

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS HUMANAS E NATURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

JERONYMO DALAPICOLLA

**Papel da hidrografia e do clima na estrutura
genética do roedor semiaquático *Nectomys
squamipes***

VITÓRIA

2014

JERONYMO DALAPICOLLA

Papel da hidrografia e do clima na estrutura genética do roedor semiaquático *Nectomys squamipes*

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Biologia Animal) da Universidade Federal do Espírito Santo como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Biologia Animal.

Orientador: Prof. Dr. Yuri Luiz Reis Leite.

VITÓRIA

2014

JERONYMO DALAPICOLLA

Papel da hidrografia e do clima na estrutura genética do roedor semiaquático *Nectomys squamipes*

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Biologia Animal) da Universidade Federal do Espírito Santo como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Biologia Animal.

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. Yuri Luiz Reis Leite
Universidade Federal do Espírito Santo
Orientador

Prof^a. Dr^a. Valéria Fagundes
Universidade Federal do Espírito Santo

Prof. Dr^a. Cibele Rodrigues Bonvicino
Instituto Nacional de Câncer

Eu devo ater-me ao meu próprio estilo e seguir meu próprio caminho. E apesar de eu poder nunca mais ter sucesso deste modo, estou convencida de que falharia totalmente de qualquer outro.

Jane Austen

Agradecimentos

Primeiramente aos meus familiares e amigos pelo suporte financeiro e psicológico durante esses dois anos de caminhada, nos quais nunca me deixaram desamparado.

A Yuri Leite, meu orientador, por me orientar por mais dois anos, pela ajuda e compreensão nos momentos em que eu não pude ficar tão presente no laboratório quanto ele e eu gostaríamos e pela confiança em apoiar um projeto de pesquisa de um aluno que não entendia nada de genética e de modelagem antes do mestrado.

A C. Bonvicino, L. P. Costa, M. A. Sábato, M. Passamani, R. Moura e V. Fagundes pela doação de alíquotas de tecidos para as análises genéticas que foram imprescindíveis para os resultados alcançados.

Aos curadores e técnicos em curadoria do Museu de Biologia Professor Mello Leitão (MBML), do Museu de Ciências Naturais da PUC-Minas (MCMN) e da Coleção de Tecidos Animais da UFES (CTA-UFES), especialmente para C. Costa e L. P. Costa, pelas doações de alíquotas de tecidos e de dados de distribuição para a modelagem.

A todos os integrantes do Laboratório de Mastozoologia e Biogeografia (LaMaB) da UFES pelos bons momentos e campos inesquecíveis, e pelas dicas nas reuniões para melhorar as imagens, as apresentações e a dissertação de forma geral.

Um agradecimento especial para A. C. Loss, J. Agrizzi, J. Justino, L. Zanchetta e R. Duda por ensinarem os procedimentos laboratoriais. Um agradecimento mais que especial a A. C. Loss, J. Justino e L. Zanchetta que me socorreram durante as análises dos dados e quando as coisas davam

erradas! E quando eu estava sem tempo vocês até fizeram *check-gel* das minhas amostras de PCR e doaram espaço na placa de sequenciamento. Muito Obrigado!

A F. C. Barreto pela ajuda na modelagem e a J. P. Hoppe, amigo desde o ensino médio, por sempre responder às minhas dúvidas sobre a modelagem, pode ter certeza que essa modelagem não estaria aí sem as suas dicas.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de mestrado que permitiu o desenvolvimento desse trabalho. À Fundação de Amparo à Pesquisa do Espírito Santo (FAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela liberação conjunta de recursos (apoio nº 385/2011 do Programa de Apoio a Núcleos de Excelência – PRONEX) que sustentaram os custos dessa pesquisa.

Aos professores componentes da banca, pela disponibilidade de tempo para avaliar esse trabalho, o que será de grande valia para melhorar a qualidade dessa dissertação.

E a todos as pessoas que estiveram envolvidas de alguma forma com esse trabalho e com a minha formação acadêmica, desde professores, funcionários da UFES e colegas de graduação/mestrado.

Resumo

Nectomys squamipes (Rodentia: Sigmodontinae) é um roedor semiaquático que ocorre em florestas Neotropicais do leste da América do Sul. Baixos níveis de fluxo gênico e forte estruturação genética eram esperados entre as populações desta espécie, devido à sua estreita associação com os ambientes aquáticos e sua pequena área de uso (*home range*). Estudos publicados, no entanto, mostraram o oposto: uma grande homogeneidade genética em populações desta espécie. O objetivo desse trabalho foi investigar por que *N. squamipes* tem essa homogeneidade considerando os papéis do fluxo gênico, da hidrografia e das oscilações climáticas do Pleistoceno na estruturação genética de suas populações. A partir de 167 amostras de tecidos de *N. squamipes* foram sequenciados dois marcadores mitocondriais: Citocromo b (Cit b) e D-loop. Com base em 108 localidades de ocorrência e em modelagem ecológica de nicho, foram inferidos mapas de adequabilidade ambiental utilizando camadas ambientais do presente e do passado. Dados genéticos mostraram uma estruturação genética fraca e coerente com a hidrografia. Foram detectadas poucas diferenças nas áreas de adequabilidade ambiental no último máximo glacial, há 21 mil anos, quando comparadas às áreas do presente, mas grandes alterações no último período interglacial, há cerca de 130 mil anos. A combinação de resultados genéticos e ecológicos permitiu a reconstrução de rotas de fluxo gênico com base em conexões entre as regiões hidrográficas da Mata Atlântica. A estrutura genética atual em *Nectomys squamipes* resulta da combinação de fluxo gênico dentro e entre bacias, e das contrações e expansões populacionais recorrentes durante as oscilações climáticas do Quaternário.

Palavras-chaves: Sigmodontinae, Mata Atlântica, genética de paisagem, filogeografia, distribuição potencial.

Abstract

Nectomys squamipes (Rodentia: Sigmodontinae) is a semiaquatic rodent that occurs in Neotropical forests of eastern South America. Low levels of gene flow and strong genetic structure were expected among populations of this species due to its close association with aquatic environments and its small home range. Published studies, however, showed the opposite—a strong genetic homogeneity in populations of this species. The aim of the present study was to investigate why *N. squamipes* shows this genetic homogeneity, considering the roles of gene flow, hydrography and Pleistocene climatic oscillations. Using 167 tissue samples of *N. squamipes* from eastern Brazil, I sequenced two mitochondrial markers: cytochrome b (Cyt b) and D-loop. Based on 108 localities and ecological niche modeling, I inferred environmental suitability maps using climatic envelopes of the present and the past. Molecular results showed a shallow genetic structure that is consistent with hydrography. I found few differences in environmental suitability when comparing the Last Glacial Maximum (21,000 years ago) to the present, but major changes when compared to the Last Interglacial period (130,000 years ago). The combination of genetic and ecological results allowed the reconstruction of gene flow routes based on watershed connections among Atlantic Forest rivers. The current genetic structure in *Nectomys squamipes* results from the combination of gene flow within and among basins, and recurrent population contractions and expansions during the Quaternary climatic oscillations.

Keywords: Sigmodontinae, Atlantic Forest, landscape genetics, phylogeography, potential distribution.

SUMÁRIO

Introdução	10
Objetivos	15
Objetivo Geral.....	15
Objetivos Específicos	15
Materiais e Métodos	16
Dados genéticos	16
Dados de adequabilidade ambiental.....	19
Dados de genética de paisagem	21
Resultados	23
Sequências de DNA	23
Adequabilidade ambiental.....	26
Genética de paisagem.....	27
Discussão.....	29
Filogeografia e dinâmica populacional.....	29
Hipótese para a expansão populacional em períodos glaciais	37
Conectividade populacional entre regiões hidrográficas.....	40
Distribuição geográfica e hipótese biogeográfica para a origem de <i>N. squamipes</i>	47
Conclusões.....	51
Literatura Citada.....	53
TABELAS	70
FIGURAS	75
ANEXOS	92

Introdução

Pequenos mamíferos não-voadores geralmente apresentam uma alta estruturação genética por causa de sua dispersão limitada (Koenig *et al.* 1996; Patton *et al.* 1996). A capacidade de dispersão determina o padrão filogeográfico, mas outros fatores comportamentais como filopatria podem influenciar na capacidade de dispersão (Ditchfield 2000). Dessa forma, é essencial entender a história natural de uma espécie para interpretar corretamente seu padrão filogeográfico (Martins e Domingues 2011).

O campo da filogeografia é relativamente novo e busca os padrões geográficos da diversidade genética dentro de cada espécie com base na geologia e no clima do passado e do presente a fim de compreender melhor a distribuição dos organismos no espaço e no tempo (Avice *et al.* 1987). O objetivo nas avaliações filogeográficas é a utilização de árvores de genes para inferir as forças históricas e contemporâneas que produziram a atual arquitetura genealógica de populações e espécies estreitamente relacionadas (Avice 2009).

Uma ferramenta frequentemente usada em trabalhos recentes de filogeografia é a modelagem de nicho ecológico. Apesar de ser amplamente usada em trabalhos de ecologia, evolução e biogeografia (Giannini *et al.* 2012), há várias críticas ao seu uso (Araújo e Guisan 2006). Duas dessas críticas são referentes ao conceito de nicho ecológico usado e a transferibilidade do modelo baseada na ideia do conservadorismo do nicho ecológico. De acordo com o conceito de nicho ecológico utilizado, a interpretação dos resultados da modelagem pode ser diferente. Por exemplo, muitos trabalhos levam em consideração a definição de nicho de Hutchinson (1957), onde foi criado o

conceito de nicho ecológico fundamental, ou seja, aquele que a espécie pode ocupar, e o de nicho ecológico efetivo, que é aquele que a espécie realmente ocupa, devido às barreiras para dispersão ou interações ecológicas desfavoráveis (Araújo e Guisan 2006). Alguns autores citam que os modelos de nicho proporcionam uma aproximação ao nicho fundamental da espécie (Soberón e Peterson 2005) enquanto outros defendem que a modelagem seja a representação espacial do nicho efetivo (Guisan e Zimmermann 2000; Pearson e Dawson 2003). Baseados no conceito de nicho de Elton (1927), alguns autores defendem que, na ausência de dados sobre interações biológicas e com apenas dados climáticos, a representação da modelagem não seria de um nicho ecológico (Soberón 2007). Neste caso, as áreas indicadas na modelagem seriam de distribuição potencial ou preditiva (Jiménez-Valverde *et al.* 2008; Giannini *et al.* 2012), ou ainda de hábitat e locais satisfatórios para a ocorrência de espécie (Phillips 2008), baseado no conceito de nicho de Grinnell (1917).

Conservadorismo de nicho ecológico ou climático é definido como a tendência de uma espécie reter ou permanecer com seu nicho ecológico sem modificações por uma escala de tempo evolutivo (Wiens e Graham 2005). Isto significaria dizer que populações atuais têm o mesmo nicho ecológico que suas populações ancestrais. Essa ideia é uma condição básica para a paleomodelagem e para a modelagem de espécies invasoras ou exóticas, onde a transferibilidade temporal e espacial do modelo só poderia acontecer se o nicho ecológico da espécie (requisitos para a sobrevivência) fosse conservado no tempo (projeção no passado) e no espaço (projeção na área invadida). Diferentes características ecológicas possuem diferentes graus de

conservadorismo dentro do mesmo grupo de espécies (Freckleton *et al.* 2002). De maneira geral, o conservadorismo de nicho é coerente com os padrões de distribuição de aves (Hawkins *et al.* 2006), de anfíbios e mamíferos (Olalla-Tárraga *et al.* 2011) e não compromete a explicação de processos de especiação alopátrica (Kozak e Wiens 2006; Soberón e Nakamura 2009). Peterson (2011) concluiu que o nicho ecológico consegue manter-se conservado por escalas de tempo consideráveis. Dessa forma, escalas curtas de tempo, como apresentada pela paleomodelagem (entre 6 mil e 140 mil anos), não seriam empecilhos para invocar o conservadorismo de nicho. Mesmo que o nicho tenha mudado nesse intervalo de tempo, ele teria mudado muito pouco se comparado com períodos mais antigos, causando poucos problemas para a esse tipo de análise (Svenning 2011).

A modelagem para espécies aquáticas e semiaquáticas é mais complicada do que para as espécies terrestres, pois há outras variáveis importantes como a disponibilidade de água, qualidade da vegetação ripária, que ficam de fora do modelo quando se utilizam só variáveis climáticas (Ottaviani *et al.* 2009). Dessa forma, surgiram várias sugestões e exemplos de modelagem para espécies de vertebrados semiaquáticos (Barbosa *et al.* 2003; 2009; Ottaviani *et al.* 2009). Contudo dados recentes indicam que apenas a modelagem com as variáveis climáticas clássicas de temperatura e precipitação podem ser suficiente para recuperar a história passada de pequenos mamíferos semiaquáticos (Igea *et al.* 2013).

Dentro da tribo de roedores neotropicais Oryzomyini da subfamília Sigmodintinae, o roedor *Nectomys squamipes* (Brants 1827) é o maior e mais adaptado para vida semiaquática (Ernest e Mares 1986). Ele é conhecido como

rato d'água e é encontrado em áreas alagadas, próximas a cursos d'água e terras úmidas, não estando presente nas áreas mais secas das florestas (Hershkovitz 1944; Ernest e Mares 1986). *Nectomys squamipes* vive ao longo dos cursos dos rios e tem uma distribuição geográfica ampla, que abrange desde o estado de Pernambuco até o norte do Rio Grande do Sul, na costa e no interior do Brasil, alcançando também áreas de Mata Atlântica da Argentina e do Paraguai (Musser e Carleton 2005; Bonvicino *et al.* 2008). Eles estão presentes em áreas da Mata Atlântica e do Cerrado (Paglia *et al.* 2012), contemplando as bacias dos rios do leste do Brasil e as bacias dos rios São Francisco, Paraíba do Sul e Paraná (Bonvicino *et al.* 2008).

Dados ecológicos têm demonstrado que *N. squamipes* possui pequena área de uso (*home range*), entre 0,3 e 1,6 hectare (Ernest e Mares 1986; Almeida *et al.* 2005), sendo a maior distância registrada entre o local de captura e o curso de um rio cerca de 450 m (Ernest e Mares 1986). Seus deslocamentos ocorrem pelas margens dos rios, sendo raramente superiores a 20 m de distância das margens (Almeida *et al.* 2000; Lima 2009). O rato d'água possui uma dieta generalista e pode estar presente em áreas urbanas (Gentile *et al.* 2000). O estudo do padrão de dispersão e de deslocamentos de *N. squamipes* é importante, pois essa espécie é um dos principais reservatórios naturais do platelminto *Schistosoma mansoni*, causador da esquistossomose (Maldonado *et al.* 1994; D'Andrea *et al.* 2002). Alguns autores recomendam uso desse rato como indicador de possíveis áreas de ocorrência para *S. mansoni* (D'Andrea *et al.* 2000).

Considerando a fidelidade de hábitat, pequena área de uso e baixa capacidade de deslocamento de *N. squamipes*, era esperado que houvesse

uma grande estruturação genética entre as suas populações, baseada nos padrões hidrográficos (Igea *et al.* 2013). Contudo, dos três trabalhos publicados com variação nucleotídica de *N. squamipes*, apenas um mostrou uma estruturação genética relevante (Maroja *et al.* 2003). Os outros dois trabalhos, com amostras maiores e mais localidades, mostraram grande homogeneidade genética entre as populações (Almeida *et al.* 2000; Almeida *et al.* 2005). Utilizando dois tipos de marcadores genéticos, RAPD (Almeida *et al.* 2000) e microssatélites (Maroja *et al.* 2003; Almeida *et al.* 2005), os autores encontraram uma diversidade alélica grande que era compartilhada por quase todas as populações. Essa homogeneidade em populações de bacias hidrográficas diferentes poderia indicar, segundo os autores, que apesar de ser semiaquático, *N. squamipes* não tem a diversidade genética determinada pela hidrografia. Almeida *et al.* (2000; 2005) levantaram três hipóteses para explicar esse padrão: processos recorrentes de extinções locais e recolonização, expansão populacional recente ou a presença de fluxo gênico maior em *N. squamipes* do que seria esperado pelos trabalhos ecológicos.

Objetivos

Objetivo Geral

Analisar se a hidrografia determina a distribuição geográfica da diversidade genética em *Nectomys squamipes*.

Objetivos Específicos

- i. Mapear a diversidade genética e datar as divergências entre os demes identificados;
- ii. Inferir as áreas de adequabilidade ambiental de *N. squamipes* no presente e no passado;
- iii. Inferir o fluxo gênico entre os demes identificados e as bacias hidrográficas, além de identificar potenciais rotas de fluxo gênico entre elas;
- iv. Reconstruir a história biogeográfica de *Nectomys squamipes* na Mata Atlântica.

Materiais e Métodos

Dados genéticos: Foram utilizadas 167 amostras de tecidos de *Nectomys squamipes* conservados em etanol provenientes de 50 localidades distribuídas por toda área de ocorrência da espécie (Fig. 1; Anexo 1). Esses tecidos foram fornecidos por pesquisadores e por coleções e três sequências foram adquiridas na plataforma *online* GenBank (Benson *et al.* 2004).

As amostras de tecido foram submetidas ao protocolo de extração de DNA total com sal (SDS/NaCl/Proteinase K) descrito por Bruford *et al.* (1992) e os produtos foram quantificados no espectrofotômetro NanoDrop (Thermo Fisher Scientific Inc.). As amostras foram diluídas para 50 ng/μL, quando necessário, para não comprometer as etapas seguintes.

Dois marcadores genéticos foram usados: o gene mitocondrial citocromo b (Cit b) e parte da região controle do DNA mitocondrial (D-loop). Foram amplificados 801 pares de base do Cit b e 425 pares de base do D-loop através da clonagem *in vitro* pela reação em cadeia da polimerase (PCR) em termociclador. Utilizou-se os iniciadores MVZ05 e MVZ16, desenvolvidos por Smith e Patton (1993) para o Cit b e os iniciadores L0 (Douzery e Randi 1997) e E3 (Huchon *et al.* 1999) para o D-loop. Os perfis das amplificações para os dois marcadores estão sumarizados no Anexo 2.

