* por Musser e Carleton (2005).

***Pseudoryzomys* Hershkovitz, 1962**

Gênero associado com os phyllotinos por Hershkovitz (1962) e considerado como o membro mais antigo desta tribo por Braun (1993). Todavia, foi excluído dos phyllotinos por Olds e Anderson (1989) e suas características de oryzomyinos elucidadas por Voss e Myers (1991). Formalmente alocado como membro da tribo Oryzomyini por Musser e Carleton (1993). Morfológicamente teve suportado esta classificação (Langguth e Silva Neto, 1993; Stepan, 1995). Filogeneticamente se

coloca como gênero irmão de *Lundomys* e *Holochilus* (Weksler, 2003, 2006). Musser e Carleton (2005) descrevem apenas uma espécie: *Pseudoryzomys simplex* com distribuição no centro-leste da Bolívia, nordeste da Argentina e do oeste do Paraguai ao leste do Brasil (Pernambuco), possui o sinônimo *wavrini*. A espécie-tipo do gênero foi descrita como *Oryzomys wavrini* (= *Hesperomys simplex*).

***Scolomys* Anthony, 1924**

Este gênero foi incluído na tribo Oryzomyini por Reig (1984) e sua afinidade tribal confirmada por Voss e Carleton (1993) e Patton e da Silva (1995). Porém estudos filogenéticos com citocromo *b* não sustentam sua permanência entre os oryzomyinos (Smith e Patton, 1999; D'Elia, 2003), diferentemente do observado com o gene nuclear IRBP, o qual o mantém como membro da tribo (Weksler, 2003, 2006). Musser e Carleton (2005) reconhecem duas espécies: *Scolomys melanops* com distribuição à leste do Equador e nordeste do Peru, que é a espécie-tipo do gênero; e *S. ucayalensis* com distribuição ao sul da Colômbia, nordeste do Peru e extremo oeste do Brasil (Acre e Amazonas), cujo sinônimo é *juruaense*. Estas duas espécies possuem status de ameaçadas pela IUCN.

***Sigmodontomys* Allen, 1897**

Inicialmente nomeado como gênero, posteriormente foi visto com sinônimo de *Nectomys* (Gyldenstolpe, 1932; Ellerman, 1941) e, depois, classificado como subgênero deste por Hershkovitz (1944). Gardner e Patton (1976) transferiram *Sigmodontomys* para subgênero de *Oryzomys*, enquanto Musser e Carleton (1993, 2005) o mantiveram como gênero pleno e reconhecem duas espécies: *Sigmodontomys alfari* com distribuição nas florestas de terras baixas do leste de Honduras até o Panamá, centro e oeste da Colômbia até o noroeste da Venezuela e Equador. Possui *barbacoas*, *efficax*, *esmeraldarum*, *ochraceus*, *ochrinus* e *russulus* como sinônimos. *Sigmodontomys apherastus* com distribuição na província de Chiriqui no oeste do Panamá e na província de Pichincha no centro-norte do Equador é considerada criticamente ameaçada pela IUCN.

***Sooretamys* Weksler *et al.*, 2006**

Gênero proposto por Weksler *et al.* (2006) que abriga apenas uma espécie, *Sooretamys angouya*, espécie esta anteriormente alocada no gênero *Oryzomys* e

convencionalmente conhecida como *O. buccinatus* e/ou *O. ratticeps* (Gyldenstolpe, 1932; Ellerman, 1941; Cabrera, 1961, Musser e Carleton, 1993). Esta espécie distribui-se pelas florestas tropicais e subtropicais úmidas do leste do Brasil (Mata Atlântica) nos estados de Minas Gerais, Espírito Santo, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná, Santa Catarina até o sul do Rio Grande do Sul, além das florestas subtropicais úmidas do leste do Paraguai e norte da Argentina. O cariótipo desta espécie ($2n=58/FN=60$ e par sexual acrocêntrico) é o mesmo em toda a sua área de ocorrência (Andrades-Miranda *et al.*, 2001b). *Sooretamys angouya* tem como sinônimos *anguya*, *buccinatus*, *leucogaster*, *paraganus*, *ratticeps* e *tropicus*. Esta espécie primeiramente foi descrita com a denominação *Mus angouya* por Fischer (1814) e tem sua localidade-tipo à leste do rio Paraguai e a 2,7 km ao norte de San Antonio, Departamento de Misiones, Paraguai. *Sooretamys* pode ser considerado como gênero-irmão de *Cerradomys* (Weksler, 2003, 2006) através de filogenias com marcadores moleculares e morfológicos, sendo anteriormente considerado como membro do grupo *subflavus* do gênero *Oryzomys*, grupo este que atualmente compõe o gênero *Cerradomys*.

***Transandinomys* Weksler *et al.*, 2006**

Este novo gênero abriga duas espécies, *Transandinomys bolivaris* e *T. talamancae*, que pertenciam ao antigo grupo “Transandino” do gênero *Oryzomys* (Musser e Carleton, 2005). *Transandinomys bolivaris* ocorre do leste de Honduras, leste da Nicarágua, Costa Rica e Panamá, indo até ao oeste da Colômbia e centro-oeste do Equador, habitando as florestas úmidas ao nível do mar até 1.800 m. Tem como sinônimos *alleni*, *bombycinus*, *castaneus*, *orinus* e *rivularis*. *Transandinomys talamancae* ocorre nas terras baixas florestadas ao nível do mar até 1.525 m, do noroeste da Costa Rica, Panamá, oeste e centro-norte da Colômbia, oeste do Equador e norte da Venezuela, possuindo os sinônimos *carrikeri*, *magdalenae*, *medius*, *mollipilosus*, *panamensis*, *sylvaticus* e *villosus*. Além disso, é considerada a espécie-tipo do gênero, descrita com a denominação de *Oryzomys talamancae*.

***Zygodontomys* Allen, 1897**

Este gênero foi considerado como membro dos phyllotinos por Hershkovitz (1962), porém esta afinidade foi contestada por outros autores (Hooper e Musser, 1964; Pearson e Patton, 1976; Olds e Anderson, 1989) ou colocado como Sigmodontinae *incertae sedis* (Reig, 1984; Voss, 1991). A classificação em Oryzomyini foi proposta

por Voss e Carleton (1993) e confirmada suas relações tribais por Steppan (1995) e Bonvicino *et al.*, (2003). Musser e Carleton (2005) reconhecem duas espécies: *Zygodontomys brevicauda* com distribuição nas savanas à sudeste da Costa Rica junto ao Panamá, Colômbia, Venezuela e as Guianas e Brasil ao norte do rio Amazonas, também encontrado em Trinidad e Tobago e ilhas menores da plataforma continental adjacentes ao Panamá e Venezuela, também reconhecida como *cherriei*, *fraterculus*, *frustrator*, *griseus*, *microtinus*, *reigi*, *sanctaemartae*, *seorsus*, *soldadoensis*, *stellae*, *thomasi*, *tobagi* e *ventriosus*. Mattevi *et al.* (2002) descreveram dois cariomorfos para esta espécie: $2n=86/FN=96-100$, oriundo de Surumú, Roraima; e $2n=84/FN=96-98$, proveniente de Tartarugalzinho, Amapá. Esta é a espécie-tipo para o gênero, porém foi descrita como *Oryzomys cherriei* (= *Oryzomys brevicauda*). A segunda espécie é *Z. brunneus* que ocorre nos vales intermontanos do norte da Colômbia entre as altitudes de 350 a 1.300 m, possuindo o sinônimo *borreroi*.

1.1.3. Gêneros extintos

Além destes 27 gêneros descritos acima, Musser e Carleton (2005) reconhecem mais dois gêneros extintos para a tribo Oryzomyini. *Megalomys* (Trouessart, 1881) foi um gênero endêmico das Antilhas e suas quatro espécies nominais (*audreyae*, *curazensis*, *desmarestii* e *luciae*) estão extintas, provavelmente devido a causas antropogênicas, porém *M. desmarestii* e *M. luciae* persistiram até meados do século 19. A espécie descrita como espécie-tipo desde gênero é *Mus pilorides* (= *Mus desmarestii*). *Noronhomys* (Carleton e Olson, 1999) é um gênero insular endêmico e tetralofodonte muito próximo de *Holochilus* de acordo com interpretações cladísticas de caracteres craniodentais. Sua única espécie (*N. vespuccii*) está extinta e foi relatada somente para a ilha de Fernando de Noronha, em dunas do final do quaternário.

1.2. Filogenia da tribo Oryzomyini

Apesar de ser uma das maiores tribos dos Sigmodontinae (Hershkovitz, 1966; Gardner e Patton, 1976; Reig, 1980, 1984; Carleton e Musser, 1989) poucos trabalhos sobre as relações filogenéticas têm sido feitos entre os Oryzomyini, principalmente se comparados a estudos feitos em outras tribos de sigmodontinos (Akodontini e Phyllotini, por exemplo).

Hershkovitz (1962) sugeriu que a tribo Oryzomyini apresenta a mais primitiva morfologia entre os Sigmodontinae sul-americanos, proposição esta que,

posteriormente, veio ser reforçada pelas comparações de cariótipos feitas por Gardner e Patton (1976) e Baker *et al.* (1883). É possível que a retenção de características mais primitivas seja o principal impedimento para uma solução fácil tanto das relações da tribo Oryzomyini com as demais tribos de Sigmodontinae, como das afinidades entre seus gêneros.

Baker *et al.* (1983), usando dados cromossômicos, foram os primeiros a investigar as relações entre os gêneros da tribo Oryzomyini. Estes autores analisaram os bandeamentos G e C de 15 espécies e na árvore filogenética gerada, *Holochilus brasiliensis* agrupou-se entre os Orizomyini, posição também ocupada pelo gênero *Nectomys*. Numa re-análise destes dados, Voss e Carleton (1993) encontraram que todos os Orizomyini estudados se agrupam em um mesmo ramo e logo a seguir inserindo-se *Nectomys*, seguido pelo grupo externo.

Steppan (1995) analisou 98 caracteres morfológicos em mais de 50 espécies, amostrando Cricetidae do Velho e do Novo Mundo (três subfamílias: Tylomyinae, Neotominae e Sigmodontinae). Os resultados demonstraram a monofilia da tribo Oryzomyini. Este mesmo resultado foi obtido por Weksler (2006) analisando 99 caracteres morfológicos de 49 espécies da tribo Oryzomyini. Em 1998, Steppan, usando 27 medidas mandíbulo-maxilares de seis espécies da tribo Oryzomyini e duas espécies de *Sigmodon*, fez uma análise cladística esclarecendo as relações filéticas destas espécies. Posteriormente, Steppan e Sullivan (2000) analisaram 51 táxons e 100 caracteres morfológicos. Na árvore consenso obtida pelos autores, os táxons oryzomyinos *Holochilus brasiliensis*, *Pseudoryzomys simplex*, *Zygodontomys brevicauda* e *Nectomys squamipes* agruparam-se em um dos vários ramos da filogenia.

Na última década, além dos caracteres morfológicos, a análise de biomoléculas tem contribuído para esclarecer as relações entre os gêneros de Oryzomyini, principalmente através dos empregos de isozimas e sequenciamento do DNA (mitocondrial e nuclear).

Através de polimorfismos protéicos (isozimas), Dickerman e Yates (1995) analisaram as relações entre cinco espécies de *Oligoryzomys* e mais nove espécies de Oryzomyini. A filogenia obtida pelos autores, gerada através da distância genética de Nei, apresentou principalmente a monofilia do gênero *Oligoryzomys* e a polifilia de *Oryzomys*.

Myers *et al.* (1995), utilizando um fragmento de 401 pb do gene mitocondrial citocromo *b*, analisaram 28 táxons de Sigmodontinae, sendo 23 destes pertencentes à

tribo Oryzomyini. As relações filogenéticas entre os representantes dos Oryzomyini mostraram que, através da análise de máxima parcimônia somente com transversões, estes estão agrupados monofileticamente, porém uma segunda análise de Máxima-parcimônia (transições + transversões) mostra boa parte dos Oryzomyini em politomia com um agrupamento monofilético que reúne representantes das tribos Thomasomyini, Phyllotini e Akodontini. Patton e da Silva (1995), em uma revisão do gênero *Scolomys*, analisaram as relações filogenéticas, utilizando um fragmento de 801 pb do gene mitocondrial citocromo *b*, entre uma nova espécie descrita para este gênero (*S. juruense*) e 16 outras espécies de Oryzomyini, além de duas espécies de Thomasomyini como grupos externos. A árvore resultante da análise de Evolução-mínima (Kimura 2-parâmetros) mostrou que as 17 espécies de Oryzomyini se comportaram de forma monofilética e formaram dois clados. Smith e Patton (1999) investigando as relações filogenéticas entre os roedores Sigmodontinae sul-americanos, utilizaram 12 espécies da tribo Oryzomyini em suas amostras. Neste trabalho foram seqüenciados 1.140 pb do gene mitocondrial citocromo *b* e realizadas análises de Máxima-parcimônia. Desta análise resultou uma árvore na qual os táxons Oryzomyini se agrupam em um ramo de forma monofilética, mas com baixo suporte nodal. *Scolomys juruense*, gênero considerado oryzomyino, se posicionou fora deste agrupamento. Bonvicino e Moreira (2001), através de análises filogenéticas com o gene citocromo *b* em 21 táxons de oryzomyinos, não observaram a monofilia da tribo, e o gênero *Oryzomys* se mostrou polifilético. Já Andrade e Bonvicino (2003), também utilizando citocromo *b*, observaram a monofilia da tribo Oryzomyini.

Weksler (2003, 2006) analisou as relações filogenéticas entre 44 espécies da tribo Oryzomyini. Para estes trabalhos o autor seqüenciou fragmentos de 1.266 pb do primeiro exon do gene nuclear IRBP (Interphotoreceptor Retinoid Binding Protein) e realizou uma análise de Máxima-parcimônia. A árvore resultando apresentou a monofilia da tribo Oryzomyini e a polifilia do gênero *Oryzomys*. A monofilia dos oryzomyinos através do gene IRBP também foi encontrada por D'Elia *et al.* (2006).

Weksler (2006) além de analisar as relações filogenéticas entre espécies da tribo Oryzomyini através de caracteres morfológicos e do gene nuclear IRBP (já citados anteriormente), também analisou estes dados combinados. A análise de Máxima-parcimônia com os dados combinados resultou em uma árvore que, novamente, apresenta a tribo Oryzomyini como um grupo monofilético e *Oryzomys* como um gênero polifilético.

1.3. Filogeografia dos roedores

Estudos populacionais e filogeográficos (considerando a filogeografia, definida por Avise (2000), como um campo que lida com a distribuição histórica e geográfica de linhagens genealógicas (gênicas), especialmente aquelas dentro e entre espécies proximamente relacionadas) têm sido realizados em várias espécies da ordem Rodentia e mesmo em algumas espécies da tribo Oryzomyini.

Dentre os vários trabalhos, podemos citar os realizados por Conroy e Cook (2000) na caracterização da variação genética das populações de *Microtus longicaudus* e o estudo da demografia histórica e estrutura genética de duas espécies-irmãs do gênero *Peromyscus* (Zheng *et al.*, 2003), ambos organismos nativos da América do Norte. Já o trabalho de Van Vuuren *et al.* (2004) trata identificar a variação genética e os padrões geográficos de quatro roedores Neotropicais: *Agouti paca* (Agoutidae), *Dasyprocta leporina* (Dasyproctidae), *Proechimys cayennensis* e *P. cuvieri* (Echimyidae).

A família Echimyidae, um dos grupos mais “speciose” e diversos ecologicamente de roedores caviomorfos, teve a filogeografia de diversos de seus membros amplamente estudados. Além do trabalho de Van Vuuren *et al.* (2004) já citado, a filogeografia de alguns gêneros de echimyideos amazônicos arbóreos foi estudada por da Silva e Patton (1993, 1998), tais gêneros são: *Dactylomys*, *Echimys*, *Isothrix*, *Makalata*, *Mesomys* e *Proechimys*. Matocq *et al.* (2000) analisaram a estrutura genética das populações de duas espécies do gênero *Proechimys* (*P. simonsi* e *P. steerei*) e Lara e Patton (2000) estudaram a diversificação evolutiva do gênero *Trinomys* na Mata Atlântica.

Smith *et al.* (2001) estudaram a história biogeográfica, através de dados genéticos, do complexo *olivaceus/xanthorhynus* do gênero *Abrothryx*, membro da família Cricetidae e da subfamília Sigmodontinae.

Com relação à tribo Oryzomyini, Chiappero *et al.* (1997), através de isozimas, analisaram o fluxo gênico de sete populações na Argentina de *Oligoryzomys flavescens* e observaram um alto fluxo entre as populações localizadas mais ao norte com as mais ao sul, ocasionando uma baixa diferenciação genética entre elas. Além deste, outros trabalhos com espécies do gênero *Oligoryzomys* também apresentaram baixas diferenciações genéticas entre populações, tais como de Perini *et al.* (2004) analisando o polimorfismo enzimático de *O. flavescens* e *O. nigripes* e os estudos filogeográficos com *O. microtis* (Patton *et al.*, 1996) e *O. longicaudatus* (Palma *et al.*, 2005), ambos com o gene citocromo *b*.

Perini *et al.* (2004), além de analisarem duas espécies de *Oligoryzomys*, também estudaram o polimorfismo enzimático de populações de *Oryzomys angouya* (= *Sooretamys angouya*) e *O. russatus* (= *Euryoryzomys russatus*). Estudos filogeográficos com outras espécies da tribo Oryzomyini foram realizados: *Oryzomys capito*, atual *Hylaeamys perenensis* (Patton *et al.*, 1996); *Oryzomys megacephalus*, atual *Hylaeamys megacephalus* (Patton *et al.*, 2000; Costa, 2003); *Hylaeamys yunganus* (= *Oryzomys yunganus*), *Euryoryzomys macconnelli* (= *Oryzomys macconnelli*) e *Oecomys* (Patton *et al.*, 2000). Estes estudos revelam interessantes padrões de estrutura de populações e filogeográficos que podem levar a resultados promissores sobre a biogeografia histórica da América do Sul.

OBJETIVOS

Considerando principalmente:

- a recente e ampla reformulação da classificação da taxonomia ocorrida na tribo Oryzomyini, com a descrição de 10 novos gêneros;
- que as relações filogenéticas entre suas espécies têm sido investigadas de forma esporádica e com intensidades diferentes entre seus táxons;
- que a história natural, bem como a quantificação de sua variabilidade genética e a filogeografia de seus componentes, na maior parte, são pouco conhecidas.

Tivemos como objetivos nesta tese, utilizando seqüências dos genes mitocondrial citocromo *b* e nuclear IRBP:

- Comprovar a validade das mudanças recentes propostas na classificação da tribo. Sendo que esta validação passou pela observação do caráter monofilético de cada um dos novos gêneros e dos gêneros previamente reconhecidos;
- Analisar as relações filogenéticas entre as espécies da tribo Oryzomyini;
- Estudar a filogenia e a filogeografia de um dos táxons da tribo, o gênero *Oligoryzomys*, e tentar traçar a rota de ocupação deste táxon nos ambientes sul-americanos;
- Examinar a filogeografia e as estruturas genéticas das populações de seis espécies da tribo Oryzomyini (*Euryoryzomys russatus*, *Hylaeamys megacephalus*, *Oligoryzomys flavescens*, *O. moojeni*, *O. nigripes* e *Sooretamys angouya*);
- Com estes dados, fornecer subsídios para a elaboração de programas de conservação e manejo destas espécies e dos respectivos biomas que habitam, quando for o caso.

ARTIGO 1: em preparação

As relações filogenéticas entre 25 gêneros da tribo Oryzomyini (Rodentia, Sigmodontinae): uma análise bayesiana com os genes citocromo *b* e IRBP.

Miranda, G.B.¹, Andrades-Miranda, J.¹, Oliveira, L.F.B.², Langguth, A.³ e Mattevi, M.S.^{1,4}

¹Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil

²Museu Nacional, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil

³Deptº de Ecologia e Sistemática, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Brasil

⁴Programa de Pós-Graduação em Genética e Toxicologia Aplicada, Universidade Luterana do Brasil, Canoas, Brasil

Resumo

A tribo Oryzomyini de roedores Neotropicais pertence à superfamília Muroidea, família Cricetidae e subfamília Sigmodontinae. Em revisão recente foram reconhecidos 16 gêneros para esta tribo. No entanto, artigo de 2006 que levou em conta as relações polifiléticas que são encontradas dentro da tribo e em busca de uma classificação monofilética de seus gêneros, foram propostos e descritos 10 novos gêneros oryzomyinos. Por outro lado, a monofilia da tribo Oryzomyini, embora bem suportada em algumas análises realizadas em outros trabalhos, não foi comprovada por alguns autores. Neste artigo foram feitas análises bayesianas das seqüências dos genes citocromo *b* e IRBP de 73 espécimes de 25 do total de 27 gêneros atuais propostos à tribo, objetivando testar a monofilia desta, dos antigos e dos 10 novos gêneros recentemente propostos. Além de tentar esclarecer as relações filogenéticas entre os mesmos. Os resultados demonstraram ser a tribo monofilética e as três análises bayesianas realizadas mostraram, na sua maioria, que os gêneros da tribo Oryzomyini, tanto os antigos como os novos, são monofiléticos. Desta forma validando a nova proposta classificatória feita.

Introdução

A tribo Oryzomyini de roedores Neotropicais pertence à superfamília Muroidea, família Cricetidae e subfamília Sigmodontinae. O primeiro autor a estabelecer a noção de tribos dentro da subfamília Sigmodontinae foi Vorontsov (1959), e Reig (1980, 1984 e 1986) definiu as espécies incluídas em cada uma destas tribos. Mas os roedores Oryzomyini

foram definitivamente caracterizados por Voss e Carleton (1993) a partir de cinco sinapomorfias: ausência de vesícula biliar, presença de um par peitoral de mamas, ausência de cobertura timpânica, ausência de barra do alisfenóide e um palato longo. Além disso, Hershkovitz (1962) já havia sugerido que esta tribo teria a mais primitiva morfologia entre os Sigmodontinae sul-americanos, proposição esta que, posteriormente, veio ser reforçada pelas comparações cariológicas feitas por Gardner e Patton (1976) e Baker *et al.* (1883). É possível que a retenção destas características primitivas tenha sido o principal impedimento para uma solução fácil tanto das relações dos Oryzomyini com as demais tribos de Sigmodontinae, como das afinidades entre seus gêneros.

O número de gêneros pertencentes à tribo Oryzomyini já foi muito variável desde 11 a 27, dependendo do autor (Reig, 1986; McKenna e Bell, 1997; Smith e Patton, 1999; Musser e Carleton, 2005; Weksler *et al.*, 2006). Também o número de espécies alocadas nesta tribo variou de 90 a 120, sendo esta discrepância devida, principalmente, à inclusão ou retirada de gêneros de tribos mais ou menos relacionadas. Em sua recente revisão Musser e Carleton (2005) reconhecem 16 gêneros para a tribo Oryzomyini, esta classificação tendo por base principalmente os resultados das análises moleculares realizadas por Smith e Patton (1999). No entanto, recentemente Weksler *et al.* (2006), levando em conta as relações polifiléticas que encontraram dentro tribo pela análise do gene nuclear IRBP (Weksler, 2003, 2006) e em busca de uma classificação monofilética propõem e descrevem 10 novos gêneros para esta tribo. A proposta destes novos gêneros foi feita a partir da realocação nos mesmos de espécies do polifilético gênero *Oryzomys* e pela re-inclusão do gênero *Scolomys* na tribo Oryzomyini, antigo gênero oryzomyino que tinha sido excluído desta tribo na análise feita por Smith e Patton (1999). Desta forma, atualmente a tribo Oryzomyini contém cerca de 120 espécies descritas, alocadas em 27 gêneros, compreendendo cerca de 35% das espécies de Sigmodontinae.

A monofilia da tribo Oryzomyini, embora bem suportada nas análises realizadas por Patton e da Silva (1995), Stepan (1995), Weksler (2003, 2006) e D'Elia *et al.* (2006), em outros trabalhos, porém, não fica evidenciada (Myers *et al.*, 1995; Smith e Patton, 1999; Bonvicino e Moreira, 2001).

Diversos estudos sobre as relações filogenéticas entre algumas espécies da tribo Oryzomyini foram feitos através de diferentes métodos genéticos, como bandeamentos C e G (Baker *et al.*, 1983), caracteres morfológicos (Stepan, 1995, 1998; Weksler,

2006), polimorfismos de isozimas (Dickerman e Yates, 1995, Perini *et al.*, 2004) e seqüenciamento dos genes *cyt-b* (Myers *et al.*, 1995; Patton e da Silva, 1995; Smith e Patton, 1999; Bonvicino e Moreira, 2001) e IRBP (Weksler, 2003, 2006; D'Elia *et al.*, 2006). Todavia, os resultados obtidos na maioria destes trabalhos foram ou inconclusivos ou contraditórios ou porque privilegiaram apenas alguns grupos específicos de táxons oryzomyinos ou porque utilizaram em suas análises um número pequeno de representantes da tribo. As exceções foram os trabalhos de Weksler (2003, 2006) com o gene IRBP que analisaram os 16 gêneros (num total de 49 táxons) na época propostos pertencerem à tribo (15 gêneros de acordo com Musser e Carleton, 2005, quando não se inclui *Scolomys*).

Neste trabalho foram feitas análises bayesianas das seqüências dos genes *cyt-b* e IRBP de 73 espécimes de 25 do total de 27 gêneros atuais propostos à tribo Oryzomyini, objetivando testar a monofilia da tribo, dos antigos e dos 10 novos gêneros recentemente propostos bem como tentar esclarecer as relações filogenéticas entre os mesmos.

Materiais e Métodos

Espécies analisadas

Foram feitas análises bayesianas utilizando seqüências dos genes mitocondrial citocromo *b* (*cyt-b*) e nuclear “interphotoreceptor retinoid binding protein” (IRBP) (Tabela 1) de 73 táxons da tribo Oryzomyini e de quatro espécies usadas como “outgroups”: *Notiomys edwardsii* (Sigmodontinae; Akodontini), *Sigmodon hispidus* (Sigmodontinae; Sigmodontini), *Peromyscus truei* (Neotominae) e *Mus musculus* (Muridae).

Os DNAs foram extraídos de coração ou rim (estocados à -20°C ou em etanol 70%) utilizando o protocolo descrito por Medrano *et al.* (1990). As seqüências do gene *cyt-b* foram amplificadas via reação em cadeia da polimerase (PCR) usando os “primers” MVZ 05 (light-strand) e MVZ 16 (heavy-strand) como sugerido por Smith e Patton (1993) e as seqüências de IRBP, usando os “primers” A1 (light-strand) e F (heavy-strand) segundo Weksler (2003). Os produtos da PCR foram purificados com exonuclease I e shrimp alkaline phosphatase (Amersham Biosciences) e seqüenciados diretamente dos produtos purificados da PCR, utilizando os “primers” citados anteriormente e o “ABI Prism BigDye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit” (Perkin Elmer Applied Biosystems), de acordo com as instruções do fabricante.

Seqüências de ambas as fitas foram feitas através do seqüenciador automático ABI Prism 3100 (Applied Biosystems). Todas as seqüências estão depositadas no GenBank.

Análises dos dados

As seqüências foram alinhadas usando o programa Clustal X 1.83 (Thompson *et al.*, 1997) e manualmente revisada com a ajuda do programa BIOEDIT (Hall, 1999). A curva de saturação foi obtida através do programa “Data Analysis in Molecular Biology and Evolution” (DAMBE; Xia e Xie, 2001). A composição de bases e a distância genética através do método de Kimura 2-parâmetros (K2p) (Kimura 1980) foram obtidos com o programa “Molecular Evolution Genetics Analysis” (MEGA 3; Kumar *et al.*, 2004).

As análises bayesianas dos dados foram feitas utilizando o programa MrBayes v.3.0b4 (Huelsenbeck e Ronquist, 2001) usando o método “Markov chain Monte Carlo” (MCMC). Nenhuma suposição a “priori” sobre a topologia da árvore foi feita e todas as buscas foram realizadas uniformemente. Os modelos de substituições de DNA usados foram estimados a partir do MODELTEST (Posada e Crandall, 1998). Os processos MCMC foram ajustados de modo que quatro cadeias fossem geradas simultaneamente para três milhões de gerações. Nós excluímos as primeiras 100.000 gerações e, para calcular a probabilidade posterior (PP) de cada bipartição, uma árvore consenso (50% majority-rule) foi construída a partir das árvores restantes usando o PAUP* v.4.0b10 (Swofford, 2001).

O teste de incongruência foi realizado para detectar a presença de caracteres conflitantes entre os genes *cyt-b* e IRBP, como descreveram Farris *et al.* (1994, 1995) e implementado no software WINCLADA v.0.9.9+ (BETA) (Nixon, 1999).

Resultados

Características das seqüências

As seqüências com o gene citocromo *b* mostraram um grande desequilíbrio na proporção das bases nitrogenadas, com um marcado déficit de guanina ($\chi^2=62,16$; $p<0,001$), principalmente na terceira posição do códon ($\chi^2=274,26$; $p<0,001$; Tabela 2). Em um fragmento de 801 pb analisado estas seqüências apresentaram 377 sítios variáveis, dos quais 83 correspondem à primeira posição, 31 à segunda posição e 263 à terceira posição do códon. A distância genética média (K2p) entre as espécies da tribo Oryzomyini utilizando somente o gene *cyt-b* foi de 17,68%.

Já em um fragmento de 745 pb do gene IRBP, as seqüências não mostraram desvios na distribuição total das bases nitrogenadas ($\chi^2=7,74$; $p>0,05$). Todavia, quando se analisa as posições do codon em separado, se observa um déficit de timina na primeira posição ($\chi^2=93,14$; $p<0,001$), de guanina na segunda posição ($\chi^2=29,20$; $p<0,001$) e de adenina na terceira posição do códon ($\chi^2=48,87$; $p<0,001$; Tabela 2). Nestas seqüências foram observados 249 sítios variáveis, sendo 59 na primeira posição, 30 na segunda posição e 160 na terceira posição do códon. A distância genética média (K2p) entre as espécies da tribo Oryzomyini utilizando este gene foi de 2,71%.

As curvas de saturação (Apêndice) obtidas nos dois genes não indicaram evidências de substituições múltiplas (saturação) nas posições dos códons, indicando a existência de sinais filogenéticos entre os táxons mais divergentes (“outgroups” + “ingroups”) desta análise. O teste de incongruência não detectou a presença de caracteres conflitantes entre os genes *cyt-b* e IRBP ($p<0,05$), permitindo a análise dos dois genes concatenados num total 1.546 pb.

Análise filogenética

Neste trabalho foram obtidas três árvores filogenéticas através da análise bayesiana, as duas primeiras utilizando somente os genes *cyt-b* (Fig. 1) e IRBP (Fig. 2), respectivamente, e a terceira apresentando a análise dos dois genes concatenados (Fig. 3).

A Figura 1 representa uma árvore consenso da análise bayesiana na qual somente o gene *cyt-b* foi analisado. Nesta árvore estão presentes 55 táxons (16 gêneros) da tribo Oryzomyini e mais as quatro espécies utilizadas como “outgroups”. O caráter monofilético da tribo é evidenciado por um suporte nodal de 99%. Na árvore gerada observa-se que os Oryzomyini dividem-se em quatro clados distintos. O clado mais basal (nodo A) é formado, com alto PP (100%) por três espécies do gênero *Scolomys* em seqüência (*S. melanops* (*S. juruense* + *S. ucayalensis*)). Os demais clados (nodo B) se apresentam em politomia e com suporte nodal de valor não muito alto (um pouco mais que 60%). O primeiro deles (nodo C) agrupa, com PP de 100%, quatro espécies do gênero *Cerradomys* (*C. maracajuensis* + *C. marinhus* e *C. scotti* + *C. subflavus*). No segundo ramo (nodo D, formado com baixo PP e por seis gêneros) se destaca a monofilia (PP de 95%) do gênero *Oecomys*, representado por oito espécies nesta análise. Incluem-se também neste ramo (nodo D) cinco espécies do gênero *Euryoryzomys* três delas agrupadas em seqüência (*E. russatus* (*E. lamia* + *E. nitidus*)) e

as outras duas (*E. emmonsae* e *E. macconnelli*) em politomia com este grupo. Outro gênero que se inclui neste ramo (nodo D) é *Hylaeamys* que se mostrou polifilético, apresentado cinco espécies em seqüência (*H. perenensis* (*H. megacephalus* (*H. acritus* (*H. laticeps* + *H. seuanezi*)))) num grupo monofilético e *H. yunganus* posicionada em um agrupamento distinto. Também fazem parte do nodo D os táxons *Handleyomys alfaroi*, *Nephelomys albigularis* e *Zygodontomys* sp. O último clado (nodo E, cerca de 85% de PP) se divide em dois subclados, sendo que o primeiro (PP de 94%) apresenta três grupos monofiléticos, um deles tendo *Sooretamys angouya* como grupo-irmão do gênero *Holochilus*, no outro *Nesoryzomys fernandinae* como espécie-irmã do gênero *Oryzomys* e o último (PP de 100%) incluindo apenas espécies do gênero *Nectomys*. Já o segundo subclado (com 99% de suporte nodal) mostra *Microryzomys minutus* como espécie-irmã do gênero *Neacomys*, agrupados monofileticamente em um ramo basal aos 13 táxons do gênero *Oligoryzomys*.

A Figura 2 apresenta a árvore consenso de 49 táxons (25 gêneros) da tribo Oryzomyini analisadas somente com o gene IRBP. Nesta árvore fica também evidenciado o caráter monofilético da tribo (99%). Igualmente nesta análise, o gênero *Scolomys* (*S. ucayalensis*) foi o táxon mais basal dentre os Oryzomyini, porém neste caso, o gênero *Zygodontomys* (*Z. brevicauda* + *Z. cherriei*) se encontra em politomia juntamente com *Scolomys*. Os demais táxons da tribo estão agrupados em dois grandes clados, nos quais se destacam as monofilias daqueles gêneros que contém mais de uma espécie analisada. O primeiro clado (nodo A; quase 100% de PP) é constituído por uma politomia com cinco ramos: *Oecomys*, *Euryoryzomys*, *Handleyomys*, *Hylaeamys* e *Nephelomys*. Semelhantemente aos resultados obtidos com *cyt-b* (Fig. 1; nodo D) nota-se o agrupamento de todas as espécies do gênero *Oecomys* em um mesmo ramo e com alta monofilia (PP de 97%). Ao contrário do que ocorreu na análise com o gene *cyt-b*, pelos resultados de IRBP todas as três espécies do gênero *Euryoryzomys* se agrupam monofileticamente, grupo ao qual *Transandinomys talamancae* se posicionou como espécie-irmã. O gênero *Hylaeamys* (*H. megacephalus* + *H. yunganus*), também se mostrou monofilético. Esta mesma condição é observada no gênero *Handleyomys* no qual suas três espécies dispõem-se em seqüência (*H. intectus* (*H. alfaroi* + *H. rostratus*)). A espécie *Nephelomys albigularis* ocupa o último ramo desta politomia. O segundo clado (nodo B; PP de 100%) apresenta três espécies de *Neacomys* (*N. spinosus* (*N. minutus* + *N. musseri*)) agrupadas em sua base e não tendo *Microryzomys* como gênero-irmão, observado na análise com *cyt-b* (Fig. 1; nodo E). Os demais táxons do

clado B formam uma grande politomia, constituída de 16 gêneros oryzomyinos. Nesta politomia nota-se que *Cerradomys* se inclui de forma monofilética, em vez de formar um ramo independente como observado na árvore de *cyt-b* (Fig.1; nodo C). O gênero *Oligoryzomys*, com sete espécies investigadas molecularmente, também encontra-se em monofilia. Tal como observado na análise com *cyt-b* as duas espécies de *Holochilus* agruparam-se, sendo *Pseudoryzomys simplex* sua espécie-irmã, ao contrário da outra análise em que *Sooretamys angouya* foi o táxon que ocupou esta posição. Em um outro ramo desta politomia estão agrupadas nove espécies de sete gêneros, no qual o gênero *Oryzomys* (*O. couesi* + *O. palustris*) se apresenta na posição mais basal, seguido sucessivamente por *Aegialomys xantheolus* e *Amphinectomys* + *Nectomys*, seguidos por dois grupos-irmãos: o monofilético gênero *Nesoryzomys* (*N. narboroughi* + *N. swarthi*) e *Melanomys* + *Sigmodontomys*. Também fazem parte deste clado B, posicionadas em ramos distintos e em politomia, as espécies: *Eremoryzomys polius*, *Lundomys molitor*, *Microryzomys minutus*, *Oreoryzomys balneator* e *Sooretamys angouya*.

A Figura 3 apresenta a árvore consenso da análise bayesiana dos genes *cyt-b* e IRBP concatenados, na qual foram utilizados 30 táxons da tribo Oryzomyini. A topologia da árvore obtida quando dos dois genes em conjunto, de modo geral, é mais semelhante àquela gerada pelo gene IRBP, porém algumas das relações filogenéticas entre os táxons refletem mais os dados advindos da análise do gene *cyt-b*. Como nas demais análises (Fig. 1 e 2) a monofilia da tribo novamente é bem suportada (PP de 100%), o gênero *Scolomys* (*S. ucayalensis*) aparece na posição mais basal da tribo e os demais táxons se agrupam em dois grandes clados. No primeiro clado (nodo A; PP de 100%) observa-se *Handleyomys alfaroi* e *Nephelomys albigularis* como espécies-irmãs e ocupando o ramo basal do clado, seguidas por duas espécies do gênero *Hylaeamys* (*H. megacephalus* + *H. yunganus*). Este clado também apresenta a monofilia de *Euryoryzomys* (três espécies) e *Oecomys* (cinco espécies). Estes mesmos cinco gêneros compartilham o mesmo clado nas análises tanto com *cyt-b* como com IRBP (Fig. 1 e 2, respectivamente). O segundo clado (nodo B; PP de 100%) mostra 17 espécies de Oryzomyini agrupadas em outros dois clados. O primeiro destes, com PP de 82%, tem como gênero basal *Oryzomys*, seguido por *Nectomys squamipes* e pelo monofilético gênero *Holochilus* (*H. brasiliensis* + *H. chacarius*). Este clado inclui, por último, o agrupamento de três espécies em seqüência (*Sooretamys angouya* (*Cerradomys scotti* + *C. subflavus*)), agrupamento este que foi observado somente na análise dos dois genes

concatenados. O segundo clado (PP de 100%) apresenta *Microryzomys minutus* e *Neacomys spinosus* juntos e ocupando a posição basal a um ramo monofilético constituído por sete espécies do gênero *Oligoryzomys*, repetindo a mesma relação encontrada na análise apenas com *cyt-b* (Fig. 1).

Discussão

A monofilia da tribo Oryzomyini foi observada através de filogenias geradas a partir de caracteres morfológicos (Steppan, 1995; Weksler, 2006) e com análises de seqüências dos genes *cyt-b* (Patton e da Silva, 1995) e IRBP (Weksler, 2003, 2006; D'Elia *et al.*, 2006). Porém, como foi relatado por Musser e Carleton (2005), o caráter monofilético da tribo não foi compartilhado por outros autores, os quais, através de análises filogenéticas com o gene *cyt-b*, não obtiveram índices de confiança suficientes para a comprovação desta monofilia (Myers *et al.*, 1995; Smith e Patton, 1999; Bonvicino e Moreira, 2001; Bonvicino *et al.*, 2003). Já os resultados deste trabalho, tanto com os genes *cyt-b* e IRBP (Fig. 1 e 2, respectivamente) como com os dois genes concatenados (Fig. 3), confirmam a monofilia da tribo Oryzomyini através de altos valores de probabilidades posteriores das análises bayesianas realizadas.

Os gêneros pertencentes à tribo Oryzomyini, na sua maioria, apresentam-se monofiléticos em várias análises filogenéticas, tanto com caracteres morfológicos como com marcadores moleculares, exceto os gêneros *Oryzomys* (Dickerman e Yates, 1995; Myers *et al.*, 1995; Patton e da Silva, 1995; Steppan, 1995; Bonvicino e Moreira, 2001; Andrade e Bonvicino, 2003; Weksler, 2003, 2006) e *Sigmodontomys* (Weksler, 2006), os quais não se mostraram monofiléticos. Devido ao caráter polifilético do gênero *Oryzomys*, Weksler *et al.* (2006) realocaram as espécies deste gênero em 10 novos gêneros e colocaram as espécies do grupo “*alfaroi*” no gênero *Handleyomys*. A nomenclatura *Oryzomys* foi mantida apenas para as espécies do grupo “*palustris*”. Os resultados das três análises bayesianas realizadas neste artigo (Fig. 1, 2 e 3) mostraram, na sua maioria, que os gêneros da tribo Oryzomyini, tanto os antigos como os novos, são monofiléticos desta forma validando a nova proposta classificatória feita por Weksler *et al.* (2006).

A exceção se deu com o novo gênero *Hylaeamys* que se mostrou polifilético na análise com o gene *cyt-b* (Fig. 1), onde cinco espécies se agruparam em um único clado e a espécie *H. yunganus* se posicionou em um outro clado. Bonvicino e Moreira (2001) e Andrade e Bonvicino (2003), em análises com *cyt-b*, também observaram que

Oryzomys yunganus não se encontrava em monofilia com as outras espécies de *Oryzomys* pertencentes ao grupo “*megacephalus*”, grupo este que hoje representam o gênero *Hylaeamys*. Todavia, *Hylaeamys* apresentou-se monofilético nas análises com o gene IRBP isolado e *cyt-b* e IRBP concatenados (Fig. 2 e 3, respectivamente), mesmo resultado obtido por Weksler (2003, 2006) somente com IRBP.

Nas três análises, *Scolomys* mostrou ser o mais basal entre os gêneros da tribo Oryzomyini. Esta posição basal de *Scolomys*, juntamente com *Zygodontomys*, também foi observada por Weksler (2003, 2006) e D’Elia *et al.* (2006) em análises filogenéticas com o gene IRBP, porém esta posição não foi compartilhada em análises realizadas com *cyt-b* (Patton e da Silva, 1995; Smith e Patton, 1999). Além disso, Smith e Patton (1999) classificam *Scolomys* como um gênero de linhagem única, isto é, fora da tribo Oryzomyini.

Os gêneros monofiléticos que tiveram os maiores suportes nodais nas três análises realizadas neste trabalho e que também foram observados por outros autores foram: *Cerradomys* (Bonvicino e Moreira, 2001; Andrade e Bonvicino, 2003; ainda com a denominação *Oryzomys* grupo “*subflavus*”), *Holochilus* (Weksler, 2003, 2006), *Oecomys* (Patton e da Silva, 1995; Smith e Patton, 1999; Andrade e Bonvicino, 2003; Weksler, 2003, 2006), *Oligoryzomys* (Dickerman e Yates, 1995; Myers *et al.*, 1995; Patton e da Silva, 1995; Bonvicino e Moreira, 2001; Weksler, 2003, 2006) e *Oryzomys* (Weksler, 2003, 2006; como grupo “*palustris*”).

Com relação à agrupamentos que foram observados entre grupos de gêneros, o grupo *Microryzomys* e *Neacomys* com *Oligoryzomys* encontrada nas análises com *cyt-b* (Fig. 1) e com os genes concatenados (Fig. 3) também foi observado por Dickerman e Yates (1995) através de polimorfismos de isozimas e por D’Elia *et al.* (2006) com o gene IRBP. Além disso, a relação de gêneros-irmãos entre *Microryzomys* e *Neacomys* também foi mostrado em outras análises filogenéticas (Myers *et al.*, 1995; Patton e da Silva, 1995; Bonvicino e Moreira, 2001).