Os produtos amplificados foram purificados com a enzima ExoSAP (GE Healthcare Life Sciences) e em seguida foram sequenciados utilizando o kit Big Dye 3.1 (Applied Biosystems, Life Technologies Corporation). As sequências foram obtidas no sequenciador automático ABI 3500 (Applied Biosystems, Life Technologies Corporation).

O alinhamento das sequências foi feito no ClustalW de Larkin *et al.* (2007), implementado no software Geneious 6.1 (Biomatters). As sequências de DNA alinhadas foram utilizadas para a obtenção de cladogramas através dos algoritmos da máxima parcimônia (MP) no programa MEGA 5.2 (Tamura *et al.* 2011), da inferência bayesiana (IB) no programa Mr. Bayes 3.2.2 (Ronquist *et al.* 2012) e da máxima verossimilhança (MV) no programa Garli 2.0 (Zwickl 2006) e na plataforma *online* PhyML 3.0 de Guindon e Gascuel (2003). Foi selecionado o melhor modelo de substituição de nucleotídeos para as análises no programa jModelTest 2.1.4 (Darriba *et al.* 2012) e a saturação das sequências do Cit b foi verificada no programa DAMBE 5 (Xia 2013). Foram avaliadas três árvores para cada algoritmo, uma para o Cit b e outra para o D-loop utilizando os haplótipos das sequências e uma com os dados concatenados (Cit b + D-loop), usando os indivíduos como táxons terminais. O suporte dos clados nas árvores de MP e MV foi avaliado a partir do análise de *bootstrap* com 100 replicações e foram considerados valores de *bootstrap* acima de 70% na MP e na MV. Na IB, valores de probabilidade posterior acima de 95% foram considerados significativos. As árvores de IB percorreram números de gerações diferentes, para o Cit b a análise percorreu 1×10^6 , para o D-loop $1,5 \times 10^6$, e para os dados concatenados $1,5 \times 10^7$ gerações. Como grupos externos foram utilizados *Nectomys rattus*, *Nectomys apicalis*, *Hylaemys laticeps*, *Euryoryzomys russatus* e *Oligoryzomys nigripes* e as distâncias genéticas dentro e entre os clados foram calculadas no MEGA 5.2 (Tamura *et al.* 2011) utilizando o modelo de Kimura-2-parâmetros (K2P).

Visando avaliar a estrutura genética das populações, bem como o compartilhamento de haplótipos, foram construídas redes de haplótipos no

software Network 4.6 (Bandelt *et al.* 1999) usando a ferramenta *Median-joining*. O teste de Mantel foi realizado no programa Past 2.14 (Hammer *et al.* 2001) para verificar a existência de correlação entre as distâncias genéticas e as distâncias geográficas. A matriz de distância geográfica par-a-par usada no teste de Mantel foi criada no programa Geographic Distance Matrix Generator 1.2.3 (Ersts 2013).

As populações foram definidas a partir das regiões hidrográficas onde as amostras foram coletadas. A definição e os limites das diversas regiões seguiram a classificação da Agência Nacional de Águas (ANA) através das ferramentas HidroWeb (<http://hidroweb.ana.gov.br/>) e GeoNetwork (<http://metadados.ana.gov.br/geonetwork/srv/pt/main.home>) (Fig. 2). As divergências genéticas dentro e entre as regiões hidrográficas foram calculadas no programa MEGA 5.2 (Tamura *et al.* 2011) utilizando o modelo de Kimura-2-parâmetros (K2P) para verificar as similaridades genéticas entre elas.

Testes de neutralidade (D de Tajima; R_2 ; F_s de Fu), de diversidade genética (AMOVA), de fluxo gênico (F_{st}) e de tamanho populacional (distribuição *mismatch*) foram feitos no programa DnaSP 5.10 (Librado e Rozas 2009) e no Arlequin 3.5 (Excoffier e Lischer 2010) para avaliar a dinâmica populacional da espécie.

O programa Beast 2.0.2 (Drummond *et al.* 2007) foi usado para datar as divergências entre os clados de *N. squamipes*. Os haplótipos de Cit b foram utilizados e percorreram 500 milhões de gerações usando o relógio relaxado log-normal. Quatro pontos de calibração foram definidos seguindo Palma *et al.* (2010) e Machado *et al.* (2014): a divergência entre os gêneros *Pseudoryzomys* e *Holochilus* em 2,58 milhões de anos atrás (m.a.a.) e intervalo de 0,43 a 5,38;

Amphinectomys e *Nectomys* em 2,15 m.a.a. e intervalo de 0,34 a 4,55; *Cerradomys* e *Sooretamys* em 2,35 m.a.a. e intervalo de 0,42 a 5,02; e a divergência entre as espécies *Oligoryzomys nigripes*, *O. flavencens* e *O. chacoensis* em 3,71 m.a.a. com desvio-padrão de $\pm 0,035$. Um gráfico da dinâmica populacional de *N. squamipes* foi construído também no Beast 2.0.2 por meio da ferramenta *Bayesian Skyline Plot* (BSP), percorrendo 10 milhões de gerações e usando também o relógio relaxado log-normal e a taxa de mutação encontrada na datação dos clados.

Dados de adequabilidade ambiental: Baseado nas ideias de nicho ecológico de Grinnell (1917) e no trabalho de Phillips (2008), foram usadas técnicas de modelagem para criar um mapa de adequabilidade ambiental para *Nectomys squamipes*. Para a obtenção desse mapa, foi criado um banco de dados com 439 localidades georreferenciadas com base em dados de museus, artigos científicos, teses e dissertações. Os dados de museus foram obtidos a partir das plataformas *online* speciesLink (<http://splink.cria.org.br/>), *Global Biodiversity Information Facility* (GBIF – <http://www.gbif.org>) e *Mammal Networked Information System* (MaNIS – <http://manisnet.org/>) ou pedidos por e-mail para alguns curadores. Os pontos de ocorrência foram triados e dados com datas de coletas anteriores ao ano da última revisão taxonômica do gênero (Bonvicino 1994) foram descartados. Além disso, foram utilizados apenas dados com localidades específicas, isto é, localidades georreferenciadas com base na sede do município também foram descartadas. A localização dos pontos de ocorrência foi verificada por meio do Google Mapas (<http://maps.google.com.br>), do software Google Earth 7.0

(<http://earth.google.com>) e de ferramentas do speciesLink (geoLoc e infoXY). No total, foram utilizados 108 pontos de ocorrência espalhados pela Mata Atlântica para a construção dos mapas de adequabilidade (Fig. 3; Anexo 3).

As camadas de dados ambientais contemplaram as regiões hidrográficas da Mata Atlântica onde há registro de *N. squamipes* (Paraná, Atlântico Sul, Atlântico Sudeste, Atlântico Leste e São Francisco) e representaram a topografia, o clima e a hidrografia da região. As variáveis de clima foram obtidas a partir do WorldClim (Hijmans *et al.* 2005; <http://www.worldclim.org/>) e os dados de topografia e de hidrografia a partir do projeto Hydro1k do *United States Geological Survey* (<http://eros.usgs.gov/>) (Anexo 4).

Foram rejeitadas as variáveis ambientais correlacionadas indicadas por uma análise de componente principal (PCA) e pelo teste de Mantel, usando o programa Past 2.14 (Hammer *et al.* 2001) e a plataforma R 3.0.1 (R-Development CoreTeam 2011) respectivamente.

O algoritmo escolhido para a modelagem foi o de máxima entropia, no programa MaxEnt 3.3.3 (Phillips *et al.* 2006). Foram criados dois modelos de adequabilidade, o modelo restrito utilizando apenas as variáveis climáticas do WorldClim e o modelo amplo usando as variáveis climáticas, topográficas e hidrográficas para avaliar a influência dos dados hidrográficos e topográficos para a modelagem de uma espécie semiaquática. Para a validação dos modelos foi calculada a área sob a curva (AUC) e os valores de sensibilidade, especificidade, acurácia, TSS (*True Skill Statistic*), taxa de erro, de acerto, de omissão e de sobrevisão foram calculados a partir da matriz de confusão de cada modelo. Na avaliação da acurácia do modelo gerado, empregou-se a estatística de probabilidade binomial para determinar se a capacidade do

modelo em acertar é diferente do acaso. Além disso, as condições ambientais adequadas para *N. squamipes* no presente, adquiridas no modelo só com dados climáticos, foram projetadas em camadas do passado, criando mapas de adequabilidade para o último máximo glacial (LGM) há 21 mil anos atrás e para o último interglacial (LIG) entre 120-140 mil anos atrás. As camadas das variáveis climáticas para o passado também estão disponíveis no *site* WorldClim (<http://www.worldclim.org/>). Os mapas adquiridos foram comparados à árvore filogenética para avaliar se alguma diferença aparente na adequabilidade ambiental poderia explicar as diferenças entre as linhagens obtidas.

Dados de genética de paisagem: Redes de haplótipos para Cit b e D-loop e o mapa de adequabilidade ambiental do presente foram usados para criação de rotas de fluxo gênico entre as localidades de coleta para demonstrar possíveis rotas de migração em *N. squamipes*. O mapa de adequabilidade atual utilizado para essa etapa foi o do modelo restrito. Ele foi convertido para uma camada de custo de dispersão invertendo-se os valores de adequabilidade do modelo. Em outras palavras, a probabilidade elevada de ocorrência de *N. squamipes* em uma determinada área do modelo significa dizer que por essa região o custo de dispersão é baixo, ao passo que as regiões com baixa ou nenhuma probabilidade de ocorrência têm custos de dispersão elevados (Chan *et al.* 2011).

As localidades que compartilhavam haplótipos foram conectadas por rotas de baixo custo (LCP - *Low Cost Path*) utilizando como camada de atrito o mapa de custo de dispersão e seguindo as instruções de Chan *et al.* (2011). Esse

processo também foi repetido entre as localidades que tinham um passo mutacional de distância, e as que tinham dois passos mutacionais. Todas as rotas foram somadas e um mapa de conectividade populacional foi criado para cada um dos dois marcadores genéticos. Foi dado peso 1,0 para as rotas que compartilhavam haplótipos, peso 0,5 para as rotas que tinham diferença de um passo mutacional e 0,25 para as que tinham dois passos mutacionais. O programa utilizado para as análises foi o ArcGIS 10.1 (ESRI 2011).

As rotas de fluxo gênico geradas foram usadas para identificar possíveis caminhos para a troca genética entre populações e formular hipóteses sobre a conectividade das populações além de identificar possíveis barreiras à dispersão (Chan *et al.* 2011).

Resultados

Sequências de DNA: Das 167 amostras iniciais, foram obtidas 88 sequências de Cit b e 154 sequências de D-loop, sendo que em 81 amostras foram obtidas sequências para os dois marcadores. O Cit b mostrou pouca saturação nas sequências, sem perda do sinal filogenético ($p < 0,01$ e $I_{ss} < I_{ss.c}$). O melhor modelo de evolução para as sequências foi o HKY +I +G. As árvores com melhor resolução e suporte foram as do Citb (Fig. 4) independente do algoritmo. Já árvores de D-loop formaram uma politomia basal e as dos dados concatenados recuperaram alguns clados, mas sem suporte estatístico (Anexo 5-13). *Nectomys squamipes* foi monofilético na MP (exceto no D-loop) e em politomia com as demais espécies do gênero na MV e na IB. Além disso, *N. squamipes* está estruturado em três clados, nomeados aqui como Atlântico Leste, Atlântico Sudeste e Atlântico Sul, em referência às regiões hidrográficas (Fig. 5). As amostras das bacias dos rios São Francisco e Paraná ficaram espalhadas pelos três clados (Fig. 5). O clado Atlântico Leste foi o único recuperado monofilético e com alto suporte estatístico na IB (Cit b, D-loop e concatenada), na MP (Cit b e concatenada) e na MV (Cit b, concatenada). O único subclado identificável dentro dos três clados foi o do Parque Nacional do Caparaó, que estava presente com alto suporte estatístico na MP (Cit b) e com baixo suporte na IB (Cit b, D-loop e Concatenada) e na MV (Cit b), inserindo-se dentro do Clado Atlântico Sudeste. Esse subclado é formado por amostras de Ibitirama, no Espírito Santo e de Barbacena, Ouro Preto e Marliéria em Minas Gerais. Amostras do litoral de São Paulo, que hidrograficamente pertencem à região do Atlântico Sudeste, filogeneticamente se associaram ao Clado Sul

(Fig. 5). Isso indica uma quebra filogeográfica na região da Serra da Bocaina, divisa entre os estados de São Paulo e Rio de Janeiro.

As redes de haplótipos também recuperaram os três clados de *N. squamipes* e o subclado do Parque Nacional do Caparaó dentro do Clado Atlântico Sudeste para os dois marcadores genéticos (Fig. 6 e 7). As amostras da região hidrográfica do São Francisco e do Paraná ficaram espalhadas pelos três agrupamentos no D-loop e por dois agrupamentos no Cit b. Além do mais, as redes de haplótipos mostraram que há poucos passos mutacionais entre os agrupamentos, indicando baixa divergência genética dentro de *N. squamipes*.

As divergências genéticas foram pequenas, tanto dentro quanto entre as espécies de *Nectomys*, os clados de *N. squamipes* (Tabela 1) e as regiões hidrográficas onde essa espécie ocorre (Tabela 2). *N. squamipes* possui uma divergência intraespecífica baixa (1,2% no Cit b; 2,7% no D-loop) e *N. apicalis* é mais distante geneticamente de *N. squamipes* (6,9% no Cit b) do que *N. rattus* (3,1% no Cit b; 9,1% no D-loop). Os três clados de *N. squamipes* também apresentam baixas distâncias genéticas, com pouca variação dentro deles (0,6-1,1% no Cit b; 1,75-1,85% no D-loop) e entre eles (1,9-2,2% no Cit b; 4,0-4,9% no D-loop). Já as distâncias genéticas entre as regiões hidrográficas mostraram que a região do São Francisco possui a maior diversidade intrarregional (1,4% no Citb; 4,0% no D-loop) do que as demais (0,5-1,1% no Cit b; 0,5-2,3% no D-loop). Além disso, os dados apontam que a maior distância genética entre as regiões hidrográficas ocorre entre a região do Atlântico Sul e a do Atlântico Sudeste, que são vizinhas (1,9% no Cit b; 4,7% no D-loop), enquanto a menor distância no D-loop é também entre regiões vizinhas: Atlântico Leste e Atlântico Sudeste (1,7%). No Cit b, a menor

distância é entre regiões mais distantes: Paraguai e Atlântico Sul (0,9%). O teste de Mantel não mostrou correlação entre a distância genética e geográfica (Cit b $p=0,99$; D-loop $p=0,99$) e os gráficos de distribuição *mismatch* apresentaram uma distribuição bimodal (Fig. 8).

Não foram encontrados valores significativos para a maioria dos testes de neutralidade (Tabela 3). Valores significativos e negativos de F_s de F_u foram encontrados nos dois marcadores para o clado Atlântico Sudeste e para a região hidrográfica do Atlântico Sudeste no Cit b. Além deles, o D de Tajima e o índice R_2 no Cit b para a região do Atlântico Sudeste e para o Clado Atlântico Sudeste no Cit b também foram significativos, sendo o valor de D negativo e de R_2 positivo e próximo de zero, indicando expansões populacionais.

Os valores de F_{st} entre as regiões hidrográficas, que pode ser usado para medir o fluxo gênico, mostraram fortes trocas genéticas entre as regiões do São Francisco e do Paraná (0,16) no D-loop e entre o Atlântico Leste e o Atlântico Sudeste (0,23) no Cit b (Tabela 4). Trocas genéticas mais raras ocorreram entre a entre as regiões do Atlântico Sudeste e do Atlântico Sul (0,74 no Cit b e 0,62 no D-loop). Os índices de fixação da AMOVA foram todos significativos e com valores altos (Tabela 5). A maior parte da variação molecular ocorre dentro da mesma região hidrográfica entre localidades diferentes (56,3% no Cit b; 50,9% no D-loop).

Datação pelo relógio molecular mostrou que o gênero *Nectomys* surgiu no Pleistoceno entre 1,8 – 0,168 milhão de anos atrás, e que *N. squamipes* divergiu entre 1,16 – 0,16 milhão de anos atrás (Fig. 9). Os três clados encontrados em *N. squamipes* surgiram entre 935 mil e 82 mil anos atrás

(Anexo 14). A taxa de mutação encontrada para *Nectomys squamipes* foi de 0,024 mutações/sítio/milhão de anos.

O gráfico da dinâmica populacional do *Bayesian Skyline Plot* (BSP) mostrou que nos intervalos entre 250-200 mil e 50-10 mil anos atrás, a população de *N. squamipes* permaneceu praticamente estável (Fig. 10). A população começou a crescer mais rapidamente no período entre 200 mil e 50 mil anos atrás, com crescimento mais elevado entre 100 mil e 50 mil anos atrás. Nos últimos 10 mil anos, o tamanho populacional médio de *N. squamipes* declinou (Fig. 10).

Adequabilidade ambiental: Nos modelos do presente, foram selecionadas seis variáveis (Anexos 15, 16 e 17) para construção do modelo restrito (só com os dados climáticos) e três variáveis para o modelo amplo (variáveis climáticas + topográficas + hidrográficas). O valor de AUC (área sob a curva) encontrado no modelo restrito foi maior (0,858 e desvio-padrão de $\pm 0,057$) do que o encontrado no modelo amplo (0,796 e desvio-padrão de $\pm 0,076$).

Foi utilizado o limite de corte mínimo para criação dos modelos (valor gerado pelo MaxEnt): 0,018 para o modelo restrito e 0,082 para o modelo amplo. A sazonalidade da temperatura (Bio 4) foi a variável que mais contribuiu nos dois modelos (Anexo 18). A matriz de confusão foi criada para os dois modelos (Anexo 19) e os índices calculados para a validação dos modelos mostraram que o modelo restrito possuía melhor previsão de adequabilidade ambiental (Anexo 20).

O mapa de adequabilidade ambiental gerado pelo modelo restrito demonstrou áreas impróprias para a ocorrência de *N. squamipes* na Caatinga

(exceto em enclaves de florestas úmidas, também conhecidos como “brejos” de altitude, como ocorre na Chapada da Diamantina), no sul de São Paulo e na região sul do Brasil, além da Serra do Mar entre São Paulo e Rio de Janeiro (Fig. 11A). Entre a região hidrográfica do Rio Paraná e as demais, existe apenas uma possibilidade de contato: pelo Rio Grande, na divisa entre os estados de São Paulo e Minas Gerais. O modelo amplo apresentou mais áreas com boa adequabilidade, especialmente no oeste e norte de Minas Gerais e em Goiás. Áreas da Caatinga (exceto os “brejos” de altitude) e sul do Brasil, assim como no modelo restrito, apresentaram baixa adequabilidade (Fig. 11B).

O mapa de adequabilidade ambiental para o LGM há 21 mil anos atrás indica praticamente as mesmas áreas adequadas para *N. squamipes* (Fig. 11C), quando comparado ao mapa da adequabilidade atual (Fig. 11A). De 21 mil anos para o presente há uma pequena redução na área de alta adequabilidade, especialmente no interior e litoral norte da Bahia, Goiás e na região do triângulo mineiro. Já o mapa de 120-140 mil anos atrás (Fig. 11D), apresentou uma redução nas áreas adequadas e um deslocamento das mesmas para o sul, quando comparado com o presente e com 21 mil anos atrás. Nesse mapa, três áreas mais adequadas são evidentes: a mais extensa no sul do Brasil, uma menor ao longo do litoral da Bahia e a última, menos extensa, mais fragmentada e menos adequada que as outras duas, entre o Rio de Janeiro e o Espírito Santo (Fig. 11D).

Genética de paisagem: O modelo restrito de adequabilidade ambiental foi utilizado como mapa de custo de dispersão, pois ele obteve os melhores índices na etapa de validação (Anexo 20). Várias rotas de fluxo gênico foram

encontradas com os dados de Cit b, que mostram fluxo entre regiões hidrográficas distintas, e de D-loop, onde a maioria das rotas são dentro da mesma região hidrográfica (Fig. 12; Anexos 21 e 22). Apesar do mapa de custo de dispersão ter sido criado apenas com as variáveis climáticas, as rotas criadas a partir dele foram coincidentes com alguns dos principais rios (Fig. 13).

Quando os mapas foram concatenados, foram identificadas quatro rotas principais entre as regiões hidrográficas (Fig. 13). Uma pelo litoral do Rio de Janeiro, Espírito Santo e Bahia, ligando as regiões do Atlântico Leste e Atlântico Sudeste. A segunda rota é pelo Rio Doce e seus tributários, ligando a região do Atlântico Sudeste às demais regiões. A terceira rota é pelo Rio Jequitinhonha e seus tributários, ligando a região do Atlântico Leste às bacias do Atlântico Sudeste e do São Francisco. A quarta rota é pelo Rio Preto, na divisa do Rio de Janeiro e Minas Gerais, que mantém contato com a sub-bacia do Rio Grande que pertence à região do Paraná, que por sua vez faz contato com a região do São Francisco e com a do Atlântico Sudeste (Fig. 13).

Discussão

Filogeografia e dinâmica populacional: Em geral, a capacidade de dispersão de uma espécie está relacionada à sua tolerância às variações climáticas, ao seu tamanho corporal e aos fatores comportamentais, como a filopatria (Indorf 2010; Lyons *et al.* 2010; Martins e Domingues 2011). *Nectomys squamipes* possui pouca capacidade de dispersão por causa de seu pequeno tamanho corporal e pela sua dependência da água (Ernest e Mares 1986; Galliez e Fernandez 2012). Desta forma, era de se esperar uma forte estruturação genética coerente com a hidrografia, já que as barreiras para dispersão de organismos associados a ambientes aquáticos são mais numerosas de que para organismos terrestres (Tonn 1990; Abellet *al.* 2008). No entanto, foi recuperada uma estruturação genética superficial, ou seja, com divergências genéticas baixas. A estruturação foi coerente com a hidrografia, pois os três clados de *N. squamipes* representam três regiões hidrográficas e os agrupamentos definidos a partir das regiões hidrográficas tiveram suporte na AMOVA. Centeno-Cuadros *et al.* (2009) tiveram resultados semelhantes com outro pequeno roedor semiaquático, *Arvicola sapidus*, que apresentou uma estrutura genética fraca, mas filogeograficamente coerente. Os autores resumiram a fraca estruturação genética em *A. sapidus* a partir de três resultados que também estão presentes em *N. squamipes*: (i) poucos clados suportados estatisticamente; (ii) clados com ramos curtos nas árvores filogenéticas e (iii) baixo número de haplótipos isolados nas redes de haplótipos.

Outros trabalhos com pequenos mamíferos semiaquáticos, como o roedor sigmodontíneo *Oryzomys palustris* (Indorf 2010) e a toupeira-d'água *Galemys pyrenaicus* (Igea *et al.* 2013), corroboraram a fraca estruturação genética, com baixas divergências genéticas, quando o esperado seria o contrário. Além disso, trabalhos com mamíferos semiaquáticos de maior tamanho corporal, como castores (Ducroz *et al.* 2005; Durka *et al.* 2005) e lontras (Mucci *et al.* 2010; Quaglietta *et al.* 2013) também indicaram alta homogeneidade e baixa estruturação genética entre populações. Nesses trabalhos, isso foi explicado pela maior capacidade de dispersão, por serem mamíferos maiores, e pela pressão da caça que submeteu às populações naturais de lontras e castores a um efeito gargalo (Durka *et al.* 2005; Mucci *et al.* 2010). Contudo, os dados de pequenos mamíferos semiaquáticos, como *N. squamipes*, indicam que a dependência dos rios favorece o deslocamento de indivíduos ao longo do curso do rio, resultando em baixa estruturação e a alta homogeneidade genética.

A homogeneidade genética encontrada em *N. squamipes* foi encontrada por outros trabalhos usando diferentes marcadores genéticos, como microsatélites (Almeida *et al.* 2000; 2005) e é consistente com a sua baixa variação morfológica intraespecífica (Bonvicino 1994). As taxas de divergência intra- e interespecíficas de *Nectomys* e também dentro e entre os clados foram muito baixas quando comparadas com outros roedores sigmodontíneos, como em *Rhipidomys mastacalis* (intraespecífica: 4,5% e interespecífica com *R. emiliae*: 7,25% no Cit b) (De Andrade Costa *et al.* 2011). Almeida *et al.* (2000) lançaram três hipóteses para explicar a baixa diversidade genética em *N. squamipes*: (i) processos recorrentes de extinção local e recolonização; (ii)

expansão populacional recente; e (iii) fluxo gênico maior do que o esperado para uma espécie semiaquática.

No presente estudo, não houve correlação entre as distâncias genética e geográfica e espécimes de regiões hidrográficas vizinhas estão mais distantes geneticamente (Atlântico Sul e Atlântico Sudeste) enquanto outros de regiões distantes estão mais próximos geneticamente (Paraguai e Atlântico Sul). Isso mostra que a divergência genética entre as populações não pode ser explicada principalmente pela distância geográfica, um resultado também encontrado em outros trabalhos (Almeida *et al.* 2000; 2005) e que pode indicar que as populações não estão em equilíbrio (Hutchinson e Templeton 1999). Uma razão para uma população não estar em equilíbrio é ter passado por uma recente expansão populacional, dando suporte para as hipóteses (i) e (ii) de Almeida *et al.* (2000).

Os testes de neutralidade mostraram expansão populacional recente no Atlântico Sudeste. Além disso, há haplótipos do Atlântico Sudeste sendo compartilhados por outras regiões hidrográficas o que sugere também a existência de expansão populacional para essa região.

Não houve indícios de expansão exponencial para a espécie como um todo na distribuição *mismatch*. Um padrão bimodal nesses gráficos pode indicar um tamanho populacional grande e constante, sem expansões exponenciais (Slatkin e Hudson 1991), mas não se pode afirmar que não houve uma expansão menos abrupta. O padrão bimodal pode ser reflexo da estruturação genética associada à hidrografia nas distâncias par-a-par, com a menor moda sendo resultante de pares da mesma região hidrográfica e a maior de pares de regiões diferentes. Já os resultados do índice F_s de F_u e do BSP

indicaram expansão populacional para a espécie. Dados apontam que essa expansão populacional teria ocorrido durante o período de glaciação: um fraco crescimento populacional entre 150 mil e 100 mil, seguido por um crescimento acelerado entre 100 mil e 75 mil e lento entre 75 mil e 50 mil anos atrás. A população permaneceu relativamente estável entre 50 mil e 10 mil durante o LGM, declinando desde então. Esse padrão foi coerente com as áreas de adequabilidade do passado que encontramos para *N. squamipes*. Elas mostraram um padrão de retração e de deslocamento para o sul das áreas de alta adequabilidade ambiental no LIG, isto é, em épocas mais quentes e úmidas, e expansão dessas áreas no LGM, onde o clima é mais frio e, segundo alguns autores, mais seco (mas veja Bush e Oliveira 2006, para uma opinião contrária à aridez). No Holoceno, com o aumento da temperatura e talvez da umidade, o tamanho populacional de *N. squamipes* decaiu e as áreas de adequabilidade ambiental no presente também diminuíram quando comparadas ao LGM, ainda que em pouca proporção.

A estimativa de flutuação populacional de *N. squamipes* nos últimos 140 mil anos acompanha as mudanças climáticas documentadas pelos isótopos estáveis de oxigênio 18 ($\delta^{18}\text{O}$) (Cohen e Gibbard 2011) (Fig. 10). Esses isótopos são usados em estudos de paleotemperatura e em estudos de investigações dos ciclos glaciais-interglaciais do Quaternário, incluindo LIG e LGM, utilizando carapaças de foraminíferos ou núcleos de gelo retirados das regiões polares (NEEM community members 2013; Rodrigues e Fauth 2013). Os isótopos de oxigênio estão relacionados à composição dos oceanos, o que está diretamente relacionado ao ciclo das chuvas e da quantidade de vapor d'água da atmosfera, afetando também a precipitação nos continentes (Frew *et*

al. 2000). Outro fato que coloca a temperatura como importante na distribuição geográfica de *N. squamipes* é que as camadas ambientais de hidrografia e de relevo, que deveriam ser importantes para o modelo por causa da história natural da espécie, não melhoram a predição do modelo. O melhor modelo foi aquele criado só com variáveis de precipitação e temperatura. Além disso, a sazonalidade de temperatura foi a variável mais importante para a construção dos modelos das áreas de adequabilidade.

A datação mostrou uma origem recente, no Pleistoceno, tanto para *N. squamipes* (entre 160.000 e 1,16 milhões de anos atrás), quanto para os demais congêneres analisados. Isso indica que as oscilações climáticas do período podem ter sido importantes na especiação do gênero e na estruturação genética de *N. squamipes*. Os três clados de *N. squamipes* datados mostraram que suas divergências ocorreram no Pleistoceno Médio (780-126 mil anos atrás), que se encaixa no padrão de estruturação intraespecífica da maioria das linhagens sul-americanas de mamíferos, peixes, aves, invertebrados e plantas (Turchetto-Zolet *et al.* 2013). As três áreas principais formadas na modelagem do LIG são coerentes com o clados encontrados nas árvores filogenéticas e com a datação pelo relógio molecular, mostrando uma sintonia entre os dados ecológicos de modelagem e dados genéticos, como já foi descrito em outros trabalhos (Carnaval *et al.* 2009; Igea *et al.* 2013, mas para uma ressalva veja Tonini *et al.* 2013).

Levando em consideração que durante o Pleistoceno houve vários períodos de glaciações com períodos interglaciais entre elas (Brown e Lomolino 1998), há a possibilidade das populações de *N. squamipes* terem passado por recorrentes processos de redução e de expansão populacional

como sugerido por Almeida *et al.* (2000). A homogeneidade genética pode ser explicada em parte por esses processos, em função das oscilações climáticas do Quaternário, mas o fluxo gênico também pode ter desempenhado papel importante. Os índices de F_{st} indicam uma taxa de fluxo gênico alta entre algumas regiões hidrográficas vizinhas, como por exemplo a região do Paraná e do São Francisco. A região do São Francisco compartilha uma taxa de fluxo gênico (F_{st}) similar à maioria das outras regiões. Isso aliado ao fato dessa região ter as maiores divergências genéticas intra- e interregionais e de não apresentar áreas estáveis de adequabilidade ambiental no passado, indica que a região do São Francisco foi colonizada mais recentemente por indivíduos provenientes de outras regiões hidrográficas.

Haplótipos idênticos foram encontrados em regiões hidrográficas diferentes, indicando fluxo gênico atual ou em um passado próximo. O compartilhamento de haplótipos em regiões hidrográficas diferentes foi encontrado também no trabalho sobre a filogeografia da toupeira-d'água *Galemys pyrenaicus* (Igea *et al.* 2013). No entanto foram avaliados neste trabalho apenas marcadores genéticos mitocondriais, que evidenciam a herança de linhagens maternas. Se forem analisados marcadores que meçam também a herança paterna, genes nucleares ou microssatélites, os índices de fluxo gênicos podem ser maiores. Isso porque os machos de *N. squamipes* têm áreas de uso maiores que as fêmeas (Lima 2009) e com isso há a possibilidade deles se dispersarem mais do que as fêmeas.

Nos últimos anos, vários trabalhos com filogeografia avaliaram diferentes hipóteses para explicar os padrões de diversidade e de estruturação genética encontrados na Mata Atlântica em grupos de vertebrados (Pellegrino *et al.*

2005; Cabanne *et al.* 2007; 2008; Thomé *et al.* 2010; Costa e Leite 2012), de invertebrados (Resende *et al.* 2010) e de plantas (Ribeiro *et al.* 2011). Quatro propostas principais são normalmente utilizadas para explicar os padrões filogeográficos: isolamento por montanhas (Moreau 1966); gradientes ecológicos (Endler 1977); rios como barreiras (Wallace 1852) e refúgios pleistocênicos (Haffer 1969). Lara *et al.* (2005) fizeram uma revisão sobre essas propostas a partir de alguns estudos filogeográficos com pequenos mamíferos e encontraram dois modelos que se encaixam nos padrões estudados: o de isolamento por montanhas e o de gradientes ecológicos. De acordo com Lara *et al.* (2005) o modelo de rios como barreiras pode ser tratado em larga escala na Mata Atlântica como parte do modelo de isolamento por montanhas já que rios grandes da região têm seus cursos correspondendo às cadeias de montanhas.

Ultimamente, a proposta dos refúgios pleistocênicos, adaptado para a Mata Atlântica no trabalho de Carnaval e Moritz (2008), tem ganhado força (Carnaval *et al.* 2009; Martins 2011; Maldonado-Coelho *et al.* 2012; Valdez e D'Elia 2013), especialmente com a integração dos dados genéticos aos de paleogeografia e de paleomodelagem (Richards *et al.* 2007; Lamb *et al.* 2008; Chan *et al.* 2011; Svenning 2011; Igea *et al.* 2013). Contudo, as datações de alguns trabalhos indicam que o surgimento de grande parte da divergência genética é anterior ao Pleistoceno (Lara e Patton 2000; Wüster *et al.* 2005; Graziotin *et al.* 2006; Brunet *et al.* 2010). Dessa forma, a ideia de que na América do Sul os padrões filogeográficos de vertebrados são resultantes dos movimentos tectônicos do Plioceno e das oscilações climáticas de todo o Pleistoceno, e não apenas do último máximo glacial (LGM), é mais abrangente

(Lara e Patton 2000; Hoorn *et al.* 2010; Thomé *et al.* 2010; Antonelli e Sanmartin 2011; Turchetto-Zolet *et al.* 2013).

No caso de *N. squamipes*, os dados de modelagem e de dinâmica populacional indicaram expansão da população no LGM e retração e fragmentação do habitat no LIG. Esse padrão também é encontrado em algumas espécies adaptadas a ambientes abertos como o guanaco (Marin *et al.* 2008) e gramíneas (Jakob *et al.* 2009). Com isso, parece que *N. squamipes* não foi negativamente afetado pela suposta fragmentação das florestas no LGM indicada por Carnaval e Moritz (2008), sendo a proposta dos refúgios, portanto, inadequada para explicar o padrão filogeográfico nessa espécie. A proposta de rios como barreiras tampouco se aplica, afinal de contas *N. squamipes* é uma espécie semiaquática e utiliza os rios para deslocamento e dispersão e não foram encontrados indícios de que a estruturação genética dessa espécie possa ser explicada por algum gradiente ecológico. Por fim, o isolamento por montanhas é a única das quatro propostas principais avaliadas por Lara *et al.* (2005) que se encaixa na estruturação genética encontrada em *N. squamipes*. As regiões hidrográficas causam o isolamento entre as populações dessa espécie e são as montanhas e o relevo que determinam os cursos dos rios e o fluxo de água dentro das regiões, além de sua acumulação no solo. O fluxo gênico entre regiões hidrográficas é restrito principalmente às cabeceiras de rios, onde existem rotas de fluxo gênico (Fig. 13). As regiões hidrográficas são coerentes, portanto, com o relevo e cadeias de montanhas da Mata Atlântica. Esse resultado corrobora a proposta de Lara *et al.* (2005) de que para a Mata Atlântica o modelo de isolamento por montanhas seria uma

das principais explicações para os padrões filogeográficos de pequenos mamíferos.

Apesar de dados filogeográficos de outras espécies de mamíferos semiaquáticos de pequeno e médio porte confirmarem a tendência de que as oscilações climáticas do Quaternário são mais significativas para a diversificação e estruturação genética do que o padrão hidrográfico (Durka *et al.* 2005; Centeno-Cuadros *et al.* 2009; Indorf 2010; Igea *et al.* 2013), no caso de *N. squamipes* isso não se ratifica, sendo a hidrografia determinante para a os padrões filogeográficos da espécie.