Também nas três análises realizadas (Fig. 1, 2 e 3), outro agrupamento formado foi entre as espécies dos gêneros *Euryoryzomys*, *Handleyomys*, *Hylaeamys*, *Nephelomys* e *Oecomys* que apresentam relações filogenéticas próximas, apresentando-se sempre dentro de um mesmo clado. Esta mesma relação foi observada por outros autores (Bonvicino e Moreira, 2001; Weksler, 2003, 2006; D’Elia *et al.*, 2006). Outro grupo formado foi aquele com representantes dos gêneros *Nectomys*, *Nesoryzomys* e *Oryzomys*, os quais se reuniram em um mesmo clado nas análises com *cyt-b* e IRBP

(Fig. 1 e 2, respectivamente). Já na análise com os dois genes concatenados (Fig. 3), apenas espécies de *Nectomys* e *Oryzomys* encontram-se em um mesmo clado, porém o gênero *Nesoryzomys* não pode ser utilizado nesta análise. As relações entre estes gêneros também foram observadas em análises realizadas por Stepan (1995), Smith e Patton (1999), Weksler (2003, 2006) e D'Elia *et al.* (2006).

Weksler (2006) classifica os gêneros da tribo Oryzomyini em três categorias biogeográficas quanto as suas distribuições. A distribuição Trans-Andina inclui os táxons primariamente distribuídos à oeste dos Andes. A distribuição Andina inclui os táxons encontrados apenas nos habitats andinos, usualmente em ambos os lados da cordilheira e acima dos 1.500-2.000 metros. A distribuição Cis-Andina abrange os táxons endêmicos aos biomas à leste dos Andes. Além disso, existem gêneros que não se incluem nestas categorias por possuírem espécies distribuídas em mais de uma categoria.

Em nossas análises os gêneros que se mostraram exclusivamente Cis-Andinos foram: *Amphinectomys*, *Cerradomys*, *Eremoryzomys*, *Euryoryzomys*, *Holochilus*, *Hylaeamys*, *Lundomys*, *Neacomys*, *Nectomys*, *Oecomys*, *Pseudoryzomys*, *Scolomys* e *Sooretamys*. Exclusivamente Andinos: *Microryzomys*, *Nephelomys* e *Oreoryzomys*. E exclusivamente Trans-Andinos: *Aegialomys*, *Melanomys*, *Nesoryzomys*, *Oryzomys*, *Sigmodontomys* e *Transandinomys*. Como demonstrado nas Figuras 1, 2 e 3, a maioria das espécies da tribo Oryzomyini possuem distribuição Cis-Andina. Porém não se observa relação entre os agrupamentos de espécies e gêneros com suas categorias biogeográficas, isto é, em um mesmo clado encontramos táxons de mais de uma categoria, sendo a combinação mais comum Trans-Andinos e Cis-Andinos.

A deficiência de guanina observada nas seqüências de *cyt-b*, principalmente na terceira posição do códon, também está presente em outros trabalhos com roedores e outros mamíferos (Bibb *et al.*, 1981; Irwin *et al.*, 1991; Myers *et al.*, 1995; D'Elia, 2003). O desequilíbrio de bases encontrado nas três posições dos códons, também foi observado por Myers *et al.* (1995). Quanto à composição total de bases com o gene IRBP, D'Elia (2003) e Weksler (2003) também não encontraram desvio significativo. Porém, quando cada posição dos códons foi analisada separadamente, as deficiências de timina, guanina e adenina na primeira, segunda e terceira posições do códon, respectivamente, encontradas neste trabalho, também foram observadas por D'Elia (2003) e Weksler (2003).

A distância genética média (K2p) observada entre os membros da tribo Oryzomyini quando analisados apenas com *cyt-b* (17,68%), ficou dentro da variação (12 a 26%) encontrada por Myers *et al.* (1995) para três diferentes tribos da subfamília Sigmodontinae (Akodontini, Phyllotini e Oryzomyini) e próxima da distância genética média entre as três tribos (19%). A distância genética média entre os membros da tribo quando analisados apenas com o gene IRBP (2,71%), além de demonstrar a maior conservação deste gene nuclear em comparação ao gene mitocondrial, ficou muito próxima da média de 2,8% encontrada por Weksler (2003) entre as espécies da tribo Oryzomyini.

Os dados deste artigo mostraram ser válida a nova proposta classificatória feita à tribo Oryzomyini já que a totalidade dos novos táxons mostrou-se monofilética, status também alcançado pelos antigos gêneros. As análises das relações entre seus táxons revelaram a formação de grupos naturais de espécies, a maior parte deles já evidente em outras análises. Os suportes das relações entre estes grupos necessitam ser investigadas por outros métodos de análise filogenéticas, bem como devem ser esclarecidos seus tempos de divergências e suas relações filogeográficas.

Referências

- Amman, B.R.; Hanson, J.D.; Longhofer, L.K.; Hooper, S.R. e Bradley, R.D. 2006. Intron 2 (*Adh1-I2*) of the alcohol dehydrogenase gene: a potencial nuclear DNA phylogenetic marker for mammals. Occasional Papers, Museum of Texas Tech University **256**: 1-16.
- Baker, R.J.; Koop, B.F. e Haiduk, M.W. 1883. Resolving systematic relationships with G bands: a study of five genera of South American cricetine rodents. Syst. Zool. **32**: 403-416.
- Bibb, M.J.; Van Etten, R.A.; Wright, C.T.; Walberg, M.W. e Clayton, D.A. 1981. Sequence and gene organization of mouse mitochondrial DNA. Cell **26**: 167-180.
- Bonvicino, C.R. e Moreira, M.A.M. 2001. Molecular Phylogeny of the Genus *Oryzomys* (Rodentia: Sigmodontinae) Based on Cytochrome *b* DNA Sequences. Mol. Phylogenet. Evol. **18**: 282-292.
- Bonvicino, C.R.; Maroja, L.S.; Oliveira, J.A. de e Coura, J.R. 2003. Karyology and morphology of *Zygodontomys* (Rodentia, Sigmodontinae) from the Bazilian Amazon, with a molecular appraisal of phylogenetic relationships of this genus. Mammalia **67**: 119-131.

- Carleton, M.D. e Musser, G.G. 1989. Systematic studies of oryzomyine rodents (Muridae, Sigmodontinae): a synopsis of *Microryzomys*. Bull. Am. Mus. Nat. Hist. **191**: 1-83.
- Carroll, D.S.; Mills, J.N.; Montgomery, J.M.; Bausch, D.G.; Blair, P.J.; Burans, J.P.; Felices, V.; Gianella, A.; Iihoshi, N.; Nichol, S.T.; Olson, J.G.; Rogers, D.S.; Salazar, M. e Ksiazek, T.G. 2005. Hantavirus pulmonary syndrome in Central Bolivia: relationships between reservoir hosts, habitats, and viral genotypes. Am. J. Trop. Med. Hyg. **72**: 42-46.
- D'Elia, G. 2003. Phylogenetics of Sigmodontinae (Rodentia, Muroidea, Cricetidae), with Special Reference to the akodont group, and with Additional Comments on Historical Biogeography. Cladistics **19**: 307-323.
- D'Elia, G.; Luna, L.; González, E.M. e Patterson, B.D. 2006. On the Sigmodontinae radiation (Rodentia, Cricetidae): an appraisal of the phylogenetic position of *Rhagomys*. Mol. Phylogenet. Evol. **38**: 558-564.
- Dickerman, A.W. e Yates, T.L. 1995. Systematics of *Oligoryzomys*: protein-electrophoretic analyses. J. Mammal. **76**: 172-188.
- Emmons, L.H. e Patton, J.L. 2005. A new species of *Oryzomys* (Rodentia: Muridae) from eastern Bolivia. Am. Mus. Novitates **3478**: 1-26.
- Farris, J.S.; Källersjö, M., Kluge, A.G. e Bult, C. 1994. Testing significance of incongruence. Cladistics **10**: 315-319.
- Farris, J.S.; Källersjö, M., Kluge, A.G. e Bult, C. 1995. Constructing a significance test for incongruence. Syst. Biol. **44**: 570-572.
- Gardner, A.L. e Patton, J.L. 1976. Karyotypic variation in chromosomal evolution in the Neotropical cricetine complex. Occasional Papers of the Museum of Zoology, Louisiana State University **49**: 1-48.
- Gómez-Laverde, M.; Anderson, R.P. e Garcia, L.F. 2004. Integrated systematic reevaluation of the Amazonian genus *Scolomys* (Rodentia: Sigmodontinae). Z. Säugetierkd. **69**: 119-139.
- Hall, T.A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. Nucleic Acids Symposium Serie **41**: 95-98.
- Hershkovitz, P. 1962. Evolution of Neotropical cricetine rodents (Muridae), with special reference to the Phyllotini group. Fieldiana: Zoology **46**: 1-524.

- 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. Säugetierkd.* **31**: 81-149.
- Huelsenbeck, J.P. e Ronquist, F. 2001. Mr. Bayes: Bayesian inference of phylogeny. Rochester, NY: Biometrics, Department of Biology, University of Rochester.
- Irwin, D.M.; Kocher, T.D. e Wilson, A.C. 1991. Evolution of the cytochrome *b* gene of mammals. *J. Mol. Evol.* **32**: 128-144.
- Kimura, M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *J. Mol. Evol.* **16**: 111-120.
- Kumar, S.; Tamura, K. e Nei, M. 2004. MEGA3: Integrated software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and sequence alignment. *Briefings in Bioinformatics* **5**:150-163.
- McKenna, M.C. e Bell, S.K. 1997. Classification of mammals above the species level. New York: Columbia University Press.
- Medrano, J.F.; Aasen, E. e Sharrow, L. 1990. DNA extraction nucleated red blood cells. *Biotechniques* **8**: 43.
- Milazzo, M.L.; Cajimat, M.N.; Hanson, J.D.; Bradley, R.D.; Quintana, M.; Sherman, C.; Velasquez, R.T. e Fulhorst, C.F. 2006. Catacamas virus, a hantaviral species naturally associated with *Oryzomys couesi* (coues' *Oryzomys*) in Honduras. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **75**: 1003-1010.
- Musser, G.G. e Carleton, M.D. 2005. Super Family Muroidea. In: Wilson, D.E. e Reeder, D.M. (eds.). *Mammal species of the world: a taxonomic and geographic reference*. Baltimore: Johns Hopkins University Press, 894-1531.
- Myers, P.; Lundrigan, B. e Tucker, P.K. 1995. Molecular phylogenetics of Oryzomyine rodents: the genus *Oligoryzomys*. *Mol. Phylogenet. Evol.* **4**: 372-382.
- Nixon, K.C. 1999. Winclada (BETA) ver. 0.9.9. Published by the author, Ithaca, NY.
- Palma, R.E.; Rivera-Milla, E.; Salazar-Bravo, J.; Torres-Pérez, F.; Pardiñas, U.F.J.; Marquet, P.A.; Spotorno, A.E.; Meynard, A.P. e Yates, T.L. 2005. Phylogeography of *Oligoryzomys longicaudatus* (Rodentia: Sigmodontinae) in temperate South America. *J. Mammal.* **86**: 191-200.
- Patton, J.L. e da Silva, M.N.F. 1995. A review of the spiny mouse genus *Scolomys* (Rodentia: Muridae: Sigmodontinae) with the description of a new species from the western Amazon of Brazil. *Proc. Biol. Soc. Wash.* **108**: 319-337.

- Patton, J.L.; da Silva, M.N.F. e Malcolm, J.R. 2000. Mammals of the Rio Jurua and the evolutionary and ecological diversification of Amazônia. *Bull. Am. Mus. Nat. Hist.* **244**: 1-306.
- Peppers, L.L. e Bradley, R.D. 2000. Cryptic species in *Sigmodon hispidus*: evidence from DNA sequences. *J. Mammal.* **81**: 332-343.
- Perini, M.V.; Weimer, T.A.; Callegari-Jacques, S.M.; Mattevi, M.S. 2004. Biochemical polymorphisms and genetic relationships in rodents of the genera *Oryzomys* and *Oligoryzomys* (Sigmodontinae) from Brazil. *Biochemical Genetics* **42**: 317-329.
- Posada, D. e Crandall, K.A. 1998. MODELTEST: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics* **14**: 817-818.
- Reig, O.A. 1980. A new fossil genus of South American cricetid rodents allied to *Wiedomys*, with an assessment of the Sigmodontinae. *J. Zool.* **192**: 257-281.
- Reig, O.A. 1984. Geographic distribution and evolutionary history of South American muroids (Cricetidae: Sigmodontinae). *Braz. J. Genetic.* **7**: 333-365.
- Reig, O.A. 1986. Diversity patterns and differentiation of high Andean rodents. In: Vuilleumier, F. e Monasterio, M. (eds.). *High Altitude Tropical Biogeography*. New York, NY: Oxford University Press, 404-439.
- Smith, M.F. e Patton, J.L. 1993. The Diversification of South American Murid Rodents: Evidence from Mitochondrial DNA Sequence Data for the Akodontine Tribe. *Biol. J. Linn. Soc.* **50**: 149-177.
- Smith, M.F. e Patton, J.L. 1999. Phylogenetics Relationships and the Radiation of Sigmodontine Rodents in South America: Evidence from Cytochrome *b*. *J. Mammal. Evol.* **6**: 89-128.
- Stanhope, M.J.; Czelusniak, J.; Si, J.S.; Nickerson, J. e Goodman, M. 1992. A molecular perspective on mammalian evolution from the gene encoding interphotoreceptor retinoid binding protein, with convincing evidence for bat monophyly. *Mol. Phylogenet. Evol.* **1**: 148-160.
- Steppan, S.J. 1995. Revision of the Tribe Phyllotini (Rodentia:Sigmodontinae) with a phylogenetic hypothesis for the Sigmodontinae. *Fieldiana: Zoology, New Series* **80**: 1-112.
- Steppan, S.J. 1998. Phylogenetic relationships and species limits within *Phyllotis* (Rodentia: Sigmodontinae): concordance between mtDNA sequence and morphology. *J. Mammal.* **79**: 573-593.

- Swofford, D.L. 2001. Paup*. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (* and other Methods), Ver. 4.0 b10. Sunderland: Sinauer Associates.
- Thompson, J.D., Gibson, T.J., Plewniak, F., Jeanmougin, F. & Higgins, D.G. 1997. The CLUSTALX windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Res.* **24**: 4876-4882.
- Vorontsov, N.N. 1959. Sistema Khomiaakov (Cricetinae) Mirovoi Fauny i ikh Filogeneticheskie Sviasi. *Biulleten' Moskovskogo Obschestva Ipytateley Prirody Otdel Biologicheskii* **64**: 134-137.
- Voss, R.S. e Carleton, M.D. 1993. A new genus for *Hesperomys molitor* Wing and *Holochilus magnus* Hershkovitz (Mammalia, Muridae) with an analysis of its phylogenetic relationships. *Am. Mus. Novitates* **3085**: 1-39.
- Weksler, M. 2003. Phylogeny of Neotropical Oryzomyine Rodents (Muridae: Sigmodontinae) Based on the Nuclear IRBP exon. *Mol. Phylogenet. Evol.* **29**: 331-349.
- Weksler, M. 2006. Phylogenetic relationships of Oryzomyine rodents (Muroidea: Sigmodontinae): separate and combined analyses of morphological and molecular data. *Bull. Am. Mus. Nat. Hist.* **296**: 1-149.
- Weksler, M., Percequillo, A.R. & Voss, R.S. 2006. Ten new genera of oryzomyine rodents (Cricetidae; Sigmodontinae). *Am. Mus. Novitates* **3537**:1-29.
- Xia, X.; Xie, Z. 2001 DAMBE: Data analysis in molecular biology and evolution. *J. Hered.* **92**:371-373.

Legendas

Figura 1. Árvore consenso gerada a partir da análise bayesiana com seqüências do gene *cyt-b*. Números acima dos ramos são os valores das probabilidades posteriores. Símbolos ao lado das espécies representam suas categorias biogeográficas: ■ Trans-Andino, ● Andino, ◆ Cis-Andino e # mais de uma categoria biogeográfica. As letras nos nodos assinalam os distintos clados.

Figura 2. Árvore consenso gerada a partir da análise bayesiana com seqüências do gene IRPB. Números acima dos ramos são os valores das probabilidades posteriores. Símbolos ao lado das espécies representam suas categorias biogeográficas: ■ Trans-Andino, ● Andino, ◆ Cis-Andino e # mais de uma categoria biogeográfica. As letras nos nodos assinalam os distintos clados.

Figura 3. Árvore consenso gerada a partir da análise bayesiana com seqüências dos genes *cyt-b* e IRPB concatenadas. Números acima dos ramos são os valores das probabilidades posteriores. Símbolos ao lado das espécies representam suas categorias biogeográficas: ■ Trans-Andino, ● Andino, ◆ Cis-Andino e # mais de uma categoria biogeográfica. As letras nos nodos assinalam os distintos clados.

Tabela 1. Lista dos 73 táxons Oryzomyini e outgroups usados nas análises bayesianas.

	Táxon	Cyt- <i>b</i> ^a	IRBP ^a
1	<i>Aegialomys xantheolus</i>	—	AY163628 ^b
2	<i>Amphinectomys savamis</i>	—	AY163579 ^b
3	<i>Cerradomys maracajuensis</i>	AF181278 ^c	—
4	<i>Cerradomys marinhos</i>	AF181279 ^c	—
5	<i>Cerradomys scotti</i>	MN37288 ^d	MN37288 ^d
6	<i>Cerradomys subflavus</i>	AF181274 ^c	AY163626 ^b
7	<i>Eremoryzomys polius</i>	—	AY163624 ^b
8	<i>Euryoryzomys emmonsae</i>	AF251526 ^e	—
9	<i>Euryoryzomys lamia</i>	MN36679 ^d	AY163619 ^b
10	<i>Euryoryzomys macconnelli</i>	AF251528 ^e	AY163620 ^b
11	<i>Euryoryzomys nitidus</i>	AF251529 ^c	—
12	<i>Euryoryzomys russatus</i>	MN37798 ^f	MN37798 ^f
13	<i>Handleyomys alfaroi</i>	DQ224409 ^g	AY163615 ^b
14	<i>Handleyomys intectus</i>	—	AY163584 ^b
15	<i>Handleyomys rostratus</i>	—	AY163622 ^b
16	<i>Holochilus brasiliensis</i>	AY041192 ^h	AY163585 ^b
17	<i>Holochilus chacarius</i>	DQ227455 ^g	AY163586 ^b
18	<i>Holochilus sciureus</i>	AF108697 ⁱ	—
19	<i>Hylaeamys acritus</i>	AY940625 ^j	—
20	<i>Hylaeamys laticeps</i>	AF251522 ^e	—
21	<i>Hylaeamys megacephalus</i>	MN36519 ^f	MN36519 ^f
22	<i>Hylaeamys perenensis</i>	U03538 ^l	—
23	<i>Hylaeamys seuanezi</i>	UFPB502 ^d	—
24	<i>Hylaeamys yunganus</i>	AF251520 ^e	AY163629 ^b
25	<i>Lundomys molitor</i>	—	AY163589 ^b
26	<i>Melanomys caliginosus</i>	—	AY163590 ^b
27	<i>Microryzomys minutus</i>	AF108698 ⁱ	AY163592 ^b
28	<i>Neacomys minutus</i>	—	AY163595 ^b
29	<i>Neacomys musseri</i>	—	AY163596 ^b
30	<i>Neacomys spinosus</i>	AF108701 ⁱ	AY163597 ^b
31	<i>Neacomys</i> sp.	U58392 ^m	—
32	<i>Nectomys apicalis</i>	U03539 ^l	—
33	<i>Nectomys squamipes</i>	UFPB551 ^d	AY163598 ^b
34	<i>Nectomys rattus</i>	MN36370 ^d	—
35	<i>Nephelomys albigularis</i>	DQ224407 ^g	AY163614 ^b
36	<i>Nesoryzomys fernandinae</i>	AF108700 ⁱ	—
37	<i>Nesoryzomys narboroughi</i>	—	AY163600 ^b
38	<i>Nesoryzomys swartha</i>	—	AY163601 ^b
39	<i>Oecomys auyantepui</i>	AJ496303 ⁿ	—
40	<i>Oecomys bicolor</i>	AN328 ^d	AN328 ^d
41	<i>Oecomys catherinae</i>	—	AY163605 ^b
42	<i>Oecomys concolor</i>	MN36330 ^d	AY163606 ^b
43	<i>Oecomys mamorae</i>	—	AY163607 ^b
44	<i>Oecomys roberti</i>	AL2619 ^d	AL2619 ^d
45	<i>Oecomys rutilus</i>	AJ496313 ⁿ	—
46	<i>Oecomys</i> sp.	U58388 ^m	—

47	<i>Oecomys superans</i>	AY275123 ^o	AY277464 ^o
48	<i>Oecomys trinitatis</i>	U58390 ^m	AY163608 ^b
49	<i>Oligoryzomys andinus</i>	AY452200 ^p	—
50	<i>Oligoryzomys flavescens</i>	DQ826014 ^q	DQ826030 ^q
51	<i>Oligoryzomys fornesi</i>	DQ826023 ^q	DQ826033 ^q
		AY452199 ^p	
52	<i>Oligoryzomys fulvescens</i>	DQ227457 ^r	AY163611 ^b
53	<i>Oligoryzomys longicaudatus</i>	U03535 ^l	—
54	<i>Oligoryzomys magellanicus</i>	AY275705 ^p	—
55	<i>Oligoryzomys messorius</i>	DQ826024 ^q	DQ826032 ^q
56	<i>Oligoryzomys microtis</i>	AY439000 ^s	—
57	<i>Oligoryzomys moojeni</i>	DQ826016 ^q	DQ826031 ^q
58	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	DQ825987 ^q	DQ826029 ^q
59	<i>Oligoryzomys</i> sp.	DQ826025 ^q	—
60	<i>Oligoryzomys stramineus</i>	DQ826026 ^q	AY163613 ^b
61	<i>Oreoryzomys balneator</i>	—	AY163617 ^b
62	<i>Oryzomys couesi</i>	DQ185386 ^r	AY163618 ^b
63	<i>Oryzomys palustris</i>	DQ185382 ^r	AY163623 ^b
64	<i>Pseudoryzomys simplex</i>	—	AY163633 ^b
65	<i>Scolomys juruense</i>	AF108696 ⁱ	—
66	<i>Scolomys melanops</i>	AF527419 ^t	—
67	<i>Scolomys ucayalensis</i>	AF527421 ^t	AY163638 ^b
68	<i>Sigmodontomys alfari</i>	—	AY163641 ^b
69	<i>Sooretamys angouya</i>	MN377778 ^f	MN377778 ^f
70	<i>Transandinomys talamancae</i>	—	AY163627 ^b
71	<i>Zygodontomys brevicauda</i>	—	AY163645 ^b
72	<i>Zygodontomys cherriei</i>	—	AY163646 ^b
73	<i>Zygodontomys</i> sp.	AY029478 ^u	—
<i>Grupo Externo</i>			
74	<i>Mus musculus</i>	V00711 ^v	AF126968 ^x
75	<i>Notiomys edwardsii</i>	U03537 ^l	AY163602 ^b
76	<i>Peromyscus truei</i>	AF108703 ⁱ	AY277413 ^o
77	<i>Sigmodon hispidus</i>	AF155418 ^z	AY277479 ^o

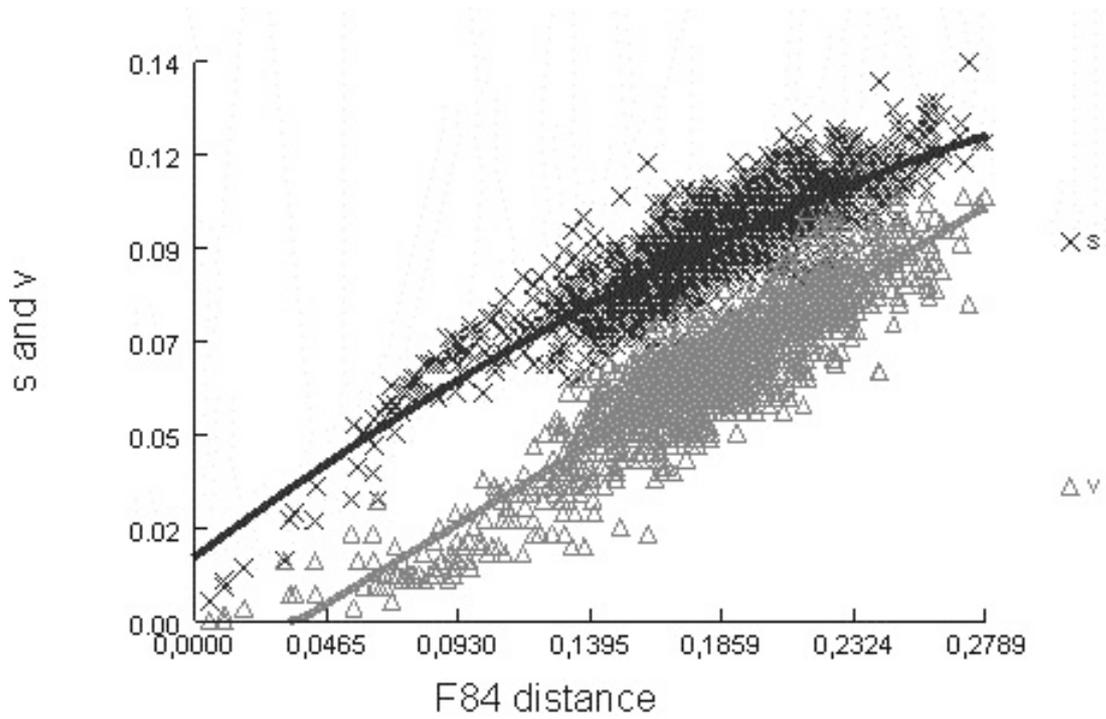
^aNúmeros de acesso ao GenBank; ^bWeksler (2003); ^cBonvicino e Moreira (2001); ^ddeste trabalho; ^ePatton *et al.* (2000); ^fMiranda *et al.* (submetidoa); ^gAmman *et al.* (2006); ^hRinehart *et al.* (não publicado); ⁱSmith e Patton (1999); ^jEmmons e Patton (2005); ^kSmith e Patton (1993); ^mPatton e da Silva (1995); ⁿMauffrey *et al.* (não publicado); ^oD'Elia (2003); ^pPalma *et al.* (2005); ^qMiranda *et al.* (submetidob); ^rMilazzo *et al.* (2006); ^sCarroll *et al.* (2005); ^tGomez-Laverde *et al.* (2004); ^uBonvicino *et al.* (2003); ^vBibb *et al.* (1981); ^xStanhope *et al.* (1992); ^zPeppers e Bradley (2000).

Tabela 2. Sumário da composição de bases das 73 seqüências dos táxons *Oryzomyini*.

Gene		A	C	G	T
<i>Cyt-b</i>	Total	0,30	0,28	0,13	0,29
	1 ^a pos. codon	0,30	0,22	0,23	0,25
	2 ^a pos. codon	0,21	0,25	0,13	0,41
	3 ^a pos. codon	0,41	0,35	0,03	0,21
IRBP	Total	0,23	0,27	0,28	0,22
	1 ^a pos. codon	0,26	0,28	0,34	0,12
	2 ^a pos. codon	0,27	0,22	0,19	0,32
	3 ^a pos. codon	0,16	0,32	0,30	0,22

Apêndice

Curva de saturação das amostras com o gene mitocondrial citocromo *b*



Curva de saturação das amostras com o gene nuclear IRBP

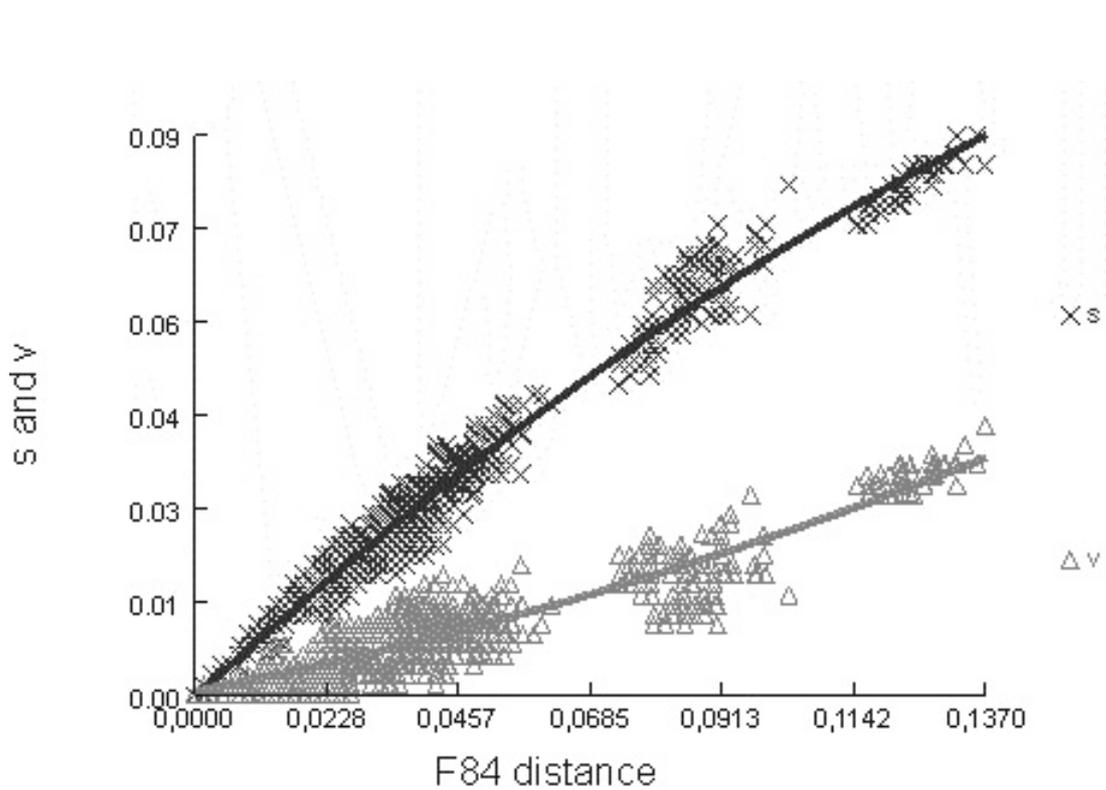


Figura 1

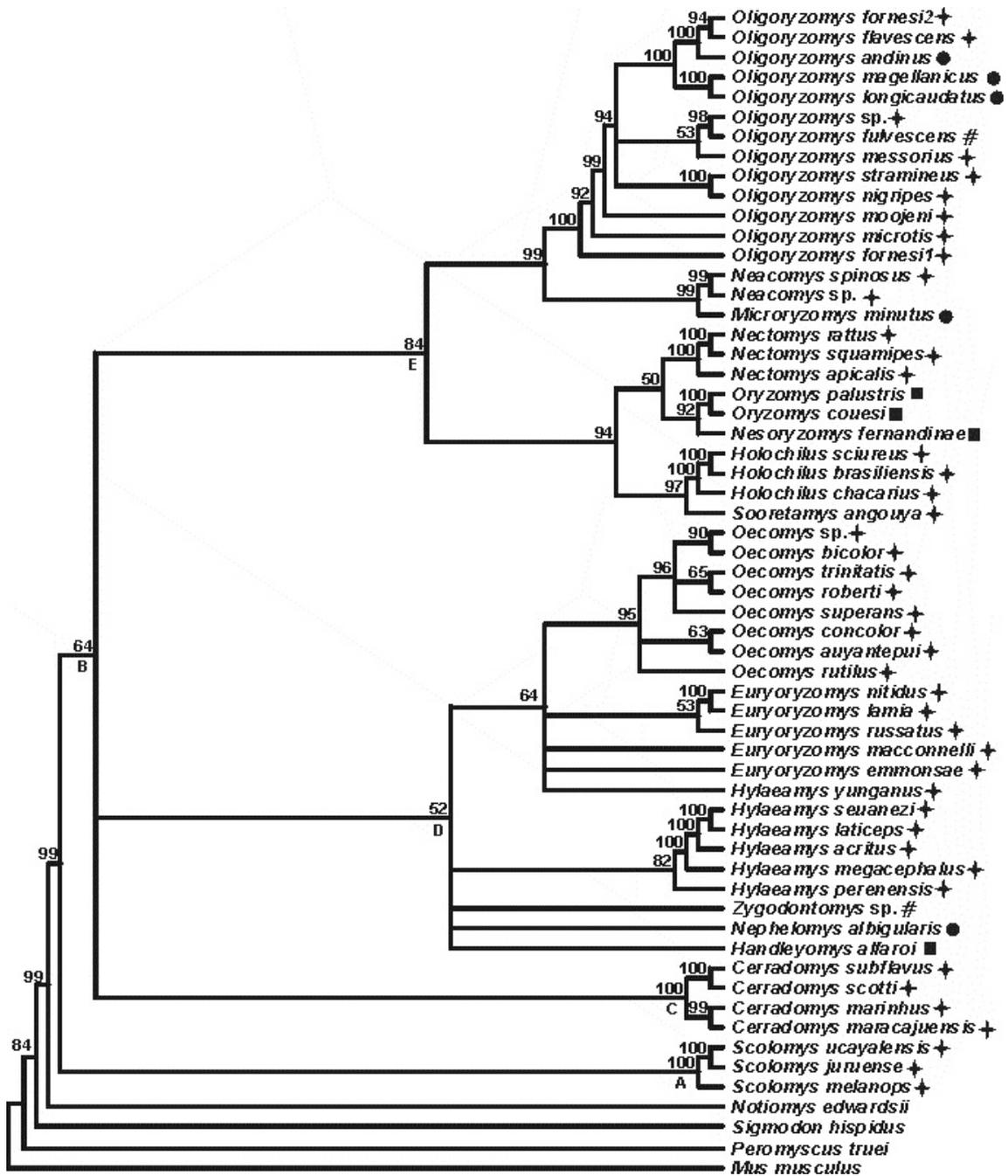


Figura 2

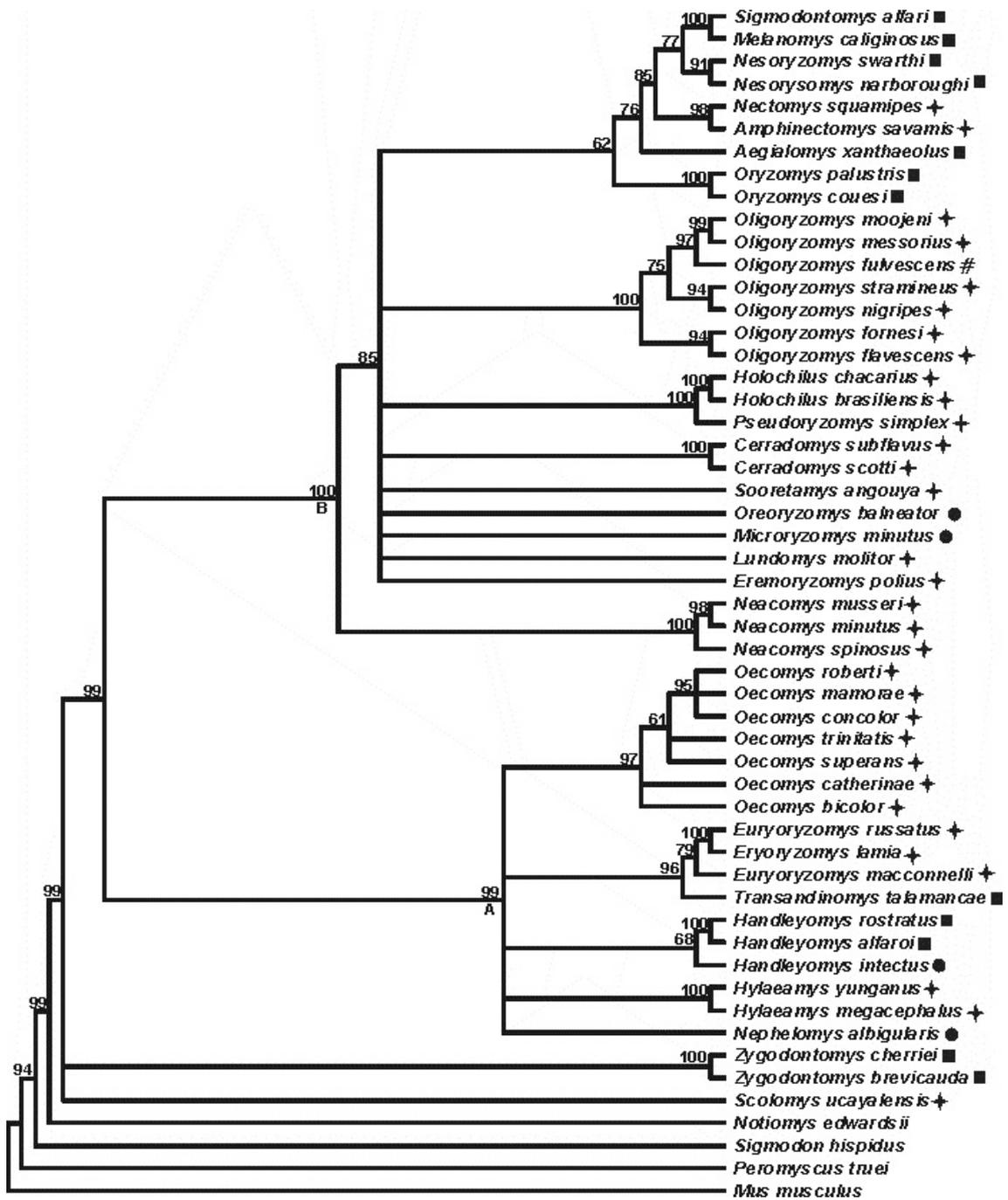
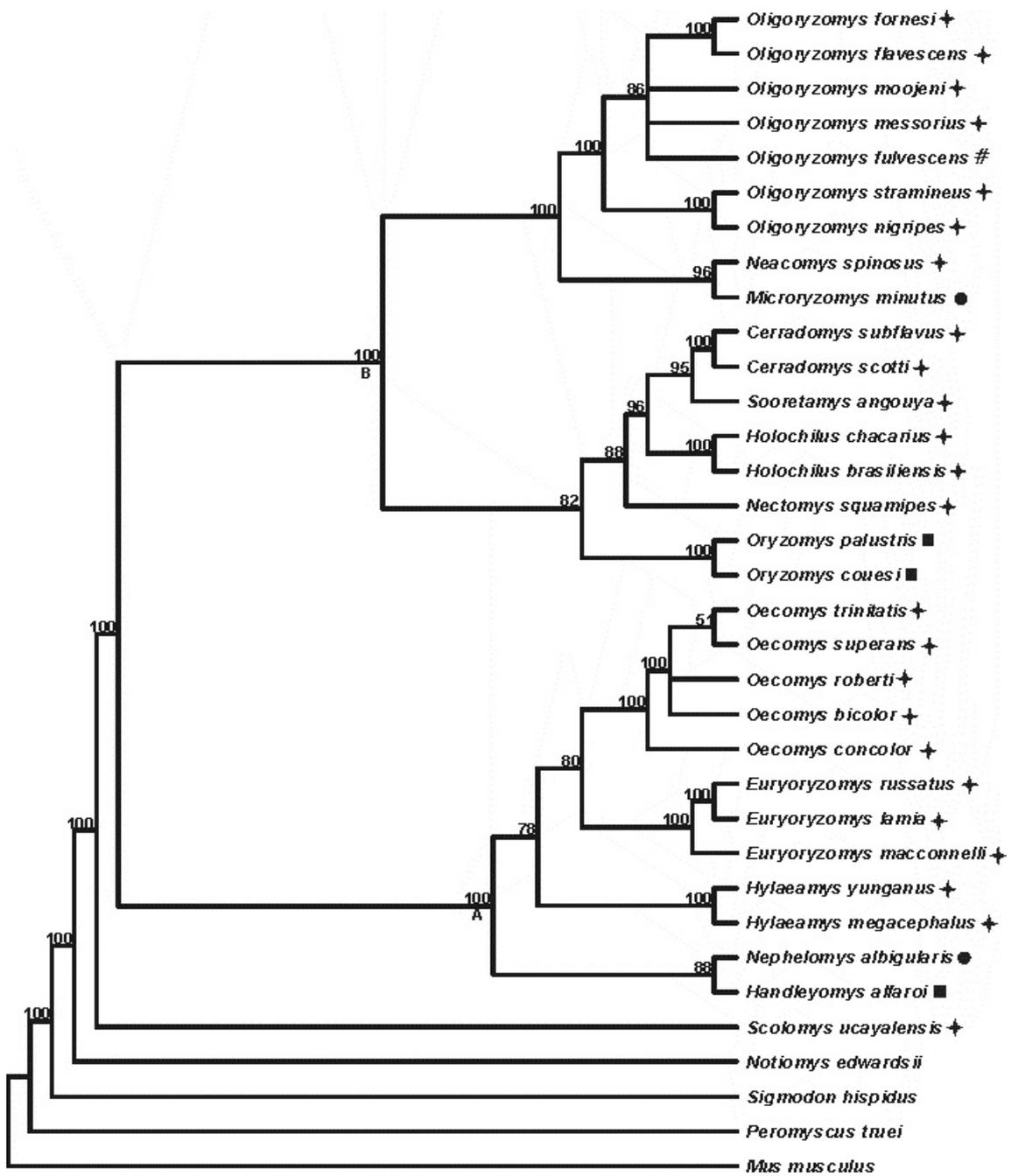


Figura 3



ARTIGO 2: em processo de aceitação pela Journal of Heredity

Phylogenetic and phylogeographic patterns in sigmodotine rodents of *Oligoryzomys* genus

GUSTAVO B. MIRANDA, LUÍS F. B. OLIVEIRA, JAQUELINE ANDRADES-MIRANDA,
ALFREDO LANGGUTH, SIDIA M. CALLEGARI-JACQUES, AND MARGARETE S. MATTEVI

From Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular, Caixa Postal 15053, 91501-970, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil (Miranda, Andrades-Miranda, Callegari-Jacques, and Mattevi); Museu Nacional, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Setor de Mastozoologia, 20940-040, Rio de Janeiro, Brazil (Oliveira); Universidade Luterana do Brasil, Curso de Pós-Graduação em Genética e Toxicologia Aplicada, Av. Farroupilha, 8001, 92420-280, Canoas, Rio Grande do Sul, Brazil (Mattevi); Universidade Federal da Paraíba, Departamento de Sistemática e Ecologia, Campus Universitário, 58059-900 João Pessoa, Paraíba, Brazil (Langguth); Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Departamento de Estatística, Av. Bento Gonçalves 9500, 91509-900 Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil (Callegari-Jacques).

Address correspondence to M. S. Mattevi at the address above, or e-mail:
mattevi@terra.com.br

Acknowledgements

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS), and the Organization of the American States (OAS) have supported this study. The authors are grateful to Drs. A. P. Nunes, and to J. L. P. Cordeiro for field work, and to Drs. V. C. Muschner, G. Pasquali, M. Weksler, and to L. S. Silva, F. Z. C. Marques, T. Haag, C. Freygang, M. A. Montes, and B.A. Carvalho, for technical help.

Running title: Phylogeographic patterns of *Oligoryzomys* genus

Abstract

The South American rodent genus *Oligoryzomys* was described as a subgenus of the genus *Oryzomys* of the Sigmodontinae containing a group of species distinguished by morphologic measurements. In the present study, a total of 99 sequences of the mitochondrial cytochrome *b* and of the nuclear IRBP genes of 75 individuals from seven species of *Oligoryzomys* were analysed along with sequences of others nine taxa from GenBank to disclose the dispersion patterns of this genus in South America. Topologies of different phylogenetic trees show *Oligoryzomys* as monophyletic containing two main species groups, one named the “Amazon-Cerrado” assemblage and the second designated as the “Pampa-Andean” clade. This sharp north-to-south geographical pattern strongly supports the hypothesis that the genus, starting from the northern Andes, then occupied the Amazon and the Cerrado, and later populated the more southern regions of South America.