Hipótese para a expansão populacional em períodos glaciais: Uma expansão populacional durante glaciações é tão diferente do que se espera para um pequeno mamífero de floresta, que precisa ser mais bem discutido. *N. squamipes* pode expandir a sua distribuição durante o LGM, onde as florestas e os rios estariam mais secos, graças a algumas características ecológicas.

Durante o LGM pode ter ocorrido a fragmentação da Mata Atlântica e mudanças na composição florística, segundo os dados de palinologia (Ledru *et al.* 2009). Dados de distribuição do nicho ecológico potencial de várias espécies e da própria Mata Atlântica mostram retrações no LGM (Carnaval e Moritz 2008; Carnaval *et al.* 2009) por causa do clima frio e talvez seco (Guilderson *et al.* 1994; Webb *et al.* 1997). Esses dados predizem uma redução da área de florestas úmidas da Mata Atlântica.

Galliez e Fernandez (2012) afirmaram que *N. squamipes* possui segregação espacial com outra espécie de mamífero semiaquático, a cuíca d'água (*Chironectes minimus*), que é uma espécie de marsupial que ocupa

ambientes não degradados. Eles demonstraram que as abundâncias de *C. minimus* e *N. squamipes* são negativamente correlacionadas, com a cuíca d'água ocupando áreas onde havia maior densidade de árvores nas margens dos rios e *N. squamipes* ocupando rios estreitos com pouca vegetação ripária. Desta forma, a redução ou fragmentação da floresta no LGM poderia beneficiar *N. squamipes* em detrimento de outras espécies semiaquáticas.

Outro fato marcante da ecologia de *N. squamipes* é a preferência por rios pequenos com pouco fluxo de água. Lima (2009) demonstrou que o rato d'água tem preferência pelos pequenos afluentes pantanosos ao invés dos rios maiores de água mais rápida. Uma possível razão para isso seria a sua capacidade de natação, que não é tão eficiente quanto a de outras espécies semiaquáticas como a lontra e a cuíca d'água (Stein 1988; Lima 2009). No LGM, os rios foram mais afetados pelo clima e pela variação no nível do mar do que pela tectônica, que influencia a dinâmica hidrográfica em uma escala de tempo maior (Clapperton 1993). A redução da cobertura vegetal e o aumento da sazonalidade das chuvas (Ledru *et al.* 2009) abaixou o nível dos lençóis freáticos, ocasionando um aumento no escoamento de sedimentos pelos rios (Clapperton 1993) e a seca de vários riachos menores. Nos rios que não secaram, o fluxo de água foi reduzido, o que facilitaria a natação pouco eficiente de *N. squamipes*, favorecendo assim maiores áreas de uso disponíveis para *N. squamipes*.

Outro fato que pode ajudar no aumento da distribuição de *N. squamipes* no LGM é a redução no nível dos oceanos, que ficou em média 100 metros abaixo do atual (Sugio *et al.* 1985; Rossetti *et al.* 2011). Isso aumentou a faixa de terra na costa leste do Brasil e os cursos dos rios que deságuam no oceano

Atlântico, rios que na época tinham um menor fluxo de água (Clapperton 1993). Isso também pode ter influenciado a maior dispersão da espécie nesse período, favorecendo o fluxo gênico. Quando o nível do mar se elevou para o atual, populações ficaram isoladas nas áreas elevadas que se transformaram em ilhas oceânicas (Almeida *et al.* 2005).

A redução ou fragmentação das florestas durante o LGM não parece ter afetado tanto *N. squamipes* de acordo com os dados de modelagem (LGM não teve grande redução de áreas com boa adequabilidade) e com os dados genéticos (BSP mostra o tamanho populacional constante ou em crescimento durante o LGM). Isso pode ser explicado pela disponibilidade de água, que mesmo em épocas mais frias e secas manteriam as matas ciliares nos rios maiores. Além disso, os ambientes ripários dão estabilidade, podendo funcionar como corredores entre fragmentos para as espécies florestais e tem pouco efeito de borda quando comparados às ilhas de florestas (Naxara 2008). Outro fato importante é que os corredores formados pela vegetação ripária têm a mesma disponibilidade de recursos do que o interior de fragmentos próximos (Naxara 2008). Dessa forma, os corredores ripários durante o LGM, mesmo tendo características de florestas mais secas, permitiriam a dispersão de *N. squamipes* para outras áreas. Apesar de características ecológicas atuais serem utilizadas para explicar a distribuição e dispersão no LGM, a ideia de conservação de nicho ecológico dentro de uma linhagem evolutiva permite essa extrapolação.

Há outros dados ecológicos que podem contradizer a pouca capacidade de dispersão de *N. squamipes*, não só no LGM, mas em qualquer época do Quaternário: (i) ele possui uma dieta generalista, é onívoro, se alimenta desde

folhas e frutas até pequenos vertebrados (D'Andrea *et al.* 1996; Gentile *et al.* 2000); (ii) *N. squamipes* distribui igualmente sua movimentação entre os ambientes aquáticos e terrestres, não sendo tão dependente assim da água, ao contrário de outros mamíferos semiaquáticos (Lima 2009); (iii) *N. squamipes* é o maior roedor da tribo Oryzomyini, o que faz com que ele tenha uma capacidade de dispersão maior do que outros roedores do grupo; e (iv) correlação positiva entre o tamanho corporal do indivíduo e sua área de extensão de uso (Lima 2009), sendo que os machos tiveram área de extensões de uso maiores que as fêmeas na média (Ribeiro 2001; Bergallo e Magnusson 2004).

Conectividade populacional entre regiões hidrográficas: Dados genéticos evidenciaram que *N. squamipes* tem uma capacidade de dispersão maior do que indicada pela maioria dos trabalhos ecológicos de campo. As rotas de fluxo gênico demonstraram que a troca genética entre indivíduos de bacias diferentes existe, mas elas ocorrem em áreas pontuais, utilizando alguns rios para isso, como o Doce, o Jequitinhonha, o Preto e o Grande. Por causa da taxa de mutação, as rotas indicados pelo Cit b seriam mais antigas que aquelas inferidas pelo D-loop. Como as rotas de Cit b foram as que mais indicaram trocas entre regiões hidrográficas diferentes, o fluxo genético poderia ser mais frequente no passado do que no presente. O que melhor explica esse fluxo gênico interregional são as conexões históricas entre as regiões hidrográficas.

Para ambientes aquáticos, os rios podem ter papéis importantes na estruturação genética, não só como barreiras ecológicas, mas também como corredores para a dispersão (Turchetto-Zolet *et al.* 2013). O grau de isolamento

entre as regiões hidrográficas é a principal promotora do padrão de estruturação genética nesses ambientes (Abell *et al.* 2008; Turchetto-Zolet *et al.* 2013). A captura de divisores de água nas regiões de cabeceiras dos rios (nascentes nas regiões altas que delimitam uma bacia ou região hidrográfica), devido à atividade tectônica ou à erosão, pode ligar ou isolar duas regiões hidrográficas (Wilkinson *et al.* 2006; Abell *et al.* 2008). Essas características podem afetar tanto a migração entre rios quanto a comunidades atuais de organismos aquáticos e semiaquáticos. Montoya-Burgos (2003) usou essa ideia de conexões entre bacias por meio de captura de cabeceiras de rios para explicar a especiação e dispersão de alguns peixes da Amazônia (Montoya-Burgos 2003; Hubert e Renno 2006).

Fullerton *et al.* (2010) alertou sobre a importância de se estudar a conectividade entre ambientes dulcícolas. Eles classificaram as conexões existentes em três tipos: (1) Conexões estáveis por um longo período de tempo na escala evolutiva, que poderiam afetar a adaptação e criar novas barreiras, elas ocorreriam no nível de grandes bacias; (2) Conexões dinâmicas que estariam estáveis em escalas de décadas-séculos, influenciariam a migração, a genética populacional e padrões de dispersão em escala de sub-bacias e captura de nascentes e (3) conexões alteradas pelo homem, criação de poços e rios artificiais que poderiam conectar ou isolar populações, essas conexões podem ter influência em várias escalas temporais. As quatro rotas encontradas na análise de conectividade populacional podem ser explicadas por esses tipos de conexões. Exemplos clássicos de capturas de divisores de água e de cabeceiras são mais comuns em estudos de peixes, especialmente na Amazônia, como o canal do Cassiquiare entre as cabeceiras dos rios Orinoco e

Negro (Willis *et al.* 2010; Turchetto-Zolet *et al.* 2013). Para as regiões da Mata Atlântica e São Francisco, pertencentes ao Escudo Brasileiro, há poucos exemplos e trabalhos sobre conexões entre regiões hidrográficas (Lundberg *et al.* 1998; Ribeiro 2006; Buckup 2011).

Ribeiro (2006) defendeu a existência de três padrões biogeográficos para os rios da região do Escudo Brasileiro, a partir da idade da ligação e da similaridade de faunas encontrada nos rios da região. O mais recente deles, onde uma mesma espécie é compartilhada entre regiões hidrográficas ou sub-bacias vizinhas data do Quaternário e se aplica a *N. squamipes*. Apesar de ocorrer no Quaternário, não foram apenas as oscilações climáticas responsáveis por esse padrão, a atividade tectônica recente também teve um papel significativo (Ribeiro 2006). Há indícios de atividades tectônicas importantes nos últimos 1,6 milhão de anos (Saadi *et al.* 2002) que podem ter causado reorganização das bacias hidrográficas devido à captura de cabeceiras de outros rios (Modenesi-Guattieri *et al.* 2002).

Há uma alta similaridade entre a fauna de peixes do rio São Francisco e do rio Paraná (Menezes 1972; Buckup 2011), indicando um contato histórico entre as essas regiões. O relevo que faz a divisão entre a região do Paraná e o do São Francisco é muito menos pronunciado quando comparado àquele entre as regiões hidrográficas do Atlântico Sudeste, Atlântico Sul e a região do rio Paraná. A área de ligação entre essas regiões possui em média de 200 metros de altitude que muitas vezes envolvem áreas pantanosas em um terreno quase plano (Buckup 2011).

A semelhança da fauna entre o Paraná e o São Francisco é ainda maior se considerarmos apenas a sub-bacia do rio Grande, que drena a encosta sul

da bacia do São Francisco e que forma o rio Paraná junto com o rio Paranaíba. 81% das espécies de peixes de lá ocorrem na região do São Francisco e do Paraná (Buckup, 2011). O elevado número de espécies compartilhadas sugere que a ligação entre as regiões do Paraná e São Francisco pela sub-bacia do rio Grande é geologicamente recente (Buckup, 2011) e coerente com o tempo de divergência de *N. squamipes*. Dados de modelagem (Fig. 11) e de genética de paisagem (Fig. 13) também apontaram para a sub-bacia do rio Grande como ligação entre a região do São Francisco e do Paraná (Conexão 4, Fig. 14).

Ribeiro (2006) indicou outra ligação na margem nordeste da região hidrográfica do Paraná, ao lado das sub-bacias do alto rio São Francisco, do Paraíba do Sul e do rio Itapemirim (Conexão 5, Fig. 14), sendo que as duas últimas pertencem à região hidrográfica do Atlântico Sudeste. Algumas espécies de peixe do gênero *Piabina* estão espalhadas por esses rios. A hipótese filogenética disponível sugere que o lugar para a diversificação inicial do grupo provavelmente é a região do Paraná (Ribeiro 2006). Outra rota na região já foi indicada como um corredor para dispersão de cascavéis (Conexão 6, Fig. 14). Bastos *et al.* (2005) afirmaram que a ligação do rio Preto (tributário do Paraíba do Sul) e do rio Grande foi a porta de entrada para a invasão de cascavéis no estado do Rio de Janeiro vindas do sul de Minas Gerais (região da sub-bacia do rio Grande), demonstrando a importância desse corredor para alguns vertebrados. Essas duas rotas, a de dispersão de peixes e a de cascavéis, coincidiram com a rota de fluxo gênico encontrada nesse estudo.

Além de explicarem a diversidade compartilhada de peixes entre regiões hidrográficas, essas áreas de contato podem explicar também o movimento de *N. squamipes* entre as regiões hidrográficas do Paraná (sub-bacia do rio

Grande), do São Francisco e do Atlântico Sudeste, duas das quatro rotas encontradas.

A terceira rota de fluxo gênico, entre o Atlântico Sudeste e o Atlântico Leste pode ser explicada pelas variações no nível do mar durante o Quaternário (Conexão 7, Fig. 14). As transgressões oceânicas são frequentemente clamadas para explicar a ampla distribuição de muitas espécies de peixes pelos rios da região costeira da Mata Atlântica (Ribeiro 2006; Buckup 2011) e alguns padrões filogeográficos de vertebrados (Grazziotin *et al.* 2006; Fitzpatrick *et al.* 2009). Durante as épocas de glaciações o nível do oceano caiu bastante, chegando a ficar em média 100 metros abaixo do nível atual, deixando amostra a plataforma continental (Suguio *et al.* 1985; Rossetti *et al.* 2011). A redução do nível do mar, conseqüentemente levou os rios que deságuam no oceano Atlântico a ter seus cursos aumentados, tendo que atravessar toda a plataforma continental. Com os cursos maiores esses rios poderiam ter conexões que hoje estão escondidas pelo oceano. A fauna de peixes compartilhada entre os rios dessas regiões hidrográficas é grande, indicando que houve ligação e ela foi recente (Ribeiro 2006). Atualmente *N. squamipes* ocorre próximo ao litoral em áreas de restinga do Espírito Santo (Moreira e Mendes 2010) e do Rio de Janeiro (Pessôa *et al.* 2010) o que pode sugerir que no passado essa espécie também tenha ocupado áreas do litoral, com sua distribuição acompanhado a linha do litoral.

A diminuição do nível do mar durante as glaciações, da mesma forma que deveria ter ajudado na expansão e conexão entre sub-bacias do Atlântico Sudeste com o Atlântico Leste deveria ter permitido também a ligação entre o

Atlântico Sudeste e o Atlântico Sul, propiciando um maior fluxo gênico do que o encontrado. Além disso, o litoral de São Paulo está mais relacionado filogeneticamente à região do Paraná do que à própria região do Atlântico Sudeste. Esses resultados são coerentes com a falta de adequabilidade ambiental no sul do Rio de Janeiro, região da Serra da Bocaina, o que dificulta a dispersão entre o litoral de São Paulo e o litoral do Rio de Janeiro. De acordo com os dados de adequabilidade do passado, essa área de baixa adequabilidade no sul do Rio de Janeiro estava presente também no LGM e no LIG (Fig. 15). Por causa disso a bacia do Atlântico Sul e litoral de São Paulo tem maior fluxo gênico, e conseqüente semelhança filogeográfica, com a bacia do Paraná do que com a do Atlântico Sudeste. Essa área de baixa adequabilidade ambiental que poderia também ter acompanhado a redução do nível do mar e avançado em direção ao litoral no LGM, evitando as trocas genéticas entre essas regiões.

Sobre a quarta rota, entre o São Francisco e o Atlântico Leste usando o rio Jequitinhonha (Conexão 8, Fig. 14), não há dados de literatura que sustentem uma ligação entre esses dois cursos numa época mais recente, dentro do Pleistoceno. Há poucos estudos sobre o levantamento de ictiofauna realizados no Jequitinhonha e seus tributários (Andrade-Neto 2009). Com isso a falta de dados impede a confirmação sobre a possibilidade de essa rota existir.

Há ainda uma ligação entre a região hidrográfica do Paraná e a do Atlântico Sul e o litoral de São Paulo que não ficou evidenciada na análise de conectividade populacional (talvez pelo baixo número de amostras na região). Essa ligação ocorre entre o rio Iguaçu, tributário do Paranapanema (região do

Paraná) e o rio Ribeira de Iguape (região do Atlântico Sul) (Conexão 2, Fig. 14). O compartilhamento de fauna indica que a ligação pode ser também do Quaternário (Bizerrill e Lima 2000; Ingenito *et al.* 2004; Ribeiro 2006).

Existe uma ligação entre o rio Tiête (região do Paraná) e o rio Paraíba do Sul (região do Atlântico Sudeste) que explica a similaridade de ictiofauna entre esses rios (Conexão 3, Fig. 14). Contudo *N. squamipes* tem pouco fluxo gênico entre Paraná e o Atlântico Sudeste, exceto na região do litoral de São Paulo. A idade da ligação pode estar influenciando nesse caso. A ligação entre esses rios foi contemporânea à Formação Tremembé, com depósitos do Oligoceno Superior ou Mioceno Inferior (Gallego e Mesquita 2000; Vucetich e Ribeiro 2003), muito antes da diversificação de *Nectomys* que é do Pleistoceno. A ligação entre o Tiête e o Paraíba do Sul é antiga, mas outras ligações foram propostas entre o alto Tiête e o alto Paraíba do Sul que datam do Quaternário em que *N. squamipes* poderia ter usado (Ribeiro *et al.* 2006; Serra *et al.* 2007; Buckup 2011). A falta de fluxo gênico pode ser decorrente da falta de áreas com alta adequabilidade ambiental entre o Rio de Janeiro e São Paulo (Fig. 15). Além disso, o baixo número amostral dessas três regiões (São Paulo, Rio de Janeiro e na região hidrográfica do Atlântico Sul) podem explicar a falta de fluxo gênico.

A determinação de rotas de fluxo gênico do passado ou presente recente é importante para prever possíveis rotas de disseminação de *S. mansoni*, parasita responsável pela esquistossomose. Por *N. squamipes* ser um de seus hospedeiros naturais e por ele não ser afetado pelo parasita (D'Andrea *et al.* 2000), esse roedor pode levar esse platelminto para novas áreas que antes estavam livres da doença (Almeida *et al.* 2000; D'Andrea *et al.* 2000). Em

época de aquecimento global, pode-se prever que as populações de *N. squamipes* terão suas populações retraídas. Isso é o que indicam os resultados da modelagem, onde a área de adequabilidade ambiental atual é menor do que a do LGM, e genéticos, com um declínio do tamanho efetivo da população nos últimos 10 mil anos. Contudo, a degradação ambiental e o risco de extinção de algumas espécies de mamíferos semiaquáticos que competem com *N. squamipes* podem causar um aumento populacional nessa espécie (Galliez e Fernandez 2012). Dados de modelagem futura podem mostrar como *N. squamipes* pode reagir diante de um cenário pessimista e otimista de mudança climática, indicando rotas futuras também para a disseminação de *S. mansoni*.