The rodent family Cricetidae comprises about 680 species worldwide. These are divided into 17 subfamilies, and in South America all muroid rodents species are cricetids belonging to the subfamily Sigmodontinae. This subfamily includes about 400 species grouped in more than 80 genera (Musser and Carleton 2005) assigned to seven tribes (Reig 1984; Smith and Patton 1999). The oryzomyine group constitutes the largest tribal-level assemblage from the radiation that invaded South America from Central America between the middle Miocene and Early Pliocene (Hershkovitz 1972; Reig 1984, 1986; Smith and Patton 1999).

The tribe Oryzomyini has 27 genera including the pygmy rice rats of the genus *Oligoryzomys* (Musser and Carleton 2005; Weksler and others 2006). This taxon was first proposed by Bangs (1900) as a subgenus of *Oryzomys*, in an attempt to rank together a group of species characterized by its smaller size, a somewhat long tail and a delicate skull without supraoccipital ridges. They are nocturnal, terrestrial, and feed on seeds, fruits, and insects (Carleton and Musser 1989; Emmons and Feer 1999). Some species can be agricultural pests or significant reservoirs of hantavirus (Powers and others 1999; Delfraro and others 2003; Carroll and others 2005). These small mice occupy a wide geographic range from Mexico to Tierra del Fuego and occur in a variety of habitats and climates from rain forests to grasslands, and from sea level to the high Andes altitudes.

Oligoryzomys contain 21 species (Musser and Carleton 2005; Weksler and Bonvicino 2005) that are quite similar in external appearance and sport a confusing systematic history. Around half of the species occur in Brazil, with some species inhabiting exclusively the Cerrado biome, while others occupy the Pampa or the Atlantic and Amazonian rainforest.

The monophyly of the genus has been comprehensively studied and established by morphologic investigations (Carleton and Musser 1989; Steppan 1995; Weksler 2006), allozymes (Dickerman and Yates 1995; Perini and others, 2004), and molecular markers (Myers and others 1995; Weksler 2003, 2006; Trott and others 2007). Nevertheless, much controversy on the hierarchical relationships among species of *Oligoryzomys* persists, as the morphology-based taxonomy does not always agree with the clusters generated by molecular techniques. Another aspect yet to be investigated is the strategy used by this taxon to disperse throughout South America. One study addressing this involved an endemic Andean Chilean-Argentinean species, *Oligoryzomys longicaudatus* (Palma and others 2005).

The present study was designed to shed more light on the patterns through which *Oligoryzomys* dispersed and diversified across the varied Brazilian biomes. This research was carried out using sequences of the mitochondrial cytochrome *b* (*cyt-b*) and of the nuclear interphotoreceptor retinoid binding protein (IRBP) genes of 75 *Oligoryzomys* rats collected from 27 localities covering a wide area that includes the Amazon and Atlantic Rainforests, Cerrado, and Pampa. The *cyt-b* and IRBP gene sequences were compared to GenBank sequences from endemic species from other South American sites (mainly from the Andean Highlands) for a total of 99 sequences analysed.

Materials and Methods

Species Analysed

Seventy-five individuals of seven *Oligoryzomys* (*O. flavescens*, *O. fornesi*, *O. messorius*, *O. moojeni*, *O. nigripes*, *O. stramineus*, *Oligoryzomys* sp.) were trapped in 27 sites located in an area ranging from 04°N to 32°S; and from 41°W to 63°W, in four morphoclimatic domains of South America. Five individuals (one specimen of *O. flavescens*, *O. fornesi*, *O. messorius*, *O. moojeni*, and *O. nigripes*, respectively) were also sequenced for the IRBP gene (Table 1). *Cyt-b* and IRBP sequence data for nine other species of *Oligoryzomys* (*O. flavescens*, *O. fornesi*, *O. fulvescens*, *O. longicaudatus*, *O. l. pampanus*, *O. magellanicus*, *O. microtis*, *O. nigripes*, and *O. stramineus*) were obtained from GenBank. *Euryoryzomys russatus*, *Microryzomys minutus*, *Neacomys spinosus*, and *Nectomys squamipes* were used as outgroups because they have been shown to be closely related to *Oligoryzomys* in other investigations (Smith and Patton 1999; Weksler 2003). In the majority of animals sequenced the taxonomic classification was confirmed by the analysis of the karyotypes, listed in Table 1 (details about the karyotypes are available in Andrades-Miranda and others 2001). The skins and skulls of these specimens are stored in the Mammal Collection of the Museu Nacional, Rio de Janeiro. Voucher numbers of the exemplars, and the list of the eight specimens of *O. longicaudatus* investigated by Palma and others (2005) in Argentina and Chile and one specimen of *O. microtis* collected by Patton and da Silva (1995) in Brazil included in the analysis of the Figure 2 are available from the author.

Nucleotide Acid Sequence Analysis

DNA was extracted from kidney, liver, heart or muscle (stored at -20°C or in 70%

ethanol) using the standard protocol described in Medrano and others (1990). The mitochondrial *cyt-b* gene sequences were obtained with the polymerase chain reaction (PCR) using the primers MVZ 05 (light-strand) and MVZ 16 (heavy-strand) (Smith and Patton 1993), and the IRBP sequences were isolated using the primers A1 (light-strand) and F (heavy-strand) (Weksler 2003). PCR products were purified with exonuclease I and shrimp alkaline phosphatase (Amersham Biosciences). All taxa were sequenced directly from purified PCR products using the ABI Prism BigDye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit (Perkin Elmer Applied Biosystems) according to the manufacturer's instructions. Sequencing of both strands was done using an ABI Prism 3100 Genetic Analyser (Applied Biosystems). All sequences are available in GenBank as referenced in Table 1.

Data Analysis

The sequences obtained were read employing the program Chromas 1.45, aligned using the program Clustal X 1.81 (Thompson and others 1997) under the default setting costs, and manually refined with the aid of the BIOEDIT program (Hall 1999). Saturation plots were obtained with the Data Analysis in Molecular Biology and Evolution software (DAMBE; Xia and Xie 2001). The composition of bases and Kimura 2-parameter (K2p) distance (Kimura 1980) were obtained with the Molecular Evolution Genetics Analysis software (MEGA 3; Kumar and others 2004).

The phylogenetic analyses were performed using Neighbor-joining (NJ), Maximum-likelihood (ML) and Maximum Parsimony (MP) algorithms using PAUP* v.4.0b10, (Swofford, 2001). Networks using the Median-joining (MJ) method were obtained with the software Network v.4.1.0.0 (Bandelt and others 1999; available at <http://www.fluxus-engineering.com>).

Prior to the analyses using PAUP, the appropriate model of nucleotide substitution for ML analysis was determined using the MODELTEST 3.06 program (Posada and Crandall 1998). For ML tree estimation, heuristic searches with as-is, TBR branch swapping, and MULPARS options were selected. The support estimates for the ML trees branches by bootstrap analysis were obtained as described in Muschner and others (2003).

Maximum Parsimony analyses (MP) were performed by heuristic search with tree bisection-reconnection (TBR) branch swapping, the MULPARS option, and 100 random-addition replicates. Bootstrap statistical support (Felsenstein 1985) was carried

out with 1,000 replications of heuristic search and simple taxon addition, with the all trees saved option.

Bayesian analyses of the data were performed using MrBayes 3.0b4 (Huelsenbeck and Ronquist 2001) to generate a posterior probability distribution using Markov chain Monte Carlo (MCMC) methods. No *a priori* assumptions about the topology of the tree were made and all searches were provided with a uniform prior. The models of DNA substitution used were those estimated by MODELTEST and used in the standard ML analyses. The MCMC processes were set so that four chains were run simultaneously for one million generations, with trees being sampled every 100 generations for a total of 10,000 trees. We excluded the first 100,000 generations as the “burn-in” period. To calculate the posterior probability of each bipartition, a 50% majority-rule consensus tree was constructed from the remaining trees using PAUP*.

The Mantel test was carried out using the Arlequin 2000 software (Schneider and others 2000). To generate a spatial correlogram we used the Autocorrelation Index for DNA Analysis II (Bertorelle and Barbujani 1995), which measures whether and to what extent individual sequences resemble the sequences sampled at different places. This analysis is analogous to Mouran’s I which, is based on allele or haplotype frequencies. For geographic distances, the locality coordinates presented in Table 1 were used and construction of the correlograms was based on five distance classes. A gradient is identified when the II indexes decrease continuously from significantly positive to significantly negative values as the distance between locations increase. This analysis was done with the software AIDA (Bertorelle and Barbujani 1995). The incongruence length difference (ILD) test was computed to detect the presence of character conflict between *cyt-b* and IRBP genes, as described by Farris and others (1994, 1995) and implemented in WINCLADA version 0.9.9+ (BETA) (Nixon 1999).

Results

A total of 93 *cyt-b* sequences (75 *Oligoryzomys* from this work and 14 from GenBank, and four other Sigmodontinae species as outgroups) were amplified by PCR and ranged in sizes of 801 to 1,143 bp. The saturation curve (not shown) observed indicated that there is no clear evidence of multiple substitutions in any codon position, and thus there should be no loss of phylogenetic signal among the more divergent taxa. The averages K2p genetic distances among the 89 sequences analysed of genus *Oligoryzomys* was 5.8% and of the 93 sequences (including outgroups) was 6.75%.

Analysis of the 801 bp *cyt-b* fragment of 89 *Oligoryzomys* individuals using maximum-parsimony (MP), neighbor-joining (NJ), maximum-likelihood (ML) and Bayesian inference (BI) methods yielded very similar topologies. In the maximum-parsimony analysis found 227 informative sites and the heuristic search resulted in 100 equally parsimonious trees of 893 evolutionary steps with a consistency index (CI) of 0.46 and a retention index (RI) of 0.84. In the strict-consensus tree the bootstrap values varied between 51-100 (Figure 2). The strict-consensus generated, the correct location of all the exemplars in the respective species set (most high bootstrap values) indicating the usefulness of this molecular marker.

Figure 3 presents a summary of the phylogenetic relationships among those species shown in Figure 2 by analysing of the same 801 bp fragment but including only one representative of each species (Table 1). The model for the ML analysis using MODELTEST was GTR+I+G. Under this model the value $-\ln L(\text{likelihood})$ was 4017.72 and the value of the gamma shape with parameter alpha was 1.23. Bootstrap values of 52-98 were observed for the ML tree (Figure 3). The tree obtained by the Bayesian analyses (not shown) was highly similar to the ML tree, with nodes posterior probability values between 54-100, with some polytomies observed among the species that compose the “Amazon-Cerrado” group.

The topology generated by this analysis (Figure 3) shows *Oligoryzomys* as a monophyletic group in which the species presents a phylogeographic trend from northern to southern South America. The basal lineages constitute a group of species (named the “Amazon-Cerrado” assemblage) which are endemic to the Amazon and the Cerrado and whose specimens were collected in South America between 04°N and 17°S parallels. Two taxa are found at the base of this group, Amazonian *O. microtis* and *O. fornesi* (OFO1) from the Cerrado biome. This assemblage also includes the taxa *Oligoryzomys* sp., and *O. messorius* from the Amazon and *O. moojeni* from Cerrado.

The broadly distributed *O. nigripes* as well as *O. stramineus* linked this Amazon-Cerrado group to a cluster of taxa which occupies the southern area of South America. This “Pampa-Andean” clade aggregates individuals of *O. fornesi* (OFO2), *O. flavescens*, *O. magellanicus*, *O. longicaudatus*, and *O. l. pampanus*, from between the 26° to 52°S parallels of South America.

The Mantel correlation coefficient between genetic (K2p, calculated for the *cyt-b* gene, matrix in Table 2) and geographic (km) distances was positive and statistically significant ($r = 0.25$; $p = 0.04$). This association between genetic distance and

geography is evident in the correlogram depicted in Figure 4, where a clear north-to-south geographic cline for the species of *Oligoryzomys* is observed. The correlation between genetic and geographic distances for individuals collected in places distant up to 1,000 km is positive and statistically significant ($II = 0.16$, $p = 0.005$), that is, individuals which have close or sympatric dispersion areas are genetically similar. The opposite is observed for individuals that live more than 3,000 km apart, for which the coefficients are negative and also statistically significant ($II = - 0.25$ and $- 0.27$; $p = 0.005$ and 0.05 , respectively). The correlogram obtained represents a gradient with a non-random geographic distribution of the *cyt-b* sequences (Bertorellle and Barbujani 1995).

This sharp north-to-south geographical pattern is also clear in the Network analysis (MJ) shown in Figure 5, in which two major lineages can be distinguished. There are 63 base changes among the haplotypes within the “Pampa-Andean” clade and the average K2p genetic distance among the four species is 4.1% (Table 2). In the “Amazon-Cerrado” group this average distance is larger (11.3%) and 175 base changes were observed among the haplotypes of the six inclusive taxa. These data show that this group has more interspecies variability than “Pampa-Andean” clade. *Oligoryzomys nigripes* shows the shortest distance (5.1%) with *O. stramineus* and the largest (12.9%) with *O. microtis*.

A 745 bp fragment of the nuclear IRBP gene was also analysed for single individuals five species (*O. nigripes*, *O. flavescens*, *O. fornesi*, *O. moojeni*, and *O. messorius*), as well as two species (*O. stramineus*, and *O. fulvescens*) from GenBank (Table 1). All trees generated by the different methods (MP, NJ, ML and BI) presented similar topologies. The ML tree showed two sister-groups, one including two weakly linked (54% bootstrap) species, *O. fornesi* and *O. flavescens* (Figure 6A), the other containing *O. fulvescens*, *O. messorius*, and *O. moojeni* (72% bootstrap), all from Amazon or Cerrado. *Oligoryzomys nigripes* plus *O. stramineus* is the sister-group to this clade. This separation into two sister species groups is clear in the Network analysis (MJ)(Figure 6B). The analysis of both genes concatenated (non incongruent genes, $p < 0.05$; Figure 6C) generated a fragment of 1,546 bp showed, in general, the same groups (*O. fornesi* + *O. flavescens* and *O. nigripes* + *O. stramineus*) seen in the analysis of the IRBP alone (Figure 6A). The exceptions were the more basal position taken by *O. fornesi* (OFO1), similar to the topology of the tree generated solely with *cyt-b* data (Figure 3). The separation into two groups generated by these two genes together was

also apparent in the Network (MJ) of the concatenated genes (Figure 6D).

Discussion

In the present study, as the result of the analysis of 11 species of the genus *Oligoryzomys* by means of two genes (*cyt-b* and IRBP), the different methods of analysis employed (MP, ML, NJ, and BI) produced almost identical results with similar bootstrap values, thus generating a highly resolved phylogeny with several strongly supported clades.

In accordance with previous studies with different markers (Myers and others 1995; Perini and others 2004; Weksler 2006; Trott and others 2007), the analyses that we performed employing the mitochondrial *cyt-b* and nuclear IRBP genes showed *Oligoryzomys* to be a monophyletic taxon.

In Figure 3, the data we obtained with the mitochondrial gene *cyt-b* produced phylogenetic trees in which the *Oligoryzomys* species are arranged in a pattern as if they had occupied the South American continent in accordance to the model of a north-to-south territorial gradient. In the process, the taxa located at the base of the tree (the Amazonian taxa) inhabited the northern regions and the derived lineages the southern area of the continent.

In the most basal position of the tree is *O. microtis*, which is distributed throughout the Amazon Basin in Brazil, and contiguous lowlands of Peru, Bolivia, and Paraguay (Musser and Carleton 2005). The Cerrado representatives of *O. fornesi* form the taxon that subsequently links to *O. microtis*. *Oligoryzomys fornesi* and *O. microtis* which were synonymized in the past, have small size, show contradictory chromosomal data (Sbalqueiro and others 1991; Andrades-Miranda and others 2001; Weksler and Bonvicino 2005) and are clearly distinguishable by *cyt-b* sequences (Myers and others 1995; present investigation). The next taxon is *O. moojeni*, which presents the highest diploid number ($2n=70$) of the genus as its most distinctive characteristic (Weksler and Bonvicino 2005), and inhabits exclusively the Cerrado biome (Goiás and Minas Gerais).

In Figure 3 it can also be seen that *Oligoryzomys* sp. is the taxon that subsequently links to the basal taxa *O. microtis* – *O. fornesi* – *O. moojeni*. This species has not yet been described and was trapped in Amapá, presenting $2n = 66/FN = 74$ karyotype (Andrades-Miranda and others 2001). Because of the similarity in chromosome constitution and because it was collected in the Amazon, we first considered that it could be a taxon linked to *O. microtis* (which is distributed throughout

the Amazon Basin in Brazil). The results obtained in this work, however, clearly showed that although this species associates to other Amazonian *Oligoryzomys* taxa, it does not group with the specimens of *O. microtis*. Hence, for its correct taxonomic identification, a complete description of its morphology becomes necessary. *Oligoryzomys aff. messorius* joins subsequently this Amazon-Cerrado phylogeographic group. Thomas (1901) reported the taxon *messorius* in the Kanaku Mountains, Guiana, a place about 150 km from the locality where we collected our samples (Surumú, Roraima state, Brazilian Amazon). Musser and Carleton (2005) include *messorius* in the *O. fulvescens* species group.

A pair of *Oligoryzomys* species links the “Amazon-Cerrado” group to the “Pampa-Andean” clade. *Oligoryzomys stramineus* has a more restricted distribution (Cerrado of northern Goiás and Minas Gerais states, and the Caatinga of Paraíba and Pernambuco states). This distribution overlaps with that of *O. nigripes*, which is in turn widely spread, occurring in eastern Paraguay, northern Argentina, and western and southeastern Atlantic Forest in Brazil. In spite of the similarities between the two species (medium to large body size and superimposition of distribution areas), they still have large karyotype differences (Table 1).

O espécime de *O. fornesi* (OFO2), coletado no Paraguai por Palma and others (2005), está fortemente associado à *O. flavescens* (97% bootstrap; Figure 3), espécie esta distribuída no leste do Paraguai, sul e sudeste do Brasil, Uruguai e do norte ao centro-sul da Argentina.

In the *cyt-b* analysis, the *O. fornesi* (OFO2) specimen collected by Palma and others (2005) at Paraguay strongly associated with *O. flavescens* (97% bootstrap; Figure 3), a species which is restricted to eastern Paraguay, southeastern Brazil, Uruguay and northern to central-south Argentina. The same grouping was observed in the Figure 6A (IRBP alone), in which the two individuals of *O. flavescens* trapped at southeast (OFL2) and south (OFL1) of Brazil linked to two specimens of *O. fornesi* (OFO1 e OFO2), both inhabiting the Cerrado. But the analyses performed only with the *cyt-b* gene (Figure 3) or both genes (Figure 6C) show that the exemplars of *O. fornesi* from Cerrado (OFO1) and that from Paraguay (OFO2) are non monophyletic, probably being distinct taxa (Figures 5 and 6D). This polyphyly may be due to an identification error, occurring or in the exemplar from Paraguay (OFO2), which in the MP analysis grouped monophyletic (bootstrap, 96%) with *O. flavescens*.; or in *O. fornesi* specimens from Cerrado (OFO1) which presented exactly the same karyotype as *O. eliurus* collected in Brasília (Cerrado)

by Swartman (1989) and in the Pernambuco state (Caatinga biome) by Furtado (1981), and described in Andrades-Miranda and others (2001) under this denomination. It is possible that this taxon, whose karyotype suggests a wide distribution, includes more than one regional form that deserves a taxonomic revision.

The next group in the *cyt-b* analysis (Figure 3) is formed by two typical Andean species, *O. magellanicus* (Straits of Magellanes, Chile) and *O. longicaudatus* (northern Chile and north-western Argentina, southwards along Andes to approximately 50°S latitude).

The IRBP nuclear gene analyses (Figure 6A), though carried out with a lower number of species but including *O. fulvescens* - a species found in northern South America and in Central America, showed results that follow a trend comparable to those obtained in the *cyt-b* analyses, with similar groups being formed (*O. nigripes* + *O. stramineus* and of the “Amazon-Cerrado” group, *O. moojeni*, *O. messorius*, and *O. fulvescens*).

The north-to-south genetic gradient for the *Oligoryzomys* genus, suggested by the phylogenetic analyses is also supported by significant autocorrelations between the collection sites (correlogram shown in Figure 4), as well as the spatial correlation (Mantel’s test) between species genetic and geographic distances. This significant genetics/geography correlation considered with the geographic patterns depicted by the median-joining Network trees (Figures 5 and 6B-D) indicates a sharp north-to-south distribution for *Oligoryzomys*, and strongly support the hypothesis that the genus, starting from the northern Andes, had at first occupied the Amazon and the Cerrado, to later populate the more southern regions of South America. This proposal is also supported by the higher interspecies variability presented by the “Amazon-Cerrado” group in comparison with the lower levels of genetic diversity observed in the taxa of the “Pampa-Andean” clade.

Reig (1984, 1986) proposed that Oryzomyini (the tribe to which the *Oligoryzomys* genus belongs) had its origin in the northern Andes of South America (Ecuador, Colombia, and Venezuela). The genus *Oligoryzomys* and the other Sigmodontinae genera as proposed by this author and by Hershkovitz (1966, 1972) and supported by Savage (1974) and Engel and others (1998) had a North American ancestor which entered South American through its northwestern corner prior to the establishment of the Panamanian bridge, most probably between 5 and 9 MYA. Reig (1984, 1986) This author suggests that the ancestral lineage of Sigmodontinae (that

would be a proto-oryzomyine) would have arrived to the South American northwest coast by means of a passive transportation (natural rafts) and, from this point on had its evolutionary destiny molded by the intense orogenic episodes which the mass lands underwent in that period. These proto-oryzomyines that arrived to the area of northern Andes must have promptly dispersed in the highlands that emerged in the Miocene. The subsequent uplift of the cordillera in the Miocenic orogenic phase (Colombia and Ecuador) may have increased the heterogeneity of habitats, which in turn favored the diversification of this ancestral lineage. It is possible that taxa adapted to habitats of the mountainous forest appeared during this process. It can be postulated also that other oryzomyine were diversified in adaptations to biotopes to lower elevations, after invading the lowlands of northwest Andes and the more southern low areas. It is possible also that during this process taxa like *Oligoryzomys*, which are basically characteristic of low prairies and with tendencies to the herbivore feeding, may have emerged (Reig 1984).

References

- Andrades-Miranda J, Oliveira LFB, Lima-Rosa CAV, Nunes AP, Zanchin NIT, Mattevi MS. 2001. Chromosome studies of seven species of *Oligoryzomys* (Rodentia: Sigmodontinae) from Brazil. *J Mammal* 82: 1080-1091.
- Bandelt HJ, Forster P, Röhl, A. 1999. Median-Joining Networks for Inferring Intraspecific Phylogenies. *Mol Biol Evol* 16: 37-48.
- Bangs O. 1900. List of the mammals collected in the Santa Marta region of Colombia by W. W. Brown Jr. *Proc New Engl Zoo Club* 1:87-102.
- Bertorelle G, Barbujani G. 1995. Analysis of DNA diversity by spatial autocorrelation. *Genetics* 140: 811-819.
- Carleton MD, Musser GG. 1989. Systematic studies of oryzomyine rodents (Muridae, Sigmodontinae): a synopsis of *Microroryzomys*. *Bull Am Mus Nat Hist* 191: 1-83.
- Carroll DS, Mills JN, Montgomery JM, Bausch DG, Blair PJ, Burans JP, Felices V, Gianella A, Iihoshi N, Nichol ST, Olson JG, Rogers DS, Salazar M, Ksiazek TG. 2005. Hantavirus pulmonary syndrome in central Bolivia: relationships between reservoir hosts, habitats, and viral genotypes. *Am J Trop Med Hyg* 72: 42-46.
- Delfraro A, Clara M, Tomé L, Achaval F, Levis S, Calderón G, Enria D, Lozano M, Russi J, Arbiza J. 2003. Yellow pygmy rice rat (*Oligoryzomys flavescens*) and hantavirus pulmonary syndrome in Uruguay. *Emerg Infect Dis* 9: 846-852.

- Dickerman AW, Yates TL. 1995. Systematics of *Oligoryzomys*: protein-electrophoretic analyses. *J Mammal* 76: 172-188.
- Emmons LH, Feer F. 1999. Neotropical rainforest mammals: a field guide, 2nd edn. Chicago, IL: University of Chicago Press.
- Engel SR, Hogan KM, Taylor JF, Davis SK. 1998. Molecular systematics and paleobiogeography of the South American sigmodontine rodents. *Mol Biol Evol* 15: 35-49.
- Farris JS, Källersjö M, Kluge AG, Bult C. 1994. Testing significance of incongruence. *Cladistics* 10: 315-319.
- Farris JS, Källersjö M, Kluge AG, Bult C. 1995. Constructing a significance test for incongruence. *Syst Biol* 44: 570-572.
- Felsenstein J. 1985. Confidence Limits on Phylogenies: an Approach Using the Bootstrap. *Evolution* 39: 783-791.
- Furtado V. 1981. Diversidade cromossômica em roedores das famílias Cricetidae e Caviidae de Pernambuco, Brasil (D. Phil. Thesis). Porto Alegre, RS: Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- Hall TA. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Serie* 41: 95-98.
- 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 Saugtierkd* 31: 81-149.
- Hershkovitz P. 1972. The recent mammals of the Neotropical region: a zoogeographic and ecological review. In: Keast A, Erk FC, Glass B, editors. *Evolution, mammals and southern continents*. Albany: State University of New York Press, 311-431.
- Huelsenbeck JP, Ronquist F. 2001. Mr. Bayes: Bayesian inference of phylogeny. Rochester, NY: Biometrics, Department of Biology, University of Rochester.
- Kimura M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *J Mol Evol* 16: 111-120.
- Kumar S, Tamura K, Nei M. 2004. MEGA3: Integrated software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and sequence alignment. *Brief Bioinf* 5:150-163.
- Medrano JF, Aasen E, Sharrow L. 1990. DNA extraction nucleated red blood cells. *Biotechniques* 8: 43.

- Muschner VC, Lorenz AP, Cervi AC, Bonatto SL, Souza-Chies TT, Salzano FM, Freitas LB. 2003. A first molecular phylogenetic analysis of *Passiflora* (Passifloraceae). *Am J Bot* 90: 1229-1238.
- Musser GG, Carleton MD. 2005. Super Family Muroidea. In: Wilson DE, Reeder DM, editors. *Mammal species of the world: a taxonomic and geographic reference*. Baltimore: Johns Hopkins University Press, 894-1531.
- Myers P, Lundrigan B, Tucker PK. 1995. Molecular phylogenetics of Oryzomyine rodents: the genus *Oligoryzomys*. *Mol Phylogenet Evol* 4: 372-382.
- Nixon KC. 1999. Winclada (BETA) ver. 0.9.9. Published by the author, Ithaca, NY.
- Palma RE, Rivera-Milla E, Salazar-Bravo J, Torres-Pérez F, Pardiñas UFJ, Marquet PA, Spotorno AE, Meynard AP, Yates TL. 2005. Phylogeography of *Oligoryzomys longicaudatus* (Rodentia: Sigmodontinae) in temperate South America. *J Mammal* 86: 191-200.
- Patton JL, da Silva MNF. 1995. A review of spiny mouse genus *Scolomys* (Rodentia: Muridae: Sigmodontinae) with the description of a new species from the western Amazon of Brazil. *Proc Biol Soc Wash* 108: 319-337.
- Perini MV, Weimer T, Callegari-Jacques SM, Mattevi MS. 2004. Biochemical polymorphisms and genetic relationships in rodents of the genera *Oryzomys* and *Oligoryzomys* (Sigmodontinae) from Brazil. *Bioch Gen* 42: 317-329.
- Posada D, Crandall KA. 1998. MODELTEST: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics* 14: 817-818.
- Powers AM, Mercer DR, Watts DM, Guzman H, Fulhorst CF, Popov VL, Tesh RB. 1999. Isolation and genetic characterization of a hantavirus (Bunyaviridae: Hantavirus) from a rodent, *Oligoryzomys microtis* (Muridae), collected in northeastern Peru. *Am J Trop Med Hyg* 61: 92-98.
- Reig OA. 1984. Geographic distribution and evolutionary history of South American Muroids (Cricetidae: Sigmodontinae). *Braz J Gen* 7: 333-365.
- Reig OA. 1986. Diversity patterns and differentiation of high Andean rodents. In: Vuilleumier F, Monasterio M, editors. *High Altitude Tropical Biogeography*. New York, NY: Oxford University Press, 404-439.
- Savage JM. 1974. The isthmian link and the evolution of Neotropical Mammals. *Contr. Sc. Natural History of the Museum of Los Angeles County* 260: 1-51.

- Sbalqueiro IJ, Mattevi MS, Oliveira LF, Solano MJV. 1991. B chromosome system in populations of *Oryzomys flavescens* (Rodentia, Cricetidae) from southern Brazil. *Act Ther* 36: 193-199.
- Schneider S, Roesli D, Excoffier L. 2000. Arlequin: a software for population genetics data analysis. Version 2.000. Geneva, Switzerland: Genetics and Biometry Laboratory, Department of Anthropology, University of Geneva.
- Smith MF, Patton JL. 1993. The diversification of South American murid rodents: Evidence from mitochondrial DNA sequence data for the akodontine tribe. *Biol J Linn Soc* 50: 149-177.
- Smith MF, Patton JL. 1999. Phylogenetic relationships and the radiation of sigmodontine rodents in South America: Evidence from cytochrome b. *J Mammal Evol* 6: 89-128.
- Steppan SJ. 1995. Revision of the Tribe Phyllotini (Rodentia: Sigmodontinae) with a phylogenetic hypothesis for the Sigmodontinae. *Fieldiana: Zoology, New Series* 80: 1-112.
- Svartman M. 1989. Levantamento cariotípico de roedores da região do Distrito Federal (M. Sc. Dissertation). São Paulo, SP: Universidade de São Paulo.
- Swofford DL. 2001. Paup*. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (* and other Methods), Ver. 4.0 b10. Sunderland, MA: Sinauer Associates.
- Thomas O. 1901. On a collection of mammals from the Kanuku Mountains, British Guiana. *Ann Mag Nat Hist, series 7, 8*: 139-154.
- Thompson JD, Gibson TJ, Plewniak F, Jeanmougin F, Higgins DG. 1997. The CLUSTALX windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nuc Acid Res* 24: 4876-4882.
- Trott AI, Callegari-Jacques SM, Oliveira LFB, Langguth A, Mattevi MS. 2007. Genetic diversity and relatedness within and between species of the genus *Oligoryzomys* (Rodentia, Sigmodontinae). *Braz J Biol* 67: 631-637.
- Weksler M. 2003. Phylogeny of Neotropical oryzomyine rodents (Muridae: Sigmodontinae) based on the nuclear IRBP exon. *Mol Phylogenet Evol* 29: 331-349.
- Weksler M. 2006. Phylogenetic relationships of oryzomyine rodents (Muroidea: Sigmodontinae): separate and combined analyses of morphological and molecular data. *Bull Am Mus Nat Hist* 296: 1-149.

Weksler M, Bonvicino CR. 2005. Taxonomy of pigmy rice rats genus *Oligoryzomys* Bangs, 1900 (Rodentia, Sigmodontinae) of the Brazilian Cerrado, with the description of two new species. *Arq Mus Nac* 63: 113-130.

Weksler M, Percequillo AR, Voss RS. 2006. Ten new genera of oryzomyine rodents (Cricetidae: Sigmodontinae). *Am Mus Novitates* 3537: 1-29.

Xia X, Xie Z. 2001. DAMBE: Data analysis in molecular biology and evolution. *J Hered* 92:371-373.

Figure Legends

Figure 1. Map of collection sites (coordinates in Table 1): 1. Taim Ecological Station, Rio Grande, Rio Grande do Sul state (RS); 2. Bagé (RS); 3. Capão do Leão, Mostardas (RS); 4. Including the localities: (4) northern Tapes Bay, Tapes (RS), (5) Porto Alegre (RS), and (6) Charqueadas (RS); 7. Including the localities: (7) Tramandaí Lagoon, Tramandaí (RS), (8) Osório (RS), (9) Riozinho (RS), (10) Sapiranga (RS), and (11) São Francisco de Paula (RS); 12. Including the localities: (12) Torres (RS), (13) Tainhas (RS), and (14) Caxias do Sul (RS); 15. Parque Nacional do Turvo, Tenente Portela (RS); 16. Costa de Dentro, Florianópolis, Santa Catarina state (SC); 17. Including the locality: (17) Nonoai (RS), and (18) Concórdia (SC); 19. Parque Nacional de Iguaçu, Paraná state (PR); 20. Monte Verde, Espírito Santo state (ES); 21. Ipameri, Caldas Novas, Goiás state (GO); 22. Regalito Farm (GO); 23. Including the localities: (23) Serra da Mesa – Rio Tocantinzinho (GO), (24) Serra da Mesa – Rio Maranhão (GO), and (25) Serra da Mesa – Rio do Peixe (GO); 26. São Bento Farm, Tartarugalzinho, Amapá state (AP); 27. Surumu, Roraima state (RR); a. Rio Penitente, Chile; b. Bariloche, Argentina; c. Bahía San Blas, Argentina; d. Misiones, Paraguay; e. Mineros, Bolivia; and f. Teresina de Goiás, Brazil.

Figure 2. Strict consensus of 100 minimum-length trees resulting from parsimony analysis of *cyt-b* sequences of genus *Oligorizomys* (parsimony-informative characters = 229, tree length = 946, CI = 0.45, RI = 0.84). Exemplars analysed are those of Table 1 plus eight specimens of *O. longicaudatus* investigated by Palma and others (2005) in Argentina and Chile and one specimen of *O. microtis* collected by Patton and da Silva (1995) in Brazil. Numbers above branches and to the left of the nodes are bootstrap values; in front each branch acronyms and numbers corresponding to the locality and of the haplotype (in parenthesis). Acronyms are listed in Table 1.

Figure 3. Strict consensus tree resulting from likelihood analysis of *cyt-b* sequences of genus *Oligorizomys*. Numbers above branches are bootstrap values. Acronyms are listed in Table 1. □Andean biome; ○Pampa biome; ■Cerrado biome; ●Amazon biome; ◆ More than one biome.

Figure 4. Spatial correlogram of the genus *Oligoryzomys*. The axis-X represents the classes of geographical distances; axis-Y represents the values of the index of Moran (II). (**) Indicates $p < .005$, (*) indicates $p < .05$, and asterisk absence indicates no significance.

Figure 5. Median joining network of *cyt-b* haplotypes among species of *Oligoryzomys*. Numbers above the branches indicate the number of the base changes between connected taxa. Acronyms are listed in Table 1. □ Andean biome; ○ Pampa biome; ■ Cerrado biome; ● Amazon biome; ◆ More than one biome.

Figure 6A. Strict consensus tree resulting from likelihood analysis of IRBP sequences of genus *Oligoryzomys*. Numbers above branches are bootstrap values. **6B.** Median joining network of genus *Oligoryzomys* sequences (IRBP gene). Numbers above the branches indicate the number of the base changes between connected taxa. **6C.** Strict consensus tree resulting from likelihood analysis of the concatenated genes (*cyt-b* + IRBP) sequences of *Oligoryzomys*. Numbers above branches are bootstrap values. **6D.** Median joining network of haplotypes of genus *Oligoryzomys* (*cyt-b* + IRBP genes). Numbers above the branches indicate the number of the base changes between connected taxa. Acronyms are listed in Table 1

Table 1. Species (acronyms), 2n/NF, number of exemplars, morphoclimatic domain of the collect sites, localities, and Genbank accessions numbers of specimens analysed.

Species	N	Biome	Locality ^a (coordinates)	GenBank	
Cytochrome <i>b</i> Mitochondrial Gene					
<i>O. nigripes</i> (ONI) 62/80-82	1	Pampa	1 (32°29'S; 52°34'W)	DQ825990	
	2	Pampa	2 (31°20'S; 54°06'W)	DQ825989	
	3	Pampa	3 (31°10'S; 51°31'W)	DQ826000	
	2	Pampa	4 (30°40'S; 51°23'W)	DQ825999	
	3	Pampa	6 (29°57'S; 51°37'W)	DQ825992	
	5	Atlantic RF ^b	8 (29°54'S; 50°16'W)	DQ825991	
	3	Pampa-Atlantic RF ^b	10 (29°38'S; 51°00'W)	DQ825997	
	3	Pampa-Atlantic RF ^b	11 (29°27'S; 50°35'W)	DQ825996	
	3	Atlantic RF ^c	12 (29°19'S; 49°46'W)	DQ825998	
				DQ825987*	
	2	Pampa-Atlantic RF ^b	13 (29°16'S; 50°18'W)	DQ826005	
	1	Pampa-Atlantic RF ^b	14 (29°10'S; 51°11'W)	DQ825995	
	2	Pampa-Atlantic RF ^b	15 (27°22'S; 53°45'W)	DQ825994	
	1	Atlantic RF ^c	16 (27°35'S; 48°34'W)	DQ826001	
	1	Pampa-Atlantic RF ^b	17 (27°21'S; 52°47'W)	DQ826003	
	2	Pampa-Atlantic RF ^b	18 (27°14'S; 52°01'W)	DQ826002	
	3	Atlantic RF ^c	19 (25°32'S; 54°35'W)	DQ825988	
	3	Atlantic RF ^c	20 (19°53'S; 41°57'W)	DQ826004	
	2	Cerrado	21 (17°44'S; 48°37'W)	DQ825993	
	<i>O. flavescens</i> (OFL) 64-66/64-67 ^c	2	Pampa	1 (32°29'S; 52°34'W)	DQ826009
		2	Pampa	3 (31°10'S; 51°31'W)	DQ826012
3		Pampa	5 (30°05'S; 51°13'W)	DQ826007	
2		Pampa	6 (29°57'S; 51°37'W)	DQ826014*	
3		Atlantic RF ^c	7 (29°59'S; 50°08'W)	DQ826010	
1		Atlantic RF ^c	8 (29°54'S; 50°16'W)	DQ826011	
1		Pampa-Atlantic RF ^b	9 (29°38'S; 50°27'W)	DQ826006	
3		Pampa-Atlantic RF ^b	10 (29°38'S; 51°00'W)	DQ826008	
3	Pampa-Atlantic RF ^b	13 (29°16'S; 50°18'W)	DQ826013		

	1	Atlantic RF ^c	16 (27°35'S; 48°34'W)	DQ826015
<i>O. moojeni</i> (OMO) 70/74	1	Cerrado	23 (13°31'S; 48°13'W)	DQ826019
	3	Cerrado	24 (14°09'S; 48°04'W)	DQ826016*
				DQ826017
				DQ826018
	2	Cerrado	25 (14°31'S; 49°08'W)	DQ826020
				DQ826021
<i>O. fornesi</i> (OFO1) 62/64	2	Cerrado	23 (13°31'S; 48°13'W)	DQ826022
				DQ826023*
<i>O. messorius</i> (OME) 56/58	1	Amazon	27 (04°11'N; 60°47'W)	DQ826024*
<i>Oligoryzomys</i> sp (OSP) 66/74	1	Amazon	26 (01°30'N; 50°54'W)	DQ826025*
<i>O. stramineus</i> (OST) 52/68	2	Cerrado	22 (14°29'S; 46°06'W)	DQ826026*
				DQ826027
Genbank				
<i>O. magellanicus</i> (OMA)	1	Andean ^d	a (52°06'S; 71°32'W)	AY275705 ¹
<i>O. longicaudatus</i> (OLO)	1	Andean ^d	b (41°09'S; 71°18'W)	U03535 ²
<i>O. l. pampanus</i> (OLP)	1	Pampa ^d	c (40°33'S; 62°13'W)	AY275704 ¹
<i>O. fornesi</i> (OFO2)	1	Chaco ^d	d (26°15'S; 57°01'W)	AY452199 ¹
<i>O. microtis</i> (OMI)	1	Amazon ^d	e (17°48'S; 63°10'W)	AY439000 ³
Outgroups				
<i>Euryoryzomys russatus</i>	1	Pampa-Atlantic RF ^b	NI	DQ826028
<i>Microryzomys minutus</i>	1	Amazon ^d	NI	AF108698 ⁴
<i>Neacomys spinosus</i>	1	Amazon ^d	NI	AF108701 ⁴
<i>Nectomys squamipes</i>	1	Atlantic RF ^c	NI	EF562455
IRBP Nuclear Gene				
<i>O. nigripes</i> (ONI1)	1	Pampa-Atlantic RF ^b	12 (29°19'S; 49°46'W)	DQ826029
<i>O. flavescens</i> (OFL1)	1	Pampa	6 (29°57'S; 51°37'W)	DQ826030
<i>O. moojeni</i> (OMO)	1	Cerrado	24 (14°31'S; 49°08'W)	DQ826031
<i>O. fornesi</i> (OFO1)	1	Cerrado	23 (13°31'S; 48°13'W)	DQ826033
<i>O. messorius</i> (OME)	1	Amazon	22 (08°45'S; 63°28'W)	DQ826032
Genbank				
<i>O. flavescens</i> (OFL2)	1	Atlantic RF ^c	NI	AY163609 ⁵
<i>O. fornesi</i> (OFO2)	1	Cerrado ^d	NI	AY163610 ⁵

<i>O. fulvescens</i> (OFU)	1	Amazon ^d	NI	AY163611 ⁵
<i>O. nigripes</i> (ONI2)	1	Atlantic RF ^c	NI	AY163612 ⁵
<i>O. stramineus</i> (OST)	1	Cerrado ^d	f (13°47'S; 47°16'W)	AY163613 ⁵
Outgroups				
<i>Euryoryzomys russatus</i>	1	Pampa-Atlantic RF ^b	NI	DQ826034
<i>Microryzomys minutus</i>	1	Amazon ^d	NI	AY163592 ⁵
<i>Neacomys spinosus</i>	1	Amazon ^d	NI	AY163597 ⁵
<i>Nectomys squamipes</i>	1	Atlantic RF ^c	NI	AY163598 ⁵

N = number of individuals; ^aNumbers (1) and letters (a) correspond to the collection points depicted in Figure 1; *Individuals included in the phylogenetic analysis shown in Figure 3; ^bPampa-Atlantic Rain Forest transition; ^cRF = Rain Forest; ^dBiomes of the collected point referred by the authors; ^eRange of the autosomal arms observed in the specimens included in this analysis; NI = not informed; ¹Palma and others (2005); ²Smith and Patton (1993); ³Carroll and others (2005); ⁴Smith and Patton (1999); ⁵Weksler (2003).

Table 2. The pairwise K2p distances with *cyt-b* gene among the 12 taxa of *Oligoryzomys*.

	OFL	OFO2	OLO	OLP	OMA	ONI	OST	OMO	OFO1	OME	OSP	OMI
OFL	0.0000											
OFO2	0.0438	0.0000										
OLO	0.0408	0.0701	0.0000									
OLP	0.0442	0.0701	0.0154	0.0000								
OMA	0.0327	0.0634	0.0154	0.0185	0.0000							
ONI	0.0742	0.1030	0.0726	0.0762	0.0674	0.0000						
OST	0.0673	0.1030	0.0866	0.0886	0.0796	0.0509	0.0000					
OMO	0.0831	0.1158	0.0903	0.0905	0.0762	0.0883	0.0883	0.0000				
OFO1	0.1203	0.1569	0.1261	0.1340	0.1185	0.1215	0.1290	0.1222	0.0000			
OME	0.0710	0.0961	0.0899	0.0936	0.0863	0.0797	0.0883	0.0972	0.1254	0.0000		
OSP	0.0898	0.1247	0.1062	0.1064	0.1007	0.0971	0.1099	0.1061	0.1365	0.1042	0.0000	
OMI	0.1216	0.1503	0.1328	0.1368	0.1162	0.1293	0.1351	0.1181	0.1364	0.1349	0.1459	0.0000

 Pampa-Andean Clade
 Amazon-Cerrado Group

Acronyms are listed in Table 1.

Figure 1

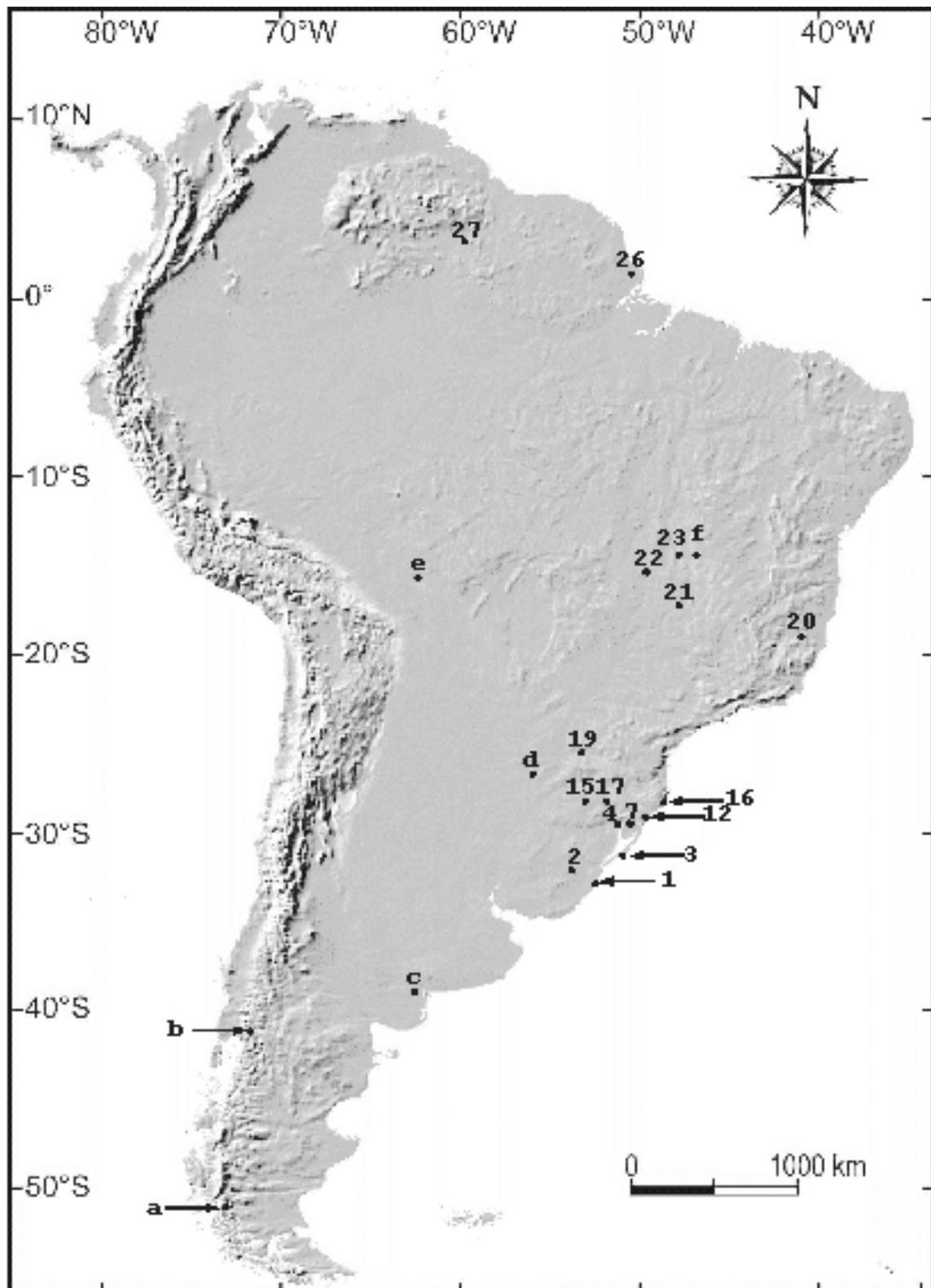


Figure 3

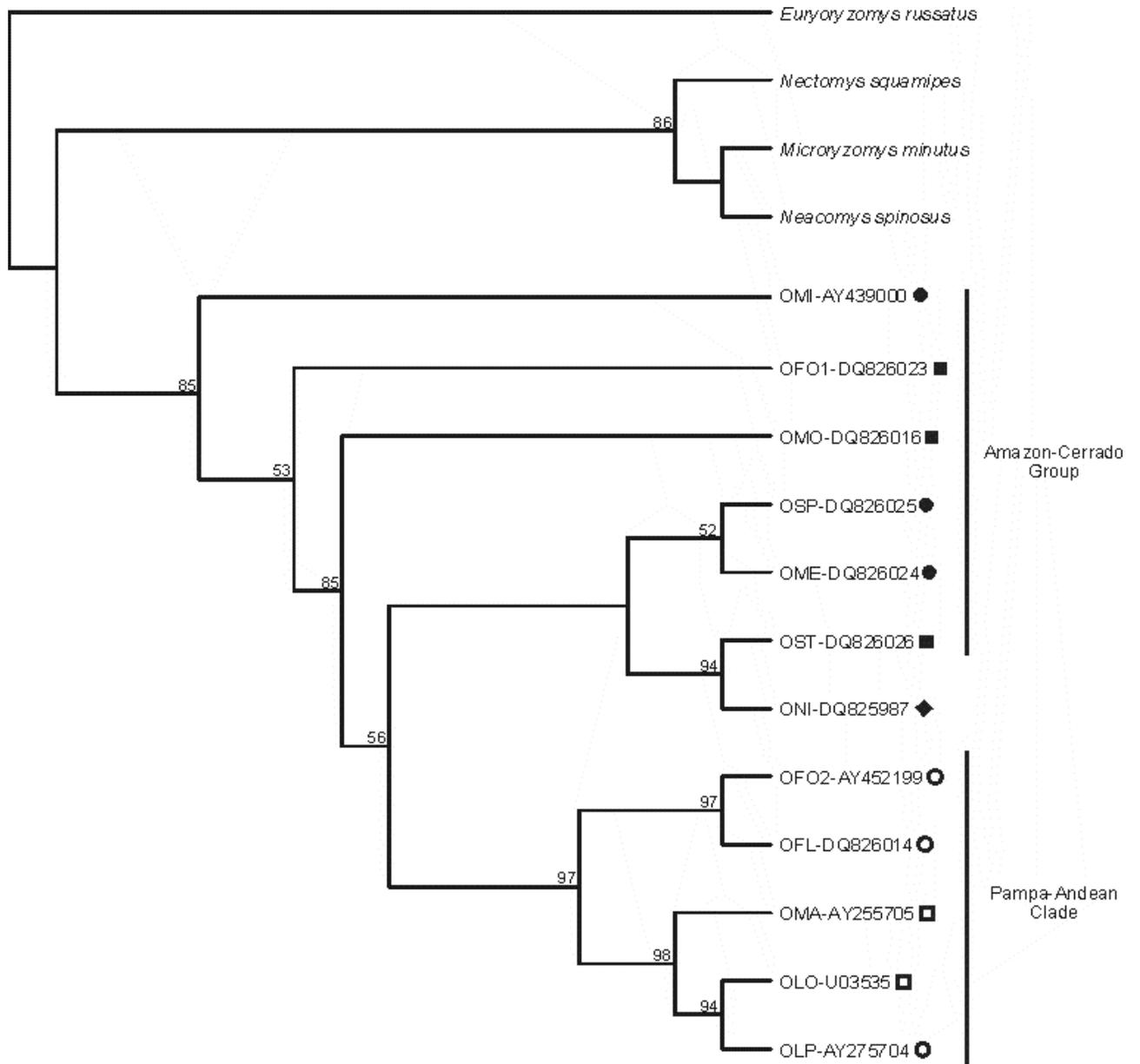


Figure 4

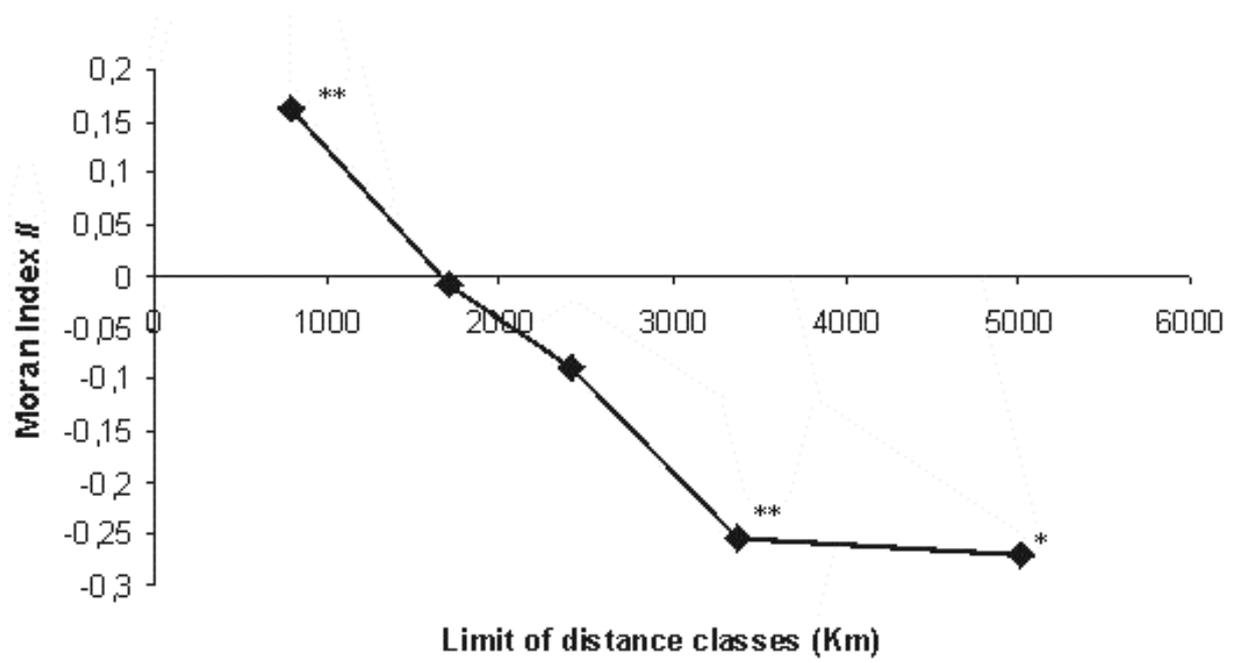


Figure 5

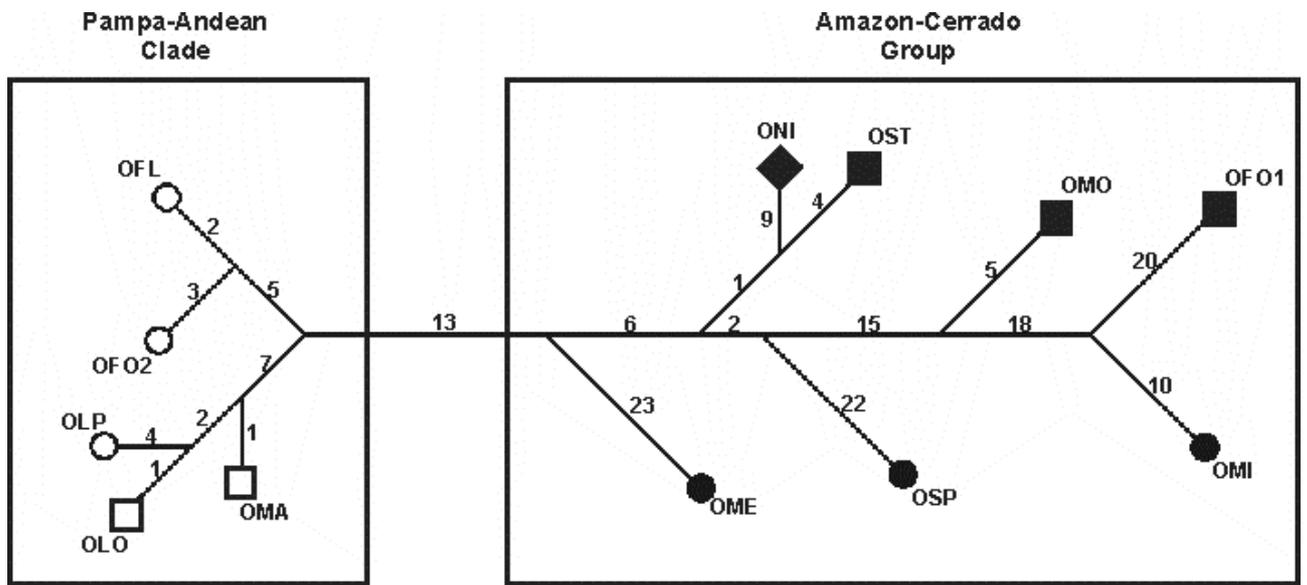
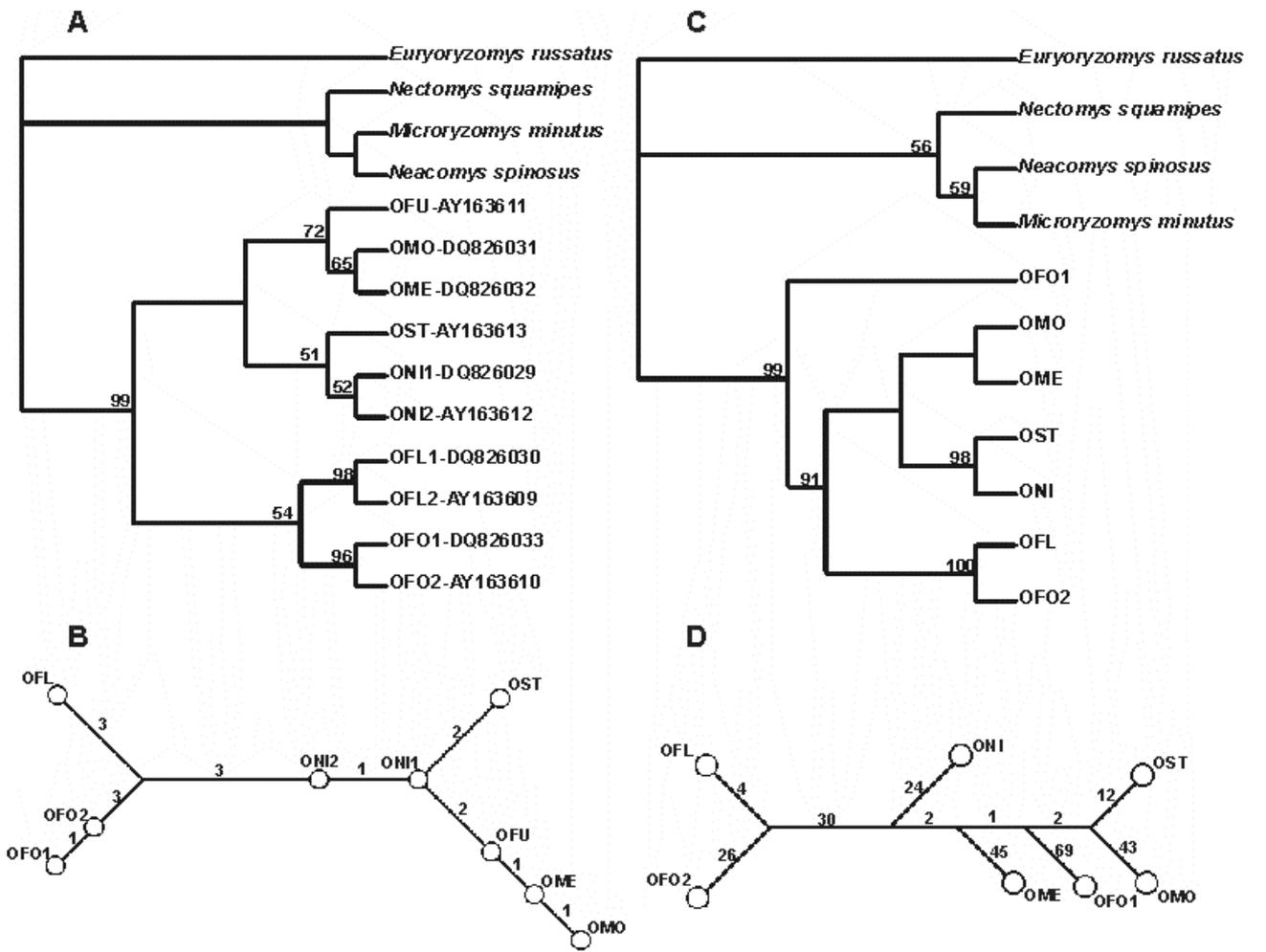


Figure 6



ARTIGO 3: submetido em Organisms Diversity & Evolution

Intraspecific relationships of the species *Oligoryzomys flavescens*, *O. moojeni*, and *O. nigripes* (Rodentia, Cricetidae, Sigmodontinae) from Brazil

Gustavo B. Miranda^a; Jaqueline Andrades-Miranda^a; Luiz F. B. Oliveira^b; Alfredo Langguth^c; Sidia M. Callegari-Jacques^{a,d}; Margarete S. Mattevi^{a,e,*}

^a*Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Caixa Postal 15053, 91501-970, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil*

^b*Setor de Mastozoologia, Museu Nacional, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 20940-040, Rio de Janeiro, Brazil*

^c*Departamento de Sistemática e Ecologia, Campus Universitário, Universidade Federal da Paraíba, 58059-900 João Pessoa, Paraíba, Brazil*

^d*Departamento de Estatística, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves 9500, 91509-900 Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil*

^e*Curso de Pós-Graduação em Genética e Toxicologia Aplicada, Universidade Luterana do Brasil, Av. Farroupilha, 8001, 92420-280, Canoas, Rio Grande do Sul, Brazil*

**Corresponding author.*

E-mail address: mattevi@terra.com.br

(M. S. Mattevi)

Abstract

Oligoryzomys is one of the 27 genera of the tribe Oryzomyini (Musser and Carleton, 2005; Weksler et al., 2006) of the Neotropical Sigmodontinae rodents. The taxon was removed from the genus *Oryzomys* by Bangs (1900) to join a group of species whose members were distinguished by morphologic measurements. Although the genetic relationships between these groups of rodent species have not been analysed extensively, the few investigations performed found them quite homogeneous. In this article we report the results of an analysis carried out using sequences of the mitochondrial cytochrome *b* gene of the species *Oligoryzomys flavescens*, *O. moojeni*, and *O. nigripes* in order to determine the levels of genetic variability within and among the populations of these species, as well as to ascertain their structuring and/or grouping relationships. The sample was 74 sequences, consisting of 69 specimens of three *Oligoryzomys* species trapped in 24 sites located in three morphoclimatic domains of South America, Cerrado, Atlantic Rain Forest and Pampa and four other taxa used as outgroups. The lack of population differentiation (low sequence divergence values and absence of significant associations between haplotypes and geographic location) was observed in two (*O. flavescens* and *O. moojeni*) of the three species for which analyses of population structure were performed. This result suggests that the absence of intraspecific population differentiation might be the overall pattern of the genus.

Keywords: *Oligoryzomys*; Oryzomyini; Sigmodontinae; Population structure; AMOVA; Mantel

Introduction

Oligoryzomys is one of the 27 genera of the tribe Oryzomyini (Musser and Carleton 2005; Weksler et al. 2006) of the Neotropical Sigmodontinae rodents. The genus occupies a wide geographic range across Central and South Americas (from Mexico to Tierra del Fuego, respectively). It is a taxon of small mice which are terrestrial and nocturnal, feed on seeds, fruits, and insects and can be found in a variety of habitats and climates, from rain forests to grasslands, and from sea level to the high Andes altitudes (Carleton and Musser 1989; Emmons and Feer 1999). Some species can be agricultural pests or significant reservoirs of Hantavirus (Powers et al. 1999; Delfraro et al. 2003; Carroll et al. 2005).

The number of species of genus *Oligoryzomys* ranged from one (Hershkovitz 1966) to over 30 (Tate 1932). Currently, it includes 20 recognized species (Musser and Carleton 2005; Weksler and Bonvicino 2005), around half of this number being found in Brazil, with some species inhabiting exclusively the morphoclimatic domains of the Cerrado, and others occupying the Pampa or the Atlantic and Amazonian rainforest biomes.

The taxon *Oligoryzomys* was removed from the genus *Oryzomys* by Bangs (1900) aiming to cluster a group of species which was characterized by its smaller size, a somewhat long tail and a delicate skull without supraoccipital ridges. These are quantitative characters, which, to a certain extent, hinder the discrimination of the species of both genera, taking into account, mainly, that the size of these species is distributed on a gradient. This lack of qualitative marker characters led several authors to consider *Oligoryzomys* as a subgenus of *Oryzomys* (Cabrera 1961; Nowak and Paradiso 1983, among others). Carleton and Musser (1989) were the first to point out several discrete cranial characteristics making it possible to distinguish this group of species as a full genus. Afterwards, data obtained from electrophoresis of allozymes (Dickerman and Yates 1995, Perini et al. 2004) and from mtDNA sequencing (Myers et al. 1995; Bonvicino and Moreira 2001) clearly indicate the monophyly of *Oligoryzomys*.

Although the genetic relationships between these groups of rodent species have not been analysed extensively, the few investigations performed found them quite homogeneous. Dickerman and Yates (1995), trying to solve the taxonomic position of *Oligoryzomys* by means of protein-electrophoretic analysis, found the species of the genus to be weakly differentiated, with no fixed differences among them as regards their

allozyme patterns. Myers et al. (1995), studying the cytochrome *b* sequences in several species of *Oligoryzomys*, found very little evidence of differentiation among their populations. Similar results were obtained by Trott et al. (2007). Using RAPD markers in several populations of six species of *Oligoryzomys*, the authors observed no genetic differentiation among the populations or among the species. Chiappero et al. (1997) used enzyme-electrophoretic analysis to estimate gene flow among populations of *O. flavescens* of Argentina, detecting a lack of isolation by distance pattern among these populations.

In this article we report the results of an analysis carried out using sequences of the mitochondrial cytochrome *b* gene of 69 individuals of the species *Oligoryzomys flavescens*, *O. moojeni*, and *O. nigripes* collected in 24 localities of Brazil, in order to determine the levels of genetic variability within and among the populations of these species, as well as to ascertain their structuring and/or grouping relationships.

Materials and Methods

Species Analysed

The sample was 74 sequences, consisting of 69 specimens of three *Oligoryzomys* species trapped in 24 sites located in three morphoclimatic domains of South America, Cerrado, Atlantic Rain Forest and Pampa (Fig. 1) and four other *Oligoryzomys* taxa plus *Microryzomys minutus* used as outgroups (Table 1). All animals of the *Oligoryzomys* species whose cytochrome *b* (*cyt-b*) gene were sequenced were karyotyped (karyotypes are available in Andrades-Miranda et al. 2001). The skins and skulls of these specimens are stored in the Mammal Collection of the Museu Nacional, Rio de Janeiro (Appendix).

Nucleotide Acid Sequence Analysis

DNA was extracted from kidney, liver, heart or muscle (stored at -20°C or in ethanol 70% purity) using the standard protocol described in Medrano et al. (1990). The mitochondrial *cyt-b* gene sequences were isolated via polymerase chain reaction (PCR) using the primers MVZ 05 (light-strand) and MVZ 16 (heavy-strand) as suggested by Smith and Patton (1993). PCR products were purified with exonuclease I and shrimp alkaline phosphatase (Amersham Biosciences). All taxa were sequenced directly from purified PCR products using the primers cited above and the ABI Prism BigDye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit (Perkin Elmer Applied Biosystems),

according to the manufacturer's instructions. Sequencing of both strands was done using an ABI Prism 3100 Genetic Analyser (Applied Biosystems). Majority sequences are available in GenBank as displayed in Table 1.

Data Analysis

The sequences obtained were read employing the program Chromas 1.45, aligned using the program Clustal X 1.81 (Thompson et al. 1997) under the default setting costs, and manually refined with the aid of the BIOEDIT program (Hall 1999). Saturation plots were obtained with the Data Analysis in Molecular Biology and Evolution software (DAMBE; Xia and Xie 2001). The phylogenetic analyses Neighbor-joining (NJ), the composition of bases and Kimura 2-parameter (K2p) distance (Kimura 1980) were obtained with the Molecular Evolution Genetics Analysis software (MEGA 3; Kumar et al. 2004).

Maximum Parsimony analyses (MP) were performed using PAUP* v.4.0b10, (Swofford 2001) by heuristic search with tree bisection-reconnection (TBR) branch swapping, the MULPARS option, and 100 random-addition replicates. Bootstrap statistical support (Felsenstein 1985) was carried out with 1,000 replications of heuristic search and simple taxon addition, with the all trees saved option.

Maximum-likelihood (ML) tree estimation was conducted with PHYML (Guindon and Gascuel 2003). The appropriate model of nucleotide substitution for ML analysis was determined using the MODELTEST 3.06 program (Posada and Crandall 1998). The support estimates for the ML trees branches by bootstrap analysis were obtained as described in Xiang et al. (2002).

Networks using the Median-joining (MJ) method were obtained with the software Network v.4.1.0.0 (Bandelt et al. 1999; available at <http://www.fluxus-engineering.com>).

The hierarchy analyses of genetic diversity of populations were carried out using AMOVA (Excoffier et al. 1992). These analyses, Mantel tests and the mismatch distribution were carried out using the Arlequin 2000 software (Schneider et al. 2000). To generate a spatial correlogram we used the Autocorrelation Index for DNA Analysis II (Bertorelle and Barbujani 1995), which measures whether and to what extent individual sequences resemble the sequences sampled at different places. II index is analogous to Mouran's I which, in turn, is based rather on allele or haplotype frequencies. For geographic distances, the locality coordinates presented in Table 1

where used; the construction of the correlograms was based on five distance classes. A gradient is identified when the Π indexes decrease continuously from positive significant to negative significant values as the distance between locations increase. This analysis was done with the software AIDA (Bertorelle and Barbujani 1995).

Results

The intraspecific genetic diversity and structure of the populations were tested in the three species using 801 bp fragments of the mitochondrial gene cytochrome *b*. Concerning the species *O. nigripes*, 42 individuals collected in 18 sites were analysed, in which a high genetic diversity (30 different haplotypes, Appendix) and an average genetic distance among the individuals of 0.68% were obtained. The phylogenetic trees (ML, MP, and NJ) analysed showed a large number of branches with low bootstrap values, and few groups (defined as "population" groups or "geographic area" groups,) with marginal (between 50% and 70%, as according Weksler 2003) or moderate (between 70% and 85%) bootstraps supports, as exemplified in the ML tree shown in Fig. 2.

A molecular variance analysis (AMOVA) performed using 14 populations of *O. nigripes* (considering those localities with at least two sequenced individuals, see Table 1), yielded a significant value for Φ_{ST} (0.18; $p = 0.001$). Mantel's r between K2p genetic distances and geographical locations for all individuals was 0.38 ($p = 0.004$). These results indicate that this species is geographically structured in populations. The mismatch distribution (Fig. 3A) and the network analysis (Fig. 3B) suggest that *O. nigripes* is a species in expansion.

Oligoryzomys flavescens presented also a high level of genetic diversity with 16 different haplotypes in 21 individuals (Appendix) analysed (from ten localities) and an average genetic distance of 0.65%. The phylogenetic trees (MP, NJ and ML) analysed for this species presented many polytomies and few distinct population and/or area groups, with marginal and moderate bootstraps (Fig. 2).

The AMOVA performed in seven populations of *O. flavescens* (considering those places with at least two sequenced individuals, see Table 1) presented a statistically non-significant ($p = 0.077$) Φ_{ST} of 0.15, indicating that this species is not structured in geographic populations. We also did not find any correlation between genetic and geographical distances Mantel's $r = 0.02$; $p = 0.40$. The results of the mismatch distribution (Fig. 3C) and Network analysis (Fig. 3D) show that *O. flavescens* is a

species in expansion.

In *O. moojeni* each individual had its own haplotype (Appendix), the average genetic distance being 3.52%. The MP, NJ and ML analyses generated similar trees in which generally the specimens group according to their collection sites with moderate to high bootstraps values (Fig. 2). However, both the AMOVA analysis performed in five specimens of two populations of *O. moojeni* and the Mantel's test (all individuals) did not support the conclusion of population structure or geographic dependency for the genetic variability ($\Phi_{ST} = 0.03$; $p = 0.292$; Mantel's $r = -0.18$; $p = 0.64$). The mismatch distribution (Fig. 3E) and the Network analysis (Fig. 3F), however, present *O. moojeni* as a species at demographic equilibrium. This finding, in part, disagrees with the fact that this species is not structured in populations. Probably, these results are largely due to the small sample size (six individuals), collected at three locals closely located.

Discussion

The results of the intraspecies genetic diversity analyses and of the population structure as obtained for the three *Oligoryzomys* species analysed (*O. nigripes*, *O. flavescens* and *O. moojeni*) by the variation in *cyt-b* sequences have revealed that each species shows a different pattern of variation.

The three species are characterized by a high genetic diversity, with the presence of a considerable number of haplotypes for each species, a result similar to that obtained by Palma et al. (2005) for *O. longicaudatus*, a species that distributes southwards (33 haplotypes/33 specimens analysed). This pattern, however, is not universal for the genus, as Patton et al. (1996) found only 11 haplotypes in 76 specimens of the Amazonian *O. microtis*.

Oligoryzomys nigripes exhibited short genetic distances between the geographic populations, which is compatible with molecular diversity patterns molded by recent historic events. The AMOVA analysis suggests that, apart from the population structure detected, this species showed the lowest intraspecies genetic variation as compared to the other species analysed (*O. flavescens* and *O. moojeni*). The Mantel's test showed a significant correlation, though weak, between the genetic distances and the geographic distances. The median joining Network trees (Fig. 3B), showed a star-like pattern with a central haplotype to which other haplotypes connect. This divergence pattern is typical of populations that only recently colonized new regions and/or are expanding (Conroy and Cook 2000). The analyses of the mismatch distributions have revealed that the

patterns presented by *O. nigripes* (Fig. 3A) are distinct from the single-peak curve characteristic of populations under expansion (Rogers and Harpending 1992). *Oligoryzomys nigripes* occupies a large geographic extension of the South American lowlands and, due to its status of a very active agricultural plague, may depend upon the growth of tilled areas to continue to expand its population (Emmons and Feer 1999).

Oligoryzomys flavescens (Fig. 3C, D) presented genetic distances and degree of genetic diversity similar to those found for *O. nigripes*. Yet, *O. flavescens* populations did not show a geographic structure. The species is endemic in the Pampa biome and the median-joining Network and mismatch analyses revealed that the populations studied show an expansion pattern (star-like and single peak, respectively). In addition, since the species, like *O. nigripes*, is an agricultural plague, its feeding habits must have expressively contributed to its recent territorial expansion, as the biome occupied is characteristically agricultural.

Oligoryzomys moojeni presented relatively large intraspecific genetic diversity, side by side with high genetic variation and no species structure. The distribution and Network analyses, however, present *O. moojeni* as a species in demographic equilibrium (Fig. 3E, F).

According to Templeton et al. (1995), the lack of geographic association between haplotypes may be due to panmixy of populations (gene flow), to inappropriate sampling procedures (either in terms of number or of geographic representativeness), or to a small genetic variation between species. Concerning *O. flavescens*, the most likely explanation for the lack of association is panmixia, because, apart from presenting high haplotype variation, the specimens were sampled in an area that covers the largest part of the species' distribution range. As to *O. moojeni*, the absence of geographic association may be imputable to inappropriate sampling procedures. The fact that the species population is not expanding, on the other hand, may be due to the fact that the species has a restricted distribution, endemic to the biome Cerrado. This issue will hardly be solved, as the sample as described in the present study is the result of the salvage of animals as of the construction of a hydroelectric dam, and thus the populations investigated are now extinct.

Two other *Oligoryzomys* species, *O. microtis* (Patton et al. 1996) and *O. longicaudatus* (Palma et al. 2005), underwent demographic/phylogeographic investigations. In both analyses, the lack of population differentiation with low sequence divergence values, and the absence of significant associations between

haplotypes and respective geographic distribution were observed. These results indicate that the low intraspecific diversity found in four out of five species studied (*O. microtis*, *O. flavescens*, *O. moojeni*, and *O. longicaudatus*) may in fact be the genus' general pattern. It is possible that the weaker among-population isolation-by-distance relationship observed, as compared to that obtained between localities of *O. nigripes*, is mainly an effect of the large area covered by our sampling procedure.

Acknowledgments

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS), and the Organization of the American States (OAS) have supported this study. The authors are grateful to Luciano S. Silva for technical help.

References

- Andrades-Miranda, J., Oliveira, L.F.B., Lima-Rosa, C.A.V., Nunes, A.P., Zanchin, N.I.T., Mattevi, M.S., 2001. Chromosome studies of seven species of *Oligoryzomys* (Rodentia: Sigmodontinae) from Brazil. *J. Mammal.* 82, 1080-1091.
- Bandelt, H.J., Forster, P., Röhl, A., 1999. Median-Joining Networks for Inferring Intraspecific Phylogenies. *Mol. Biol. Evol.* 16, 37-48.
- Bangs, O., 1900. List of the mammals collected in the Santa Marta region of Colombia by W. W. Brown Jr. *Proc. New. Engl. Zoo. Club.* 1, 87-102.
- Bertorelle, G., Barbujani, G., 1995. Analysis of DNA diversity by spatial autocorrelation. *Genetics* 140, 811-819.
- Carleton, M.D., Musser, G.G., 1989. Systematic studies of oryzomyine rodents (Muridae, Sigmodontinae): a synopsis of *Microryzomys*. *Bull. Am. Mus. Nat. Hist.* 191, 1-83.
- Carroll, D.S., Mills, J.N., Montgomery, J.M., Bausch, D.G., Blair, P.J., Burans, J.P., Felices, V., Gianella, A., Iihoshi, N., Nichol, S.T., Olson, J.G., Rogers, D.S., Salazar, M., Ksiazek, T.G., 2005. Hantavirus pulmonary syndrome in central Bolivia: relationships between reservoir hosts, habitats, and viral genotypes. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 72, 42-46.

- Chiappero, M.B., Calderón, G.E., Gardenal, C.N., 1997. *Oligoryzomys flavescens* (Rodentia, Muridae): gene flow among populations from central-eastern Argentina. *Genetica* 101, 105-113.
- Conroy, C.J., Cook, J.A., 2000. Phylogeography of a post-glacial colonizer: *Microtus longicaudatus* (Rodentia: Muridae). *Mol. Ecol.* 9, 165-175.
- Delfraro, A., Clara, M., Tomé, L., Achaval, F., Levis, S., Calderón, G., Enria, D., Lozano, M., Russi, J., Arbiza, J., 2003. Yellow pygmy rice rat (*Oligoryzomys flavescens*) and Hantavirus pulmonary syndrome in Uruguay. *Emerg. Infect. Dis.* 9, 846-852.
- Dickerman, A.W., Yates, T.L., 1995. Systematics of *Oligoryzomys*: protein-electrophoretic analyses. *J. Mammal.* 76, 172-188.
- Emmons, L.H., Feer, F., 1999. Neotropical rainforest mammals: a field guide, second ed. University of Chicago Press, Chicago.
- 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.
- Felsenstein, J., 1985. Confidence Limits on Phylogenies: an Approach Using the Bootstrap. *Evolution* 39, 783-791.
- Gardner, A.L., Patton, J.L., 1976. Karyotypic variation in chromosomal evolution in the Neotropical cricetine complex. *Occ. Pap. Mus. Zoo., Louisiana State University* 49, 1-48.
- Guindon, S., Gascuel, O., 2003. A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by Maximum Likelihood. *Syst. Biol.* 52, 696-704.
- Hall, T.A., 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Serie* 41, 95-98.
- Kimura, M., 1980. A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *J. Mol. Evol.* 16, 111-120.
- Kumar, S., Tamura, K., Nei, M., 2004. MEGA3: Integrated software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and sequence alignment. *Brief. Bioinf.* 5, 50-163.
- Medrano, J.F., Aasen, E., Sharrow, L., 1990. DNA extraction nucleated red blood cells. *Biotechniques* 8, 43.

- Musser, G.G., Carleton, M.D., 2005. Super Family Muroidea, in: Wilson, D.E., Reeder, D.M. (Eds.), *Mammal species of the world: a taxonomic and geographic reference*. Johns Hopkins University Press, Baltimore, pp. 894-1531.
- Myers, P., Lundrigan, B., Tucker, P.K., 1995. Molecular phylogenetics of Oryzomyine rodents: the genus *Oligoryzomys*. *Mol. Phylogenet. Evol.* 4, 372-382.
- Palma, R.E., Rivera-Milla, E., Salazar-Bravo, J., Torres-Pérez, F., Pardiñas, U.F.J., Marquet, P.A., Spotorno, A.E., Meynard, A.P., Yates, T.L., 2005. Phylogeography of *Oligoryzomys longicaudatus* (Rodentia: Sigmodontinae) in temperate South America. *J. Mammal.* 86, 191-200.
- Patton, J.L., da Silva, M.N.F., Malcolm, J.R., 1996. Hierarchical genetic structure and gene flow in the three sympatric species of amazonian rodents. *Mol. Ecol.* 5, 229-238.
- Perini, M.V., Weimer, T., Callegari-Jacques, S.M., Mattevi, M.S., 2004. Biochemical polymorphisms and genetic relationships in rodents of the genera *Oryzomys* and *Oligoryzomys* (Sigmodontinae) from Brazil. *Bioch. Gen.* 42, 317-329.
- Posada, D., Crandall, K.A., 1998. MODELTEST: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics* 14, 817-818.
- Powers, A.M., Mercer, D.R., Watts, D.M., Guzman, H., Fulhorst, C.F., Popov, V.L., Tesh, R.B., 1999. Isolation and genetic characterization of a Hantavirus (Bunyaviridae: Hantavirus) from a rodent, *Oligoryzomys microtis* (Muridae), collected in northeastern Peru. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 61, 92-98.
- Rogers, A.R., Harpending, H., 1992. Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic distance. *Mol. Biol. Evol.* 9, 552-569.
- Schneider, S., Roeslly, D., Excoffier, L., 2000. Arlequin: a software for population genetics data analysis. Version 2.000. Genetics and Biometry Laboratory, Department of Anthropology, University of Geneva, Geneva, Switzerland.
- Smith, M.F., Patton, J.L., 1993. The diversification of South American murid rodents: Evidence from mitochondrial DNA sequence data for the akodontine tribe. *Biol. J. Linn. Soc.* 50, 149-177.
- Smith, M.F., Patton, J.L., 1999. Phylogenetics Relationships and the Radiation of Sigmodontine Rodents in South America: Evidence from Cytochrome *b*. *J. Mammal. Evol.* 6, 89-128.

- Steppan, S.J., 1995. Revision of the Tribe Phyllotini (Rodentia:Sigmodontinae) with a phylogenetic hypothesis for the Sigmodontinae. *Fieldiana: Zoology, New Series* 80,1-112.
- Swofford, D.L., 2001. Paup*. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (* and other Methods), Ver. 4.0 b10. Sinauer Associates, Sunderland.
- Templeton, A.R., Routman, E., Phillips, C.A., 1995. Separating population structure from population history: a cladistic analysis of the geographical distribution of mitochondrial DNA haplotypes in the tiger salamander, *Ambystoma tigrinum*. *Genetics* 140, 767-782.
- Thompson, J.D., Gibson, T.J., Plewniak, F., Jeanmougin, F., Higgins, D.G., 1997. The CLUSTALX windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nuc. Acid. Res.* 24, 4876-4882.
- Trott, A.I., Callegari-Jacques, S.M., Oliveira, L.F.B., Langguth, A., Mattevi, M.S., 2007. Genetic diversity and relatedness within and between species of the genus *Oligoryzomys* (Rodentia, Sigmodontinae). *Braz. J. Biol.* 67, 631-637.
- Weksler, M., 2003. Phylogeny of Neotropical oryzomyine rodents (Muridae: Sigmodontinae) based on the nuclear IRBP exon. *Mol. Phylogenet. Evol.* 29, 331-349.
- Weksler, M., 2006. Phylogenetic relationships of oryzomyine rodents (Muroidea: Sigmodontinae): separate and combined analyses of morphological and molecular data. *Bull. Am. Mus. Nat. Hist.* 296, 1-149.
- Weksler, M., Bonvicino, C.R., 2005. Taxonomy of pigmy rice rats genus *Oligoryzomys* Bangs, 1900 (Rodentia, Sigmodontinae) of the Brazilian Cerrado, with the description of two new species. *Arq. Mus. Nac.* 63, 113-130.
- Weksler, M., Percequillo, A.R., Voss, R.S., 2006. Ten new genera of oryzomyine rodents (Cricetidae: Sigmodontinae). *Am. Mus. Novitates* 3537, 1-29.
- Xia, X., Xie, Z., 2001. DAMBE: Data analysis in molecular biology and evolution. *J. Hered.* 92, 371-373.
- Xiang, Q.Y., Moody, M.L., Soltis, D.E., Fan, C., Soltis, O.S., 2002. Relationships within *Cornales* and circumscription of *Cornaceae-matK* and *rbcL* sequence data and effects of outgroups and long branches. *Mol. Phylogenet. Evol.* 24, 35-57.

Appendix

Voucher specimens of *Oligoryzomys* taxa sequenced for the cytochrome *b* gene. Haplotypes (H) and locality names are in parenthesis.

Oligoryzomys nigripes: LF606 (H9; Taim); JR155 (H10), JR156 (H11; Bagé); MN37632 (H1), MN37633 (H8), MN37634 (H1; Mostardas); MN37626 (H12), MN37627 (H13; Tapes); LF2202 (H14), LF2255 (H15), LF2380 (H6; Charqueadas); LF602 (H4), LF1023 (H16), LF1032 (H3), LF1035 (H6), MN37614 (H3; Osório); MN37552 (H1), MN37563 (H17), MN37565 (H5; Sapiranga); MN37529 (H2), MN37530 (H2), MN37531 (H18; S.F. Paula); AC52 (H1), MN37584 (H19), MN37593 (H4; Torres); ZE72 (H20), ZE96 (H5; Tainhas); MN37513 (H21; Caxias do Sul); MN37501 (H22), PF98 (H7; Ten. Portela); MN37683 (H23; Florianópolis); MN37697 (H7; Nonoai); MN37684 (H1), MN37685 (H2; Concórdia); JR78 (H24), MN37691 (H25), MN37693 (H26; P.N. Iguaçu); UFPB357 (H27), UFPB359 (H8), UFPB361 (H28; Monte Verde); MN37493 (H29), MN37496 (H30; Ipameri). *Oligoryzomys flavescens*: LF615 (H5), LF616 (H6; Taim); LF2106 (H7), LF2129 (H8; Mostardas); JR02 (H9), JR04 (H10), LF2166 (H1; Porto Alegre); MN37722 (H1), MN37724 (H11; Charqueadas); LF1010 (H2), LF1013 (H12), LF1016 (H2; Tramandaí); LF1077 (H3; Osório); DS32 (H13; Riozinho); LF519 (H4), LF520 (H1), LF538 (H4; Sapiranga); MN37699 (H14), MN37709 (H3), MN37718 (H15; Tainhas); MN37749 (H16; Florianópolis). *Oligoryzomys moojeni*: MN36220 (H1), MN36357 (H2), MN36426 (H3; Serra da Mesa - Rio Maranhão); MN36832 (H4; Serra da Mesa - Rio Tocantinzinho); MN37282 (H5), MN37441 (H6; Serra da Mesa - Rio do Peixe). *Oligoryzomys fornesi*: MN36928 (Serra da Mesa - Rio Tocantinzinho).

Table 1. Species (acronyms), number of exemplars, morphoclimatic domain of the collect sites, localities, and Genbank accessions numbers of specimens analysed.