Distribuição geográfica e hipótese biogeográfica para a origem de *N. squamipes*: Não é apenas estruturação genética de *N. squamipes* que é moldada pela hidrografia, mas sua distribuição geográfica também. *N. squamipes* ocorre em cinco regiões hidrográficas brasileiras (Paraná, Atlântico Sul, Atlântico Sudeste, Atlântico Leste e São Francisco). Nas regiões adjacentes a essas cinco (Atlântico Nordeste Oriental, Parnaíba, Tocantins e Paraguai) ocorre outra espécie, *Nectomys rattus*. Existem dados na literatura que indicam a presença de *N. squamipes* no norte do rio São Francisco, na região do Atlântico Nordeste Oriental (Bonvicino *et al.* 2008; Asfora 2011). Contudo, os dados genéticos e de cariótipo de alguns espécimes mostraram que indivíduos classificados como *N. squamipes* são na verdade *Nectomys rattus* (Asfora, com. pess.). *N. rattus* é uma espécie críptica, que só pode ser diferenciada de *N. squamipes* pelo cariótipo e por dados genéticos (Bonvicino 1994; Bonvicino *et al.* 1996). Mais dados da região Atlântico Nordeste Oriental

devem ser avaliados para delimitar a distribuição dessas duas espécies na região.

Estudando a distribuição de pequenos mamíferos nas bacias do rio Araguaia (região hidrográfica do Tocantins) e do rio Paraná, Cárceres *et al.* (2008) encontraram *N. rattus* e *N. squamipes* com distribuição parapátrica. Segundo esses autores, o limite de distribuição das espécies coincide com as bacias do Araguaia (*N. rattus*) e do Paraná (*N. squamipes*). Isso confirma que a hidrografia também é importante para a distribuição de outras espécies do gênero e não só para *N. squamipes*. Claro que os limites de distribuição das espécies entre regiões hidrográficas não são perfeitos. No presente estudo, por exemplo, há uma amostra de *N. squamipes* na região do Paraguai, onde se esperaria a ocorrência de *N. rattus*, com localidade e sequência adquiridas no *Genbank* (Localidade 50, Fig. 1).

A subfamília Sigmodontinae invadiu a América do Sul durante o Grande Intercâmbio Americano no fim do Mioceno (Marshall *et al.* 1979; Engel *et al.* 1998) ou antes disso, quando o Istmo do Panamá não estava completo, a partir de ilhas, por volta de 9 milhões de anos atrás (Parada *et al.* 2012) ou 20 milhões de anos atrás (Hershkovitz 1966; Reig 1978). Uma vez na América do Sul, eles se diversificaram e se tornaram um dos grupos mais diversos de mamíferos (Schenk *et al.* 2013).

A provável origem do gênero *Nectomys* é no norte da América do Sul, na região Amazônica, onde três das cinco espécies descritas se encontram (*N. rattus*, *N. apicalis* e *N. magdalenae*) e também onde está distribuído o grupo-

irmão de *Nectomys*, *Amphinectomys* (Weskler 2006; Machado *et al.* 2014) que vive na Amazônia peruana, próximo aos Andes (Pacheco *et al.* 2008).

A partir de sua origem no norte da América do Sul, as populações ancestrais de *Nectomys* se espalharam pelo continente e uma população ancestral de *N. squamipes* conseguiu chegar à região da Mata Atlântica. Essa chegada poderia ter acontecido por três caminhos, já que existe uma politomia basal na filogenia da espécie: pelo norte, pela região hidrográfica do rio São Francisco e a do Atlântico Nordeste Oriental ou Parnaíba; pela região central do Brasil entre a região hidrográfica do rio São Francisco e a do Tocantins; pela ligação da região hidrográfica da Amazônia com a região do Paraná através da região hidrográfica do Paraguai (Conexão 1; Fig. 14). Apesar de existirem trabalhos que indicam a ligação recente entre os dois primeiros caminhos (Atlântico Nordeste/Parnaíba - São Francisco por Rosa *et al.* 2005; Tocantins - São Francisco por Lima e Caires 2011), a terceira hipótese parece ser mais plausível, já que as áreas no sul do Brasil foram mais adequadas para a ocorrência das espécies em períodos mais quentes e úmidos como o final do Plioceno e início do Pleistoceno. Além disso, há trabalhos que indicam uma ligação hidrográfica entre as regiões do Paraguai-Paraná com a Amazônia (Carvalho e Albert 2011) e também uma ligação entre a fauna de mamíferos entre a Amazônia e a Mata Atlântica por essa região (Costa 2003; Silva *et al.* 2012).

Nectomys squamipes provavelmente começou a sua expansão a partir da região hidrográfica do Paraná e passou para as demais regiões hidrográficas no Pleistoceno Médio, segundo a datação. Para isso, as populações ancestrais utilizaram para facilitar a dispersão: (i) as recorrentes glaciações do período; (ii)

as ligações em entre as regiões hidrográficas; (iii) as oscilações do nível do mar. Os períodos glaciais e interglaciais cíclicos do Quaternário teriam causado expansões e reduções da população, em resposta a cada ciclo, como indicam os dados de modelagem e genética (Fig. 16). Isso e o fluxo gênico entre as regiões hidrográficas teria contribuído para a homogeneidade genética da espécie.

Conclusões

Nectomys squamipes apresenta uma estruturação genética coerente com as regiões hidrográficas, com três clados representando essas regiões (Atlântico Sudeste, Atlântico Leste e Paraná + Atlântico Sul) e com representantes do São Francisco distribuídos pelos três clados, indicando uma colonização recente dessa região. Essa espécie surgiu e se diversificou no Pleistoceno, tendo sofrido contrações e expansões populacionais oriundas das oscilações climáticas do Quaternário, que resultaram em baixa divergência genética intra- e interespecífica. A preferência por ocupar rios estreitos com pouco fluxo de água e com pouca vegetação ripária poderiam promover um aumento na dispersão e consequente fluxo gênico de *N. squamipes* entre regiões hidrográficas durante as glaciações. O fluxo gênico entre indivíduos de regiões hidrográficas diferentes ocorreu em áreas pontuais, utilizando alguns rios para isso, como o Doce, o Jequitinhonha, o Preto e o Grande, e foi mais comum do que os trabalhos ecológicos sugeriram.

O tamanho efetivo da população e a dispersão de *N. squamipes* aumentaram no último máximo glacial (LGM), o inverso do que se esperaria de uma espécie florestal pelo modelo dos refúgios pleistocênicos. O modelo de isolamento por montanhas é o que melhor se encaixa na estruturação filogeográfica encontrada em *N. squamipes*.

A redução das áreas propícias para a ocorrência de *N. squamipes* e o deslocamento para o sul aconteceu no período mais quente, no último interglacial (LIG), há 120-140 mil anos. Esse processo criou três áreas que são geográfica e temporalmente coerentes com os clados encontrados nas árvores filogenéticas e com os agrupamentos das redes de haplótipos. Climas mais

quentes e úmidos parecem causar a retração das populações enquanto o clima frio e seco parece favorecê-las.

As regiões hidrográficas tendem a isolar as populações de *N. squamipes*, enquanto o fluxo gênico e as oscilações climáticas do Quaternário favorecem a homogeneidade genética. Como o fluxo gênico é irregular, ocorrendo mais entre algumas bacias do que entre outras, essa homogeneidade não foi suficiente para apagar o efeito do isolamento das regiões hidrográficas no padrão filogeográfico da espécie.

Literatura Citada

- Abell R, Thieme ML, Revenga C, Bryer M, Kottelat M, Bogutskaya N, Coad B, Mandrak N, Balderas SC, Bussing W, Stiassny MLJ, Skelton P, Allen GR, Unmack P, Naseka A, Rebecca NG, Sindorf N, Robertson J, Armijo E, Higgins JV, Heibel TJ, Wikramanayake E, Olson D, López HL, Reis RE, Lundberg JG, Pérez MHS, Petry, P (2008) Freshwater ecoregions of the world: a new map of biogeographic units for freshwater biodiversity conservation. *BioScience*, **58**, 403-414.
- Almeida FC, Maroja LS, Moreira MAM, Seuánez HN, Cerqueira R (2005) Population structure and genetic variability of mainland and insular populations of the Neotropical water rat, *Nectomys squamipes*. *Genetics and molecular Biology*, **28**, 693-699.
- Almeida FC, Moreira MAM, Bonvicino CR, Cerqueira R (2000) RAPD analysis of *Nectomys squamipes* (Rodentia, Sigmodontinae) populations. *Genetics and Molecular Biology*, **23**, 793-797.
- Andrade-Neto FR (2009) Estado atual do conhecimento sobre a fauna de peixes da bacia do Jequitinhonha. *MG.Biota*, **2**, 23-35.
- Antonelli A, Sanmartin I (2011) Why are there so many plant species in the Neotropics? *Taxon*, **60**, 403–414.
- Araújo MB, Guisan A (2006) Five (or so) challenges for species distribution modeling. *Journal of Biogeography*, **33**, 1677-1688.
- Asfora PH (2011) *Diversidade, diferenciação e biogeografia de pequenos mamíferos não-voadores na Mata Atlântica ao norte do rio São Francisco – Centro de Endemismo Pernambuco*. Tese de Doutorado, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.
- Avise JC (2009) Phylogeography: retrospect and prospect. *Journal of Biogeography*, **36**, 3-15.
- Avise JC, Arnold J, Ball RM, Jr Birmingham E, Lamb T, Neigel JE, Reeb CA, Saunders NC (1987) Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **18**, 489–522.
- Bandelt HJ, Forster P, Röhl A (1999) Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*, **16**, 37-48.
- Barbosa AM, Real R, Olivero J, Vargas JM (2003) Otter (*Lutra lutra*) distribution modeling at two resolution scales suited to conservation planning in the Iberian Peninsula. *Biological Conservation*, **114**, 377-387.

- Barbosa AM, Real R, Vargas JM (2009) Transferability of environmental favourability models in geographic space: The case of the Iberian desman (*Galemys pyrenaicus*) in Portugal and Spain. *Ecological Modelling*, **220**, 747-754.
- Barbosa LM (2012) *Filogenia e identificação de roedores Sigmodontinae através de marcadores moleculares: avaliação do código de barras de DNA*. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- Bastos EGM, Araújo AFB, Silva HR (2005) Records of the rattlesnakes *Crotalus durissus terrificus* (Laurenti) (Serpentes, Viperidae) in the state of Rio de Janeiro, Brazil: a possible case of invasion facilitated by deforestation. *Revista Brasileira de Zoologia*, **22**, 812-815.
- Benson DA, Karsch-Mizrachi I, Lipman DJ, Ostell J, Wheeler DL (2004) GenBank. *Nucleic Acids Research*, **33**, D34–D38.
- Bergallo HG, Magnusson WE (2004) Factors affecting the use of space by two rodent species in Brazilian Atlantic forest. *Mammalia*, **68**, 121-232.
- Bizerril CRSF, Lima NRW (2000) Levantamento da ictiofauna da bacia do rio Ribeira de Iguape, Brasil. *Acta Biologica Leopoldensia*, **22**, 103–110.
- Bonecker ST, Portugal LG, Costa-Neto SF, Gentile R (2009) A long term study of small mammal populations in a Brazilian agricultural landscape. *Mammalian Biology*, **74**, 467–477.
- Bonvicino CR (1994) *Especiação do rato d'água Nectomys squamipes (Rodentia, Cricetidae). Abordagem cariológica, morfológica e geográfica*. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.
- Bonvicino CR, D'Andrea PS, Cerqueira R, Seuánez HN (1996) The chromosomes of *Nectomys* (Rodentia, Cricetidae) with 2n= 52, 2n= 56, and interspecific hybrids (2n= 54). *Cytogenetic and Genome Research*, **73**, 190-193.
- Bonvicino CR, Oliviera JA, D'Andrea PS (2008) *Guia dos roedores do Brasil, com chaves para gêneros baseados nos caracteres externos*. Centro Pan-Americano de Febre Aftosa – OPAS/OMS, Rio de Janeiro.
- Brants A (1827) *Het geslacht der muizen door Linnaeus opgesteld: volgens de tegenswoordige toestand der wetenschap in familien, geslachten en soorten verdeeld*. Berlijn, Akademische boekdrukkery.
- Brown JH, Lomolino MV (1998) Glaciação e dinâmica biogeográfica do Pleistoceno. In: *Biogeografia* (ed. Brown JH, Lomolino MV), pp. 177-219. Ribeirão Preto, FUNPEC-Editora.
- Bruford MW, Hanotte O, Brookfield JFY, Burke T (1992) Single-locus and DNA fingerprinting. In: *Molecular genetics analyses of populations: A Practical Approach* (ed. Hoelzel AR), pp. 225–269. Oxford, IRL Press.

- Brunes TO, Sequeira F, Haddad CF, Alexandrino J (2010) Gene and species trees of a Neotropical group of treefrogs: genetic diversification in the Brazilian Atlantic Forest and the origin of a polyploid species. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **57**, 1120-1133.
- Buckup PA (2011) The eastern Brazilian Shield. In: *Historical biogeography of Neotropical freshwater fishes* (eds. Albert JS & Reis RE), pp. 203-213, Berkeley and Los Angeles, University of California Press, Ltd.
- Bush MB, Oliveira PED (2006) The rise and fall of the Refugial Hypothesis of Amazonian speciation: a paleoecological perspective. *Biota Neotropica*, **6**. Disponível em: <<http://www.biotaneotropica.org.br/v6n1/pt/abstract?point-of-view+bn00106012006>>.
- Cabanne GS, d'Horta FM, Sari EHR, Santos FR, Miyaki CY (2008) Nuclear and mitochondrial phylogeography of the Atlantic forest endemic *Xiphorhynchus fuscus* (Aves: Dendrocolaptidae): Biogeography and systematics implications. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **49**, 760-773.
- Cabanne GS, Santos FR, Miyaki CY (2007) Phylogeography of *Xiphorhynchus fuscus* (Passeriformes, Dendrocolaptidae): vicariance and recent demographic expansion in southern Atlantic forest. *Biological Journal of the Linnean Society*, **91**, 73–84.
- Cáceres NC, Casella J, Vargas CF, Prates LZ, Tombini AAM, Goulart CS, Lopes WH (2008) Distribuição geográfica de pequenos mamíferos não voadores nas bacias dos rios Araguaia e Paraná, região centro-sul do Brasil. *Iheringia. Série Zoologia*, **98**, 173-180.
- Carmignotto AP (2004) *Pequenos mamíferos terrestres do bioma Cerrado: padrões faunísticos locais e regionais*. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Carnaval ACOQ, Hickerson MJ, Haddad CFB, Rodrigues MT, Moritz C (2009) Stability predicts genetic diversity in the Brazilian Atlantic Forest hotspot. *Science*, **323**, 785 – 789.
- Carnaval ACOQ, Moritz C (2008) Historical climate modeling predicts patterns of current biodiversity in the Brazilian Atlantic Forest. *Journal of Biogeography*, **35**, 1187–1201.
- Carvalho TP, Albert JS (2011) The Amazon-Paraguay Divide. In: *Historical biogeography of Neotropical freshwater fishes* (eds. Albert JS & Reis RE), pp. 193-202, Berkeley and Los Angeles, University of California Press, Ltd.

- Centeno-Cuadros A, Delibes M, Godoy JA (2009) Phylogeography of Southern Water Vole (*Arvicola sapidus*): evidence for refugia within the Iberian glacial refugium? *Molecular Ecology*, **18**, 3652-3667.
- Chan LM, Brown JL, Yoder AN (2011) Integrating statistical genetic and geospatial methods brings new power to phylogeography. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **59**, 523-537.
- Cirignoli S, Galliari CA, Pardiñas UFJ, Podestá DH, Abramson R (2011) Mamíferos de la Reserva Valle del Cuña Pirú, Misiones, Argentina. *Mastozoología Neotropical*, **18**, 25-43.
- Clapperton CM (1993) Nature of environmental changes in South America at the Last Glacial Maximum. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, **101**, 189-208.
- Cohen KM, Gibbard PL (2011) Regional chronostratigraphical correlation table for the last 270,000 years Europe north of the Mediterranean. In: *XVIII INQUA congress*, Bern, Switzerland, 21st–27th July.
- Costa LP (2003) The historical bridge between the Amazon and the Atlantic Forest of Brazil: a study of molecular phylogeography with small mammals. *Journal of Biogeography*, **30**, 71-86.
- Costa LP, Leite YLR (2012) Historical fragmentation shaping vertebrate diversification in the Atlantic Forest biodiversity hotspot. In: *Bones, clones, and biomes: the history and geography of recent Neotropical mammals* (eds. Patterson BD, Costa LP), pp 283-306, Chicago, IL, The University of Chicago Press.
- Cunha AA, Rajão H (2007) Mamíferos terrestres e aves da Terra Indígena Sapukai (Aldeia Guarani do Bracui), Angra dos Reis, RJ, Brasil. *Boletim do Museu de Biologia Mello Leitão (Nova Série)*, **21**, 19-34.
- D'Andrea PS, Horta C, Cerqueira R, Rey L (1996) Breeding of the water rat (*Nectomys squamipes*) in the laboratory. *Laboratory Animals*, **30**, 369-376.
- D'Andrea PS, Maroja LS, Gentile R, Cerqueira R, Maldonado Jr A, Rey L (2000) The parasitism of *Schistosoma mansoni* (Digenea - Trematoda) in a naturally infected population of water rats, *Nectomys squamipes* (Rodentia - Sigmodontinae) in Brazil. *Parasitology*, **120**, 573-582.
- D'Andrea PS, Fernandes FA, Cerqueira R, Rey L (2002) Experimental evidence and ecological perspectives for the adaptation of *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907 (Digenea: Schistosomatidae) to a wild host, the water-rat, *Nectomys squamipes* Brants, 1827 (Rodentia: Sigmodontinae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, **97**, 11-14.