Species	N	Biome	Locality ^a	Coordinates	GenBank
<i>Oligoryzomys nigripes</i> (ONI)	1	Pampa	Taim (1)	32°29'S; 52°34'W	DQ825990 ¹
	2	Pampa	Bagé (2)	31°20'S; 54°06'W	DQ825989 ¹
	3	Pampa	Mostardas (3)	31°10'S; 51°31'W	DQ826000 ¹
	2	Pampa	Tapes (4)	30°40'S; 51°23'W	DQ825999 ¹
	3	Pampa	Charqueadas (6)	29°57'S; 51°37'W	DQ825992 ¹
	5	Pampa-Atlantic RF ^b	Osório (8)	29°54'S; 50°16'W	DQ825991 ¹
	3	Pampa-Atlantic RF ^b	Sapiranga (10)	29°38'S; 51°00'W	DQ825997 ¹
	3	Pampa-Atlantic RF ^b	S. F. de Paula (11)	29°27'S; 50°35'W	DQ825996 ¹
	3	Atlantic RF ^c	Torres (12)	29°19'S; 49°46'W	DQ825998 ¹
					DQ825987 ¹
	2	Pampa-Atlantic RF ^b	Tainhas (13)	29°16'S; 50°18'W	DQ826005 ¹
	1	Pampa-Atlantic RF ^b	Caxias do Sul (14)	29°10'S; 51°11'W	DQ825995 ¹
	2	Pampa-Atlantic RF ^b	Ten. Portela (15)	27°22'S; 53°45'W	DQ825994 ¹
	1	Atlantic RF ^c	Florianópolis (16)	27°35'S; 48°34'W	DQ826001 ¹
	1	Pampa-Atlantic RF ^b	Nonoai (17)	27°21'S; 52°47'W	DQ826003 ¹
	2	Pampa-Atlantic RF ^b	Concórdia (18)	27°14'S; 52°01'W	DQ826002 ¹
	3	Atlantic RF ^c	P. N. Iguaçu (19)	25°32'S; 54°35'W	DQ825988 ¹
	3	Atlantic RF ^c	Monte Verde (20)	19°53'S; 41°57'W	DQ826004 ¹
	2	Cerrado	Ipameri (21)	17°44'S; 48°37'W	DQ825993 ¹
<i>Oligoryzomys flavescens</i> (OFL)	2	Pampa	Taim	32°29'S; 52°34'W	DQ826009 ¹
	2	Pampa	Mostardas	31°10'S; 51°31'W	DQ826012 ¹
	3	Pampa	Porto Alegre (5)	30°05'S; 51°13'W	DQ826007 ¹
	2	Pampa	Charqueadas	29°57'S; 51°37'W	DQ826014 ¹
	3	Atlantic RF ^c	Tramandaí (7)	29°59'S; 50°08'W	DQ826010 ¹
	1	Pampa-Atlantic RF ^c	Osório	29°54'S; 50°16'W	DQ826011 ¹
	1	Pampa-Atlantic RF ^b	Riozinho (9)	29°38'S; 50°27'W	DQ826006 ¹
	3	Pampa-Atlantic RF ^b	Sapiranga	29°38'S; 51°00'W	DQ826008 ¹
	3	Pampa-Atlantic RF ^b	Tainhas	29°16'S; 50°18'W	DQ826013 ¹
	1	Atlantic RF ^c	Florianópolis	27°35'S; 48°34'W	DQ826015 ¹
<i>Oligoryzomys moojeni</i> (OMO)	1	Cerrado	Serra da Mesa - Rio Tocantinzinho (22)	13°31'S; 48°13'W	DQ826019 ¹
	3	Cerrado	Serra da Mesa - Rio Maranhão (23)	14°09'S; 48°04'W	DQ826016 ¹
					DQ826017 ¹

					DQ826018 ¹
2	Cerrado	Serra da Mesa - Rio	14°31'S; 49°08'W		DQ826020 ¹
		do Peixe (24)			DQ826021 ¹

Outgroups

<i>Microryzomys minutus</i>	Andean				AF108698 ²
<i>Oligoryzomys fornesi</i>	Cerrado				DQ826023 ¹
<i>Oligoryzomys messorius</i>	Amazon				DQ826024 ¹
<i>Oligoryzomys</i> sp.	Amazon				DQ826025 ¹
<i>Oligoryzomys stramineus</i>	Cerrado				DQ826026 ¹

N = number of individuals; ^aNumbers (1) correspond to the collection points depicted in Fig. 1; ^bPampa-Atlantic Rain Forest transition; ^cRF = Rain Forest; ¹Miranda et al. (Submitted); ²Smith and Patton (1999).

Figure caption

Fig. 1. Map of collection sites (coordinates in Table 1): 1. Taim Ecological Station, Rio Grande, Rio Grande do Sul state (RS); 2. Bagé (RS); 3. Capão do Leão, Mostardas (RS); 4. Including the localities: (4) northern Tapes Bay, Tapes (RS), (5) Porto Alegre (RS), and (6) Charqueadas (RS); 7. Including the localities: (7) Tramandaí Lagoon, Tramandaí (RS), (8) Osório (RS), (9) Riozinho (RS), (10) Sapiranga (RS), and (11) São Francisco de Paula (RS); 12. Including the localities: (12) Torres (RS), (13) Tainhas (RS), and (14) Caxias do Sul (RS); 15. Parque Nacional do Turvo, Tenente Portela (RS); 16. Costa de Dentro, Florianópolis, Santa Catarina state (SC); 17. Including the locality: (17) Nonoai (RS), and (18) Concórdia (SC); 19. Parque Nacional de Iguaçu, Paraná state (PR); 20. Monte Verde, Espírito Santo state (ES); 21. Ipameri, Caldas Novas, Goiás state (GO); 22. Serra da Mesa – Rio Tocantinzinho (GO), 23. Including the localities: (23) Serra da Mesa – Rio Maranhão (GO), and (24) Serra da Mesa – Rio do Peixe (GO).

Fig. 2. Strict consensus tree resulting from likelihood analysis of *cyt-b* sequences of genus *Oligorizomys*. Numbers above branches are bootstrap values. Acronyms and numbers of localities are listed in Table 1. Haplotypes numbers in parenthesis, see Appendix.

Fig. 3. (A) Patterns of mismatch distributions of the *cyt-b* haplotypes of *O. nigripes*. (B) Median joining Network. Numbers inside the circle correspond to haplotypes (see Appendix); numbers above the branches indicate the number of the base changes between connected haplotypes. (C) Patterns of mismatch distributions of the *cyt-b* haplotypes of *O. flavescens*. (D) Median joining networks. Numbers inside the circle correspond to haplotypes (see Appendix); numbers above the branches indicate the number of the base changes between connected haplotypes. (E) Patterns of mismatch distributions of the *cyt-b* haplotypes of *O. moojeni*. (F) Median joining networks. Numbers inside the circle correspond to haplotypes (see Appendix); numbers above the branches indicate the number of the base changes between connected haplotypes.

Fig. 1

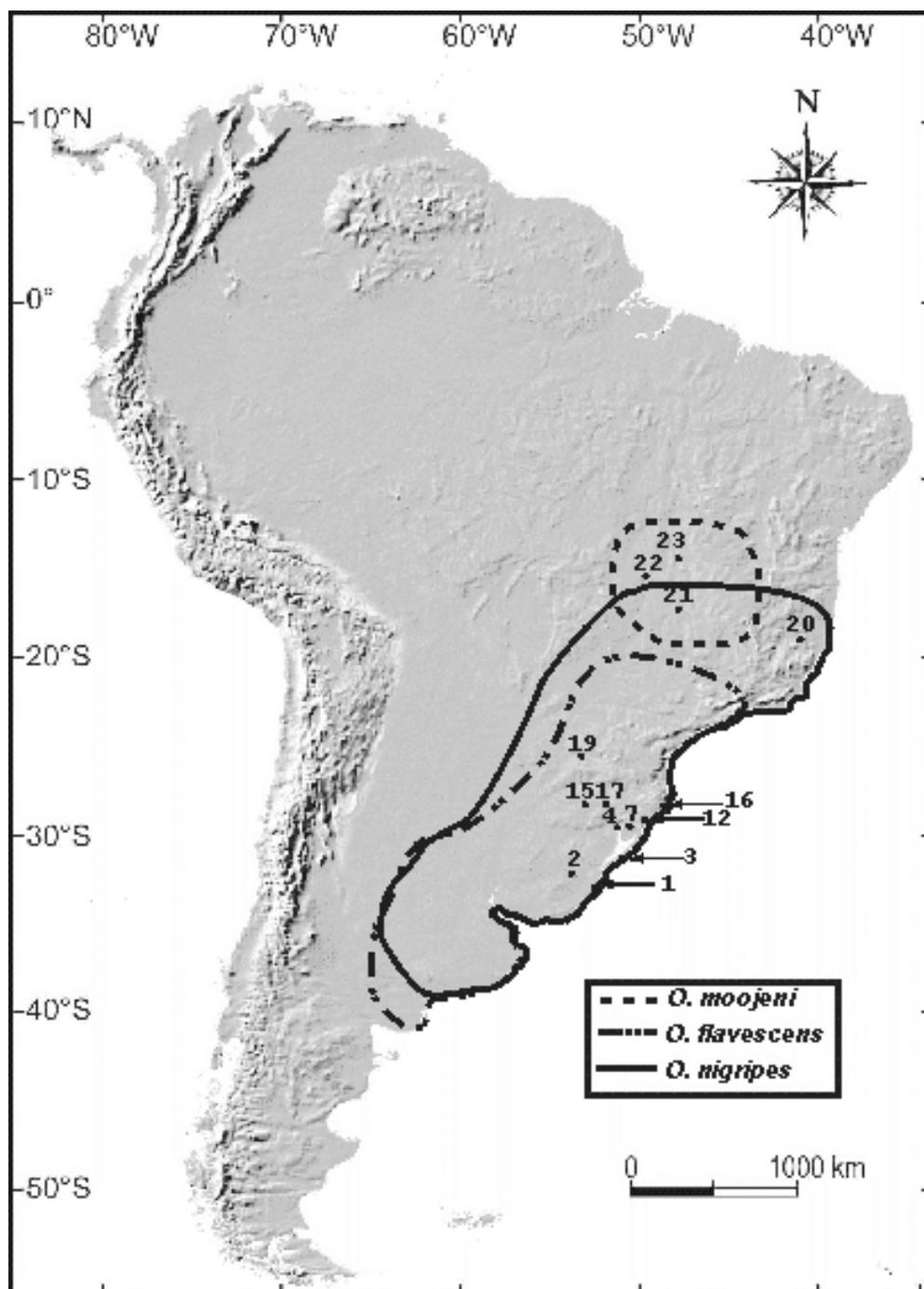


Fig. 2

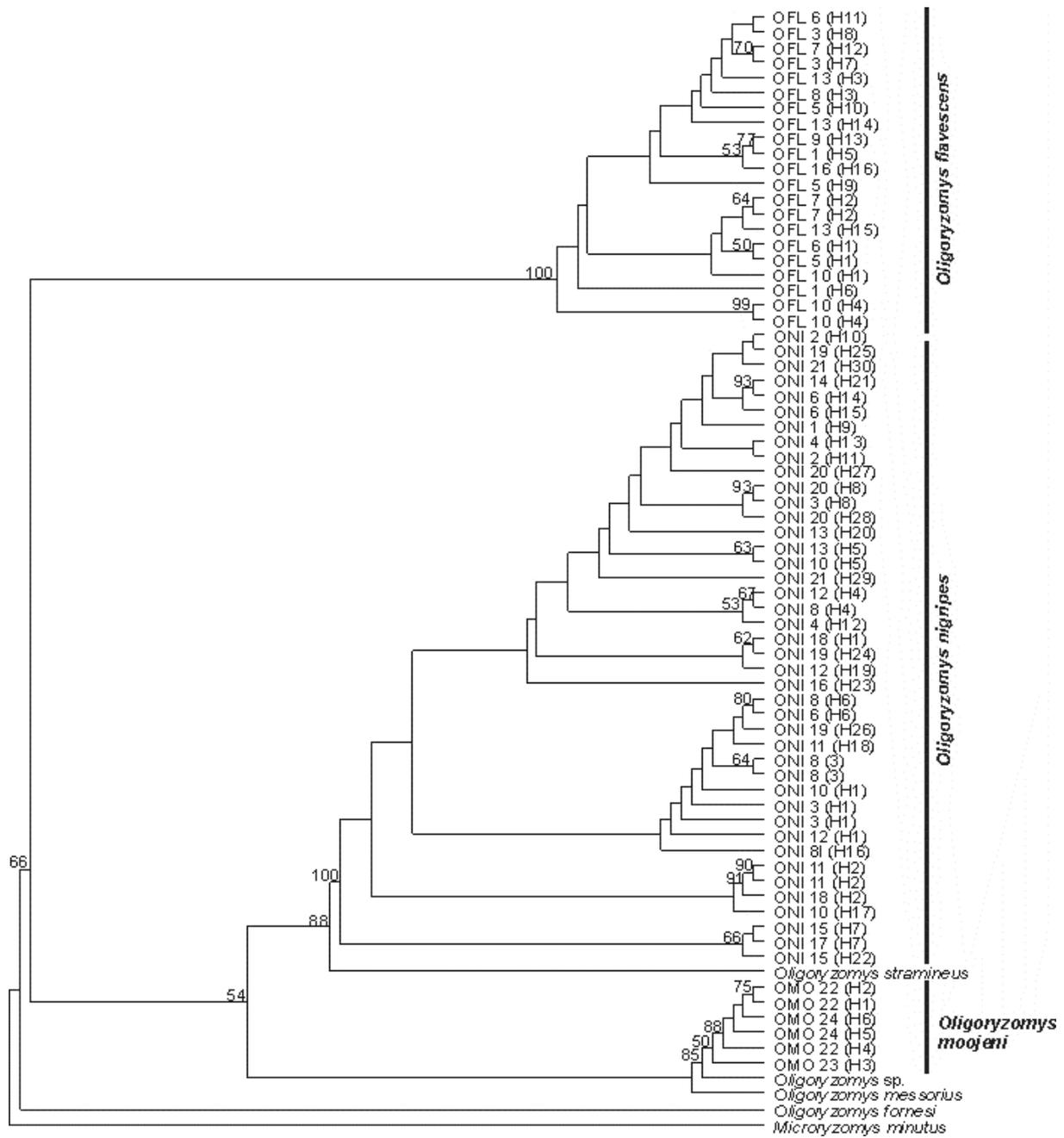
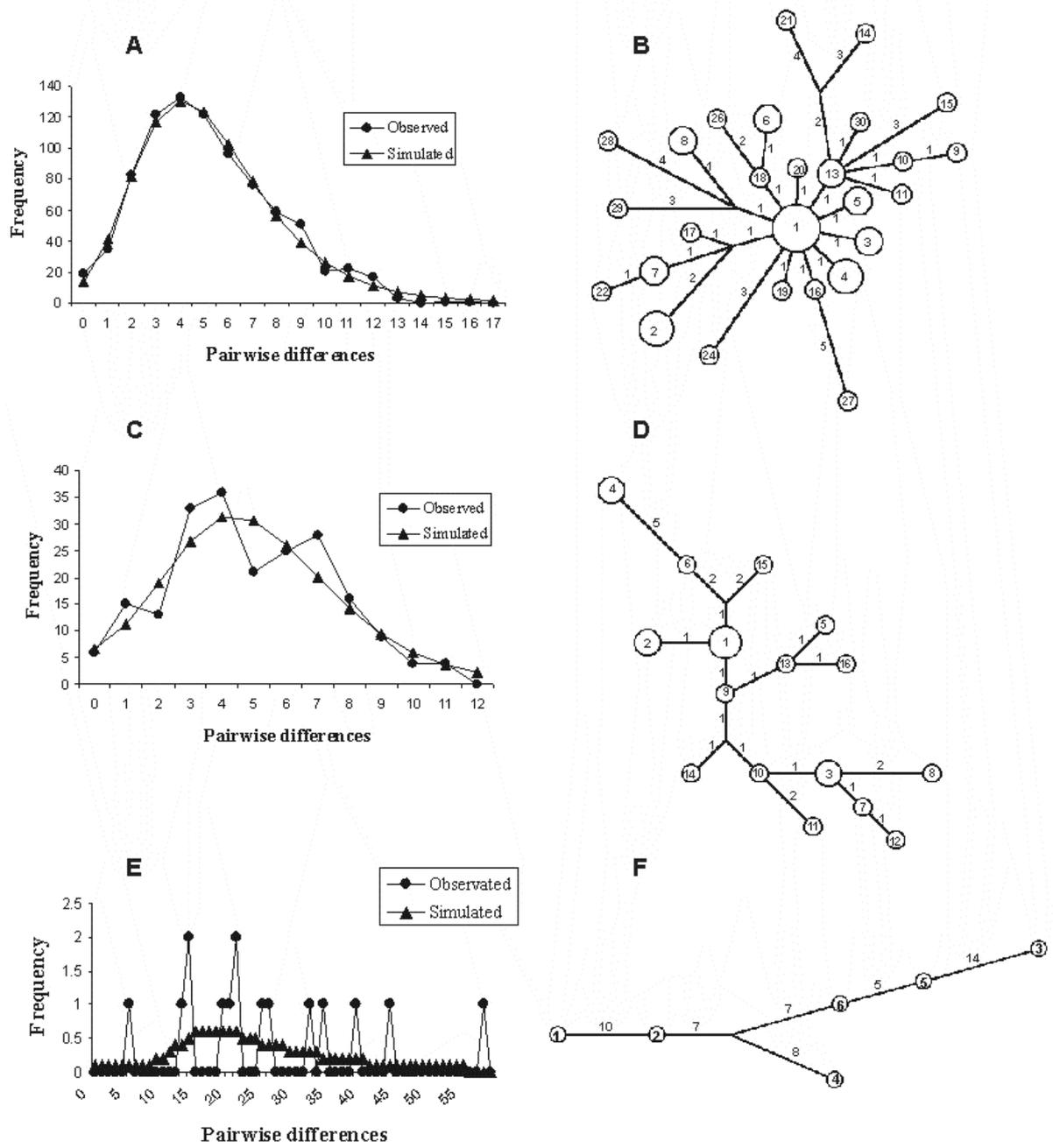


Fig. 3



ARTIGO 4: submetido em Biochemical Genetics

Geographic Patterns of Genetic Variation and Conservation Consequences in Three South American Rodents

Gustavo B. Miranda¹, Jaqueline Andrades-Miranda¹, Luiz F. B. Oliveira², Alfredo Langguth³, Margarete S. Mattevi^{1,4,5}

¹Departamento de Genética, PPG Genética e Biologia Molecular, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil; e-mail: gbmiranda1969@yahoo.com.br.

²Museu Nacional do Rio de Janeiro, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil.

³Departamento de Sistemática e Ecologia, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Brazil.

⁴PPG Genética e Toxicologia Aplicada, Universidade Luterana do Brasil, Canoas, Brazil.

⁵To whom correspondence should be addressed; e-mail: mattevi@terra.com.br.

Short Title: Genetic variation in Oryzomyini rodents

In this study the geographic patterns of genetic variation of three rodent species belonging to the tribe Oryzomyini were investigated using the mitochondrial cytochrome *b* and nuclear IRBP genes in biomes that are undergoing degradation process to a greater or lesser degree. The samples are from 25 collecting localities distributed throughout the Amazon, Cerrado, Atlantic Forest and Pampa biomes. The results show that the three species have a population and geographic structure, besides being in demographic equilibrium. The phylogenetic analyses performed on *Euryoryzomys russatus* and *Hylaeamys megacephalus* showed their specimens grouped in three distinct clades forming geographic gradients (North-South direction in *H. megacephalus*). Intraspecific genetic divergence was higher in *H. megacephalus* (4.53%), followed by *E. russatus* (1.79%) and lower in *Sooretamys angouya* (0.88%). The results obtained indicate that, necessarily, the management strategies to preserve genetic diversity should be different for each species, since each of them presented specific population parameters.

KEY WORDS: *Euryoryzomys russatus*; *Hylaeamys megacephalus*; *Sooretamys angouya*; cytochrome *b*; IRBP.

INTRODUCTION

Many threatened species are found in naturally small or remnant populations and often are product of altered or fragmented landscapes. Estimating the geographic patterns and the levels of genetic variation of the species in these fragile habitats is essential to manage and preserve this biodiversity, and molecular techniques have proved to be a powerful tool to reveal the population structure of endangered species (Smith and Hellmann, 2002).

The different Brazilian biomes have been markedly affected by anthropogenic interventions caused mainly by European settlement in the XVI, XVII, and XVIII centuries which have been severe in the past, and will continue in present-days carried out by the Brazilian society. Few studies attempted to investigate the effects of this environmental damage on genetic variation, evolutionary relations and priorities for taxa management and conservation, as well as the places where they occur (Rodrigues, 2001; Solé-Cava, 2001; Umetsu and Pardini, 2007).

The three species studied belong to three recently proposed genera (Weksler *et al.*, 2006) of rodents of the tribe Oryzomyini, subfamily Sigmodontinae, which is one of the most abundant taxon of Neotropical mammals and were chosen for genetic characterization because occur on different biomes of Brazil. These species are endemic in four biomes, two of them only occurring in Brazil (Cerrado and Atlantic Forest) and the other two (Amazon and Pampa) distributed through Brazil and also by other South American countries.

Sooretamys angouya and *Euryoryzomys russatus* are partially sympatric in the Atlantic Forest and the Pampa. The Atlantic Forest, constituted by dense and mixed Tropical Humid Forest, occupies mainly the coastal region (about 13% of the Brazilian territory). Today only 5 to 7% of the original cover of this forest is left. It is considered the fifth richest area of endemic species (about 40% of the vertebrate species are endemic), and, at the same time, the fifth most threatened area of the world (Por *et al.*, 2005). The Pampa cover the southern fields of Brazil (about 2% of the territory), besides Uruguay and Argentina. Poaceae, Asteraceae and leguminous plants prevail. Field and forest formations of temperate climates, different from other formations in Brazil, are part of the biome. The regional vocation is to produce beef for slaughter and

rice, maize, wheat and soy crops. The inadequate use of this biome is taking to the disappearance of natural pastures and forest formations (Porto, 2002).

Hylaeamys megacephalus occupies two other biomes: Amazon and Cerrado. The Amazon has the largest biological diversity in the world, and is the largest Brazilian biome in surface, occupying almost half the Brazilian territory (49.29%). This biome holds the largest hydrographic network of the planet, which runs off about 1/5 of the fresh water volume in the world. Illegal logging, mining, prospecting, agriculture and livestock are the activities which change and degrade the natural ecosystems of the Amazon. It is estimated that 15% of the Amazon has already been deforested (Por *et al.*, 2005). The core area of the Cerrado is distributed mainly through the Brazilian Planalto Central, covering about one fourth of the total surface of Brazil. This biome is recognized as the richest savannah of the world with several ecosystems, but the growing agricultural expansion (sugar cane, soy, and others), together with livestock, has already led to the destruction of 80% of it (Por *et al.*, 2005).

This paper studied the geographic patterns of genetic variation, using the mitochondrial cytochrome *b* (*cyt-b*) and nuclear interphotoreceptor retinoid binding protein (IRBP) genes of three rodent taxa, *Sooretamys angouya* which is partially sympatric with *Hylaeamys megacephalus* and *Euryoryzomys russatus* (which, by its turns, is parapatric with *H. megacephalus*) in biomes that are undergoing a degradation process to a greater or lesser extent (Fig. 1).

MATERIALS AND METHODS

Species Analysed

Samples of *Euryoryzomys russatus*, *Hylaeamys megacephalus*, and *Sooretamys angouya* obtained in 25 localities (13 collected by us in an area ranging from 08°S to 31°S; 40°W to 63°W, in the Amazon, Cerrado, Atlantic Forest, Pampa, and Pampa-Atlantic Forest transitional area and plus 12 from Genbank) were cytochrome *b* (*cyt-b*) and nuclear interphotoreceptor retinoid binding protein (IRBP) genes sequenced (Fig. 1, Table I, and coordinates in Appendix). Samples of nine species of the tribe Oryzomyini were added as outgroups: *Euryoryzomys emmonsae*, *E. macconnelli* and *E. nitidus* as outgroups of the *E. russatus*; *Hylaeamys acritus*, *H. perenensis* and *H. yunganus* as outgroups of the *H. megacephalus*; and *Cerradomys subflavus*, *Nectomys squamipes* and *Oryzomys palustris* as outgroups of the *Sooretamys angouya*, since *Sooretamys* is a

monotypic genus, these three species were chosen because they are phylogenetically close to it (Andrades-Miranda *et al.*, in preparation).

All animals whose *cyt-b* and IRBP genes were sequenced were karyotyped (karyotypes are available in Andrades-Miranda *et al.*, 2001) and the skins and skulls of these specimens (listed in the Appendix) are stored in the Mammal Collections of the Museu Nacional (MN), Rio de Janeiro and Universidade Federal da Paraíba (UFPB), João Pessoa, Brazil.

Nucleotide Acid Sequence Analyses

DNA was extracted from kidney, liver, heart or muscle (stored at -20°C or in ethanol 70% purity) using the standard protocol described in Medrano *et al.* (1990). The mitochondrial *cyt-b* gene sequences were isolated via polymerase chain reaction (PCR) using the primers MVZ 05 (light-strand) and MVZ 16 (heavy-strand) as suggested by Smith and Patton (1993) and the IRBP sequences, using the primers A1 (light-strand) and F (heavy-strand) according to Weksler (2003). PCR products were purified with exonuclease I and shrimp alkaline phosphatase (Amersham Biosciences). All taxa were sequenced directly from purified PCR products using the primers cited above and the ABI Prism BigDye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit (Perkin Elmer Applied Biosystems), according to the manufacturer's instructions. Sequencing of both strands was done using an ABI Prism 3100 Genetic Analyzer (Applied Biosystems). All sequences are available in GenBank as displayed in Table I.

Data Analyses

The sequences obtained were read employing program Chromas 1.45, aligned using program Clustal X 1.81 (Thompson *et al.*, 1997) under the default setting costs, and manually refined with the aid of the BIOEDIT program (Hall, 1999). Saturation plots were obtained with the Data Analysis in Molecular Biology and Evolution software (DAMBE; Xia and Xie, 2001). The composition of bases and Kimura 2-parameter (K2p) distance (Kimura, 1980) was obtained with the Molecular Evolution Genetics Analysis software (MEGA 3; Kumar *et al.*, 2004).

The phylogenetic analyses were performed using Neighbor-joining (NJ), Maximum-likelihood (ML) and Maximum-parsimony (MP) algorithms using PAUP* v.4.0b10 (Swofford, 2001). Networks using the Median-joining (MJ) method were

obtained with the Network v.4.1.0.0 software (Bandelt *et al.*, 1999; available at <http://www.fluxus-engineering.com>).

Prior to the analyses using PAUP, the appropriate model of nucleotide substitution for ML analysis was determined using the MODELTEST 3.06 program (Posada and Crandall, 1998). For ML tree estimation, heuristic searches with as-is, TBR branch swapping, and MULPARS options were selected. The support estimates for the ML trees branches by bootstrap analysis were obtained as described in Xiang *et al.* (2002).

Maximum-parsimony analyses (MP) were performed by heuristic search with tree bisection-reconnection (TBR) branch swapping, the MULPARS option, and 100 random-addition replicates. Bootstrap statistical support (Felsenstein, 1985) was carried out with 1,000 replications of heuristic search and simple taxon addition, with the all trees saved option.

The incongruence length difference (ILD) test was computed to detect the presence of character conflict between *cyt-b* and IRBP genes, as described by Farris *et al.* (1994, 1995) and implemented in WINCLADA version 0.9.9+ (BETA) (Nixon, 1999).

The hierarchy analyses of genetic diversity of populations were carried out using AMOVA (Excoffier *et al.*, 1992). These analyses, Mantel's tests and the mismatch distribution were carried out using the Arlequin 2000 software (Schneider *et al.*, 2000). To generate a spatial correlogram we used the Autocorrelation Index for DNA Analysis II (Bertorelle and Barbujani, 1995), which measures whether and to what extent individual sequences resemble the sequences sampled at different places. II index is analogous to Mouran's I which, in turn, is based rather on allele or haplotype frequencies. In the case of this test, the coordinates of the localities listed in Appendix were used for the geographic distances calculations; the construction of the correlograms was based on five distance classes. A gradient is identified when the II indexes decrease continuously from positive significant to negative significant values as the distance between locations increases. This analysis was done with the AIDA software (Bertorelle and Barbujani, 1995).

RESULTS

The phylogeographic patterns, the intraspecific genetic diversity and the structure of the populations were tested in two sympatric species, *Euryoryzomys russatus*, and

Sooretamys angouya, and in the disjunct *Hylaeamys megacephalus* using fragments of 801 bp of *cyt-b* and of 745 bp of IRBP genes. Since the incongruence length difference (ILD) test showed that these genes were not incongruent ($p < 0.05$), studies could be performed using the two genes concatenated through analyses of a 1,546 bp fragment.

The individuals of *Euryoryzomys russatus* collected at nine sites, analysed using only gene *cyt-b* (fragments of 801 bp) presented 12 different haplotypes (Table I) that showed a mean genetic distance (K2p) of 1.79% from each other and that varied from 0.12 to 3.21% (Fig. 2A). Both in phylogenetic (ML, MP, and NJ; Fig. 2A) and in Network (Fig. 2B) analyses the exemplars of *E. russatus* were grouped into three different sets, one constituted of individuals collected further south in Brazil, in the Pampa-Atlantic Forest transitional area (“Pampa-Atlantic Forest group”), which included the localities of Osorio and Sapiranga (Fig. 1), between parallels 30° and 29°S; the second, in the Atlantic Forest, grouping specimens south of the Paraíba do Sul river, trapped between parallels 29° and 23°S (localities of Tainhas, Florianópolis and Ilha Bela, Fig. 1), constituting what we call the “Southern Atlantic Forest group”; and the third, also in the Atlantic Forest, between parallels 23° and 13°S, joining individuals from sites in the mountain areas of Rio de Janeiro and Espírito Santos states, and the coast of Bahia, corresponding to what we call the “Northern Atlantic Forest group” (Guapimirim, P.E. do Desengano, Monte Verde and Valença; Fig. 1). The analysis of molecular variance (AMOVA), confirmed the existence of these three groups, showing $\Phi_{CT} = 0.60$, which was significant ($p = 0.001$). The individuals in each group are different from each other by K2p values ranging from 0.31% to 1.15% (see nodes in Fig. 2A). AMOVA also showed that this species has well differentiated populations ($\Phi_{ST} = 0.75$; $p < 0.001$). The difference in mean variations among the populations in each of the three groups of *E. russatus* was significant ($\Phi_{SC} = 0.39$; $p = 0.003$).

The Mantel’s test, with a positive and significant correlation coefficient ($r = 0.67$; $p = 0.0003$), showed that the structure of this species is geographic. But, although the spatial autocorrelation method (AIDA, Fig. 2C) indicated that the *E. russatus* individuals are allocated on a geographic gradient, it was not possible to determine the direction of this gradient (South↔North), since all the trees generated two sister-groups: the Northern Atlantic Forest group and the Pampa group + the Southern Atlantic Forest group (Fig. 2A). The mismatch distribution analysis (Fig. 2D) shows that *Euryoryzomys russatus* is at demographic equilibrium.

Analyses using nuclear gene IRBP in *E. russatus* showed a mean genetic distance (K2p) of 0.23% among individuals and only two distinct haplotypes (Table I). Moreover, no phylogeographic structure was found in this species using this gene as a marker. As regards the analysis of the two concatenated genes (cyt-*b* + IRBP), despite the reduction in the number of taxa sampled (listed in Table I), it was seen that the trees generated by all algorithms (not shown) presented topographies similar to those found with cyt-*b*, keeping the individuals of the Pampa-Atlantic Forest and Southern Atlantic Forest groups as sister-groups, separated from the individuals of the Northern Atlantic Forest group.

The *Hylaeamys megacephalus* individuals from 10 sites in the Amazon and the Cerrado presented 13 distinct haplotypes (Table I) and a mean genetic distance (K2p) of 4.53%, which varied from 0.13 to 9.13% (Fig. 3A). The specimens were assembled in three distinct groups (Fig. 3A) which can also be seen in the Network analysis (Fig. 3B). In trees generated in phylogenetic analysis, it is noted that the most basal group (“Northern Amazon group”) brings together individuals from areas north of the Amazon river (Guyana, Surinam and Jaú river localities, Fig. 1), between parallels 07°N and 02°S; the second group (“Southern Amazon group”) is constituted by exemplars south of the Amazon river (between parallels 03°S and 08°S including the localities of the rivers Jamari and Xingu); the last group (“Cerrado group”) includes specimens from three sites (Ipameri, Mambai and Serra da Mesa) in the Cerrado located between parallels 13°S and 17°S, and one from Paraguay (the latter collected in a transition area between the Atlantic Forest and the Cerrado, at 24°S).

The individuals in each group are different from each other by K2p values that range from 1.50% to 3.44% (see nodes in Fig. 3A). AMOVA showed that this difference was significant ($\Phi_{CT}=0.62$; $p<0.001$). This analysis also indicates that the populations of this species are structured ($\Phi_{ST}=0.87$; $p<0.001$), with a significant variation among the populations within the groups ($\Phi_{SC}=0.67$; $p=0.003$). The geographic structure of *H. megacephalus* was corroborated by the Mantel’s test which presented a positive and significant correlation coefficient ($r=0.94$; $p=0.002$). The spatial autocorrelation analysis showed that *H. megacephalus* is distributed along a geographic gradient (Fig. 3C) in a North-South direction, a tendency which also can be observed in the phylogeny seen in Fig. 3A. The mismatch distribution analysis shows that this species is at demographic equilibrium (Fig. 3D).

Analyses using the nuclear gene IRBP alone in *H. megacephalus* present a mean genetic distance (K2p) of 0.11% among individuals and two distinct haplotypes (Table I). As observed in *E. russatus*, in *H. megacephalus* no phylogeographic structure was found when this gene was used as a molecular marker. On the other hand, in the concatenated analyses of the two genes (cyt-*b* + IRBP, exemplars listed in Table I), the trees generated (ML, MP, NJ; not shown) presented similar topographies to those found with the isolated cyt-*b* gene, and a North-South geographic gradient is also observed.

The populations of *Sooretamys angouya*, like the two other species, are structured ($\Phi_{ST}=0.50$; $p=0.04$), but the individuals analysed (13 haplotypes in Table I), did not form clades, many of them presenting polytomy (Fig. 4A). This configuration is also observed in the haplotype Network (Fig. 4B), in which most of them are derived from the most frequent haplotype. This species showed the shortest mean genetic distance among its populations (0.88%; Fig. 4A), and the genetic variation among its individuals was 0.14 to 1.89%. The Mantel's test ($r=0.65$; $p=0.01$), however, showed that this species is geographically structured. Nevertheless, this structure does not appear to occur on a geographic gradient (see the AIDA test in Fig. 4C). *S. angouya*, like the other species analysed, is at demographic equilibrium (Fig. 4D).

Analyses with nuclear gene IRBP in *S. angouya* presented a mean genetic distance (K2p) of 0.23% among individuals, and six distinct haplotypes (Table I). No phylogeographic structure was found in this species, using this gene as a molecular marker. The phylogenetic analyses with two concatenated genes (not shown), showed the individuals analysed in polytomy, confirming the lack of a phylogeographic pattern already found with gene cyt-*b* for this species.

DISCUSSION

Although the three species studied presented common demographic properties – a stable population size, well-defined population and geographic structure – all three had specific genetic parameters which require a different conservation management for each of them.

Although *Euryoryzomys russatus* and *Sooretamys angouya* have superimposed geographic distributions (inhabiting the eastern coast of South America through the Atlantic Forest to the Pampa), they present distinct phylogeographic patterns.

The samples of *Euryoryzomys russatus* that we studied were grouped in three distinct clades, the southernmost located in the Pampa-Atlantic Forest transitional area

and the other two north of the latter, in the Atlantic Forest. In this biome, one of the clades (Southern Atlantic Forest group) corresponds to one of the three centers of evolution proposed for the Atlantic Forest by Por *et al.* (2005). This center of evolution is said to be located south of the Paraíba do Sul river mouth, ending in Serra Geral (mountain range, in southern Brazil, bordering on the Pampa) and is theoretically constituted by mountain formations from different geological ages, which would have created an environmental heterogeneity that may have favored the great biological diversity of this region. This clade is therefore closer, phylogeographically, to the clade constituted by individuals from the Pampa-Atlantic Forest transitional area, which would account for the North-South geographic gradient found, in which the individual collected further north (Ilha Bela) is in the most basal position in the clade phylogeny (see Fig. 2A). This arrangement as sister-clades (Pampa-Atlantic Forest group and Southern Atlantic Forest group) may be related to the distribution of these clades, i.e., a large area, without clear geographic barriers that might prevent gene flow among the populations. This area might also have been molded by the ocean level fluctuations that occurred as a result of the glacial periods (Tomazelli and Villwock, 2000). The second clade observed in the Atlantic Forest (Northern Atlantic Forest group) consists of samples collected in the localities of Guapimirim and P.E. do Desengano (in the state of Rio de Janeiro), Monte Verde (Espírito Santo) and Valença (Bahia). Three of these localities (Guapimirim, P.E. do Desengano, and Monte Verde) are in the mountain region of the Atlantic Forest, a region which is currently suggested as having been one of the Pleistocene refuges of this forest (Vanzolini and Williams, 1981). This proposal of refuges may account for the genetic proximity among these individuals. In addition, it is suggested that most Atlantic Forest species initially appeared in the central regions of the states of Rio de Janeiro and Espírito Santo (Moritz *et al.*, 2000).

The mean genetic distance observed in *E. russatus* (1.79%) is within the range expected for the intraspecific variation as observed by Bradley and Baker (2001) and Baker and Bradley (2006) for rodents (0.00-6.29% and 0.00-4.70%, respectively). Considering that this species is structured geographically and its haplotypes are grouped in different clades, priority must be given to the conservation of what is left of its distribution area, since the deforestation of some points in this area may cause the loss of a large part of the genetic diversity of *E. russatus*. Moreover, this species is extremely sensitive to habitat alteration, not being found in anthropogenic habitats (Pardini *et al.*, 2005; Umetsu and Pardini, 2007). Furthermore, two of these clades, Pampa-Atlantic

Forest and Southern Atlantic Forest, can be considered as "managements units" (MUs) (Avice, 2004; Frankham *et al.*, 2003; Moritz, 1994) because they present genetic variation indexes (0.33% and 0.78%, respectively) near subspecies levels (0.85%) according to Bradley and Baker (2001). On the other hand, as the Northern Atlantic Forest group shows a mean genetic distance of 1.15%, greater than expected for a subspecies, it may be considered as a "evolutionarily significant unit" (ESU) (Avice, 2004; Frankham *et al.*, 2003; Moritz, 1994), which would imply the need of preserving it as a separate entity.

On the other hand, in *S. angouya*, as in *E. russatus*, population and geographic structuring was observed, but different from the latter, their populations did gather in distinct clades and the species did not present its populations on a geographic gradient. Its high genetic variability (13 haplotypes/15 individuals) may be under-represented due to sample size, which would also partly explain the different polytomies observed in the phylogenetic analyses performed with the two genes. According to Templeton, Routman and Phillips (1995) there are three possible causes for the loss of geographic association among the haplotypes: (a) the populations studied have enough gene flow to render them virtually panmictic and so they did not undergo expansion or fragmentation events, (b) the samples are inadequate (this may be both due to sample size according to locations and to inadequate geographic sampling), or (c) insufficient genetic variation in the populations sampled. The second alternative appears to be most appropriate for the case of *S. angouya*. It should be recalled that Riddle (1996) and Avice (2004) also consider that the loss of phylogeographic structure of the populations is an indication of a dispersion-oriented life history, and the species probably had a distribution area that was free from gene flow barriers, a plausible explanation for the lack of geographic association between the haplotypes of *S. angouya*. On the other hand, a group of haplotypes in network analysis (Fig. 4B) shows a star-like pattern (with a central haplotype to which many others are connected), which, basically, characterizes populations that colonized new regions recently. This would be applicable to *S. angouya*, since the species was not found to be expanding in the mismatch analysis (Conroy and Cook, 2000; Rogers and Harpending, 1992). The mean genetic divergence between the haplotypes of this species was 0.88%, very close to the mean found for rodent subspecies (0.85%) by Bradley and Baker (2001). Thus, basically, the conservation of areas, even if sparse, within the distribution limit of *S. angouya*, helps

maintain the genetic diversity of this species, since this is not subdivided into clades, and does not present a geographic cline of their haplotypes.

Although *Hylaeamys megacephalus*, is distributed in the Amazon and Cerrado, it shows a phylogeographic pattern similar to that of *E. russatus*. Among the three species studied it presented the greatest mean genetic diversity of the individuals analysed (4.35%) and the greatest distribution and geographic diversity (Fig. 1). Patton *et al.* (2000) and Costa (2003), studying the same species, also found high mean genetic distances (5.3% and 8.7%, respectively). In our analysis, this species showed population and geographic structures. The individuals analysed formed three clades in three different regions, one in the Cerrado, two in the Amazon (one north and one south of the Amazon river). Patton *et al.* (2000) and Costa (2003) in their analyses also observed a separation between individuals from the northern and southern Amazon, in which Costa (2003) finds a mean genetic distance of 4.3% northwards and 3.3% southwards of the Amazon. The evolutionary scenario for the high genetic diversity of *H. megacephalus* supports an allopatric view, where the Amazon river can be considered a geographic barrier for gene flow between the clades north and south of it. It can also be considered the product of a parapatric divergence, since the two genetically closest clades (Southern Amazon and Cerrado) are in areas of strong ecological transition, i.e., there is no geographic barrier that can prevent gene flow among the populations. This alternative phylogeographic evolutionary scenario is also suggested for other small Amazon mammals (Patton and da Silva, 2001).

Despite the great genetic variation found among the individuals of *H. megacephalus*, when compared to the other two species, it is within the expected intraspecific variation of rodents (Baker and Bradley, 2006; Bradley and Baker, 2001). Furthermore, this variation may be due to the large distribution area and to the mosaic of ecosystems inhabited by this species. Thus, maintaining this genetic diversity is associated with the preservation of these areas, which can be classified as “evolutionarily significant units” (ESUs) (Avice, 2004; Frankham *et al.*, 2003; Moritz, 1994). This situation is also worsened by the fact that *H. megacephalus* appeared on a geographic gradient in the North-South direction (Figs. 3A and 3C), with the result that the non-preservation of areas in the distribution range of the three clades will cause the loss of a large part of the genetic diversity of this species, since the haplotypes are not shared among the clades. This geographic gradient, reflected by the decreasing levels of mean genetic variation of the Northern Amazon → Southern Amazon → Cerrado clades

(3.44%, 2.13% and 1.63%, respectively), where the region with the greatest genetic diversity (Northern Amazon group) may indicate the center of origin of species dispersion.

The mismatch distributions of the three species studied presented multimodal graphs which show them as all being in demographic equilibrium, indicating that their populations may have maintained relatively constant sizes (Conroy and Cook, 2000; Rogers and Harpending, 1992).

Besides the three species of Oryzomyini rodents analysed in this study, Patton *et al.* (1996) performed phylogeographic studies on *Hylaeamys perenensis* (then called *Oryzomys capito*). Two of the four species of the tribe showed very similar phylogeographic patterns: *Euryoryzomys russatus* and *H. megacephalus* obtained most of the molecular variation among the geographic regions (59.86% and 61.48%, respectively), i.e., among the three clades found in the populations of the two species. In *E. russatus* the variation among individuals within populations (24.61%) was greater than among the populations of a same region (15.53%), different from what happened with *H. megacephalus*, where 25.85% variation was among the populations within a same region and only 12.67% of the variation was within the populations. On the other hand, in *H. perenensis*, a species studied by Patton *et al.* (1996), the greatest molecular variation for populations of this species was among the individuals within populations (89.20%) and a small fraction of this variation may be considered due to differences between localities in a same region (6.60%) or between the regions (4.20%). Moreover, *H. perenensis* presented itself as structured in populations ($\Phi_{ST}=0.11$; $p<0.001$), as we observe in *H. megacephalus*, *E. russatus* and *S. angouya*, but did not present geographic structuring (Mantel's $r=0.094$; $p>0.788$). In *Sooretamys angouya*, a species that did not present phylogeographic structuring, the percentage of molecular variation was greater within the populations (55.26%) than between them (44.74%). These results indicate that, necessarily, the management strategies for genetic diversity conservation purposes of the Oryzomyini species should be distinct for each taxon, since each of them presents unique population parameters.

ACKNOWLEDGMENTS

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS), and the Organization of the American States (OAS) have

supported this study. The authors are grateful to Luciano S. Silva for technical help and to anonymous reviewer for the comments on a previous version of the manuscript.

REFERENCES

- Andrades-Miranda, J., A.P., Zanchin, N.I.T., Oliveira, L.F.B., Langguth, A.R. and Mattevi, M.S. (2001). Cytogenetic studies in nine taxa of the genus *Oryzomys* (Rodentia, Sigmodontinae) from Brazil. *Mammalia* **65**:461-472.
- Avise, J.C. (2004). *Molecular markers, natural history and evolution*, 2nd ed., Sinauer Associates, Sunderland.
- Baker, R.J. and Bradley, R.D. (2006). Speciation in mammals and the genetic species concept. *J. Mammal.* **87**:643–662.
- Bandelt, H.J., Forster, P., and Röhl, A. (1999). Median-Joining Networks for Inferring Intraspecific Phylogenies. *Mol. Biol. Evol.* **16**:37-48.
- Bertorelle, G. and Barbujani, G. (1995). Analysis of DNA diversity by spatial autocorrelation. *Genetics* **140**:811-819.
- Bonvicino, C.R. and Moreira, M.A.M. (2001). Molecular Phylogeny of the Genus *Oryzomys* (Rodentia: Sigmodontinae) Based on Cytochrome *b* DNA Sequences. *Mol. Phylogenet. Evol.* **18**:282-292.
- Bradley, R.D. and Baker, R.J. (2001). A test of the genetic species concept: cytochrome-*b* sequences and mammals. *J. Mammal.* **82**:960-973.
- Conroy, C.J. and Cook, A. (2000). Phylogeography of a Post-Glacial Colonizer: *Microtus longicaudus* (Rodentia: Muridae). *Mol. Ecol.* **9**:165-175.
- Costa, L.P. (2003). The historical bridge between the Amazon and the Atlantic Forest of Brazil: a study of molecular phylogeography with small mammals. *J. Biogeogr.* **30**:71-86.
- D'Elia, G. (2003). Phylogenetics of Sigmodontinae (Rodentia, Muroidea, Cricetidae), with Special Reference to the akodont group, and with Additional Comments on Historical Biogeography. *Cladistics* **19**:307-323.
- Emmons, L.H. and Patton, J.L. (2005). A new species of *Oryzomys* (Rodentia: Muridae) from Eastern Bolivia. *Am. Mus. Novitates* **3478**:1-26.
- Excoffier, L., Smouse, P.E. and 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.

- Farris, J.S., Källersjö, M., Kluge, A.G. and Bult, C. (1994). Testing significance of incongruence. *Cladistics* **10**:315-319.
- Farris, J.S., Källersjö, M., Kluge, A.G. and Bult, C. (1995). Constructing a significance test for incongruence. *Syst. Biol.* **44**:570-572.
- Felsenstein, J. (1985). Confidence Limits on Phylogenies: an Approach Using the Bootstrap. *Evolution* **39**:783-791.
- Frankham, R., Ballou, J.D. and Briscoe, D.A. (2003). *Introduction to conservation genetics*, University Press, Cambridge.
- Hall, T.A. (1999). BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Serie* **41**:95-98.
- Kimura, M. (1980). A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *J. Mol. Evol.* **16**:111-120.
- Kumar, S., Tamura, K. and Nei, M. (2004). MEGA3: Integrated software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and sequence alignment. *Brief. Bioinf.* **5**:150-163.
- Medrano, J.F., Aasen, E. and Sharrow, L. (1990). DNA extraction nucleated red blood cells. *Biotechniques* **8**:43.
- Milazzo, M.L., Cajimat, M.N., Hanson, J.D., Bradley, R.D., Quintana, M., Sherman, C., Velasquez, R.T. and Fulhorst, C.F. (2006). Catacamas virus, a hantaviral species naturally associated with *Oryzomys couesi* (coues' *Oryzomys*) in Honduras. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **75**:1003-1010.
- Moritz, C. (1994). Defining 'Evolutionarily Significant Units' for conservation. *Trends Ecol. Evol.* **9**:373-375.
- Moritz, C., Patton, J.L., Schneider, C.J. and Smith, T.B. (2000). Diversification of rainforest faunas: an integrated molecular approach. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* **31**:533-563.
- Nixon, K.C. (1999). *Winclada (BETA) ver. 0.9.9*. Published by the author, Ithaca, NY.
- Pardini, R., Souza, S.M., Braga-Neto, R. and Metzger, J.P. (2005). The role of forest structure, fragment size and corridors in maintaining small mammal abundance and diversity in an Atlantic forest landscape. *Biol. Conserv.* **124**:253-266.
- Patton, J.L. and da Silva, M.N.F. (2001). Molecular phylogenetics and the diversification of amazonian mammals. In Vieira, I.C.G., da Silva, J.M.C., Oren,

- D.C., D’Incao, M.A. (eds.), *Biological and cultural diversity of Amazonia*, Museu Paraense Emílio Goeldi, Belém, pp. 139-164.
- Patton, J.L., da Silva, M.N. and Malcolm, J.R. (1996). Hierarchical Genetic Structure and Gene Flow in the Three Sympatric Species of Amazonian Rodents. *Mol. Ecol.* **5**:229-238.
- Patton, J.L., da Silva, M.N.F. and Malcom, J.R. (2000). Mammals of the Rio Juruá and the evolutionary and ecological diversification of Amazonia. *Bull. Am. Mus. Nat. Hist.* **244**:1-306.
- Por, F.D., Imperatriz-Fonseca, V.L. and Neto, F.L. (2005). *Biomes of Brazil: an illustrated natural history*, Pensoft Publishers, Sofia.
- Porto, M.L. (2002). Os campos sulinos: sustentabilidade e manejo. In Marchiori, J.N.C. (ed.), *Fitogeografia do sul da América*, Ciência e Ambiente, UFSM, Santa Maria, pp. 119-138.
- Posada, D. and Crandall, K.A. (1998). MODELTEST: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics* **14**:817-818.
- Riddle, B.R. (1996). The molecular phylogeographic bridge between deep and shallow history in continental biotas. *Trends Ecol. Evol.* **11**:207-211.
- Rodrigues, G.S. (2001). Impacto das atividades agrícolas sobre a biodiversidade: causas e consequências. In Garay, I. and Dias, B. (eds.), *Conservação da biodiversidade em ecossistemas tropicais*, Editora Vozes, Petrópolis, pp. 128-139.
- Rogers, A.R. and Harpending, H. (1992). Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic distance. *Mol. Biol. Evol.* **9**:552-569.
- Schneider, S., Roesli, D. and Excoffier, L. (2000). *Arlequin: a software for population genetics data analysis. Version 2.000*, University of Geneva, Geneva.
- Smith, J.N.M. and Hellmann, J.J. (2002). Population persistence in fragmented landscapes. *Trends Ecol. Evol.* **17**:397-399.
- Smith, M.F. and Patton, J.L. (1993). The Diversification of South American Murid Rodents: Evidence from Mitochondrial DNA Sequence Data for the Akodontine Tribe. *Biol. J. Linn. Soc.* **50**:149-177.
- Smith, M.F. and Patton, J.L. (1999). Phylogenetic Relationships and the Radiation of Sigmodontine Rodents in South America: Evidence from Cytochrome *b*. *J. Mammal. Evol.* **6**:89-128.

- Solé-Cava, A.M. (2001). Biodiversidade molecular e genética da conservação. In Matioli, S.R. (ed.), *Biologia molecular e evolução*, Holos, Ribeirão Preto, pp. 171-192.
- Swofford, D.L. (2001). *Paup**. *Phylogenetic Analysis Using Parsimony (* and other Methods)*, Ver. 4.0 b10, Sinauer Associates, Sunderland.
- Templeton, A.R., Routman, E. and Phillips, C.A. (1995). Separating population structure from population history: a cladistic analysis of the geographical distribution of mitochondrial DNA haplotypes in the tiger salamander, *Ambystoma tigrinum*. *Genetics* **140**:767-782.
- Thompson, J.D., Gibson, T.J., Plewniak, F., Jeanmougin, F. and Higgins, D.G. (1997). The CLUSTALX windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Res.* **24**:4876-4882.
- Tomazelli, L.J. and Villwock, J.A. (2000). O Cenozóico no Rio Grande do Sul: geologia da planície costeira. In Holz, M. and De Ros, L.F. (eds.), *Geologia do Rio Grande do sul*, Edição CIGO/UFRGS, Porto Alegre, pp. 375-406.
- Umetsu, F. and Pardini, R. (2007). Small mammals in a mosaic of forest remnants and anthropogenic habitats evaluating matrix quality in an Atlantic forest landscape. *Landscape Ecol.* **22**:517-530.
- Vanzolini, P.E. and Williams, E.E. (1981). The vanishing refuge: a mechanism for ecogeographic speciation. *Pap. Avulsos. Zool.* **34**:251-55.
- Weksler, M. (2003). Phylogeny of Neotropical Oryzomyine Rodents (Muridae: Sigmodontinae) Based on the Nuclear IRBP exon. *Mol. Phylogenet. Evol.* **29**:331-349.
- Weksler, M. (2006). Phylogenetic relationships of Oryzomyine rodents (Muroidea: Sigmodontinae): separate and combined analyses of morphological and molecular data. *Bull. Am. Mus. Nat. Hist.* **296**:1-149.
- Weksler, M., Percequillo, A.R. and Voss, R.S. (2006). Ten new genera of oryzomyine rodents (Cricetidae; Sigmodontinae). *Am. Mus. Novitates* **3537**:1-29.
- Xia, X.; Xie, Z. (2001). DAMBE: Data analysis in molecular biology and evolution. *J. Hered.* **92**:371-373.
- Xiang, Q.Y., Moody, M.L., Soltis, D.E., Fan, C. and Soltis, P.S. (2002). Relationships within *Cornales* and circumscription of Cornaceae-matK and rbcL sequence data and effects of outgroups and long branches. *Mol. Phylogenet. Evol.* **24**:35-57.

LEGENDS OF THE FIGURES

Fig. 1. Map of collection localities (coordinates in Appendix): 1. Surama (Guyana); 2. Bolívar (Venezuela); 3. Saramacca (Surinam); 4. Jaú River (Brazil); 5. Xingu River (Brazil); 6. Jamari River (Brazil); 7. Valença (Brazil); 8. Serra da Mesa (Brazil); 9. Mambái (Brazil); 10. Ipameri (Brazil); 11. Monte Verde (Brazil); 12. Parque Estadual do Desengano (Brazil); 13. Teresópolis, and Guapimirim (Brazil); 14. Ilha Bela (Brazil); 15. Intervalles farm (Brazil); 16. Paraguay; 17. Florianópolis (Brazil); 18. Torres (Brazil), Tainhas (Brazil), and Caxias do Sul (Brazil); 19. Osório (Brazil), and Sapiranga (Brazil); 20. Tramandaí (Brazil); and 21. Mostardas (Brazil). ★*Euryoryzomys russatus*, ●*Hylaeamys megacephalus*, †*Sooretamys angouya*, and ▲ *E. russatus* + *S. angouya*.

Fig. 2. Analyse of *Euryoryzomys russatus*'s cytochrome *b* sequences. (A) Consensus bootstrap tree (Maximum-likelihood/Maximum-parsimony/Neighbor-joining). # bootstrap with value lesser them 50%. In each branch: acronym, locality number, and in paranthesis haplotype number (detail in Table I). (B) Network (Median-joining): numbers inside the circle correspond to haplotypes; numbers in the branches indicate the number of the base changes between connected haplotypes. (C) Spatial correlogram: the X-axis represents geographic distance classes; the Y-axis represents II values (Moran). Two asterisks (**) indicate that $p < .01$, one asterisks (*) indicate that $p < .05$, and an absence of asterisks indicates that values are not significantly different from zero. (D) Mismatch distribution: this curve represent the frequency distribution of pairwise differences.

Fig. 3. Analyse of *Hylaeamys megacephalus*'s cytochrome *b* sequences. (A) Consensus bootstrap tree (Maximum-likelihood/Maximum-parsimony/Neighbor-joining). # bootstrap with value lesser them 50%. In each branch: acronym, locality number, and in paranthesis haplotype number (detail in Table I). (B) Network (Median-joining): numbers inside the circle correspond to haplotypes; numbers in the branches indicate the number of the base changes between connected haplotypes. (C) Spatial correlogram: the X-axis represents geographic distance classes; the Y-axis represents II values (Moran). Two asterisks (**) indicate that $p < .01$, one asterisks (*) indicate that $p < .05$, and an absence of asterisks indicates that values are not significantly different from

zero. (D) Mismatch distribution: this curve represent the frequency distribution of pairwise differences.

Fig. 4. Analyse of *Sooretamys angouya*'s cytochrome *b* sequences. (A) Consensus bootstrap tree (Maximum-likelihood/Maximum-parsimony/Neighbor-joining). # bootstrap with value lesser them 50%. In each branch: acronym, locality number, and in paranthesis haplotype number (detail in Table I). (B) Network (Median-joining): numbers inside the circle correspond to haplotypes; numbers in the branches indicate the number of the base changes between connected haplotypes. (C) Spatial correlogram: the X-axis represents geographic distance classes; the Y-axis represents I^2 values (Moran). Two asterisks (**) indicate that $p < .01$, one asterisks (*) indicate that $p < .05$, and an absence of asterisks indicates that values are not significantly different from zero. (D) Mismatch distribution: this curve represent the frequency distribution of pairwise differences.

Table I. Morphoclimatic domain of the collect sites, localities, haplotype (H) numbers (cyt-*b* gene) and letters (IRBP gene), GenBank accession number, and species (acronyms) of specimens analysed.

Biome	Locality	Locality N ^o *	H	GenBank Acc. N ^o
<i>Euryoryzomys russatus</i> (ERU) 2n = 80				
Pampa	Osório	19	1	DQ826028 ¹
			6	EF455023
Pampa	Sapiranga	19	1	EF455020
			2	EF455018
			a	DQ826034 ¹
Atlantic RF	Tainhas	18	4	EF455021
			5	EF455022
Atlantic RF	Florianópolis	17	3	EF455019
			a	EF455047
Atlantic RF	Monte Verde	11	7	EF455024
			8	EF455025
			b	EF455048, EF455049
Atlantic RF ^a	Valença	7	9	AF181271 ²
Atlantic RF ^a	Guapimirim	13	10	AF181272 ²
			a	AY163625 ³
Atlantic RF ^a	Ilha Bela	14	11	AF251523 ⁴
Atlantic RF ^a	P.E. do Desengano	12	12	AF251524 ⁴
<i>Hylaeamys megacephalus</i> (HME) 2n = 54				
Cerrado	Serra da Mesa	8	2	EF455029
			3	EF455030
			4	EF455031
			a	EF455051, EF455052
Cerrado	Mambaí	9	1	EF455027, EF455028
Cerrado	Ipameri	10	5	EF455032
			6	EF455033
Amazon	Jamari River	6	8	EF455026
			b	EF455050
Amazon ^a	Jaú River	4	11	AF251516 ⁴

Amazon ^a	Suriname	3	12	AF251517 ⁴
Amazon ^a	Guyana	1	13	AF251518 ⁴
Amazon ^a	Xingu River	5	9	AF251519 ⁴
Amazon ^a		5	10	AF108695 ⁵
Atlantic RF ^a	Paraguay	16	7	AY275124 ⁶
			a	AY277465 ⁶
Amazon ^a	Venezuela	2	a	AY163621 ³
<i>Sooretamys angouya</i> (SAN) 2n = 58				
Pampa	Mostardas	21	6	EF455041
			7	EF455042
Pampa	Tramandaí	20	1	EF455043
			e	EF455056
Pampa	Osório	19	1	EF455044
			8	EF455045
			f	EF455057
Atlantic RF	Torres	18	1	EF455038
			3	EF455037
			4	EF455039
			c	EF455054
			d	EF455055
Atlantic RF	Tainhas	18	5	EF455040
Atlantic RF	Caxias do Sul	18	9	EF455034
			10	EF455035
Atlantic RF	Florianópolis	17	2	EF455036
			b	EF455053
Atlantic RF	Monte Verde	11	11	EF455046
			a	EF455058
Atlantic RF ^a	Intervales Farm	15	12	AF181280 ²
Atlantic RF ^a	Teresópolis	13	13	AF181281 ²
			a	AY163616 ³
OUTGROUPS				
<i>Cerradomys subflavus</i>			cyt- <i>b</i>	AF181274 ²
			IRBP	AY163626 ³

<i>Euryoryzomys emmonsae</i>	cyt- <i>b</i>	AF251526 ⁴
	IRBP	-
<i>Euryoryzomys macconnelli</i>	cyt- <i>b</i>	AF251528 ⁴
	IRBP	-
<i>Euryoryzomys nitidus</i>	cyt- <i>b</i>	AF251529 ⁴
	IRBP	-
<i>Hylaeamys acritus</i>	cyt- <i>b</i>	AY940625 ⁷
	IRBP	-
<i>Hylaeamys perenensis</i>	cyt- <i>b</i>	U03538 ⁸
	IRBP	-
<i>Hylaeamys yunganus</i>	cyt- <i>b</i>	AF251520 ⁴
	IRBP	AY163629 ³
<i>Nectomys squamipes</i>	cyt- <i>b</i>	EF562455 ¹
	IRBP	AY163598 ³
<i>Oryzomys palustris</i>	cyt- <i>b</i>	DQ185382 ⁹
	IRBP	AY163623 ³

*Numbers are the same of Map in Fig. 1; RF= Rain Forest; ^aBiomes of the collected points referred by the authors; ¹Miranda *et al.* (unpublished); ²Bonvicino and Moreira (2001); ³Weksler (2003); ⁴Patton *et al.* (2000); ⁵Smith and Patton (1999); ⁶D'Elia (2003); ⁷Milazzo *et al.* (unpublished); ⁸Peppers and Bradley (2000).

APPENDIX

Sample of This Study

Country, state, collection locality with coordinates (corresponding to number in the map of Fig. 1), and vouchers numbers.

Euryoryzomys russatus: Brazil, Espírito Santo, Monte Verde, 19°53'S; 41°57'W (11), UFPB372, UFPB381; Brazil, Santa Catarina, Florianópolis, 27°35'S; 48°34'W (17), MN37798; Brazil, Rio Grande do Sul, Tainhas, 29°16'S; 50°18'W (18), MN37802, MN37803; Brazil, Rio Grande do Sul, Sapiranga, 29°38'S; 51°00'W (19), MN37799, LF484; Brazil, Rio Grande do Sul, Osório, 29°54'S; 50°16'W (19), MN37808, MN37810. *Hylaeamys megacephalus*: Brazil, Rondônia, Jamari River, 08°45'S; 63°28'W (6), AL2756, AL2757; Brazil, Goiás, Serra da Mesa, 13°31'S; 48°13'W (8), MN36412, MN36519, MN36738; Brazil, Goiás, Mambaí, 14°29'S; 46°06'W (9), MN36103, MN36172; Brazil, Goiás, Ipameri, 17°44'S; 48°37'W (10), MN37813, MN37814. *Sooretamys angouya*: Brazil, Espírito Santo, Monte Verde, 19°53'S; 41°57'W (11), UFPB335; Brazil, Santa Catarina, Florianópolis, 27°35'S; 48°34'W (17), MN37777; Brazil, Rio Grande do Sul, Caxias do Sul, 29°10'; 51°11'W (18), AFV21, AFV22; Brazil, Rio Grande do Sul, Tainhas, 29°16'S; 50°18'W (18), MN37785; Brazil, Rio Grande do Sul, Torres, 29°19'S; 49°46'W (18), MN37778, MN37780, MN37783; Brazil, Rio Grande do Sul, Osório, 29°54'S; 50°16'W (19), MN37794, MN37795, MN37796; Brazil, Rio Grande do Sul, Tramandaí, 29°59'S; 50°08'W (20), MN37790; Brazil, Rio Grande do Sul, Mostardas, 31°10'S; 51°31'W (21), MN37786, MN37789.

Sample of GenBank

Country, collection locality with coordinates (corresponding to number in the map of Fig. 1), and accession numbers.

Euryoryzomys russatus: Brazil, Valença, 13°22'S; 39°04'W (7), AF181271; Brazil, P.E. do Desengano, 21°57'S; 42°00'W (12), AF251524; Brazil, Guapimirim, 22°29'S; 43°00'W (13), AF181272; Brazil, Ilha Bela, 23°46'S; 45°21'W (14), AF251523. *Hylaeamys megacephalus*: Guyana, Surama, 07°34'N; 59°09'W (1), AF251517; Venezuela, San Ignacio de Yuruani, 05°03'N; 61°13'W (2), AY163621; Surinam, Saramacca, 03°56'N; 56°10'W (3), AF251517; Brazil, Jaú River, 02°00'S; 62°00'W (4), AF251516; Xingu River, 03°40'S; 52°45'W (5), AF108695, AF251519; Paraguay, 24°31'S; 55°42'W (16), AY275124. *Sooretamys angouya*: Brazil, Teresópolis, 22°55'S; 42°58'W (13), AF181281; Brazil, Intervalles Farm, 24°20'S; 48°25'W (15), AF181280.

Figure 1

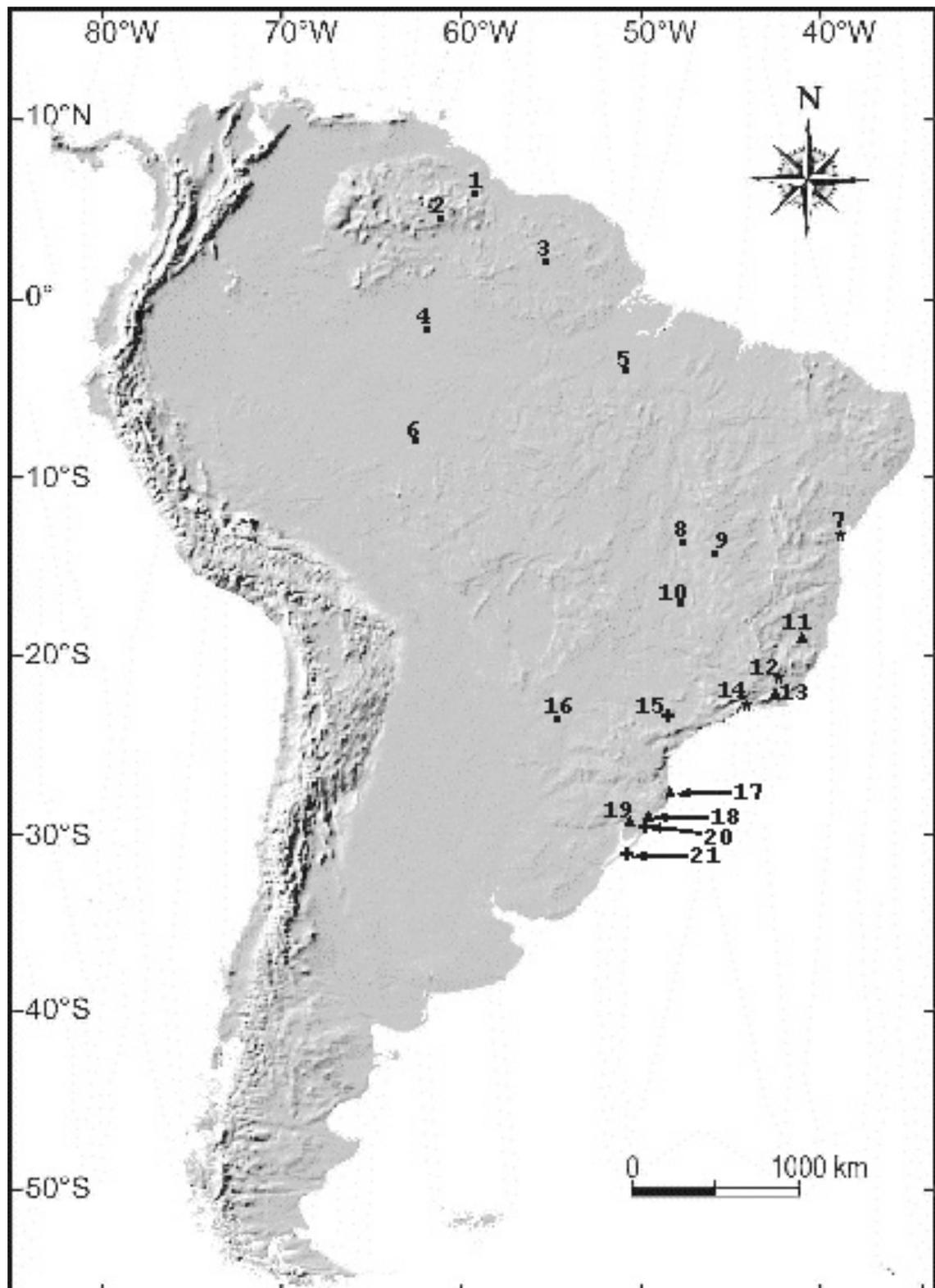


Figure 2

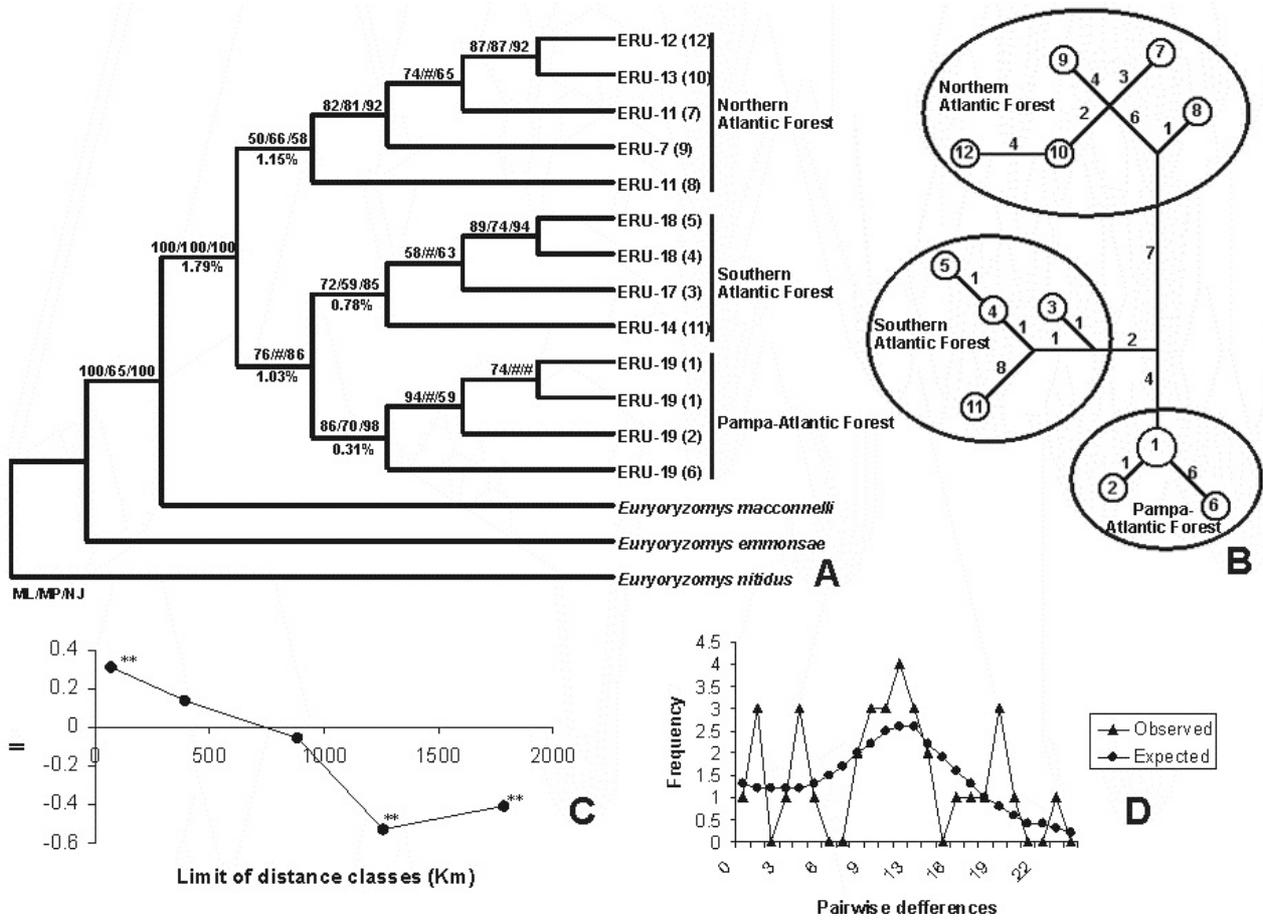
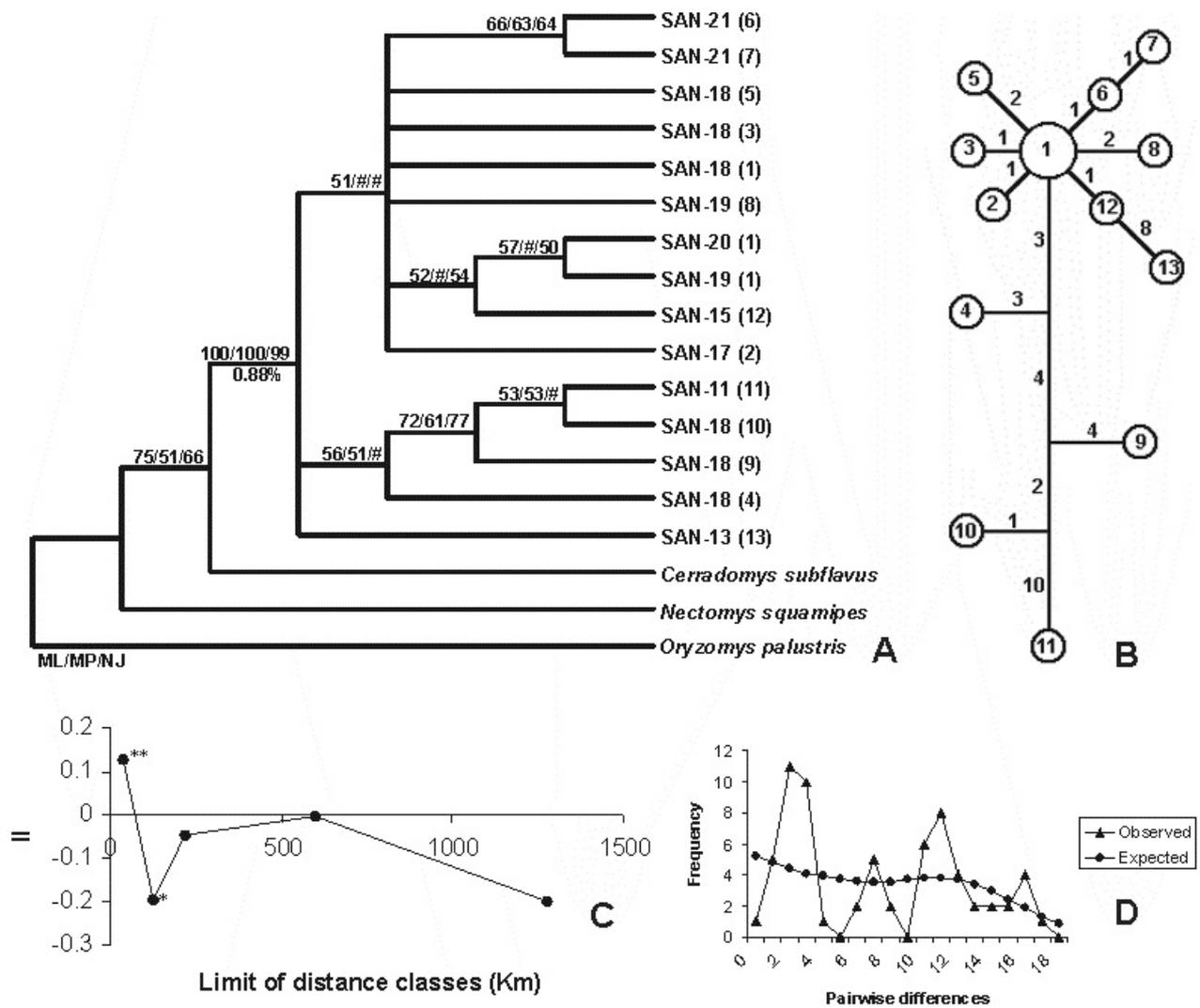


Figure 4



DISCUSSÃO

Os oryzomyinos são um grupo de roedores que, segundo a definição de Voss e Carleton (1993), se caracterizam por apresentarem cinco sinapomorfias: ausência de vesícula biliar, presença de um par peitoral de mamas, ausência de cobertura timpânica, ausência da barra do alisfenóide e presença de um palato longo. Além disso, a maioria é pentalofodonte. A tribo Oryzomyini está incluída na ordem Rodentia, superfamília Muroidea, família Cricetidae e subfamília Sigmodontinae, compreendendo cerca de 35% das espécies descritas para esta subfamília. Atualmente são descritos 27 gêneros e cerca de 120 espécies para a tribo Oryzomyini segundo classificação básica de Voss e Carleton (1993) e Musser e Carleton (2005) e incluindo propostas atuais que envolvem a descrição de novas espécies e, até mesmo, de novos gêneros (Weksler *et al.*, 2006).

As grandes controvérsias nas relações filogenéticas entre as espécies da tribo Oryzomyini em diferentes trabalhos e, principalmente, a polifilia do gênero *Oryzomys*, o mais “speciose” da tribo, motivaram uma ampla reclassificação desta, algo não ocorrido em outras tribos dos Sigmodontinae. A polifilia de *Oryzomys* já vinha sendo observada em diversos trabalhos realizados por diferentes autores (Dickerman e Yates, 1995; Myers *et al.*, 1995; Patton e da Silva, 1995; Stepan, 1995; Bonvicino e Moreira, 2001; Andrade e Bonvicino, 2003; Weksler, 2003, 2006), característica esta também encontrada nos resultados desta tese. A partir destes achados, Weksler *et al.* (2006) realocaram as espécies de *Oryzomys* em 10 novos gêneros e em gêneros já existentes. Esta reformulação baseou-se na já existente subdivisão do gênero em diferentes grupos de espécies, sendo que o gênero *Oryzomys*, propriamente dito, foi reduzido de 43 espécies catalogadas por Musser e Carleton (2005) para seis espécies, reunidas no grupo “*palustris*” (Weksler *et al.*, 2006).

Os objetivos desta tese, além de analisar as relações filogenéticas da tribo Oryzomyini com diferentes marcadores moleculares, foi comprovar a validade das recentes mudanças propostas na classificação da tribo. Esta validação passa pela observação do caráter monofilético de cada um dos novos gêneros, característica esta usada como justificativa por Weksler *et al.* (2006), bem como a comprovação da monofilia dos gêneros previamente reconhecidos. Também tivemos como objetivos estudar a filogenia e a filogeografia de um dos táxons da tribo, o gênero *Oligoryzomys*,

e tentar traçar a rota de ocupação deste táxon nos ambientes sul-americanos. Além disto, foram examinadas a filogeografia e as estruturas genéticas das populações de seis espécies da tribo Oryzomyini (*Euryoryzomys russatus*, *Hylaeamys megacephalus*, *Oligoryzomys flavescens*, *O. moojeni*, *O. nigripes* e *Sooretamys angouya*). A partir da obtenção destes objetivos, fornecer subsídios para a elaboração de programas de conservação e manejo destas espécies e dos respectivos biomas que habitam.

O amplo material utilizado para a obtenção das metas propostas foi coletado em diversos ambientes nos diferentes biomas brasileiros, principalmente na costa leste brasileira e no estado do Rio Grande do Sul. Material complementar ou espécies não coletadas por nós, foi retirado do GenBank.

A antiguidade e a diferenciação dos sigmodontinos ocorreram em episódios cladogenéticos locais, a partir de uma linhagem ancestral que se incorporou à América do Sul pelo seu extremo noroeste, tendo uma origem norte-americana conforme já proposto por Hershkovitz (1966, 1972), Savage (1974) e Reig (1984). Esta invasão migratória da linhagem ancestral dos sigmodontinos efetuou-se por dispersão trans-aquática antes do estabelecimento da ponte panamenha, isto é, no Mioceno inferior. Segundo Reig (1984), devido a características morfológicas primitivas, os Oryzomyini seriam a tribo mais próxima à linhagem ancestral dos Sigmodontinae, a qual denominou de proto-oryzomyina. Esta hipótese está apoiada no fato de que a área de diferenciação original (ADO) dos Oryzomyini estar localizada nos Andes do Equador, Colômbia e Venezuela, isto é, no extremo noroeste da América do Sul. Estes proto-oryzomyinos que chegaram à região norte dos Andes, vindos de latitudes mais temperadas da América Central, provavelmente dispersaram-se rapidamente pelas terras altas que emergiram no Mioceno inferior, lá encontrando condições ambientais apropriadas para suas adaptações prévias. O aumento da heterogeneidade dos ambientes andinos terciários, devido ao levantamento da cordilheira na fase orogênica miocena (Van der Hammen, 1961; Simpson, 1975), deve ter promovido a diferenciação da linhagem oryzomyina ancestral em adaptações aos distintos biótipos e habitats das selvas montanhosas. Dentro deste processo localizam-se as gêneses de táxons como *Microrizomys*, *Oryzomys* e *Zygodontomys*. Postula-se, também, que outros oryzomyinos se diversificaram invadindo as terras baixas do noroeste dos Andes e, posteriormente, regiões baixas mais meridionais. Táxons como *Oecomys* (arbóreo e de terras baixas), *Oligoryzomys* (fundamentalmente de pradarias baixas e com tendências a

uma alimentação mais herbívora) e *Nectomys* (semi-aquático e de selvas baixas) provavelmente tenham se originado a partir destes processos.

A filogenia da tribo Oryzomyini foi analisada utilizando tanto dados morfológicos como através de marcadores moleculares diversos, porém a maioria destes trabalhos foi ou inconclusiva ou contraditória, privilegiando apenas alguns grupos específicos de táxons ou utilizando em suas análises um número pequeno de representantes da tribo.

Steppan (1995) analisou 98 caracteres morfológicos em mais de 50 espécies, amostrando Cricetidae do Velho e do Novo Mundo (três subfamílias: Tylomyinae, Neotominae e Sigmodontinae). No clado dos Oryzomyini, *Neacomys spinosus* se apresenta como o táxon mais basal, seguido por *Oryzomys capito* (hoje: *Hylaeamys perenensis*), *Oligoryzomys fulvescens* e dois agrupamentos monofiléticos ((*Pseudoryzomys simplex* (*Zygodontomys brevicuda* + *Holochilus brasiliensis*)) e (*Oryzomys palustris* + *Nectomys squamipes*)). Em 1998 o autor, usando 27 medidas mandíbulo-maxilares de seis espécies da tribo Oryzomyini e duas espécies de *Sigmodon*, fez uma análise cladística esclarecendo as relações filéticas destas espécies. A árvore mais parcimoniosa mostrou um agrupamento apenas com oryzomyinos: *Holochilus brasiliensis*, *H. sciureus* e *H. primigenus*, seguidas por *Lundomys molitor*, *Pseudoryzomys simplex* e *Oryzomys subflavus* (atual *Cerradomys subflavus*); no outro ramo, agruparam-se as duas espécies de *Sigmodon*. Posteriormente, Steppan e Sullivan (2000) analisaram 51 táxons e 100 caracteres morfológicos. Na árvore consenso obtida pelos autores, os táxons oryzomyinos *Holochilus brasilienses*, *Pseudoryzomys simplex*, *Zygodontomys brevicauda* e *Nectomys squamipes* agruparam-se em um dos vários ramos da filogenia.

Em trabalho recente, Weksler (2006) analisou 99 caracteres morfológicos de 49 espécies da tribo Oryzomyini, além de cinco espécies utilizadas como grupos externos. A análise heurística dos dados morfológicos feita pelo autor resultou em uma árvore mais parcimoniosa que separa os Oryzomyini em dois grandes clados. O primeiro clado conteve os gêneros *Handleyomys*, *Microroryzomys*, *Neacomys*, *Oecomys*, *Oligoryzomys*, *Scolomys*, *Zygodontomys* e 10 das 19 espécies do gênero *Oryzomys* analisadas, sendo que estas 10 espécies, atualmente, estão distribuídas nos gêneros *Euryoryzomys*, *Hylaeamys*, *Mindomys*, *Nephelomys*, *Oreoryzomys* e *Transandinomys*. O segundo clado foi formado pelos gêneros *Amphinectomys*, *Holochilus*, *Lundomys*, *Melanomys*, *Nesoryzomys*, *Pseudoryzomys*, *Nectomys*, *Sigmodontomys* e as nove espécies restantes

de *Oryzomys*, que representam os gêneros *Aegialomys*, *Cerradomys*, *Eremoryzomys*, *Handleyomys*, *Oryzomys* e *Sooretamys*. Dos oito gêneros com mais de uma espécie representada, somente *Oryzomys* e *Sigmodontomys* não se organizaram de forma monofilética.

Nas últimas décadas, além dos caracteres morfológicos, a análise de biomoléculas tem contribuído para esclarecer as relações entre os gêneros de Oryzomyini, principalmente através dos empregos de isozimas e sequenciamento do DNA (mitocondrial e nuclear).

Através de polimorfismos protéicos (isozimas), Dickerman & Yates (1995) analisaram as relações entre cinco espécies de *Oligoryzomys* e mais nove espécies de Oryzomyini. A filogenia obtida pelos autores, gerada através da distância genética de Nei, apresenta *Holochilus brasiliensis* e *Oryzomys palustris* em politomia e como táxons basais, seguidos por *Oryzomys subflavus* (= *Cerradomys subflavus*) e o restante dos táxons formando dois clados. O primeiro clado contém a espécie *Nectomys squamipes* na posição basal, seguida por *Oryzomys nitidus* (= *Euryoryzomys nitidus*), *Oryzomys keaysi* (= *Nephelomys keaysi*) e *Oryzomys capito* (= *Hylaeamys perenensis*) e o segundo formado por dois táxons do gênero *Microroryzomys* numa posição mais basal, seguidos por *Neacomys spinosus* e as cinco espécies de *Oligoryzomys* agrupadas de forma monofilética.

Myers *et al.* (1995), utilizando um fragmento de 401 pb do gene mitocondrial citocromo *b*, analisaram 28 táxons de Sigmodontinae, sendo 23 destes pertencentes à tribo Oryzomyini. As relações filogenéticas entre os representantes oryzomyinos mostraram que, através da análise de Máxima-parcimônia somente com transversões, estes estão agrupados monofileticamente e que *Oryzomys ratticeps* (= *Sooretamys angouya*) se apresenta como o táxon mais basal, seguido por um agrupamento monofilético que reúne os gêneros *Neacomys* e *Microroryzomys*. O ramo seguinte mostra *Oryzomys palustris* como táxon-irmão dos demais táxons os quais se dividem em dois clados, o primeiro reunindo *Oryzomys subflavus* (= *Cerradomys subflavus*), seguido de *Oryzomys capito* (= *Hylaeamys megacephalus*) e *Nectomys squamipes*. O segundo clado reúne *Oryzomys xantheolus* (= *Aegialomys xantheolus*) como táxon-irmão de cinco espécies do gênero *Oligoryzomys*. Uma segunda análise de máxima parcimônia (transições + transversões) mostra boa parte dos Oryzomyini em politomia com um agrupamento monofilético que reúne representantes das tribos Thomasomyini, Phyllotini e Akodontini. Apenas dois grupos monofiléticos entre os Oryzomyini são

formados, um que reúne os gêneros *Microryzomys* e *Neacomys*, como na análise anterior, e outro que agrupa *Oryzomys ratticeps* (= *Sooretamys angouya*) e *Nectomys squamipes* de forma mais basal, seguido de *Oryzomys xantheolus* (= *Aegialomys xantheolus*) e de oito espécies de *Oligoryzomys* monofileticamente agrupadas.