- Darriba D, Taboada GL, Doallo R, Posada D (2012) jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods*, **9**, 772.
- De Andrade Costa BM, Geise L, Pereira LG, Costa LP (2011) Phylogeography of *Rhipidomys* (Rodentia: Cricetidae: Sigmodontinae) and description of two new species from southeastern Brazil. *Journal of Mammalogy*, **92**, 945-962.
- Ditchfield AD (2000) The comparative phylogeography of Neotropical mammals: patterns of intraspecific mitochondrial DNA variation among bats contrasted to nonvolant small mammals. *Molecular Ecology*, **9**, 1307-1318.
- Douzery E, Randi E (1997) The mitochondrial control region of Cervidae: Evolutionary patterns and phylogenetic content. *Molecular Biology and Evolution*, **14**, 1154-1166.
- Drummond AJ, Rambaut A (2007) BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC Evolutionary Biology*, **7**, 214.
- Ducroz JF, Stubbe M, Saveljev AP, Heidecke D, Samjaa R, Ulevičius A, Stubbe A, Durka W (2005) Genetic variation and population structure of the Eurasian beaver *Castor fiber* in Eastern Europe and Asia. *Journal of Mammalogy*, **86**, 1059-1067.
- Durka W, Babik W, Ducroz JF, Heidecke D, Rosell F, Samjaa R, Saveljev AP, Stubbe A, Ulevičius A, Stubbe M (2005) Mitochondrial phylogeography of the Eurasian beaver *Castor fiber* L. *Molecular Ecology*, **14**, 3843-3856.
- Elton C (1927) *Animal ecology*. London, Sidgwick and Jackson.
- Endler JA (1977) *Geographic variation, speciation and clines*. Princeton, NJ, Princeton University Press.
- Engel S, Hogan K, Taylor J, Davis S (1998) Molecular systematics and paleobiogeography of the South American sigmodontine rodents. *Molecular Biology and Evolution*, **15**, 35-49.
- Ernest KA, Mares MA (1986) Ecology of *Nectomys squamipes*, the Neotropical water rat, in central Brazil: home range, habitat selection, reproduction and behavior. *Journal of Zoology*, **210**, 599-612.
- Ersts PJ (2013) Geographic Distance Matrix Generator (version 1.2.3). American Museum of Natural History, Center for Biodiversity and Conservation. Disponível em: <http://biodiversityinformatics.amnh.org/open_source/gdmg>.
- ESRI (2011) *ArcGIS Desktop: Release 10*. Redlands, CA: Environmental Systems Research Institute.
- Excoffier L, Lischer HEL (2010) Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, **10**, 564-567.

- Fitzpatrick SW, Brasileiro CA, Haddad CF, Zamudio KR (2009) Geographical variation in genetic structure of an Atlantic Coastal Forest frog reveals regional differences in habitat stability. *Molecular Ecology*, **18**, 2877-2896.
- Freckleton RP, Harvey PH, Pagel M (2002) Phylogenetic analysis and comparative data: a test and review of evidence. *The American Naturalist*, **160**, 712–726.
- Frew RD, Dennis PF, Heywood KJ, Meredith MP, Boswell SM (2000) The oxygen isotope composition of water masses in the northern North Atlantic. *Deep-Sea Research I*, **47**, 2265-2286.
- Fullerton AH, Burnett KM, Steel EA, Flitcroft RL, Pess GR, Feist BE, Torgersen CE, Miller DJ, Sanderson BL (2010) Hydrological connectivity for riverine fish: measurement challenges and research opportunities. *Freshwater Biology*, **55**, 2215-2237.
- Gallego OF, Mesquita MV (2000) First record of Oligocene conchostracans (Tremembé formation, Taubaté Basin) from São Paulo, Brazil. *Journal of South American Earth Sciences*, **13**, 685-692.
- Galliez M (2012) *Diversidade dos mamíferos semiaquáticos e pequenos mamíferos semiaquáticos da Mata Atlântica como estudo de caso sobre seleção de habitat*. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.
- Galliez M, Fernandez FA (2012) Spatial segregation between the water opossum *Chironectes minimus* and the water rat *Nectomys squamipes*: Just competition avoidance or a conservation problem as well?. *Mammalian Biology*, **77**, 447-450.
- Galliez M, Leite MS, Queiroz TL, Fernandez FAS (2009) Ecology of the water opossum *Chironectes minimus* in Atlantic forest streams of southeastern Brazil. *Journal of Mammalogy*, **90**, 93-103.
- Geise L, Pereira LG, Bossi DPE, Bergallo HG (2004) Pattern of elevational distribution and richness of non volant mammals in Itatiaia National Park and its surroundings, in southeastern Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, **64**, 599-612.
- Gentile R, D'Andrea PS, Cerqueira R, Maroja LS (2000) Population dynamics and reproduction of marsupials and rodents in a Brazilian rural área: a five-year study. *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, **35**: 1-9
- Giannini TC, Siqueira MF, Acosta AL, Barreto FCC, Saraiva AM, Alves-dos-Santos I (2012) Desafios atuais da modelagem preditiva de distribuição de espécies. *Rodriguésia-Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro*, **63**.
- Grazziotin FG, Monzel M, Echeverrigaray S, Bonatto SL (2006) Phylogeography of the *Bothrops jararaca* complex (Serpentes: Viperidae): past fragmentation and island colonization in the Brazilian Atlantic Forest. *Molecular Ecology*, **15**, 3969-3982.
- Grinnell J (1917) The niche-relationship of the California thrasher. *Auk*, **34**, 427-433.

- Guilderson TP, Fairbanks RG, Rubenstone JL (1994) Tropical temperature variations since 20,000 years ago: modulating interhemispheric climate change. *Science*, **263**, 663–665.
- Guindon S, Gascuel O (2003) A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood. *Systematic Biology*, **52**, 696-704.
- Guisan A, Zimmermann NE (2000) Predictive habitat distribution models in ecology. *Ecological Modelling*, **135**, 147–186.
- Haffer J (1969) Speciation in Amazonian forest birds. *Science*, **165**, 131–137.
- Hammer Ø, Harper DAT, Ryan PD. (2001) Past: paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica*, **4**, 1. Disponível em: <http://palaeo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm>.
- Hawkins BA, Diniz-Filho JAF, Jaramillo CA, Soeller SA (2006) Post-Eocene climate change, niche conservatism, and the latitudinal diversity gradient of New World birds. *Journal of Biogeography*, **33**, 770-780.
- Hershkovitz P (1944) A systematic review of the Neotropical water rats of the genus *Nectomys* (Cricetinae). *Miscellaneous Publications Museum of Zoology University of Michigan*, **58**, 1-88.
- Hershkovitz P (1966) South American swamp and fossorial rats of the scapteromyine group (Cricetinae, Muridae) with comments on the glans penis in murid taxonomy. *Zeitschrift für Säugetierkunde*, **31**, 81-149.
- Hijmans RJ, Cameron SE; Parra JL; Jones PG; Jarvis A (2005) Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. *International Journal of Climatology*, **25**, 1965–1978.
- Hoorn C, Wesselingh FP, ter Steege H, Bermudez MA, Mora A, Sevink J, Sanmartín I, Sanchez-Meseguer A, Anderson CL, Figueiredo JP, Jaramillo C, Riff D, Negri FR, Hooghiemstra H, Lundberg J, Stadler T, Särkinen T, Antonelli A (2010) Amazonia through time: Andean uplift, climate change, landscape evolution and biodiversity. *Science*, **330**, 927–931.
- Hubert N, Renno JF (2006) Historical biogeography of South American freshwater fishes. *Journal of Biogeography*, **33**, 1414-1436.
- Huchinson DW, Templeton AR (1999) Correlation of pairwise genetic and geographic distance measures: Inferring the relative influences of gene flow and drift on the distribution of genetic variability. *Evolution*, **53**, 1898-1914.
- Huchon D, Delsuc F, Catzeflis FM, Douzery EJP (1999) Armadillos exhibit less genetic polymorphism in North America than in South America: nuclear and mitochondrial data confirm a founder effect in *Dasyus novemcinctus* (Xenarthra). *Molecular Ecology*, **8**, 1743-1748.

- Hutchinson GE (1957) Concluding remarks. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, **22**, 145–159.
- Igea J, Aymerich P, Fernández-González A, González-Esteban J, Gómez A, Alonso R, Gosálbez J, Castresana J (2013) Phylogeography and postglacial expansion of the endangered semi-aquatic mammal *Galemys pyrenaicus*. *BMC evolutionary biology*, **13**, 115.
- Indorf JL (2010) Phylogeography of the marsh rice rat (*Oryzomys palustris*) in wetlands of the southeastern United States. PhD dissertation, University of Miami, Coral Gables.
- Ingenito LFS, Duboc LF, Abilhoa V (2004) Contribuição ao conhecimento da ictiofauna do alto rio Iguaçu, Paraná, Brasil. *Arquivos de ciências veterinárias e zoologia da UNIPAR*, **7**, 23–36.
- Jakob SS, Martinez-Meyer E, Blattner FR (2009) Phylogeographic analyses and paleodistribution modeling indicate pleistocene in situ survival of *Hordeum* species (Poaceae) in southern patagonia without genetic or spatial restriction. *Molecular Biology and Evolution*, **26**, 907–923.
- Jiménez-Valverde A, Lobo JM, Hortal J (2008) Not as good as they seem: the importance of concepts in species distribution modeling. *Diversity and Distributions*, **14**, 885-890.
- Koenig WD, Vuren DV and Hooge PN (1996) Detectability, phylopatry, and the distribution of dispersal distances in vertebrates. *Trends in Ecology & Evolution*, **11**, 514-517.
- Kozak KH, Wiens J (2006) Does niche conservatism promote speciation? A case study in North American salamanders. *Evolution*, **60**, 2604-2621.
- Lamb JM, Ralph TMC, Goodman SM, Bogdanowicz W, Fahr J, Gajewska M, Bates PJJ, Eger J, Benda P, Taylor PJ (2008) Phylogeography and predicted distribution of African-Arabian and Malagasy populations of giant mastiff bats, *Otomops* spp. (Chiroptera: Molossidae). *ActaChiropterologica*, **10**, 21-40.
- Lara MC, Geise L, Schneider CJ (2005) Diversification of small mammals in the Atlantic Forest of Brazil: testing the alternatives. In: *Mammalian diversification from chromosomes to phylogeography: a celebration of the career of James L. Patton* (eds Lacey EA & Myers P). Berkeley, University of California Press, 133, 311–333.
- Lara MC, Patton JL (2000) Evolutionary diversification of spiny rats (genus *Trinomys*, Rodentia: Echimyidae) in the Atlantic Forest of Brazil. *Zoological Journal of the Linnean Society*, **130**, 661–686.

- Larkin MA, Blackshields G, Brown NP, Chenna R, McGettigan PA, McWilliam H, Valentin F, Wallace IM, Wilm A, Lopez R, Thompson JD, Gibson TJ, Higgins DG (2007) Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinformatics*, **23**, 2947-2948.
- Ledru MP, Mourguiart P, Riccomini C (2009) Related changes in biodiversity, insolation and climate in the Atlantic rainforest since the last interglacial. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, **271**, 140-152.
- Lessa LG, Costa BMA, Rossoni DM, Tavares VC, Dias LG, Moraes EA, Silva JA (2008) Mamíferos da Cadeia do Espinhaço: riqueza, ameaças e estratégias para conservação. *Megadiversidade*, **4**, 218-232.
- Librado P, Rozas J (2009) DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, **25**, 1451-1452.
- Lima DO (2009) *Padrões espaciais e demográficos do rato d'água Nectomys squamipes em rios e mata ciliar na bacia do rio Águas Claras, Rio de Janeiro*. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.
- Lima FCT, Caires RA (2011) Peixes da Estação Ecológica Serra Geral do Tocantins, bacias dos Rios Tocantins e São Francisco, com observações sobre as implicações biogeográficas das “águas emendadas” dos Rios Sapão e Galheiros. *Biota Neotropica*, **11**, 1-20.
- Lundberg JG, Marshall LG, Guerrero J, Horton B, Malabarba MCSL, Wesselingh F (1998) The stage for Neotropical fish diversification: A history of tropical South American rivers. In: *Phylogeny and classification of Neotropical fishes* (eds. Malabarba LR, Reis RE, Vari RP, Lucena ZMS & Lucena CAS), pp 13–48, Porto Alegre, Edipucrs.
- Lyons SK, Wagner PJ, Dzikiewicz K (2010) Ecological correlates of range shifts of Late Pleistocene mammals. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, **365**, 3681-3693.
- Lyra Jorge MC, Pivello VR, Meirelles ST, Vivo M (2001) Riqueza e abundância de pequenos mamíferos em ambientes de cerrado e floresta, na Reserva Cerrado Pé-de-gigante, Parque Estadual de Vassununga (Santa Rita do Passa Quatro, SP). *Naturalia*, **26**, 287-302.
- Machado LF, Leite YLR, Christoff AU, Giugliano LG (2014) Phylogeny and biogeography of tetralophodont rodents of the tribe Oryzomyini (Cricetidae: Sigmodontinae). *Zoologica Scripta*, **43**, 119-130.
- Maldonado Jr, A, Machado e Silva JR, Rodrigues e Silva R, Lenzi HL, Rey L (1994) Evaluation of the resistance to *Schistosoma mansoni* infection in *Nectomys*

- squamipes*, a natural host of infection in Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, **36**, 193-198.
- Maldonado-Coelho M (2012) Climatic oscillations shape the phylogeographical structure of Atlantic Forest fire-eye antbirds (Aves: Thamnophilidae). *Biological Journal of the Linnean Society*, **105**, 900-924.
- Marin JC, Spotorno AE, Gonzalez BA, Bonacic C, Wheeler JC, Casey CS, Bruford MW, Palma E, Poulin E (2008) Mitochondrial DNA variation and systematics of the guanaco (*Lama guanicoe*, Artiodactyla: Camelidae). *Journal of Mammalogy*, **89**, 269–281
- Maroja LS, Almeida F, Seuanez H (2003) Genetic differentiation in geographically close populations of the water rat *Nectomys squamipes* (Rodentia, Sigmodontinae) from the Brazilian Atlantic Forest, Brazil. *Genetics and Molecular Biology*, **26**, 403-410.
- Marshall LG, Butler RF, Drake RE, Curtis GH, Tedford RH (1979) Calibration of the Great American Interchange. *Science*, **204**, 272–279.
- Martins FDM (2011) Historical biogeography of the Brazilian Atlantic forest and the Carnaval-Moritz model of Pleistocene refugia: what do phylogeographical studies tell us? *Biological Journal of the Linnean Society*, **104**, 499–509.
- Martins FM, Domingues MV (2011) Filogeografia. In: Biogeografia da América do Sul: padrões e processos (Eds Carvalho CJB & Almeida EAB), pp. 137-150, São Paulo, Roca Ltda.
- Menezes NA (1972) Distribuição e origem da fauna de peixes de água doce das grandes bacias fluviais do Brasil. *Poluição e Piscicultura - Notas sobre Poluição, Ictiologia e Piscicultura*. São Paulo, Faculdade de Saúde Pública da USP, Secretaria da Agricultura, Instituto de Pesca.
- Modenesi-Gauttieri MC, Hiruma ST, Riccomini C (2002) Morphotectonics of a high plateau on the northwestern flank of the Continental Rift of Southeastern Brazil. *Geomorphology*, **43**, 257–271.
- Modesto TC, Pessoa FS, Enricill MC, Attias N, Jordão-Nogueira T, Costa LM, Albuquerque HG, Bergallo HG (2008) Mamíferos do Parque Estadual do Desengano, Rio de Janeiro, Brasil. *Biota Neotropica*, **8**.
- Montoya-Burgos JI (2003) Historical biogeography of the catfish genus *Hypostomus* (Siluriformes: Loricariidae), with implications on the diversification of Neotropical ichthyofauna. *Molecular Ecology*, **12**, 1855–1867.
- Moreau RE (1966) *The bird faunas of Africa and its islands*. New York and London, Academic Press.

- Moreira DO, Mendes SL (2010) Diversidade de mamíferos em ecossistemas costeiros do estado do Espírito Santo. In: *Mamíferos de restingas e manguezais do Brasil* (Eds. Pessoa LM, Tavares WC & Siciliano S.), p. 59-74. Sociedade Brasileira de Mastozoologia, Rio de Janeiro.
- Mucci N, Arrendal J, Ansorge H, Bailey M, Bodner M, Delibes M, Ferrando A, Fournier P, Fournier C, Godoy JA, Hajkova P, Hauer S, Heggberget TM, Heidecke D, Kirjavainen H, Krueger HH, Kvaloy K, Lafontain L, Lanszki J, Lemarchand C, Liukko UM, Loeschcke V, Ludwig G, Madsen AB, Mercier L, Ozolins J, Paunovic M, Pertoldi C, Piriz A, Prigioni C, Santos-Reis M, Sales Luis T, Stjernberg T, Schmid H, Suchentrunk F, Teubner J, Tornberg R, Zinke O, Randi E (2010) Genetic diversity and landscape genetic structure of otter (*Lutra lutra*) populations in Europe. *Conservation Genetics*, **11**, 583-599.
- Musser GG, Carleton MD (2005) Superfamily Muroidea. In: *Mammal Species of the World, Third Edition* (eds. Wilson DE & Reeder DM), pp.894-1531, Baltimore, The Johns Hopkins University Press.
- Naxara LRC (2008) *Importância dos corredores ripários para a fauna - pequenos mamíferos em manchas de floresta, matriz do entorno e elementos lineares em uma paisagem fragmentada de Mata Atlântica*. Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- NEEM community members (2013) Eemian interglacial reconstructed from a Greenland folded ice core. *Nature*, **493**, 489-494.
- Olalla-Tárraga MA, McInnes L, Bini LM, Diniz-Filho JAF, Fritz SA, Hawkins BA, Hortal J, Orme CDL, Rahbek C, Rodríguez MA, Purvis A (2011) Climatic niche conservatism and the evolutionary dynamics in species range boundaries: global congruence across mammals and amphibians. *Journal of Biogeography*, **38**, 2237-2247.
- Ottaviani D, Panzacchi M, Jona Lasinio G, Genovesi P, Boitani L. (2009) Modelling semi-aquatic vertebrates' distribution at the drainage basin scale: The case of the otter *Lutra lutra* in Italy. *Ecological Modelling*, **220**, 111-121.
- Pacheco V, Zeballos H, Vivar E (2008) *Amphinectomys*. In: IUCN 2013. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2013.2. Disponível em: www.iucnredlist.org. Acessado em 20 de dezembro de 2013.
- Paglia AP, Da Fonseca GAB, Rylands AB, Herrmann G, Aguiar LMS, Chiarello AG, Leite YLR, Costa LP, Siciliano S, Kierulff MCM, Mendes SL, Tavares VC, Mittermeier RA, Patton JL (2012) Annotated Checklist of Brazilian Mammals. *Occasional Papers in Conservation Biology*, **6**.