Patton e da Silva (1995), em uma revisão do gênero *Scolomys*, utilizando o gene mitocondrial citocromo *b*, analisaram as relações filogenéticas entre uma nova espécie descrita para este gênero (*S. juruense*) e 16 outras espécies de Oryzomyini, além de duas espécies de Thomasomyini como grupos externos. A árvore resultante da análise de Evolução-mínima (Kimura 2-parâmetros) mostrou que as 17 espécies de Oryzomyini se comportaram de forma monofilética e formaram dois clados, o primeiro com quatro espécies, *Microryzomys minutus* e três espécies do gênero *Neacomys*. O segundo clado apresenta a reunião de duas espécies de *Oligoryzomys* (*O. longicaudatus* e *O. microtis*) na base do clado e com os ramos seguintes ocupados por *Scolomys juruense* e *Nectomys squamipes*, respectivamente. Os demais Oryzomyini (nove táxons) se dividem em outros dois clados: o primeiro destes reúne as espécies *Oryzomys capito* (= *Hylaeamys megacephalus*), *O. yunganus* (= *H. yunganus*), *O. macconelli* (= *Euryoryzomys macconnelli*) e *O. nitidus* (= *E. nitidus*), respectivamente, e o segundo reunindo cinco espécies do gênero *Oecomys*. Uma segunda árvore, através da Máxima-parcimônia excluindo as transições na 3ª posição do códon, apresenta duas diferenças com relação à topologia da árvore anterior: a primeira alteração é o agrupamento, em um ramo monofilético, das espécies *Nectomys squamipes* e *Scolomys juruense*. A segunda apresentou *Oryzomys yunganus* (= *Hylaeamys yunganus*) como táxon-irmão do gênero *Oecomys*.

Smith e Patton (1999), analisando as relações filogenéticas entre os roedores Sigmodontinae sul-americanos, utilizaram 12 espécies da tribo Oryzomyini em suas amostras. Neste trabalho foi utilizado o gene mitocondrial citocromo *b* e realizada análise de Máxima-parcimônia. Desta análise resultou uma árvore na qual os táxons Oryzomyini se agrupam em um ramo de forma monofilética, com exceção de *Scolomys juruense*. Neste ramo monofilético os 11 táxons Oryzomyini se dividiram em dois clados, o primeiro formado por *Microryzomys minutus*, *Holochilus sciureus*, *Neacomys spinosus*, *Nesoryzomys fernandinae* e *Oligoryzomys longicaudatus*. O segundo possuiu *Nectomys apicalis* e *Oryzomys megacephalus* (= *Euryoryzomys megacephalus*) posicionados na base do clado, seguidos por um agrupamento monofilético de quatro espécies do gênero *Oecomys*. Nesta filogenia de roedores Sigmodontinae, Smith e

Patton (1999) observaram que a tribo Oryzomyini se apresentou como grupo-irmão do clado formado por representantes da tribo Phyllotini e outro formado por um grupo de espécies que os autores chamaram de clado Andino + *Delomys dorsalis*, *D. sublineatus* e *Sigmodon hispidus*.

Bonvicino e Moreira (2001) estudaram a filogenia molecular do gênero *Oryzomys* através do gene citocromo *b*. Os autores observaram que, além da comprovação do caráter polifilético deste gênero, a tribo Oryzomyini não se mostrou monofilética nas análises de Máxima-parcimônia e Máxima-verossimilhança, sendo monofilética apenas na análise de Neighbor-joining.

Weksler (2003, 2006) analisou as relações filogenéticas entre 44 espécies da tribo Oryzomyini. Para este trabalho o autor sequenciou fragmentos de 1.266 pb do primeiro exon do gene nuclear IRBP (Interphotoreceptor Retinoid Binding Protein) e realizou uma análise de Máxima-parcimônia. A árvore resultante apresentou uma politomia basal envolvendo *Scolomys ucayalensis*, duas espécies do gênero *Zygodontomys* e um clado com os demais táxons. Este grande grupo da politomia está dividido em dois clados, o primeiro contendo os gêneros *Oecomys* e *Handleyomys* e nove das 16 espécies de *Oryzomys* que atualmente estão representadas pelos gêneros *Euryoryzomys*, *Hylaeamys*, *Nephelomys* e *Transandinomys*. O segundo foi formado pelas espécies dos gêneros *Amphinectomys*, *Holochilus*, *Lundomys*, *Melanomys*, *Microroryzomys*, *Neacomys*, *Nectomys*, *Nesoryzomys*, *Oligoryzomys*, *Pseudoryzomys*, *Sigmodontomys* e as sete espécies restantes de *Oryzomys*, representantes dos atuais gêneros *Aegialomys*, *Cerradomys*, *Eremoryzomys*, *Oreoryzomys* e *Sooretamys*.

D'Elia *et al.* (2006), também utilizando o gene nuclear IRBP, analisaram a posição filogenética do gênero *Rhagomys* entre os Sigmodontinae e para isso, dentre outros gêneros sigmodontinos, eles utilizaram 16 gêneros da tribo Oryzomyini em suas análises. As relações filogenéticas entre estes gêneros evidenciaram, primeiramente, que a tribo foi monofilética. Os táxons mais basais foram *Scolomys* e *Zygodontomys*, que se mostraram em politomia. Os demais gêneros se distribuíram em dois clados, sendo que o primeiro apresentou uma politomia entre *Oryzomys* (= *Hylaeamys*), *Oecomys* e *Handleyomys*. No segundo clado foram observados cinco ramos politômicos, dois deles mostrando as relações dos seguintes gêneros em seqüência: (*Microroryzomys* (*Neacomys* + *Oligoryzomys*)) e (*Nesoryzomys* (*Melanomys* + *Sigmodontomys*)). Outros dois ramos apresentam *Holochilus* + *Pseudoryzomys* e *Amphinectomys* + *Nectomys*. O último ramo é ocupado apenas pelo gênero *Lundomys*.

Weksler (2006), além analisar as relações filogenéticas entre espécies da tribo Oryzomyini através de caracteres morfológicos e do gene nuclear IRBP (já descritos anteriormente), também analisou estes dados combinados. A análise de Máxima-parcimônia, com os dados combinados, resultou em uma árvore que apresenta a tribo Oryzomyini como um grupo monofilético e *Oryzomys hammondi* (= *Mindomys hammondi*) como grupo-irmão dos demais representantes da tribo, os quais estão agrupados em quatro clados nomeados pelo autor de A, B, C e D, sendo que os clados C e D aparecem como grupos-irmãos. O clado A é formado pelas espécies *Scolomys ucayalensis*, *Zygodontomys brevicauda* e *Z. cherriei*. O clado seguinte (B) possui três espécies de *Oryzomys*, que atualmente pertencem ao gênero *Euryoryzomys* e cinco espécies de *Oecomys* em monofilia. Também fazem parte deste clado *Handleyomys intectus* e mais três espécies de *Oryzomys* que atualmente estão alocadas no gênero *Handleyomys* (*alfaroi*, *chapmani* e *rostratus*), além de *Oryzomys megacephalus* e *O. yunganus* (ambas pertencentes ao novo gênero *Hylaeamys*), *O. talamancae* (= *Transandinomys*) e *O. albigularis* e *O. levipes* (ambas *Nephelomys*). No clado C se destacam as monofilias dos gêneros *Neacomys* e *Oligoryzomys*, juntamente com *Microryzomys minutus* e *Oryzomys balneator* (= *Oreoryzomys balneator*). O clado D apresenta espécies dos gêneros *Oryzomys*, *Pseudoryzomys*, *Lundomys*, *Holochilus*, *Nesoryzomys*, *Amphinectomys*, *Nectomys*, *Sigmodontomys* e *Melanomys*, além dos novos gêneros *Aegialomys*, *Cerradomys*, *Eremoryzomys* e *Sooretamys*, oriundos do polifilético *Oryzomys*.

No Artigo 1 desta tese é mostrada a filogenia da tribo Oryzomyini construída a partir de uma análise bayesiana com o gene citocromo *b*. Esta análise primariamente demonstra a monofilia da tribo, com um suporte nodal de 99% de probabilidade posterior. O gênero *Scolomys* apresenta-se como o mais basal táxon oryzomyino nesta filogenia, tendo três espécies dispostas em seqüência (*S. melanops* (*S. juruense* + *S. ucayalensis*)). Os demais táxons oryzomyinos se distribuem em três clados distintos dispostos de forma politômica. O primeiro clado reúne apenas espécies do gênero *Cerradomys* (*C. maracajuensis* + *C. marinhui* e *C. scotti* + *C. subflavus*). O segundo clado apresenta os seguintes gêneros: *Euryoryzomys*, *Handleyomys*, *Hylaeamys*, *Nephelomys*, *Oecomys* e *Zygodontomys*. Um dos destaques deste clado é a monofilia das oito espécies de *Oecomys*. O gênero *Hylaeamys* apresenta cinco espécies agrupadas monofileticamente em seqüência (*H. perenensis* (*H. megacephalus* (*H. acritus* (*H. laticeps* + *H. seuanezi*)))) e *H. yunganus* posicionado em um outro agrupamento de

espécies. *Euryoryzomys*, representado por cinco espécies nesta análise, mostra as espécies *E. russatus*, *E. lamia* e *E. nitidus* agrupadas nesta seqüência e em politomia com *E. emmonsae* e *E. macconnelli*. Os três gêneros restantes deste clado apresentam apenas um representante cada um e dispõem-se em politomia com as demais espécies do clado. O terceiro e último clado está subdividido em dois subclados, o primeiro destes apresenta *Sooretamys angouya* no ramo basal de um agrupamento com mais três espécies de *Holochilus* dispostas em seqüência (*H. chacarius* (*H. brasiliensis* + *H. sciureus*)). Semelhante ao agrupamento anterior, *Nesoryzomys fernandinae* mostra-se como espécie-irmã do gênero *Oryzomys* (*O. couesi* + *O. palustris*). Além disso, as três espécies do gênero *Nectomys* apresentam-se em seqüência e monofiléticas (*N. apicalis* (*N. squamipes* + *N. rattus*)). O segundo subclado inicia com três espécies em seqüência (*Microryzomys minutus* (*Neacomys* sp. + *N. spinosus*)) no ramo basal ao agrupamento monofilético de 12 espécies do gênero *Oligoryzomys*.

Estas relações filogenéticas da tribo Oryzomyini, quando comparadas a outras filogenias da tribo usando o gene citocromo *b*, mostram que a monofilia da mesma também foi encontrada por Patton e da Silva (1995), tanto na análise de Evolução-mínima com Kimura 2-parâmetros como na análise de Máxima-parcimônia, e por Andrade e Bonvicino (2001) em uma análise de Máxima-parcimônia. Porém a monofilia da tribo Oryzomyini não pode ser comprovada em outros trabalhos que utilizaram o mesmo marcador molecular (Myers *et al.*, 1995; Smith e Patton, 1999; Bonvicino e Moreira, 2001). A monofilia de alguns gêneros encontrada por nós, também foi observada por outros autores. Tais gêneros são: *Cerradomys* (Bonvicino e Moreira, 2001; Andrade e Bonvicino, 2003; grupo “*subflavus*” do gênero *Oryzomys*), *Nectomys* (Bonvicino e Moreira, 2001; Andrade e Bonvicino, 2003), *Oecomys* (Patton e da Silva, 1995; Smith e Patton, 1999; Bonvicino e Moreira, 2001; Andrade e Bonvicino, 2003) e *Oligoryzomys* (Myers *et al.*, 1995; Patton e da Silva, 1995; Bonvicino e Moreira, 2001). A inclusão do gênero *Scolomys* como membro da tribo Oryzomyini foi observada nesta tese e também por Patton e da Silva (1995), mas não na posição basal da filogenia. Porém, Smith e Patton (1999) colocam este gênero fora dos oryzomyinos, dentro de um grupo ao qual denominaram de “linhagem única”. Algumas relações intergenéricas mostradas aqui, tal como entre os gêneros *Microryzomys* e *Neacomys*, foram observadas por outros autores (Myers *et al.*, 1995; Patton e da Silva, 1995; Bonvicino e Moreira, 2001). Bonvicino e Moreira (2001), juntamente com Andrade e Bonvicino (2003), encontraram uma politomia entre as espécies do gênero *Oryzomys*

pertencentes ao grupo “*nitidus*” (atual *Euryoryzomys*) e a não monofilia das espécies do grupo “*megacephalus*” (atual *Hylaeamys*) devido ao não agrupamento da espécie *Oryzomys yunganus* (= *Hylaeamys yunganus*) com os demais membros deste grupo. Estas mesmas relações foram encontradas na filogenia dos oryzomyinos gerada nesta tese. Os gêneros *Euryoryzomys*, *Hylaeamys* e *Oecomys*, que compartilham um mesmo clado na filogenia apresentada no Artigo 1 (Fig. 1; nodo D), também foram encontrados em um mesmo clado por Patton e da Silva (1995), sendo *Euryoryzomys* e *Hylaeamys* representados respectivamente por espécies pertencentes aos grupos “*nitidus*” e “*megacephalus*” do gênero *Oryzomys*. Smith e Patton (1999) observaram um agrupamento com os gêneros *Holochilus*, *Microroryzomys*, *Neacomys*, *Nesoryzomys* e *Oligoryzomys*, porém com um suporte nodal inferior a 50%. Na Figura 1 (Artigo 1) estes gêneros também compartilharam um mesmo clado (nodo E) na filogenia gerada com o gene citocromo *b*, com um suporte nodal de 84%.

A monofilia da tribo Oryzomyini foi igualmente encontrada na análise bayesiana usando somente o gene IRBP (Fig. 2; Artigo 1), com uma probabilidade posterior de 99%. Nesta filogenia novamente o gênero *Scolomys* (*S. ucayalensis*) aparece no ramo mais basal da tribo Oryzomyini, porém o gênero *Zygodontomys* (*Z. brevicauda* + *Z. cherriei*) aparece em politomia com *Scolomys*. As demais espécies de oryzomyinos utilizadas na análise se distribuem em dois grandes clados. O primeiro clado apresenta cinco ramos em politomia, sendo que apenas a espécie *Nephelomys albigularis* ocupa o primeiro deles. O segundo ramo mostra a monofilia de *Hylaeamys* (*H. megacephalus* + *H. yunganus*), assim como no terceiro, onde se observa a monofilia do gênero *Handleyomys* (*H. intectus* (*H. alfaroi* + *H. rostratus*)). No quarto ramo do clado, *Transandinomys talamancae* aparece no ramo basal ao agrupamento de três espécies de *Euryoryzomys* dispostas em seqüência (*E. macconnelli* (*E. lamia* + *E. russatus*)). O quinto e último ramo do clado mostra a monofilia de sete espécies do gênero *Oecomys*. O segundo clado apresenta três espécies do gênero *Neacomys* (*N. spinosus* (*N. minutus* + *N. musseri*)) em um ramo basal a uma grande politomia. Nesta politomia se destacam a monofilia de sete espécies do gênero *Oligoryzomys* e de duas espécies de *Cerradomys*, em dois ramos distintos. Em outro ramo da politomia, *Pseudoryzomys simplex* aparece como táxon-irmão do gênero *Holochilus* (*H. brasiliensis* + *H. chacarius*). Nove espécies de sete gêneros agrupam-se em um único ramo, no qual *Oryzomys* (*O. couesi* + *O. palustris*) se apresenta na posição mais basal, seguido sucessivamente por *Aegialomys xantheolus* e *Amphinectomys savamis* + *Nectomys squamipes*, seguidos

por dois grupos-irmãos: o monofilético gênero *Nesoryzomys* (*N. narboroughi* + *N. swarthi*) e *Melanomys caliginosus* + *Sigmodontomys alfari*. Completam esta politomia as espécies *Eremoryzomys polius*, *Lundomys molitor*, *Microryzomys minutus*, *Oreoryzomys balneator* e *Sooretamys angouya*, as quais ocupam ramos únicos.

As relações filogenéticas da tribo Oryzomyini utilizando seqüências do gene IRBP resultantes da análise bayesiana realizada neste trabalho foram muito semelhantes às encontradas por Weksler (2003, 2006) e D'Elia *et al.* (2006) com o mesmo marcador molecular. Estes mesmos autores também evidenciaram que a tribo Oryzomyini comportou-se de forma monofilética e que os gêneros *Scolomys* e *Zygodontomys* se mostraram politômicos e os mais basais da tribo. Da mesma forma, os demais táxons se distribuem em dois clados. O primeiro clado indicado por Weksler (2003, 2006) apresenta os mesmos gêneros do primeiro clado da Figura 2 (nodo A; Artigo 1) e as mesmas relações filogenéticas. Já D'Elia *et al.* (2006), com uma amostra menor, encontraram uma politomia entre os gêneros *Oryzomys* (= *Hylaeamys*), *Oecomys* e *Handleyomys*. O segundo clado observado nas análises de Weksler (2003, 2006) apresentou os mesmos gêneros obtidos no resultado neste trabalho (Fig. 2; Artigo 1; nodo B). As monofilias dos gêneros *Neacomys*, *Nesoryzomys*, *Oligoryzomys* e *Oryzomys* foram compartilhadas entre os resultados destes dois trabalhos. Algumas relações filogenéticas foram observadas, tanto neste trabalho como nos artigos de Weksler (2003, 2006) e D'Elia *et al.* (2006), tais relações são: *Amphinectomys* + *Nectomys*, *Holochilus* + *Pseudoryzomys* e *Melanomys* + *Sigmodontomys*.

A última filogenia da tribo Oryzomyini apresentada nesta tese foi construída a partir da análise bayesiana dos genes citocromo *b* e IRBP concatenados, produzindo um fragmento de DNA de 1.546 pb (Fig. 3; Artigo 1). Novamente a árvore gerada demonstrou a monofilia da tribo Oryzomyini, com um suporte nodal de 100% de probabilidade posterior. Da mesma forma das demais análises deste artigo, com apenas citocromo *b* ou IRBP, *Scolomys*, representado por *S. ucayalensis*, foi o táxon mais basal da filogenia, os demais táxons se distribuíram em dois clados. Os gêneros que compõem o primeiro clado (nodo A) também estão reunidos em um mesmo clado nas árvores apresentadas nas Figuras 1 e 2 (Artigo 1). Este clado é composto por *Handleyomys alfaroi* + *Nephelomys albigularis* ocupando o ramo basal e a monofilia do gênero *Hylaeamys* (*H. megacephalus* + *H. yunganus*) no ramo seguinte. Este clado segue com as monofilias de *Euryoryzomys* (*E. macconnelli* (*E. lamia* + *E. russatus*)) e *Oecomys* (cinco espécies). O clado seguinte (nodo B) é constituído por 17 espécies de

oryzomyinos agrupados em dois subclados. No primeiro subclado observa-se no ramo basal duas espécies do gênero *Oryzomys* (*O. couesi* + *O. palustris*), seguidas por *Nectomys squamipes* e pelo monofilético gênero *Holochilus* (*H. brasiliensis* + *H. chacarius*). No último ramo deste, está o agrupamento de três espécies em seqüência (*Sooretamys angouya* (*Cerradomys scotti* + *C. subflavus*)). O segundo subclado apresenta *Microroryzomys minutus* + *Neacomys spinosus* ocupando um ramo basal ao agrupamento monofilético de sete espécies de *Oligoryzomys*. A relação filogenética encontrada neste subclado também foi observada na árvore produzida somente com o gene citocromo *b* (Fig. 1; Artigo 1) e por D'Elia *et al.* (2006) utilizando o gene IRBP.

As relações filogenéticas e as topologias das árvores apresentadas no Artigo 1 (Fig. 1, 2 e 3) se aproximam da hipótese formulada por Reig (1984). Este autor postulou que a área de origem, diversificação e dispersão dos oryzomyinos fosse o noroeste da América do Sul, depois da chegada da linhagem ancestral dos sigmodontinos a este continente, ancestral este denominado, segundo o autor, de proto-oryzomyino. Todas as filogenias mostradas no Artigo 1 apresentaram o gênero *Scolomys*, e também *Zygodontomys*, com distribuições no norte e noroeste da América do Sul, como os táxons mais basais. A relação basal destes gêneros com os demais gêneros oryzomyinos também foi observada por Weksler (2003, 2006) e D'Elia (2006). Weksler (2006) demonstrou que a posição basal de *Scolomys* e *Zygodontomys* esteve presente tanto na filogenia construída a partir da análise de 99 caracteres morfológicos como na filogenia apenas com o gene IRBP. Este mesmo resultado também foi encontrado pelo mesmo autor na análise filogenética realizada com dados morfológicos e moleculares combinados, reforçando a hipótese de ocupação dos oryzomyinos proposta por Reig (1984).

Com relação à reformulação da classificação ocorrida na tribo Oryzomyini, através da descrição de 10 novos gêneros por Weksler *et al.* (2006), os resultados encontrados neste trabalho deram suporte a estas mudanças. De acordo com a nova classificação proposta por estes autores, os resultados das três análises bayesianas (Fig. 1, 2 e 3; Artigo 1) mostraram, na sua maioria, que os gêneros da tribo Oryzomyini, tanto os antigos como os novos, são monofiléticos. A exceção foi o novo gênero *Hylaeamys* que se mostrou polifilético na análise com o gene citocromo *b* (Fig. 1; Artigo 1), onde cinco espécies se reuniram em um único agrupamento e a espécie *H. yunganus* se posicionou em um outro agrupamento. Bonvicino e Moreira (2001) e Andrade e Bonvicino (2003), em análises com citocromo *b*, também observaram que *Oryzomys*

yunganus não se encontrava em monofilia com as outras espécies do grupo “*megacephalus*” do gênero *Oryzomys* que hoje representam o gênero *Hylaeamys*. Todavia, *Hylaeamys* apresentou-se monofilético nas análises com os genes citocromo *b* e IRBP concatenados e somente com IRBP (Artigo 1). Este mesmo resultado foi obtido por Weksler (2003, 2006) com o gene IRBP. Estas monofilias apresentadas pelos novos gêneros, oriundos do polifilético *Oryzomys*, reforçam a criação destes táxons por Weksler *et al.* (2006).

Com referência à composição de bases das seqüências dos dois genes investigados, encontrou-se uma marcada deficiência de guanina nas seqüências de citocromo *b*, principalmente na terceira posição do códon (Tabela 2; Artigo 1), que igualmente foi observada em outros trabalhos com roedores e outros mamíferos (Bibb *et al.*, 1981; Irwin *et al.*, 1991; Myers *et al.*, 1995; D’Elia, 2003). O desequilíbrio de bases encontrado nas três posições dos códons, também foi observado por Myers *et al.* (1995). Quanto à composição total de bases com o gene IRBP, D’Elia (2003) e Weksler (2003), assim como nós, não encontraram desvio significativo. Porém, quando cada posição dos códons foi analisada separadamente, as deficiências de timina, guanina e adenina na primeira, segunda e terceira posições do códon, respectivamente, encontradas neste trabalho (Tabela 2; Artigo 1), também foram observadas por D’Elia (2003) e Weksler (2003).

A distância genética média (K2p) observada entre os membros da tribo Oryzomyini quando analisados apenas com citocromo *b* (17,68%), ficou dentro da variação (12 a 26%) encontrada por Myers *et al.* (1995) para três diferentes tribos da subfamília Sigmodontinae (Akodontini, Phyllotini e Oryzomyini) e próxima da distância genética média entre as três tribos (19%). A distância genética média entre os membros da tribo quando analisados apenas com o gene IRBP (2,71%), além de demonstrar a maior conservação deste gene nuclear em comparação ao gene mitocondrial, ficou muito próxima da média de 2,8% encontrada por Weksler (2003) entre as espécies da tribo Oryzomyini.

Nesta tese, além de serem analisadas as relações filogenéticas entre as espécies da tribo Oryzomyini, também foram realizadas análises filogenéticas das espécies do gênero *Oligoryzomys*, bem como testada a filogeografia deste gênero (Artigo 2). Neste trabalho foram analisadas as relações filogenéticas entre 10 espécies de *Oligoryzomys* com o gene citocromo *b* e sete espécies com o gene IRBP. Este Artigo apresenta a filogenia de 89 seqüências de citocromo *b* de *Oligoryzomys* e quatro seqüências das

espécies usadas como grupos externos. Das 89 seqüências, 42 são de *Oligoryzomys nigripes*, 21 de *O. flavescens*, 10 de *O. longicaudatus*, seis de *O. moojeni*, três de *O. fornesi*, duas de *O. microtis*, duas de *O. stramineus* e uma de *Oligoryzomys* sp., de *O. magellanicus* e de *O. messorius*. Nesta Figura fica evidente o caráter monofilético das espécies com mais de um indivíduo amostrado. A Figura 3 (Artigo 2) representa uma análise de Máxima-verossimilhança onde foram utilizados apenas um representante de cada espécie incluída na análise da Figura 2, além da subespécie *O. longicaudatus pampanus* e dos quatro grupos externos. Esta filogenia mostra que a espécie que ocupou a posição mais basal foi *O. microtis*, uma espécie amazônica. O ramo seguinte foi ocupado por *O. fornesi*, espécime coletado no Cerrado, seguida de *O. moojeni*, de mesma procedência. O agrupamento seguinte apresenta *Oligoryzomys* sp. + *O. messorius*, ambas espécies amazônicas e *O. stramineus* + *O. nigripes*, sendo a primeira endêmica do Cerrado e a outra de ampla distribuição. O último agrupamento da filogenia reúne três espécies de origem pampiana (*O. flavescens*, *O. fornesi* e *O. longicaudatus pampanus*) e duas espécies andinas (*O. longicaudatus* e *O. magellanicus*). Nesta filogenia observa-se a separação das espécies quanto as suas origens geográficas, formando um grupo denominado “Amazônico-Cerrado” e um clado “Pampa-Andino”. Esta separação é também demonstrada na árvore gerada pelo método “Median-joining” (MJ) e na matriz de distâncias genéticas de Kimura 2-parâmetros (K2p). A distância genética média entre as espécies que compõem o clado “Pampa-Andino” foi de 4.1% e os haplótipos mostraram 63 mudanças de bases entre eles. No grupo “Amazônico-Cerrado”, esta distância média foi maior (11.3%) e ocorreram 175 mudanças de bases entre os haplótipos que compõem este grupo. Estes dados mostram que este grupo possui uma maior variabilidade interespecífica do que no clado “Pampa-Andino”.

Além desta separação geográfica, através do teste de Mantel, que apresentou um coeficiente de correlação positivo e estatisticamente significativo, e da análise de autocorrelação espacial (AIDA) observou-se que estas espécies apresentavam um gradiente geográfico que tinha um sentido norte-sul. Esta autocorrelação leva em consideração as distâncias genéticas e geográficas entre cada um dos indivíduos analisados e demonstrou que quanto mais próximas geograficamente estão as espécies, mais próximas geneticamente elas são. O correlograma obtido representa um gradiente em que a distribuição geográfica das seqüências do gene citocromo *b* analisadas não estão ao acaso (Bertorelle e Barbujani, 1995).

Os resultados obtidos pela análise das seqüências do gene IRBP e com os dois genes concatenados confirmaram o gradiente geográfico norte-sul, já mencionado, e separação geográfica entre os grupos de espécies. Esta significativa correlação genética/geográfica aliada aos padrões geográficos indicando um gradiente de distribuição norte-sul para *Oligoryzomys* fortemente suporta a hipótese de que este gênero originou-se na região dos Andes ao norte da América do Sul, tendo primariamente ocupado a Amazônia e o Cerrado e, posteriormente, invadido a região sul deste continente, seguindo a proposta de origem, diversificação e dispersão dos oryzomyinos feita por Reig (1984). Esta hipótese para o gênero *Oligoryzomys* também está apoiada pela alta variabilidade interespecífica apresentada pelo grupo “Amazônico-Cerrado” em comparação ao baixo nível de divergência genética observado entre os táxons que compõem o clado “Pampa-Andino”.

Análises filogeográficas e de estrutura genética de populações foram realizadas, nesta tese, em seis espécies da tribo Oryzomyini: *Oligoryzomys flavescens*, *O. moojeni*, *O. nigripes*, *Euryoryzomys russatus*, *Hylaeamys megacephalus* e *Sooretamys angouya*.

A diversidade genética intraespecífica e a estrutura de populações das três espécies do gênero *Oligoryzomys* foram feitas utilizando-se o gene citocromo *b* de 69 indivíduos, sendo 42 de *O. nigripes*, 21 de *O. flavescens* e seis de *O. moojeni* (Artigo 3). Nos 42 indivíduos da espécie *O. nigripes*, 30 haplótipos diferentes foram encontrados e uma distância genética média de 0,68% entre eles. Os resultados da análise da variância molecular (AMOVA) e do teste de Mantel indicaram que esta espécie apresenta populações geograficamente estruturadas. Estes resultados apresentados por *O. nigripes* são compatíveis com um padrão de diversidade genética moldado por eventos históricos recentes, isto é devido às baixas distâncias genéticas entre suas populações. O gráfico da distribuição “mismatch” desta espécie apresenta uma curva com um único pico, característico de espécie com populações em expansão (Rogers e Harpending, 1992). Esta conclusão se confirma na “Network” (MJ) de seus haplótipos, a qual mostra um padrão semelhante a uma estrela, isto é, um haplótipo central no qual outros haplótipos estão conectados. Este padrão é típico de populações que recentemente colonizaram novas regiões e/ou estão em processo de expansão (Conroy e Cook, 2000). *Oligoryzomys nigripes* ocupa uma grande extensão geográfica nas terras baixas da América do Sul e, como são consideradas pragas agrícolas, atualmente possuem grandes áreas contínuas para a expansão de suas populações (Emmons e Feer, 1999).

Oligoryzomys flavescens também apresentou um alto nível de diversidade

genética, com 16 haplótipos diferentes em 21 indivíduos analisados e uma distância genética média de 0,65%. A AMOVA e o teste de Mantel demonstraram que esta espécie não possui populações estruturadas. Além de não apresentar populações estruturadas, a distribuição “mismatch” e a “Network” de *O. flavescens* é típica de uma espécie em expansão (um único pico e semelhante a uma estrela, respectivamente), semelhante ao padrão de *O. nigripes* e, como esta, é considerada uma praga agrícola, tendo o seu hábito alimentar provavelmente contribuído para a sua recente expansão no bioma que ocorre, já que esta área é de economia agrícola.

Já *O. moojeni* mostrou uma maior diferenciação genética intraespecífica (3,52%) e uma distribuição “mismatch” típica de uma espécie em equilíbrio demográfico, isto é, um gráfico multi-modal. Porém esta espécie não apresentou populações estruturadas e os seis indivíduos analisados representaram seis haplótipos distintos. Estes resultados, em parte, se mostraram contraditórios, isto se deve, provavelmente, ao baixo número amostral (seis indivíduos) e a proximidade dos locais de coleta ou pela restrita distribuição geográfica desta espécie, endêmica do Cerrado.

A alta diversidade genética apresentada pelas três espécies de *Oligoryzomys*, através de um considerável número de distintos haplótipos para cada espécie, foi similar à diversidade obtida por Palma *et al.* (2005) na espécie *O. longicaudatus*, cuja distribuição abrange a região sul da América do Sul. Os autores analisaram uma amostra contendo 33 indivíduos e encontraram 33 haplótipos distintos. Por outro lado, Patton *et al.* (1996), estudando populações de *O. microtis* da região do rio Juruá no Acre, acharam somente 11 haplótipos em uma amostra de 76 indivíduos.

Tanto em *O. microtis* (Patton *et al.*, 1996) como em *O. longicaudatus* (Palma *et al.*, 2005), foi observada a ausência de diferenciação genética entre as populações destas espécies através de uma baixa divergência entre as seqüências e a ausência de associação entre os haplótipos e suas respectivas distribuições geográficas. A baixa diferenciação genética entre as populações e conseqüentemente a não estruturação populacional em quatro das cinco espécies estudadas (*O. microtis*, *O. flavescens*, *O. moojeni* e *O. longicaudatus*), pode estar representando o padrão evolutivo do gênero. Já os resultados obtidos para *O. nigripes*, podem estar indicando um modelo evolutivo por isolamento pela distância, devido à ampla distribuição geográfica apresentada por esta espécie e a estruturação geográfica de suas populações.

As análises intraespecíficas com as espécies *Euryoryzomys russatus*, *Hylaeamys megacephalus* e *Sooretamys angouya* (Artigo 4) mostraram resultados diferentes dos encontrados nas três espécies do gênero *Oligoryzomys*.

Euryoryzomys russatus, espécie que possui distribuição desde a Bahia até o Rio Grande do Sul, leste do Paraguai e norte da Argentina, apresentou 12 haplótipos diferentes em uma amostra de 13 indivíduos e uma distância genética média entre eles de 1,79%. Este valor encontra-se dentro do esperado para a variação intraespecífica conforme observado por Bradley e Baker (2001) e Baker e Bradley (2006) para roedores (0.00-6.29% e 0.0-4.7%, respectivamente). Como está evidente nas análises do Artigo 4, os exemplares de *E. russatus* se agruparam em três clados distintos e denominados a partir de seus locais de coleta: grupo “Pampa”, grupo “Mata Atlântica Sul” e grupo “Mata Atlântica Norte”. A AMOVA confirmou a existência destes três grupos, sendo que os indivíduos de cada grupo diferem entre si por valores de K2p que vão de 0.31% a 1.15%. Esta análise também mostrou que esta espécie apresenta populações bem diferenciadas, e que as variações médias entre as populações dentro de cada um dos três grupos de *E. russatus* foram significantes. O teste de Mantel mostrou que a estruturação de *E. russatus* é geográfica. Mas, embora o método de autocorrelação espacial (AIDA) tenha indicado que os indivíduos desta espécie alocam-se num gradiente geográfico, não foi possível determinar o sentido (sul↔norte) deste gradiente já que todas as árvores geraram dois grupos-irmãos: o grupo “Mata Atlântica Norte” e o grupo “Pampa” + grupo “Mata Atlântica Sul”.

O grupo “Mata Atlântica Sul” corresponde a um dos três centros de evolução propostos a este bioma por Por *et al.* (2005). Este centro de evolução estaria localizado ao sul da foz do rio Paraíba do Sul indo terminar na Serra Geral (ao sul do Brasil, fazendo limite com o Pampa) e estaria composto por formações serranas de diversas idades geológicas as quais teriam proporcionado uma heterogeneidade ambiental, favorecendo a grande diversidade biológica presente nesta região. Além disso, este grupo está mais próximo filogeograficamente ao clado composto por indivíduos provenientes do bioma Pampa. Este arranjo como grupos-irmãos (grupo “Pampa” + grupo “Mata Atlântica Sul”), pode estar relacionado à ampla área de distribuição destes clados, porém sem barreiras geográficas evidentes que impossibilitasse o fluxo gênico entre as populações. Esta região poderia ter sido também moldada através das flutuações do nível do oceano decorrentes do período das glaciações. O segundo clado observado na Mata Atlântica (grupo “Mata Atlântica Norte”) reúne exemplares de *E.*

russatus coletados nas localidades de Guapimirim e P.E. do Desengano (no estado do Rio de Janeiro), Monte Verde (Espírito Santo) e Valença (Bahia). Três destas localidades (Guapimirim, P.E. do Desengano e Monte Verde) se encontram na região serrana da Mata Atlântica, região esta atualmente postulada como tendo sido um dos refúgios pleistocênicos desta floresta (Vanzolini e Williams, 1981). Esta postulação como refúgios pode explicar a proximidade genética entre estes indivíduos. Além disso, as regiões centrais dos estados do Rio de Janeiro e Espírito Santo são propostas como as áreas onde a maioria das espécies da Mata Atlântica tenham surgido (Moritz *et al.*, 2000).

As análises com o gene nuclear IRBP em *E. russatus* apresentaram uma distância genética média (K2p) entre os indivíduos de 0.23% e somente dois haplótipos distintos. Não foi encontrada estruturação filogeográfica nesta espécie utilizando este gene como marcador. No que se refere à análise dos dois genes (citocromo *b* + IRBP) concatenados, embora com redução do número de táxons amostrados, observou-se que as árvores geradas por todos os algoritmos apresentaram topografias similares às encontradas com citocromo *b*, mantendo os indivíduos dos grupos “Pampa” e “Mata Atlântica Sul” como grupos-irmãos, separados dos indivíduos do grupo “Mata Atlântica Norte”.

Hylaeamys megacephalus, espécie com ampla distribuição desde a Amazônia passando pelo Cerrado e tendo seu limite sul no leste do Paraguai, apresentou 13 haplótipos diferentes em uma amostra de 14 indivíduos e uma distância genética média entre eles de 4,53%. Apesar da alta variação genética encontrada entre os indivíduos desta espécie, ela está dentro do esperado para a variação intraespecífica de roedores, quando comparados a outras espécies (Bradley e Baker, 2001; Baker e Bradley, 2006). Semelhante à *E. russatus*, os espécimes de *H. megacephalus* se distribuíram em três grupos distintos: grupos “Amazônia Norte”, “Amazônia Sul” e “Cerrado”. Esta distribuição em grupos foi confirmada através dos resultados obtidos na AMOVA. Esta análise também indicou que as populações desta espécie estão estruturadas e apresentam uma variação significativa entre as populações dentro dos grupos. Esta estruturação geográfica foi corroborada através do teste de Mantel, o qual apresentou um coeficiente de correlação positivo e significativo. A análise de autocorrelação espacial mostrou que esta espécie está distribuída em um gradiente geográfico num sentido Norte-Sul. Esta estruturação geográfica, aliada à alta variação genética encontrada entre os indivíduos

de *H. megacephalus*, pode ser reflexo da grande área de distribuição e ao mosaico de ecossistemas que esta espécie habita.

Patton *et al.* (2000) e Costa (2003), estudando esta mesma espécie, igualmente encontraram distâncias genéticas médias altas (5,3% e 8,7%, respectivamente). Estes autores em suas análises também observaram uma separação entre indivíduos procedentes do norte e do sul da Amazônia, sendo que Costa (2003) encontra uma distância genética média de 4,3% para o norte e 3,3% para o sul da Amazônia, maiores que as encontradas por nós. Esta separação filogeográfica entre os clados ao norte e ao sul do rio Amazonas acompanha a história geológica deste bioma, onde, desde o início do Paleozóico, a bacia do Amazonas está encravada entre dois escudos Pré-cambrianos, o Escudo das Guianas (ao norte) e o Escudo do Brasil, ao sul (Por *et al.*, 2005). O cenário evolutivo para a ampla diversidade genética de *H. megacephalus* suporta uma visão alopátrica, onde o rio Amazonas pode ser considerado como uma barreira geográfica para o fluxo gênico entre os clados ao norte e ao sul deste. Além disso, a maior proximidade genética entre os grupos “Amazônia Sul” e “Cerrado”, pode ser considerado como produto de uma divergência parapátrica, já que estes dois clados encontram-se em áreas de forte transição ecológica, isto é, não possuindo uma barreira geográfica capaz de evitar o fluxo gênico entre as populações. Este cenário evolutivo filogeográfico alternativo também é sugerido para outros pequenos mamíferos amazônicos (Patton e da Silva, 2001).

As análises somente com o gene nuclear IRBP em *H. megacephalus* apresentaram uma distância genética média (K2p) entre os indivíduos de 0.11% e dois haplótipos distintos. Tal como observado em *E. russatus*, em *H. megacephalus* não foi encontrada estruturação filogeográfica quando se utilizou este gene como marcador molecular. Já nas análises concatenadas dos dois genes (citocromo *b* + IRBP) as árvores geradas (MP, ML, NJ) apresentaram topografias similares às encontradas com citocromo *b* isolado, sendo também observado um gradiente geográfico no sentido Norte-Sul.

Sooretamys angouya, espécie com distribuição simpátrica à de *E. russatus*, apresentou 13 haplótipos diferentes em uma amostra de 15 indivíduos e uma distância genética média entre eles de 0,88%, ficando muito próxima da média encontrada para subespécies de roedores (0.85%) por Bradley e Baker (2001). Suas populações encontram-se estruturadas, porém os indivíduos analisados não formaram clados, sendo que boa parte deles se apresentaram em politomia. Esta configuração também é

observada na “Network” (MJ) dos haplótipos na qual a maioria deles deriva do haplótipo mais freqüente.

O teste de Mantel, no entanto, mostrou que esta espécie apresenta uma estruturação geográfica. Todavia, esta estruturação não parece ocorrer em um gradiente geográfico. A alta variabilidade genética (13 haplótipos/15 indivíduos) observada em *S. angouya* pode estar sub-representada por uma questão de tamanho amostral, o que também explicaria, em parte, as diversas politomias observadas nas análises filogenéticas feitas com os dois genes. Por outro lado, um grupo de haplótipos na análise da “Network” mostra um padrão semelhante a uma estrela (com um haplótipo central no qual muitos outros se conectam) o que, em princípio, caracterizaria populações que colonizaram novas regiões recentemente. Isto seria aplicável à *S. angouya*, já que esta espécie, na análise de “mismatch”, não mostrou estar em expansão (Rogers e Harpending, 1992; Conroy e Cook, 2000).

As análises com o gene nuclear IRBP em *S. angouya* apresentaram uma distância genética média (K2p) entre os indivíduos de 0.23% e seis haplótipos distintos. Também não foi encontrada estruturação filogeográfica nesta espécie utilizando este gene como marcador molecular. As análises filogenéticas com os dois genes concatenados mostraram os indivíduos analisados em politomia, confirmando a falta de padrão filogeográfico já encontrado com o gene citocromo *b*.

As distribuições “mismatch” das três espécies estudadas apresentaram gráficos multimodais, o que caracteriza estarem todas em equilíbrio demográfico, indicando que suas populações podem ter mantido seus tamanhos relativamente constantes (Rogers e Harpending, 1992; Conroy e Cook, 2000).

Euryoryzomys russatus e *H. megacephalus* mostraram padrões filogeográficos muito semelhantes, obtendo a maior parte da variação molecular entre as regiões geográficas (59.86% e 61.48%, respectivamente), isto é, entre os três clados encontrados nas populações das duas espécies. Em *E. russatus* a variação dentro das populações (24.61%) foi maior que entre as populações de uma mesma região (15.53%), diferentemente do que ocorreu com *H. megacephalus*, onde 25.85% da variação foi entre as populações dentro de uma mesma região e apenas 12.67% da variação ficou dentro das populações. Já em *H. perenensis*, espécie estudada por Patton *et al.* (1996), a maior variação molecular para as populações desta espécie estava entre os indivíduos dentro das populações (89.20%) e uma pequena fração desta variação pôde ser atribuída a diferenças entre localidades dentro de uma mesma região (6.60%)

ou entre as regiões (4.20%). Além disso, *H. perenensis* se mostrou estruturada em populações, tal como observamos em *H. megacephalus*, *E. russatus* e *S. angouya*, porém não apresentou estruturação geográfica. Em *S. angouya*, espécie que não apresentou estruturação filogeográfica, a porcentagem da variação molecular foi maior dentro das populações (55.26%) que entre elas (44.74%).

Já no gênero *Oligoryzomys*, todas as três espécies estudadas por nós apresentaram a maior parte da variação genética dentro das populações, sendo de 84,68% para *O. flavescens*, 97,16% para *O. moojeni* e 81,82% para *O. nigripes*. Este mesmo padrão foi observado na espécie *O. microtis* por Patton *et al.* (1996). Estes autores encontraram 78,10% da variação dentro das populações. Estes resultados indicam que, necessariamente, as estratégias de manejo para fins de conservação da diversidade genética dos táxons de Oryzomyini deverão ser distintas, já que cada um deles apresenta parâmetros populacionais particulares.