- Palma ER, Rodríguez-Serrano E, Rivera-Milla E, Hernandez CE, Salazar-Bravo J, Carma MI, Belmar-Lucero S, Gutierrez-Tapia P, Zeballos H, Yates TL (2010) Phylogenetic relationships of the pygmy rice rats of the genus *Oligoryzomys* Bangs, 1900 (Rodentia, Sigmodontinae). *Zoological Journal of the Linnean Society*, **160**, 551–566.
- Parada A, Pardiñas UF, Salazar-Bravo J, D'Elía G, Palma RE (2012) Dating an impressive Neotropical radiation: Molecular time estimates for the Sigmodontinae (Rodentia) provide insights into its historical biogeography. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **66**, 960-968.
- Passamani M, Dalmaschio J, Lopes SA (2005) Mamíferos não-voadores em áreas com predomínio de Mata Atlântica da Samarco Mineração S.A., município de Anchieta, Espírito Santo. *Biotemas*, **18**, 135-149.
- Passamani M, Ribeiro D (2009) Small mammals in a fragment and adjacent matrix in southeastern Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, **69**, 305-309.
- Patton JL, Da Silva MNF, Malcolm JR (1996) Hierarchical genetic structure and gene flow in three sympatric species of Amazonian rodents. *Molecular Ecology*, **5**, 229-238.
- Pearson RG, Dawson TE (2003) Predicting the impacts of climate change on the distribution of species: are bioclimate envelope models useful? *Global Ecology and Biogeography*, **12**, 361–371.
- Pellegrino KCM, Rodrigues MI, Waite AN, Morando M, Yassuda YY, Sites JW (2005) Phylogeography and species limits in the *Gymnodactylus darwini* complex (Gekkonidae, Squamata): genetic structure coincides with river systems in the Brazilian Atlantic Forest. *Biological Journal of the Linnean Society*, **85**, 13–26.
- Pereira LG (2006) *Chapada Diamantina e Vale do Rio Jequitinhonha: Composição da mastofauna e estrutura microevolutiva de algumas populações de pequenos mamíferos*. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.
- Pereira LG, Geise L (2009) Non-flying mammals of Chapada Diamantina (Bahia, Brazil). *Biota Neotropica*, **9**, 185-196.
- Pessôa LM, Tavares WC, Gonçalves PR (2010) Mamíferos das restingas do macrocompartimento litorâneo da bacia de Campos, Rio de Janeiro. In: *Mamíferos de restingas e manguezais do Brasil* (Eds. Pessôa LM, Tavares WC & Siciliano S.), p. 95-125. Sociedade Brasileira de Mastozoologia, Rio de Janeiro.
- Peters FB, Roth PRO, Machado LF, Coelho EL, Jung DMH, Christoff AU (2010) Assembléia de mamíferos dos agroecossistemas constituintes da bacia hidrográfica do rio da Várzea, Rio Grande do Sul. *Biotemas*, **23**, 91-107.

- Peterson AT (2011) Ecological niche conservatism: a time-structured review of evidence. *Journal of Biogeography*, **38**, 817-827.
- Phillips S, Anderson R, Schapire R (2006) Maximum entropy modeling of species geographic distributions. *Ecological Modelling*, **190**, 231-259.
- Phillips, SJ (2008) Transferability, sample selection bias and background data in presence-only modelling: a response to Peterson et al. (2007). *Ecography*, **31**, 272-278.
- Pinheiro PS, Geise L (2008) Non-volant mammals of Picinguaba, Ubatuba, state of São Paulo, southeastern Brazil. *Boletim do Museu de Biologia Mello Leitão (Nova Série)*, **23**, 51-59.
- Pires AS, PK Lira, FAS Fernandez, GM Schittini, LC Oliveira (2011) Frequency of movements of small mammals among Atlantic Coastal Forest fragments in Brazil. *Biological Conservation*, **108**, 229-237.
- Quaglietta L, Fonseca VC, Hájková P, Mira A, Boitani L (2013) Fine-scale population genetic structure and short-range sex-biased dispersal in a solitary carnivore, *Lutra lutra*. *Journal of Mammalogy*, **94**, 561-671.
- R Development Core Team (2011) *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna. <http://www.R-project.org>.
- Reig AO (1978) Roedores cricétidos del Plioceno superior de la provincia de Buenos Aires (Argentina). *Publicación del Museo Municipal de Ciencias Naturales de Mar del Plata "Lorenzo Scaglia"*, **2**, 164-190.
- Resende HC, Yotoko KS, Delabie JH, Costa MA, Campiolo S, Tavares MG, Campos LAO, Fernandes-Salomão TM (2010) Pliocene and Pleistocene events shaping the genetic diversity within the central corridor of the Brazilian Atlantic Forest. *Biological Journal of the Linnean Society*, **101**, 949-960.
- Ribeiro AC (2006) Tectonic history and the biogeography of the freshwater fishes from the coastal drainages of eastern Brazil: An example of faunal evolution associated with a divergent continental margin. *Neotropical Ichthyology*, **4**, 225-246.
- Ribeiro AC, Lima FCT, Riccomini C, Menezes NA (2006) Fishes of the Atlantic Rainforest of Boracéia: Testimonies of the Quaternary fault reactivation within a Neoproterozoic tectonic province in Southeastern Brazil. *Ichthyological Exploration of Freshwaters*, **17**, 157-164.
- Ribeiro RA, Lemos JP, Ramos ACS, Lovato MB (2011) Phylogeography of the endangered rosewood *Dalbergia nigra* (Fabaceae): insights into the evolutionary history and conservation of the Brazilian Atlantic Forest. *Heredity*, **106**, 46-57.

- Ribeiro TTL (2001) *Efeito dos fatores ambientais na dinâmica populacional, reprodução e uso do espaço pelo rato d'água (Nectomys squamipes) em uma área de mata na Ilha Grande, RJ*. Dissertação de Mestrado, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.
- Richards CL, Carstens BC, Lacey Knowles L (2007) Distribution modelling and statistical phylogeography: an integrative framework for generating and testing alternative biogeographical hypotheses. *Journal of Biogeography*, **34**, 1833-1845.
- Rocha MF, Passamani M, Louzada J (2011) A Small Mammal Community in a Forest Fragment, Vegetation Corridor and Coffee Matrix System in the Brazilian Atlantic Forest. *PLoS One*, **6**, e23312.
- Rodrigues GB, Fauth G (2013) Isótopos estáveis de carbono e oxigênio em ostracodes do Cretáceo: metodologias, aplicações e desafios. *Terrae Didática*, **9**, 34-49.
- Ronquist F, Teslenko M, Mark P, Ayres DL, Darling A, Höhna S, Larget B, Liu L, Suchard MA, Huelsenbeck JP (2012) MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology*, **61**, 539-542.
- Rosa RS, Menezes NA, Britski HA, Costa WJEM, Groth F (2005) Diversidade, padrões de distribuição e conservação dos peixes da caatinga. In: *Ecologia e conservação de peixes da Caatinga* (eds. Leal IR, Tabarelli M & Silva JMC), p. 135-181. Recife, Editora Universitária UFPE.
- Rossetti DF, Bezerra FH, Góes AM, Valeriano MM, Andrades-Filho CO, Mittani JCR, Tatumi SH, Brito-Neves BB (2011) Late Quaternary sedimentation in the Paraíba Basin, Northeastern Brazil: landform, sea level and tectonics in Eastern South America passive margin. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, **300**, 191-204.
- Saadi A, Machette MN, Haller KM, Dart RL, Bradley L, Souza AMPD (2002) Map and database of Quaternary faults and lineaments in Brazil. U.S. Geological Survey, Open-File Report 02-230. Disponível em: <http://pubs.usgs.gov/of/2002/ofr-02-230/>.
- Schenk JJ, Rowe KC, Stepan SJ (2013) Ecological opportunity and incumbency in the diversification of repeated continental colonizations by muroid rodents. *Systematic Biology*, **62**, 837-864.
- Serra JP, Carvalho FR, Langeani F (2007) Ichthyofauna of the rio Itatinga in the Parque das Neblinas, Bertioga, São Paulo state: Composition and biogeography. *Biota Neotropica*, **7**, 81-86.
- Silva S, Moraes-Barros N, Ribas CC, Ferrand N, Morgante JS (2012) Divide to conquer: a complex pattern of biodiversity depicted by vertebrate components in

- the Brazilian Atlantic Forest. *Biological Journal of the Linnean Society*, **107**, 39-55.
- Slatkin M, Hudson RR (1991) Pairwise comparisons of mitochondrial DNA sequences in stable and exponentially growing populations. *Genetics*, **129**, 555–562.
- Smith MF, Patton JL (1993) Diversification of South American muroid rodents: evidence from mitochondrial DNA sequence data for the Akodontine tribe. *Biological Journal of the Linnean Society*, **50**, 149-177.
- Soberón J (2007) Grinnellian and Eltonian niches and geographic distributions of species. *Ecology letters*, **10**, 1115-1123.
- Soberón J, Nakamura M (2009) Niches and distributional areas: concepts, methods, and assumptions. *PNAS*, **106**: 19644-19650.
- Soberón J, Peterson AT (2005) Interpretation of models of fundamental ecological niches and species' distributional areas. *Biodiversity Informatics*, **2**, 1–10.
- Stein BR (1988) Morphology and allometry in several genera of semiaquatic rodents (*Ondatra*, *Nectomys*, and *Oryzomys*). *Journal of Mammalogy*, **69**, 500-511.
- Suguio KL, Martin ACS, Bittencourt JML, Dominguez J, Flexor M, Azevedo EAG (1985) Flutuações do nível relativo do mar durante o Quaternário superior ao longo do litoral brasileiro e suas implicações na sedimentação costeira. *Revista Brasileira de Geociências*, **15**, 273–286.
- Svenning JC, Fløjgaard C, Marske KA, Nógues-Bravo D, Normand S (2011) Applications of species distribution modeling to paleobiology. *Quaternary Science Reviews*, **30**, 2930-2947.
- Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, Kumar S (2011) MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular Biology and Evolution*, **28**, 2731-2739.
- Thomé MTC, Zamudio KR, Giovanelli JG, Haddad CF, Baldissera FA, Alexandrino J (2010) Phylogeography of endemic toads and post-Pliocene persistence of the Brazilian Atlantic Forest. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **55**, 1018-1031.
- Tonini JFR, Costa LP, Carnaval AC (2013) Phylogeographic structure is strong in the Atlantic Forest; predictive power of correlative paleodistribution models, not always. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, **51**, 114–121.
- Tonn WM (1990) Climate change and fish communities: A conceptual framework. *Transactions of the American Fisheries Society*, **119**, 337–352.

- Turchetto-Zolet AC, Pinheiro F, Salgueiro F, Palma-Silva C (2013). Phylogeographical patterns shed light on evolutionary process in South America. *Molecular Ecology*, **22**, 1193-1213.
- Umetsú F, Naxara L, Pardini R (2006) Evaluating the efficiency of pitfall traps for sampling small mammals in the neotropics. *Journal of Mammalogy*, **87**, 757-765.
- Valdez L, D'Elía G (2013) Differentiation in the Atlantic Forest: phylogeography of *Akodon montensis* (Rodentia, Sigmodontinae) and the Carnaval-Moritz model of Pleistocene refugia. *Journal of Mammalogy*, **94**, 911-922.
- Vaz VC, D'Andrea PS, Jansen AM (2007) Effects of habitat fragmentation on wild mammal infection by *Trypanosoma cruzi*. *Parasitology*, **134**, 1785-1793.
- Venturini AC, Ofranti AMS, Varejão JBM, Paz PR (1996) *Aves e mamíferos na restinga: Parque Estadual Paulo César Vinha – Setiba, Guarapari, ES*. Secretaria de Estado de Desenvolvimento Sustentável, Vitória.
- Vieira EM (1999) *Estudo comparativo de comunidades de pequenos mamíferos em duas áreas de Mata Atlântica situadas a diferentes altitudes no Sudeste do Brasil*. Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- Vucetich MG, Ribeiro AM (2003) A new and primitive rodent from the Tremembé formation (late Oligocene) of Brazil, with comments on the morphology of the lower premolars of caviomorph rodents. *Revista Brasileira de Paleontologia*, **5**, 73-82.
- Wallace AR (1852) On the monkeys of the Amazon. *Proceedings of the Zoological Society of London*, **20**, 107-110.
- Webb RS, Rind DH, Lehmann SJ, Healy RJ, Sigman D (1997) Influence of ocean heat transport on the climate of the Last Glacial Maximum. *Nature*, **385**, 695–699.
- Weksler M (2003) Phylogeny of Neotropical oryzomyine rodents (Muridae: Sigmodontinae) based on the nuclear IRBP exon. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **29**, 331-349.
- Wiens JJ, Graham CH (2005) Niche conservatism: integrating evolution, ecology, and conservation biology. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, **36**, 519-539.
- Wilkinson MJ, Marshall LG, Lundberg JG (2006) River behavior on megafans and potential influences on diversification and distribution of aquatic organisms. *Journal of South American Earth Sciences*, **21**, 151-172.
- Willis SC, Nunes M, Montana CG, Farias IP, Ortí G, Lovejoy NR (2010) The Casiquiare river acts as a corridor between the Amazonas and Orinoco river basins: biogeographic analysis of the genus *Cichla*. *Molecular Ecology*, **19**, 1014–1030.

- Wüster W, Ferguson JE, Quijada-Mascareñas A, Pook CE, Salomão MG, Thorpe RS (2005) Tracing an invasion: landbridges, refugia, and the phylogeography of the Neotropical rattlesnake (Serpentes: Viperidae: *Crotalus durissus*). *Molecular Ecology*, **14**, 1095–1108.
- Xia X (2013) DAMBE 5: A comprehensive software package for data analysis in molecular biology and evolution. *Molecular Biology and Evolution*, **30**, 1720-1728.
- Zwickl DJ (2006) *Genetic algorithm approaches for the phylogenetic analysis of large biological sequence datasets under the maximum likelihood criterion*. Ph.D. dissertation, The University of Texas, Austin.

TABELAS

Tabela 1: Distâncias genéticas (K2P) para os dois marcadores genéticos dentro e entre os clados encontrados nas árvores filogenéticas. Valores estão em percentagem (%). Os valores em *itálico* representam as distâncias de *Cit b* e os valores em **negrito** os de D-loop. CS: Clado Sul; CAL: Clado Atlântico Leste; CAS: Clado Atlântico Sudeste; N.A.: Não aplicável pela falta de amostras.

Grupo	Dentro dos Clados (<i>Cit b</i> - D-loop)	Entre os Clados						
		CS	CAL	CAS	<i>N. rattus</i>	<i>N. apicalis</i>	<i>N. squamipes</i>	Grupo Externo
Clado Sul	<i>1,1 - 1,87</i>	-	4,6	4,9	9,0	N.A.	-	28,3
Clado Atlântico Leste	<i>0,8 - 1,78</i>	<i>2,2</i>	-	4,0	7,8	N.A.	-	28,3
Clado Atlântico Sudeste	<i>0,6 - 1,75</i>	<i>2,0</i>	<i>1,9</i>	-	7,7	N.A.	-	26,7
<i>Nectomys rattus</i>	<i>2,1 - 7,0</i>	<i>3,6</i>	<i>3,3</i>	<i>3,2</i>	-	N.A.	9,1	30,0
<i>Nectomys apicalis</i>	<i>0,4 - N.A.</i>	<i>8,0</i>	<i>7,4</i>	<i>7,5</i>	<i>7,0</i>	-	N.A.	N.A.
<i>Nectomys squamipes</i>	<i>1,2 - 2,7</i>	-	-	-	<i>3,1</i>	<i>6,9</i>	-	27,9
Grupo Externo	<i>15,0 - 30,0</i>	<i>17,6</i>	<i>17,6</i>	<i>17,3</i>	<i>18,2</i>	<i>16,9</i>	<i>17,3</i>	-

Tabela 2: Distâncias genéticas (K2P) para os dois marcadores genéticos dentro e entre as regiões hidrográficas. Valores estão em percentagem (%). Os valores em *itálico* representam as distâncias de Cit b e os valores em **negrito** os de D-loop. Média: indica as médias das distâncias genéticas intrarregionais e interregionais. N.A.: Não aplicável pela falta de amostras.

	Dentro das Regiões (<i>Cit b</i> - D-loop)	Entre as Regiões					
		Paraná	Atlântico Leste	Atlântico Sudeste	São Francisco	Atlântico Sul	Paraguai
Paraná	<i>1,1 – 1,6</i>	-	4,0	4,1	3,2	1,7	N.A.
Atlântico Leste	<i>0,8 – 2,3</i>	<i>1,7</i>	-	2,5	4,0	3,9	N.A.
Atlântico Sudeste	<i>0,9 – 1,9</i>	<i>1,8</i>	<i>1,0</i>	-	4,1	4,2	N.A.
São Francisco	<i>1,4 – 4,0</i>	<i>1,5</i>	<i>1,5</i>	<i>1,7</i>	-	3,0	N.A.
Atlântico Sul	<i>0,0 – 0,5</i>	<i>1,2</i>	<i>1,9</i>	<i>1,9</i>	<i>1,4</i>	-	N.A.
Paraguai	N.A. - N.A.	<i>1,3</i>	<i>1,8</i>	<i>1,8</i>	<i>1,2</i>	<i>0,9</i>	-
Média	<i>0,8 - 2,0</i>			<i>1,5 – 3,5</i>			

Tabela 3: Índices básicos e testes de neutralidade para as regiões hidrográficas e clados dos dois marcadores genéticos. N = número de amostras; H = número de haplótipos; S = número de sítios segregantes; N.A.: não aplicável. Valores em negrito são significativos.