Perini *et al.* (2004) estudaram a variabilidade genética entre populações das espécies *Oligoryzomys flavescens*, *Oligoryzomys nigripes*, *Oryzomys angouya* (atual *Sooretamys angouya*) e *Oryzomys russatus* (atual *Euryoryzomys russatus*) através de polimorfismo enzimático. Os autores mostraram que as espécies com maior variabilidade genética entre suas populações foram as que na época representavam o gênero *Oryzomys*, em comparação à baixa variabilidade encontrada nas populações das espécies de *Oligoryzomys*. Os resultados obtidos pelos autores foram muito semelhantes aos encontrados por nós com as mesmas espécies, onde as distâncias genéticas médias intraespecíficas de *Oligoryzomys* foram muito menores quando comparadas às de *Euryoryzomys russatus* ou *Sooretamys angouya*. Perini *et al.* (2004) também observaram a formação de três “clusters” no dendograma de relações fenéticas: o primeiro formado pelas duas espécies de *Oligoryzomys*, o segundo pelas populações de *Oryzomys russatus* e o terceiro pelas populações de *Oryzomys angouya*.

As relações filogenéticas entre as seis espécies que investigamos sob o ponto de vista filogeográfico e populacional demonstram que as espécies que se situam mais próximas filogeneticamente são *Euryoryzomys russatus* e *Hylaeamys megacephalus* e as três espécies do gênero *Oligoryzomys* com *Sooretamys angouya*, sendo que entre as espécies de *Oligoryzomys* as que estão mais próximas entre si são *O. moojeni* e *O. nigripes*. Quanto às distribuições geográficas destas espécies, quatro delas possuem áreas de simpatria dentro de seus limites geográficos são elas: *E. russatus*, *O. flavescens*, *O. nigripes* e *S. angouya*. Já *H. megacephalus* é a espécie que possui a mais

ampla distribuição dentre as seis (Amazônia e Cerrado), porém ocorrendo em simpatria com *O. moojeni* em uma área do Cerrado, espécie endêmica deste bioma. Neste mesmo bioma foi encontrada a espécie *O. nigripes*, porém não há registro de captura destas três espécies em um mesmo local. Estas relações filogenéticas são corroboradas com as distâncias genéticas médias (K2p) que encontramos entre estas espécies, que foram de 2,66% entre *O. moojeni* e *O. nigripes*, de 3,76% entre *O. flavescens* e *O. moojeni*, de 4,39% entre *O. flavescens* e *O. nigripes*, de 9,32% entre *E. russatus* e *H. megacephalus*, de 9,40% entre *E. russatus* e *S. angouya* e de 10,02% entre *H. megacephalus* e *S. angouya*. Com relação às distâncias genéticas médias do gênero *Oligoryzomys* com as demais espécies obteve-se os seguintes valores: 8,34% entre *Oligoryzomys* e *S. angouya*, 8,41% entre *Oligoryzomys* e *E. russatus* e 9,08% entre *Oligoryzomys* e *H. megacephalus*.

A ausência de associação geográfica entre os haplótipos, observada em algumas das espécies aqui estudadas, pode ser devido a três fatores distintos (Templeton *et al.*, 1995): (a) as populações em estudo terem fluxo gênico suficiente para virtualmente torna-las panmíticas e não terem experimentado eventos de expansão ou fragmentação, (b) as amostras são inadequadas (tanto pode ser quanto ao tamanho amostral por locais como na inadequada amostragem geográfica) ou (c) variação genética insuficiente nas populações amostradas. Diante disso, a mais provável explicação para esta ausência de associação geográfica entre os haplótipos das espécies *O. flavescens* e *O. nigripes* seja a panmixia das populações, isto porque encontrou-se uma alta variabilidade genética expressa no alto número de haplótipos distintos e uma baixa diferenciação genética entre estes haplótipos. Além disso, a amostragem dos espécimes foi feita em grande parte da área de ocorrência destas espécies no Brasil. A segunda alternativa para a ausência de associação geográfica entre haplótipos parece ser a que mais se aplica aos casos de *O. moojeni* e *S. angouya*. Porém o uso da amostra, apesar de pequena, de *O. moojeni* se justifica pelo fato destes indivíduos serem provenientes de resgate de fauna de uma área que hoje abriga o lago de uma hidrelétrica em Goiás e, portanto, as populações das quais estes espécimes faziam parte, estão extintas. Convém lembrar que Riddle (1996) e Avise (2004) também atribuem a ausência de estruturação filogeográfica das populações como indicativa de uma história de vida dirigida para dispersão, tendo, provavelmente, a espécie uma área de distribuição livre de barreiras ao fluxo gênico, explicação esta igualmente plausível para a falta de associação geográfica entre os haplótipos destas espécies.

As políticas de conservação a serem adotadas para cada uma das espécies analisadas são distintas. A conservação de *Euryoryzomys russatus*, por estar estruturada geograficamente e seus haplótipos estarem agrupados em clados distintos, passa prioritariamente pela conservação do que resta da sua área de distribuição, pois o desmatamento de algum ponto desta área pode acarretar a perda de boa parte da diversidade genética desta espécie. Dois dos clados encontrados nas análises filogenéticas desta espécie, “Pampa” e “Mata Atlântica Sul”, podem ser considerados como “management units” (MUs) (Moritz, 1994; Frankham *et al.*, 2003; Avise, 2004) por apresentarem índices de variação genética (0.33% e 0.78%, respectivamente) próximos a níveis de subespécies (0.85%) conforme Bradley e Baker (2001). Já o grupo “Mata Atlântica Norte”, por mostrar uma distância genética média de 1.15%, maior que o esperado para uma subespécie, pode ser considerado de “evolutionarily significant units” (ESUs) (Moritz, 1994; Frankham *et al.*, 2003; Avise, 2004), o que implicaria na necessidade de sua conservação como um táxon separado.

Com relação à *Hylaeamys megacephalus*, esta apresentou seus espécimes distribuídos em três clados distintos, “Amazônia Norte”, “Amazônia Sul” e “Cerrado”. Devido à alta variação genética encontrada entre os indivíduos, aliada a uma estruturação geográfica bem definida, a manutenção desta diversidade genética está fortemente associada à preservação das áreas de ocorrência dos clados, as quais podemos enquadrá-las como “evolutionarily significant units” (ESUs) (Moritz, 1994; Frankham *et al.*, 2003; Avise, 2004). Além disso, esta situação fica agravada pelo fato de que *H. megacephalus* ter se apresentado em um gradiente geográfico no sentido Norte-Sul e que, a não preservação de áreas no limite de distribuição dos três clados, poderá acarretar na perda de grande parte da diversidade genética desta espécie, uma vez que não há o compartilhamento de haplótipos entre os clados. Este gradiente geográfico, refletido pelos níveis decrescentes de variação genética média dos clados “Amazônia Norte” → “Amazônia Sul” → “Cerrado” (3.44%, 2.13% e 1.63%, respectivamente), pode estar indicando que a região de maior diversidade genética (grupo “Amazônia Norte”) seja o centro de origem de dispersão da espécie.

Devido à baixa divergência genética média entre os haplótipos de *Oligoryzomys flavescens*, *O. nigripes* e *Sooretamys angouya*, a não subdivisão destes em clados e por não estarem dispostos em um gradiente geográfico, a conservação de áreas, mesmo que esparsas, dentro do limite de distribuição destas espécies, propicia a manutenção da diversidade genética apresentadas por elas.

Como já relatado anteriormente, nesta tese foram analisadas as relações filogenéticas entre as espécies da tribo Oryzomyini visando validar as reformulações ocorridas na classificação da tribo, corroborando com a criação de 10 novos gêneros, bem como as relações intragenérica de *Oligoryzomys*, priorizando a filogeografia deste gênero e procurando traçar a rota de ocupação deste no continente sul-americano. Também examinou-se as relações intraespecíficas de *Euryoryzomys russatus*, *Hylaeamys megacephalus*, *Oligoryzomys flavescens*, *O. moojeni*, *O. nigripes* e *Sooretamys angouya*. Estas espécies se caracterizam por distribuírem-se por quase todas as formações vegetais brasileira, ocorrendo desde a Amazônia até os campos pampianos do sul do Brasil, algumas delas sendo consideradas pragas agrícolas, principalmente de grãos armazenados. Porém para um maior conhecimento da tribo Oryzomyini e para uma maior compreensão de como ocorreram as ocupações e adaptações aos diferentes ambientes nos quais são encontrados, seria importante analisar as relações filogeográficas e intraespecíficas de táxons com diferentes hábitos de vida e que ocupem diferentes nichos ecológicos das espécies aqui analisadas. A partir deste ponto de vista, gêneros com hábitos semi-aquáticos como *Amphinectomys* e *Nectomys* ou mesmo arborícolas como *Oecomys* seriam os principais candidatos, além de uma maior atenção aos gêneros *Scolomys* e *Zygodontomys*, já que estes foram os táxons mais basais na maioria das filogenias aqui analisadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguillera M and Pérez-Zapata A (1989) Cariology of *Holochilus venezuelae* (Rodentia, Cricetidae). *Acta Cient Venez* 40:198-207.
- Allen JA (1897) Additional notes on Costa Rican Mammals, with descriptions of new species. *Bull Am Mus Nat Hist* 9:31-44.
- Allen JA (1913) Revision of the *Melanomys* group of American Muridae. *Bull Am Mus Nat Hist* 32:535-555.
- Andrade AFB de and Bonvicino CR (2003) A new karyological variant of *Oecomys* (Rodentia: Sigmodontinae) and its phylogenetic relationship based on molecular data. *Genome* 46:195-203.
- Andrades-Miranda J, Oliveira LFB, Zanchin NIT and Mattevi MS (2001a) Chromosomal description of the rodent genera *Oecomys* and *Nectomys* from Brazil. *Acta Theriol* 46:269-278.
- Andrades-Miranda J, Zanchin NIT, Oliveira LFB, Langguth A and Mattevi MS (2001b) Cytogenetic studies in nine taxa of the genus *Oryzomys* (Rodentia, Sigmodontinae) from Brazil. *Mammalia* 65:461-472.
- Andrades-Miranda J, Oliveira LFB, Lima-Rosa CAV, Nunes AP, Zanchin NIT and Mattevi MS (2001c) Chromosome studies of seven species of *Oligoryzomys* (Rodentia: Sigmodontinae) from Brazil. *J Mammal* 82:1080-1091.
- Andrades-Miranda J, Zanchin NIT, Oliveira LFB, Langguth A and Mattevi MS (2002) $(T_2AG_3)_n$ telomeric sequence hybridization indicating centric fusion rearrangements in the karyotype of the rodent *Oryzomys subflavus*. *Genetica* 114:11-16.
- Anthony HE (1924) Preliminary report on Ecuadorean Mammals. No. 6. *Am Mus Novitates* 139:1-9.
- Avise JC (2000) *Phylogeography*. Harvard University Press, Cambridge, 447 pp.
- Avise JC (2004) *Molecular markers, natural history and evolution*. 2nd ed. Sinauer Associates, Sunderland, 684 pp.
- Baird SF (1859) *Mammals of North America*. J.B. Lippincott and Co, Philadelphia.
- Baker RJ and Bradley RD (2006) Speciation in Mammals and the genetic species concept. *J Mammal* 87:643-662.

- Baker RJ, Koop BF and Haiduk MW (1983) Resolving systematic relationships with G bands: a study of five genera of South American cricetine rodents. *Syst Zool* 32:403-416.
- Bangs O (1900) List of the Mammals collected in the Santa Maria region of Colombia by W.W. Brown, Jr. *Proc New Engl Zoo Club* 1: 87-102.
- Barros MA, Reig OA and Pérez-Zapata A (1992) Cytogenetics and karyosystematics of South American oryzomyines rodents (Cricetidae: Sigmodontinae). IV. Karyotypes of Venezuelan, Trinidadian, and Argentinian water rats of the genus *Nectomys*. *Cytogenet Cell Genet* 59:34-38.
- Beaufort F de (1963) Les cricétines de Galapagos. Valeur du genre *Nesoryzomys*. *Mammalia* 27:338-340.
- Bertorelle G and Barbujani G (1995) Analysis of DNA diversity by spatial autocorrelation. *Genetics* 140:811-819.
- Bianchi NO, Reig AO, Molina OJ and Dulout FN (1971) Cytogenetics of South American akodont rodents (Cricetidae). I. A progress report of Argentinian and Venezuelan forms. *Evolution* 25:724-736.
- Bibb MJ, Van Etten RA, Wright CT, Walberg MW and Clayton DA (1981) Sequence and gene organization of mouse mitochondrial DNA. *Cell* 26:167-180.
- Bonvicino CR (2003) A new species of *Oryzomys* (Rodentia, Sigmodontinae) of the *subflavus* group from the Cerrado of central Brazil. *Mammal Biol* 68:78-90.
- Bonvicino CR and Moreira MAM (2001) Molecular phylogeny of the genus *Oryzomys* (Rodentia: Sigmodontinae) based on cytochrome *b* DNA sequences. *Mol Phylogenet Evol* 18:282-292.
- Bonvicino CR, Otazu IB and Weksler M (1998) *Oryzomys lamia* Thomas, 1901 (Rodentia, Cricetidae): karyotype, geographic distribution and conservation status. *Mammalia* 62:253-258.
- Bonvicino CR and Weksler M (1998) A new species of *Oligoryzomys* (Rodentia, Sigmodontinae) from northeastern and central Brazil. *Z Saugetierkd* 63:90-103.
- Bonvicino CR, Maroja LS, Oliveira JA and Coura JR (2003) Karyology and morphology of *Zygodontomys* (Rodentia, Sigmodontinae) from the Brazilian Amazon, with a molecular appraisal of phylogenetic relationships of this genus. *Mammalia* 67:119-131.
- Bradley RD and Baker RJ (2001) A test of the genetic species concept: cytochrome-*b* sequences and Mammals. *J Mammal* 82:960-973.

- Brandt JF (1835) Mem. Acad. Imp. Sci. Petersbourg, ser. 6, 3 (2):428.
- Brants A (1827) Het Geslacht der muizen door Linnaeus opgesteld, volgens de tegenswoordige toestandder wetenschap in familiën, geslachten en soorten verdeeld. Academische Boekdrukkerij, Berlijn. 190 pp.
- Braun JK (1993) Systematics relationships of the Tribe Phyllotini (Muridae: Sigmodontinae) of South America. Okla Mus Nat Hist Special Publication 2:50 pp.
- Cabrera A (1961) Catálogo de los mamíferos de America del Sur. Revista del Museo Argentino de Ciencias Naturales “Bernardino Rivadavia” (Zoología) 4:1-732.
- Carleton MD and Musser GG (1984) Muroid rodents. In Anderson S and Jones JK Jr (eds) Orders and families of Recent Mammals of the world. John Wiley and Sons, New York, pp 289-379.
- Carleton MD and Musser GG (1989) Systematic studies of oryzomyine rodents (Muridae, Sigmodontinae): a synopsis of *Microroryzomys*. Bull Am Mus Nat Hist 191:1-83.
- Carleton MD and Olson SL (1999) Amerigo Vespucci and the rat of Fernando de Noronha: a new genus and species of Rodentia (Muridae: Sigmodontinae) from a volcanic island off Brazil’s continental Shelf. Am Mus Novitates 3256:1-59.
- Cerqueira R (1982) South American landscapes and their Mammals. In Mares MA and Genoways HH (eds) Mammal Biol in South America. Special Publication Pymatuning Laboratory of Ecology (no. 6), pp 53-75.
- Chiappero MB, Calderón GE and Gardenal CN (1997) *Oligoryzomys flavescens* (Rodentia, Muridae): gene flow among populations from central-eastern Argentina. Genetica 101:105-113.
- Conroy CJ and Cook JA (2000) Phylogeography of a post-glacial colonizer: *Microtus longicaudus* (Rodentia: Muridae). Mol Ecol 9:165-175.
- Costa LP (2003) The historical bridge between the Amazon and the Atlantic Forest of Brazil: a study of molecular phylogeography with small Mammals. J Biogeogr 30:71-86.
- da Silva MNF and Patton JL (1993) Amazonian phylogeography: mtDNA sequence variation in arboreal echimyid rodents (Caviomorpha). Mol Phylogenet Evol 2:243-255.
- da Silva MNF and Patton JL (1998) Molecular phylogeography and the evolution and conservation of Amazonian Mammals. Mol Ecol 7: 475-486.

- D'Elia G (2003) Phylogenetics of Sigmodontinae (Rodentia, Muroidea, Cricetidae), with Special Reference to the akodont group, and with Additional Comments on Historical Biogeography. *Cladistics* 19:307-323.
- D'Elia G, Luna L, González EM and Patterson BD (2006) On the Sigmodontinae radiation (Rodentia, Cricetidae): an appraisal of the phylogenetic position of *Rhagomys*. *Mol Phylogenet Evol* 38:558-564.
- Dickerman AW and Yates TE (1995) Systematics of *Oligoryzomys*: protein-electrophoretic analyses. *J Mammal* 76:172-188.
- Dowler RC, Carroll DS and Edwards CW (2000) Rediscovery of rodents (Genus *Nesoryzomys*) considered extinct in the Galapagos Islands. *Oryx* 34:109-117.
- Eisenberg JF and Redford KH (1999) Mammals of the Neotropics, vol. 3. The Central Neotropics: Ecuador, Peru, Bolivia, Brazil. University of Chicago Press, Chicago.
- Ellerman JR (1941) The families and genera of living rodents. Vol. II. Family Muridae. British Museum (Natural History), London.
- Emmons LH and Feer F (1999) Neotropical rainforest Mammals: a field guide. 2nd ed. University of Chicago Press, Chicago, IL.
- Emmons LH and Patton JL (2005) A new species of *Oryzomys* (Rodentia: Muridae) from eastern Bolivia. *Am Mus Novitates* 3478:1-26.
- Engel SR, Hogan KM, Taylor JF and Davis SK (1998) Molecular systematics and paleobiogeography of the South American sigmodontine rodents. *Mol Biol Evol* 15:35-49.
- Frankham R, Ballou JD and Briscoe DA (2003) Introduction to conservation genetics. University Press, Cambridge.
- Fischer [Von Waldheim] G (1813-1814) Zoognosia tabulis synopticis illustrata. Nicolai Sergeidis Vsevolozsky, Moscow, 3 vols. [3-1814].
- Francés J and D'Elia G (2006) *Oligoryzomys delticola* es sinónimo de *O. nigripes* (Rodentia, Cricetidae, Sigmodontinae). *Mastozoologia Neotropical* 13:123-131.
- Freitas TRO, Mattevi MS, Oliveira LFB, Souza MJ, Yonenaga-Yassuda Y and Salzano FM (1983) Chromosome relationships in three representatives of the genus *Holochilus* (Rodentia, Cricetidae) from Brazil. *Genetica* 61:13-20.
- Furtado VV (1981) Diversidade cromossômica em roedores das famílias Cricetidae e Cavidae de Pernambuco, Brasil. Tese de Doutorado. Curso de Pós-Graduação em Genética – Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil, 185pp.

- Gardner AL and Patton JL (1976) Karyotypic variation in chromosomal evolution in the Neotropical cricetine complex. *Occ Pap Mus Zoo, Louisiana State University* 49:1-48.
- Goldman EA (1918) The rice rats of North America (Genus *Oryzomys*). *N Am Fauna* 43:1-100.
- Gómez-Laverde M, Bueno ML and López-Arévalo H (1999) Descripción cariologica y morfológica de *Nectomys magdalenae* (Rodentia: Muridae: Sigmodontinae). *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales* 23:631-640.
- Gyldenstolpe N (1932) A manual of Neotropical sigmodont rodents. *Kungliga Svenska Vetenskapsakademiens Handlingar, Tredje Serien* 11:1-164.
- Haiduk MW, Bickhan J and Schmidly DJ (1979) Karyotypes of six species of *Oryzomys* from Mexico and Central America. *J Mammal* 60:610-615.
- Harlan R (1837) Description of a new species of quadruped, of the order Rodentia inhabiting the United States. *Am J Sci Art* 31:385-386.
- Heller E (1904) Mammals of the Galapagos Archipelago, exclusive of the Cetacea. Papers of the Hopkins Stanford Galapagos Expedition, 1898-1899. *Proc California Acad Sci ser 3*, 3:233-250.
- Hershkovitz P (1944) Systematic review of the Neotropical water rats of the genus *Nectomys* (Cricetinae). *Misc Publ Mus Zool Univ Michigan* 58:1-101.
- Hershkovitz P (1955) South American marsh rats, genus *Holochilus*, with a summary of sigmodont rodents. *Fieldiana: Zoology* 37:639-687.
- Hershkovitz P (1960) Mammals of northern Colombia, preliminary report no. 8: arboreal rice rats, a systematic revision of the subgenus *Oecomys*, genus *Oryzomys*. *Proc USA Natl Mus* 110:513-568.
- Hershkovitz P (1962) Evolution of Neotropical cricetine rodents (Muridae), with special reference to the Phyllotini group. *Fieldiana: Zoology* 46:1-524.
- 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 Saugetierkd* 31:81-149.
- Hershkovitz P (1972) The recent Mammals of the Neotropical region: a zoogeographic and ecological review. In Keast A, Erk FC and Glass B (eds) *Evolution, Mammals and southern continents*. State University of New York Press, Albany, pp 311-431.

- Herskovitz P (1993) A new central Brazilian genus and species of sigmodontine rodent (Sigmodontinae) transitional between akodonts and oryzomyines, with a discussion of muroid molar morphology and evolution. *Fieldiana: Zoology* 75:1-18.
- Hooper ET and Musser GG (1964) The glans penis in Neotropical cricetines (family Muridae), with comments on classification of muroid rodents. *Misc Publ Mus Zool Univ Michigan* 123:1-57.
- Irwin DM, Kocher TD and Wilson AC (1991) Evolution of the cytochrome *b* gene of Mammals. *J Mol Evol* 32: 128-144.
- Jansa SA and Weksler M (2004) Phylogeny of muroid rodents: relationships within and among major lineages as determined by IRBP gene sequences. *Mol Phylogenet Evol* 31:256-276.
- Langguth A and Bonvicino CR (2002) The *Oryzomys subflavus* species group, with description of two new species (Rodentia, Muridae, Sigmodontinae). *Arq Mus Nac* 60:285-294.
- Langguth A, Maia V and Mattevi MS (2005) New karyotypes of large Brazilian species of the genus *Oecomys* (Rodentia, Muridae, Sigmodontinae). *Arq Mus Nac* 63:183-190.
- Langguth A and Silva Neto EJ (1993) Morfologia do pênis em *Pseudoryzomys warrimi* e *Wiedomys pyrrhorhinos*. *Revista Nordestina de Biologia* 8:55-59.
- Lara MC and Patton JL (2000) Evolutionary diversification of spiny rats (genus *Trinomys*, Rodentia: Echimyidae) in the Atlantic Forest of Brazil. *Zool J Linn Soc* 130:661-686.
- Lima-Rosa CAV, Hutz MH, Oliveira LFB, Andrades-Miranda J and Mattevi MS (2000) Heterologous amplification of microsatellite loci from mouse and rat in oryzomyine and thomomyine South American rodents. *Biochem Genet* 38:97-108.
- Maia V (1990) Karyotype of *Oryzomys capito oniscus* (Rodentia), from northeastern Brazil. *Gen Mol Biol* 13:377-382.
- Malygin VM, Aniskin VM, Isaev SI and Milishnikov AN (1994) *Amphinectomys savamis* Malygin gen. et sp. n., a new genus and a new species of water rat (Cricetidae, Rodentia) from Peruvian Amazonia. *Zool Zh* 75:1234-1247.
- Mares MA, Braun JK and Gettinger D (1989) Observations on the distribution and ecology of the Mammals of the Cerrado grasslands of Central Brazil. *Ann Carnegie Mus* 58:1-60.

- Mares MA and Ernest K (1995) Population and community ecology of small Mammals in a gallery Forest of Central Brazil. *J Mammal* 76:750-768.
- Massoia E (1980) El estado sistemático de cuatro especies de cricétidos sudamericanos y comentarios sobre otras especies congénicas (Mammalia – Rodentia). *Ameghiniana* 17:280-287.
- Massoia E (1981) El estado sistemático y zoogeografía de *Mus brasiliensis* Desmarest y *Holochilus scireus* Wagner (Mammalia-Rodentia-Cricetidae). *Physis* 39:31-34.
- Matocq MD, Patton JL and da Silva MNF (2000) Population genetic structure of two ecologically distinct amazonian spiny rats: separating history and current ecology. *Evolution* 54:1423-1432.
- Mattevi MS and Andrades-Miranda J (2006) Estudos genéticos nos roedores da tribo Oryzomyini. In Freitas TRO, Vieira E, Pacheco S and Christoff A (eds) Mamíferos do Brasil: genética, sistemática, ecologia e conservação. Suprema, São Carlos, pp 107-138.
- Mattevi MS, Haag T, Nunes AP, Oliveira LFB, Cordeiro JLP and Andrades-Miranda J (2002) Karyotypes of Brazilian representatives of genus *Zygodontomys* (Rodentia, Sigmodontinae). *Mastozoologia Neotropical* 9:33-38.
- McKenna MC and Bell SK (1997) Classification of Mammals above the species level. Columbia University Press, New York.
- Moritz C (1994) Defining ‘Evolutionarily Significant Units’ for conservation. *Trends Ecol Evol* 9:373-375.
- Moritz C, Patton JL, Schneider CJ and Smith TB (2000) Diversification of rainforest faunas: an integrated molecular approach. *Annu Rev Ecol Syst* 31:533-563.
- Musser GG, Carleton MD, Brothers EM and Gardner AL (1998) Systematic studies of oryzomyine rodents (Muridae, Sigmodontinae): diagnoses and distributions of species formerly assigned to *Oryzomys* “capito”. *Bull Am Mus Nat Hist* 236:1-376.
- Musser GG and Carleton MD (1993) Family Muridae. In Wilson DE and Reeder DM (eds) Mammal species of the world: a taxonomic and geographic reference. 2nd ed. Smithsonian Institution Press, Washington, DC, pp 501-753.
- Musser GG and Carleton MD (2005) Super Family Muroidea. In Wilson DE and Reeder DM (eds) Mammal species of the world: a taxonomic and geographic reference. Johns Hopkins University Press, Baltimore, pp 894-1531.
- Myers P, Lundrigan B and Tucker PK (1995) Molecular phylogenetics of oryzomyine rodents: the genus *Oligoryzomys*. *Mol Phylogenet Evol* 4:372-382.

- Nachman MW (1992) Geographic patterns of chromosomal variation in south American marsh rats, *Holochilus brasiliensis* and *H. vulpinus*. *Cytogenet Cell Genet* **61**: 10-16.
- Nachman MW and Myers P (1989) Exceptional chromosomal mutation in a rodent population are not strongly underdominant. *Proc Natl Acad Sci* **86**:6666-6670.
- Olds N and Anderson S (1989) A diagnosis of the tribe Phyllotini (Rodentia, Muridae). In Redford KH and Eisenberg JF (eds) *Advances in Neotropical Mammalogy*. The Sandhill Crane Press, Florida, pp 55-74.
- Palma RE, Rivera-Milla E, Salazar-Bravo J, Torres-Pérez F, Pardiñas UFJ, Marquet PA, Spotorno AE, Meynard AP and Yates TL (2005) Phylogeography of *Oligoryzomys longicaudatus* (Rodentia: Sigmodontinae) in temperate South America. *J Mammal* **86**:191-200.
- Patton JL and da Silva MNF (1995) A review of the spiny mouse genus *Scolomys* (Rodentia: Muridae: Sigmodontinae) with the description of a new species from the western Amazon from Brazil. *Proc Biol Soc Washington* **108**:319-337.
- Patton JL and da Silva MNF (2001) Molecular phylogenetics and the diversification of amazonian Mammals. In Vieira ICG, da Silva JMC, Oren DC and D’Incao MA (eds) *Biological and cultural diversity of Amazonia*. Museu Paraense Emílio Goeldi, Belém, pp 139-164.
- Patton JL, da Silva MNF and Malcom JR (1996) Hierarchical genetic structure and gene flow in three sympatric species of Amazonian rodents. *Mol Ecol* **5**:229-238.
- Patton JL, da Silva MNF and Malcom JR (2000) Mammals of the Rio Juruá and the evolutionary and ecological diversification of Amazonia. *Bull Am Mus Nat Hist* **244**:1-306.
- Patton JL and Hafner MS (1983) Biosystematics of the native rodents of the Galapagos Archipelago, Ecuador. In Bowman RI, Benson M and Leviton AE (eds) *Patterns of evolution in Galapagos organisms*. American Association for the Advancement of Science, Pacific Division, San Francisco, CA, pp 539-568.
- Pearson OP and Patton JL 1976. Relationships among South American phyllotine rodents based on chromosome analysis. *J Mammal* **57**:339-350.
- Pérez-Zapata A, Reig OA, Aguilera M and Ferrer A (1986) Cytogenetics and karyosystematics of South American oryzomyine rodents (Cricetidae: Sigmodontinae). I. A species of *Oryzomys* with a low chromosome number from Northern Venezuela. *Z Saugetierkd* **51**:368-378.

- Perini MV, Weimer TA, Callegari-Jacques SM and Mattevi MS (2004) Biochemical polymorphisms and genetic relationships in rodents of the genera *Oryzomys* and *Oligoryzomys* (Sigmodontinae) from Brazil. *Biochem Genet* 42:317-329.
- Peters W (1861) Monatsberichte der Königlich Preussischen Akademie der Wissenschaften zu Berlin 1860:151 [1861].
- Por FD, Imperatriz-Fonseca VL and Neto FL (2005) Biomes of Brazil: an illustrated natural history. Pensoft Publishers, Sofia, 207 pp.
- Powers AM, Mercer DR, Watts DM, Guzman H, Fulhorst CF, Popov VL and Tesh RB (1999) Isolation and genetic characterization of a hantavirus (Bunyaviridae: Hantavirus) from a rodent, *Oligoryzomys microtis* (Muridae), collected in northeastern Peru. *Am J Trop Med Hyg* 61:92-98.
- Reig OA (1977) A proposed unified nomenclature for the enamelled components of the molar teeth of the Cricetidae (Rodentia). *J Zool* 181:227-241.
- Reig OA (1980) A new fossil genus of South American cricetid rodents allied to *Wiedomys*, with an assessment of the Sigmodontinae. *J Zool* 192:257-281.
- Reig OA (1981) Teoría del origen y desarrollo de la fauna de mamíferos de América del Sur. Publicadas por el Museo Municipal de Ciencias Naturales "Lorenzo Scaglia", Monografía Naturae 1:182 pp.
- Reig OA (1984) Geographic distribution and evolutionary history of South American muroids (Cricetidae: Sigmodontinae). *Gen Mol Biol* 7:333-365.
- Reig OA (1986) Diversity patterns and differentiation of high Andean rodents. In Vuilleumier F and Monasterio M (eds) *High Altitude Tropical Biogeography*. Oxford University Press, New York, NY, pp 404-439.
- Riddle BR (1996) The molecular phylogeographic bridge between deep and shallow history in continental biotas. *Trends Ecol Evol* 11:207-211.
- Rogers AR and Harpending H (1992) Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic distance. *Mol Biol Evol* 9:552-569.
- Savage JM (1974) The isthmian link and the evolution of Neotropical Mammals. *Contr. Sc. Natural History of the Museum of Los Angeles County* 260:1-51.
- Silva MJ de J and Yonenaga-Yassuda Y (1997) New karyotypes of two related species of *Oligoryzomys* genus (Cricetidae, Rodentia) involving centric fusion with loss of NORs and distribution of telomeric (TTAGGG)_n sequences. *Hereditas* 121:217-229.

- Smith MF, Kelt DA and Patton JL (2001) Testing models of diversification in mice in the *Abrothrix olivaceus/xanthorhinus* complex in Chile and Argentina. *Mol Ecol* 10:397-405.
- Smith MF and Patton JL (1993) The diversification of South American murid rodents: evidence from mitochondrial DNA sequence data for the akodontine tribe. *Biol J Linn Soc* 50:149-177.
- Smith MF and Patton JL (1999) Phylogenetics Relationships and the Radiation of Sigmodontine Rodents in South America: Evidence from Cytochrome *b*. *J Mammal Evol* 6:89-128.
- Simpson BB (1975) Pleistocene changes in the flora of the high tropical Andes. *Paleobiology* 1:273-294.
- Stepan SJ (1995) Revision of the tribe Phyllotini (Rodentia: Sigmodontinae), with a phylogenetic hypothesis for the Sigmodontinae. *Fieldiana: Zoology* 80:1-112.
- Stepan SJ (1998) Phylogenetic relationships and species limits within *Phyllotis* (Rodentia: Sigmodontinae): concordance between mtDNA sequence and morphology. *J Mammal* 79:573-593.
- Stepan SJ and Sullivan J (2000) The emerging statistical perspective in systematics: a comment on Mares and Braun. *J Mammal* 81:260-270.
- Svartman M and Almeida EJC (1992) The karyotype of *Oryzomys capito laticeps* (Cricetidae, Rodentia) from Central Brazil. *Gen Mol Biol* 15:963-972.
- Templeton AR, Routman E and Phillips CA (1995) Separating population structure from population history: a cladistic analysis of the geographical distribution of mitochondrial DNA haplotypes in the tiger salamander, *Ambystoma tigrinum*. *Genetics* 140:767-782.
- Thomas O (1894) Descriptions of some new Neotropical Muridae. *Ann Mag Nat Hist ser. 6*, 14:346-366.
- Thomas O (1900) *Ann Mag Nat Hist ser. 7*, 5:153.
- Thomas O (1902) New forms of *Saimiri*, *Oryzomys*, *Phyllotis*, *Coendou* and *Cyclopes*. *Ann Mag Nat Hist ser. 7*, 10:246-250.
- Thomas O (1906) Notes on South American rodents. II. On the allocation of certain species hitherton referred respectively to *Oryzomys*, *Thomasomys*, and *Rhipidomys*. *Ann Mag Nat Hist ser. 7*, 18:442-448.
- Thomas O (1910) Mammals from the River Supinaam, Demerera, presented by Mr. F. V. McConnell to the British Museum. *Ann Mag Nat Hist ser. 8*, 6:184-189.

- Thomas O (1913) New Mammals from South America. *Ann Mag Nat Hist ser.* 8, 12:567-574.
- Thomas O (1917) Preliminary diagnoses of new Mammals obtained by the Yale – Geographic Society Peruvian Expedition. *Smithson Misc Coll* 68:1.
- Trouessart EL (1881) *Le Naturaliste* 1:357.
- Van der Hammen T (1961) Late Cretaceous and Tertiary stratigraphy and tectogenesis of the Colombian Andes. *Geol Mijnbouw* 40:181-188.
- Van Vuuren BJ, Kinet S, Choquet J and Catzeflis F (2004) Geographic pattern of genetic variation in four Neotropical rodents: conservation implications for small game Mammals in French Guiana. *Biol J Linn Soc* 81:203-218.
- Vanzolini PE and Williams EE (1981) The vanishing refuge: a mechanism for ecogeographic speciation. *Pap Avulsos Zool* 34:251-55.
- Vidal OR, Riva R and Baro NI (1976) Los cromosomas del genero *Holochilus*. I. Polimorfismo de *H. Chacarius* Thomas (1906). *Physis* 35:75-85.
- Volobouev VT and Aniskin VM (2000) Comparative chromosome banding analysis of three South American species of rice rats of the genus *Oryzomys* (Rodentia, Sigmodontinae). *Chromosome Res* 8:295-304.
- Vorontsov NN (1959) The system of hamster (Cricetinae) in the sphere of the world fauna and their phylogenetic relations. *Biuletin Moskovskogo Obshtschevstva Ispitatelny Prirody, Otdel Biologia* 64: 134-137.
- Voss RS (1991) An introduction to the Neotropical muroid rodent genus *Zygodontomys*. *Bull Am Mus Nat Hist* 210:1-113.
- Voss RS (1992) A revision of the South American species of *Sigmodon* (Mammalia: Muridae) with notes on their natural history and biogeography. *Am Mus Novitates* 3050:1-56.
- Voss RS (1993) A revision of the Brazilian muroid rodent genus *Delomys* with remarks on ‘thomasomyine’ characters. *Am Mus Novitates* 3073:1-44.
- Voss RS and Carleton MD (1993) A new genus for *Hesperomys molitor* Wing and *Holochilus magnus* Hershkovitz (Mammalia, Muridae) with an analysis of its phylogenetic relationships. *Am Mus Novitates* 3085:1-39.
- Voss RS, Gómez-Laverde M and Pacheco V (2002) A new genus for *Aepeomys fuscatus* Allen, 1912, and *Oryzomys intectus* Thomas, 1921: enigmatic murid rodent from Andean cloud forests. *Am Mus Novitates* 3373:1-42.

- Voss RS and Linzey AV (1981) Comparative gross morphology of male accessory glands among Neotropical Muridae (Mammalia: Rodentia) with comments on systematic implications. *Misc Publ Mus Zool Univ Michigan* 159:1-41.
- Voss RS, Lunde DP and Simmons NB (2001) The Mammals of Paracou, French Guiana: a Neotropical lowland rainforest fauna. Part 2. Nonvolant species. *Bull Am Mus Nat Hist* 263:1-236.
- Voss RS and Myers P (1991) *Pseudoryzomys simplex* (Rodentia: Muridae) and the significance of Lund's collections from the caves of Lagoa Santa, Brazil. *Bull Am Mus Nat Hist* 206:414-432.
- Weksler M (2003) Phylogeny of Neotropical Oryzomyine Rodents (Muridae: Sigmodontinae) Based on the Nuclear IRBP exon. *Mol Phylogenet Evol* 29:331-349.
- Weksler M (2006) Phylogenetic relationships of Oryzomyine rodents (Muroidea: Sigmodontinae): separate and combined analyses of morphological and molecular data. *Bull Am Mus Nat Hist* 296:1-149.
- Weksler M and Bonvicino CR (2005) Taxonomy of pigmy rice rats (genus *Oligoryzomys*, Rodentia: Sigmodontinae) of the Brazilian Cerrado, with the description of two new species. *Arq Mus Nac* 63:113-130.
- Weksler M, Percequillo AR and Voss RS (2006) Ten new genera of oryzomyine rodents (Cricetidae; Sigmodontinae). *Am Mus Novitates* 3537:1-29.
- Winge H (1887) Jordfundne og nulevende Gnavere (Rodentia) fra Lagoa Santa, Minas Gerais, Brasilien: med udsigt over gnavernes indbyrdes slægtskab. *E Museo Lundii* 1:1-178 + 8 pls.
- Zheng X, Arbogast BS and Kenagy GJ (2003) Historical demography and genetic structure of sister species: deermice (*Peromyscus*) in the North American temperate rain forest. *Mol Ecol* 12:711-724.

Resumo dos métodos

1. Extração do DNA (segundo Medrano *et al.*, 1990):

1º dia de extração

- ↪ utilizar 20 mg de tecido;
- ↪ colocar o tecido em um microtúbulo (1.500 µL);
- ↪ lavar 3 vezes (80 µL cada vez) com tampão STE;
- ↪ adicionar 550 µL de tampão de lise;
- ↪ adicionar 27,5 µL de SDS 20% e 2,5 µL de β-Mercapto 2% e 20 µL de proteinase K;
- ↪ levar ao banho-maria a 37°C overnight.

2º dia de extração

- ↪ retirar do banho-maria e adicionar 600 µL de NaCl 4M;
- ↪ passar no vórtex por 15 segundos;
- ↪ centrifugar por 30 minutos (13.000 rpm);
- ↪ transferir o sobrenadante (400 µL em cada) para outros 3 outros microtúbulos;
- ↪ adicionar 800 µL de etanol absoluto gelado, em cada um dos microtúbulos;
- ↪ overnight a 4°C.

3º dia de extração

- ↪ centrifugar por 30 minutos (13.000 rpm);
- ↪ descartar o sobrenadante e secar a borda do tubo com papel toalha;
- ↪ adicionar 700 µL de álcool 70%;
- ↪ centrifugar por 5 minutos (13.000 rpm);
- ↪ repetir os três últimos passos por mais duas vezes;
- ↪ descartar o sobrenadante, secar a borda do tubo com papel toalha e deixá-los emborcados de 5 a 10 minutos;
- ↪ colocar os microtúbulos na estufa a 37°C, por no máximo 30 minutos;
- ↪ adicionar 30 µL de TE ou água milique;
- ↪ levar ao banho-maria a 37°C, para entrar em suspensão, por cerca de 1 hora;
- ↪ levar à geladeira (4°C) por 2 dias. Após, quantificar em gel de agarose 0,8%.

2. Amplificação do gene mitocondrial citocromo *b* (segundo Smith e Patton, 1993):

↳ o primeiro fragmento de 801 pb do gene foi amplificado a partir da combinação do “primer light-strand” MVZ05 (5’CGAAGCTTGATATGAAAAACCATCGTTG3’) e do “primer heavy-strand” MVZ16 (5’AAATAGGAARTATCAYTCTGGTTTRAT3’);

↳ o segundo fragmento de, aproximadamente, 500 pb do gene foi amplificado a partir da combinação do “primer light-strand” MVZ23 (5’TACTCTTCCTCCACGAAACJGGNTC3’) e do “primer heavy-strand” Mus15398 (5’GAATACCAGCTTTGGGTGRTG3’);

↳ o programa de amplificação seguiu o seguinte protocolo:

↳ desnaturação inicial de 15 min à 95°C;

↳ um estágio de 23 ciclos com uma desnaturação de 20s à 95°C, anelamento de 15s à 52°C e extensão de 60s à 72°C;

↳ extensão final de 7 min à 72°C.

3. Amplificação do gene nuclear IRBP (segundo Weksler, 2003):

↳ o fragmento de 745 pb do gene foram amplificados a partir da combinação do “primer light-strand” A1 (5’ATGCGGAAGGTCCTCTTGGATAAC3’) e do “primer heavy-strand” F (5’CTCCACTGCCCTCCCATGTCT3’);

↳ o programa de amplificação seguiu o seguinte protocolo de “touchdown”:

↳ desnaturação inicial de 15 min à 95°C;

↳ estágios de 5 ciclos cada com uma desnaturação de 20s à 95°C, anelamentos de 15s à 58°C, 56°C ou 54°C e extensão de 60s à 72°C;

↳ um estágio de 23 ciclos com uma desnaturação de 20s à 95°C, anelamento de 15s à 52°C e extensão de 60s à 72°C;

↳ extensão final de 7 min à 72°C.

4. Purificação do produto da amplificação:

↳ transferir 6 µL de DNA amplificado para um microtúbulo de 500 µL;

↳ misturar 0,33 µL de exonuclease I, 0,33 µL de fosfatase alcalina (SAP) e 0,34 µL de água milique;

↳ adicionar este 1 µL da mistura anterior aos 6 µL de DNA amplificado;

↳ levar o microtúbulo para o termociclador;

↳ o programa de purificação seguiu o seguinte protocolo:

↳ 1 ciclo de 30 min à 37°C;

5. Seqüenciamento

↳ O seqüenciamento das amostras foi realizado utilizando um seqüenciador automático *ABI-PRISM 3100 Genetic Analyzer* armado com capilares de 50 cm e polímero POP6 (Applied Biosystems). Os DNAs-molde (30 a 45 ng) foram marcados utilizando-se 3,2 pmol dos “primers” utilizados nas ampliações e 2 µL do reagente *BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing RR-100* (Applied Biosystems) em um volume final de 10 µL. As reações de marcação foram realizadas em termociclador com uma etapa de desnaturação inicial a 96°C por 3 min seguida de 25 ciclos de 96°C por 10s, 55°C por 5s e 60°C por 4 min. Após marcadas, as amostras foram purificadas pela precipitação com isopropanol e lavagem com etanol 70%. Os produtos precipitados foram diluídos em 10 µL de formamida, desnaturados a 95°C por 5 min, resfriados em gelo por 5 min e eletroinjetados no seqüenciador automático. Os dados de seqüenciamento foram coletados utilizando-se o programa *Data Collection v1.0.1* (Applied Biosystems) com os parâmetros *Dye Set “Z”*; *Mobility File “DT3100POP6{BDv3}v1.mob”*; *BioLIMS Project “3100_Project1”*; *Run Module 1 “StdSeq50_POP6_50cm_cfv_100”*; e *Analysis Module 1 “BC-3100SR_Seq_FASTA.saz”*.