Marcador	Regiões Hidrográficas e Clados	Índices Básicos			Testes de Neutralidade					
		<i>n</i>	H	S	Fs de Fu	p-valor	R ₂	p-valor	D de Tajima	p-valor
Cit b	São Francisco	4	3	18	2,81	0,85	0,26	0,58	1,40	0,89
	Paraná	9	5	17	1,67	0,80	0,20	0,80	-0,87	0,20
	Atlântico Sul	3	1	8	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
	Atlântico Sudeste	41	19	25	-6,18	0,01	0,11	0,03	-1,76	0,01
	Atlântico Leste	20	10	28	0,31	0,58	0,11	0,35	0,05	0,36
	Clado Sul	14	7	19	1,08	0,70	0,14	0,52	0,09	0,57
	Clado Atlântico Sudeste	55	22	31	-9,45	0,00	0,05	0,02	-1,48	0,04
	Clado Atlântico Leste	8	7	13	-2,37	0,05	0,13	0,14	-0,88	0,22
	<i>Nectomys squamipes</i>	77	36	63	-10,88	0,01	0,06	0,11	-1,07	0,13
D-loop	São Francisco	7	6	38	1,05	0,60	0,18	0,50	0,34	0,64
	Paraná	12	5	26	3,49	0,93	0,12	0,23	-0,66	0,28
	Atlântico Sul	4	2	4	2,20	0,82	0,24	1,00	-0,78	0,22
	Atlântico Sudeste	82	35	51	-10,53	0,00	0,09	0,23	-0,80	0,25
	Atlântico Leste	43	23	44	-3,88	0,10	0,09	0,35	-0,33	0,39
	Clado Sul	20	10	28	-0,12	0,51	0,12	0,42	-0,81	0,24
	Clado Atlântico Sudeste	118	51	52	-24,49	0,00	0,07	0,25	0,51	0,27
	Clado Atlântico Leste	10	8	21	-1,20	0,23	0,13	0,22	-0,40	0,35
	<i>Nectomys squamipes</i>	148	69	80	-24,20	0,00	0,07	0,28	-0,70	0,27

Tabela 4: Valores de F_{st} entre as diferentes regiões hidrográficas com ocorrência de *N. squamipes* na Mata Atlântica para os dois marcadores genéticos. Os valores em itálico representam os F_{st} do Cit b e os valores em negrito os de D-loop.

	São Francisco	Paraná	Atlântico Sul	Atlântico Sudeste	Atlântico Leste
São Francisco	-	0,16	0,18	0,40	0,29
Paraná	<i>0,27</i>	-	0,29	0,53	0,46
Atlântico Sul	<i>0,41</i>	<i>0,46</i>	-	0,62	0,55
Atlântico Sudeste	<i>0,54</i>	<i>0,64</i>	<i>0,74</i>	-	0,18
Atlântico Leste	<i>0,25</i>	<i>0,49</i>	<i>0,60</i>	<i>0,23</i>	-

Tabela 5: Valores da análise da variância molecular (AMOVA) considerando regiões hidrográficas e as 50 localidades amostradas com ocorrência de *N. squamipes* na Mata Atlântica (Fig. 1) para os dois marcadores moleculares.

	Fonte da Variação	Variação (%)	Variância dos Componentes	Índices de Fixação	p-valor
Cit b	Entre as Regiões	36,40	1,86879 Va	F_{SC} : 0,88498	<0,01
	Entre Localidades dentro das Regiões	56,29	2,89007 Vb	F_{ST} : 0,92685	<0,01
	Entre Localidades	7,32	0,7561 Vc	F_{CT} : 0,36397	<0,01
D-loop	Entre as Regiões	24,36	1,56729 Va	F_{SC} : 0,67323	<0,01
	Entre Localidades dentro das Regiões	50,92	3,27664 Vb	F_{ST} : 0,75283	<0,01
	Entre Localidades	24,72	1,59039 Vc	F_{CT} : 0,24358	<0,01

FIGURAS

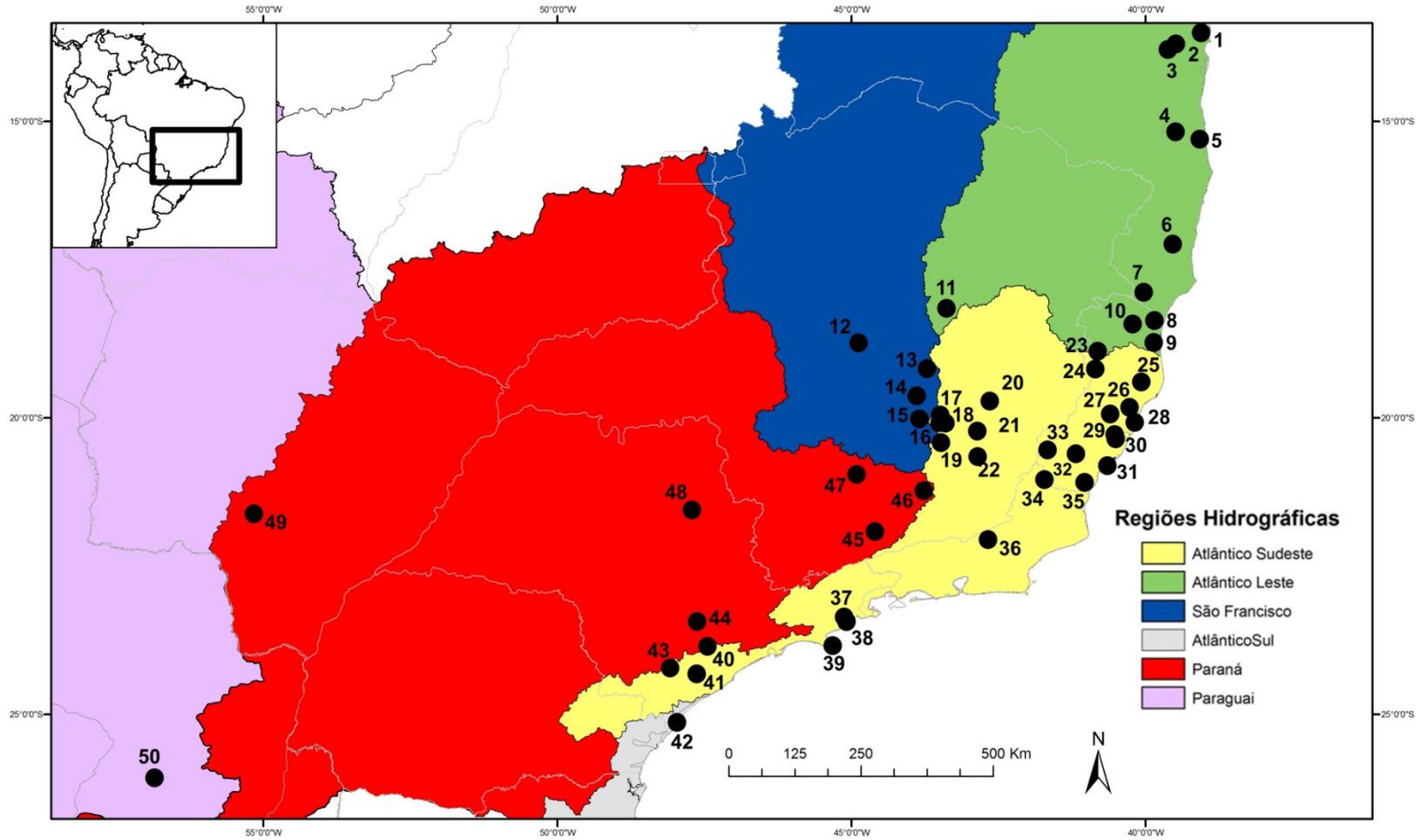


Figura 1

Figura 1: Mapa com as amostras genéticas analisadas e com os limites das regiões hidrográficas baseados nos dados da Agência Nacional de Águas (ANA). *Região do Atlântico Leste:* **1** – Cairu, BA; **2** – Wenceslau Guimarães, BA; **3** – Itamari, BA; **4** – Jussari, BA; **5** – Una, BA; **6** – Itamaraju, BA; **7** – Nova Viçosa, BA; **8** – Conceição da Barra, ES; **9** – São Mateus, ES; **10** – Pinheiros, ES; **11** – São Gonçalo do Rio Preto, MG. *Região do São Francisco:* **12** – Felixlândia, MG; **13** – Santana do Riacho, MG; **14** – Lagoa Santa, MG; **15** – Nova Lima, MG. *Região do Atlântico Sudeste:* **16** – Santa Bárbara, MG; **17** – Barão de Cocais, MG; **18** – Catas Altas, MG; **19** – Ouro Preto, MG; **20** – Marliéria, MG; **21** – Santa Cruz do Escalvado, MG; **22** – Teixeiras, MG; **23** – Águia Branca, ES; **24** – Pancas, ES; **25** – Linhares, ES; **26** – Aracruz, ES; **27** – Santa Teresa, ES; **28** – Serra, ES; **29** – Cariacica, ES; **30** – Viana, ES; **31** – Anchieta, ES; **32** – Castelo, ES; **33** – Ibitirama, ES; **34** – São José do Calçado, ES; **35** – Presidente Kennedy, ES; **36** – Sumidouro, RJ; **37** – São Luís do Paraitinga, SP; **38** – Ubatuba, SP; **39** – Ilhabela, SP; **40** – Sete Barras, SP; **41** – Juquiá, SP. *Região do Atlântico Sul:* **42** – Cananeia, SP. *Região do Paraná:* **43** – Tapiraí, SP; **44** – Sorocaba, SP; **45** – Aiuruoca, MG; **46** – Barbacena, MG; **47** – Santo Antônio do Amparo, MG; **48** – Luiz Antônio, SP; **49** – Maracaju, MS. *Região do Paraguai:* **50** – Ybycuí, Paraguai.

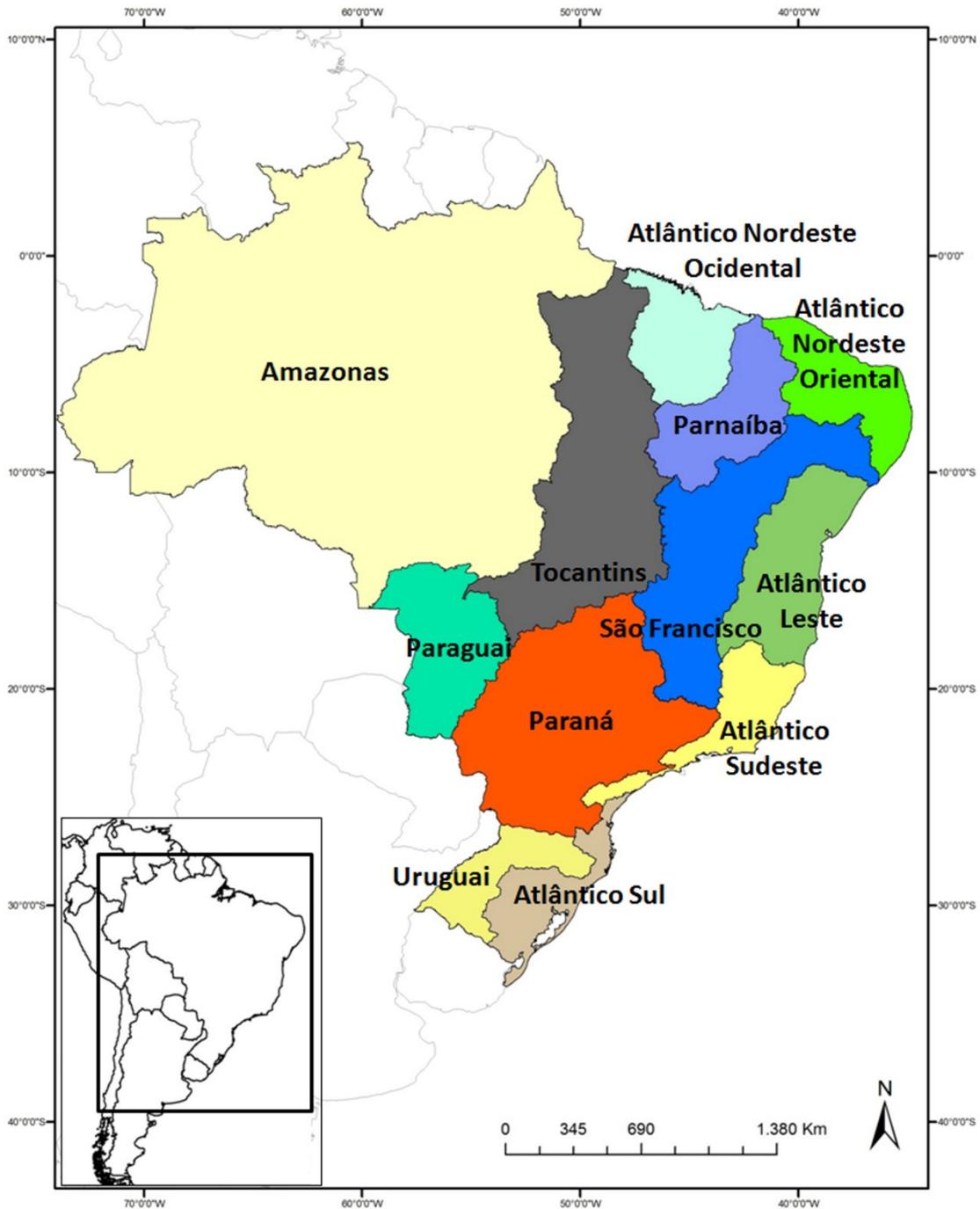


Figura 2: Limites das regiões hidrográficas brasileiras utilizados pela Agência Nacional de Águas (ANA) desde 2003.

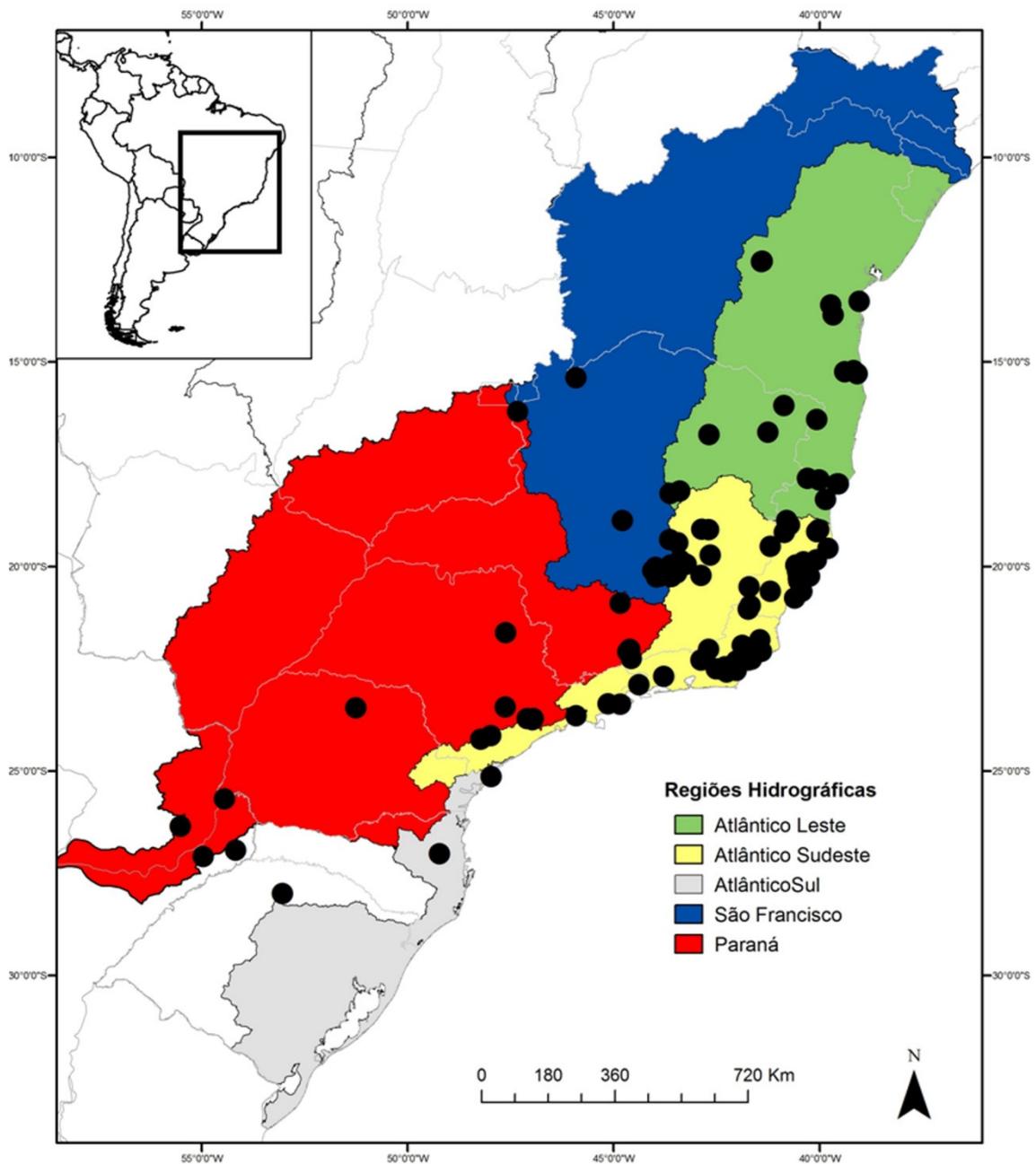


Figura 3: Mapa com os limites das regiões hidrográficas baseados nos dados da Agência Nacional de Águas (ANA) e com as 108 localidades usadas para a construção dos modelos de adequabilidade ambiental. Detalhes das localidades no Anexo 3.

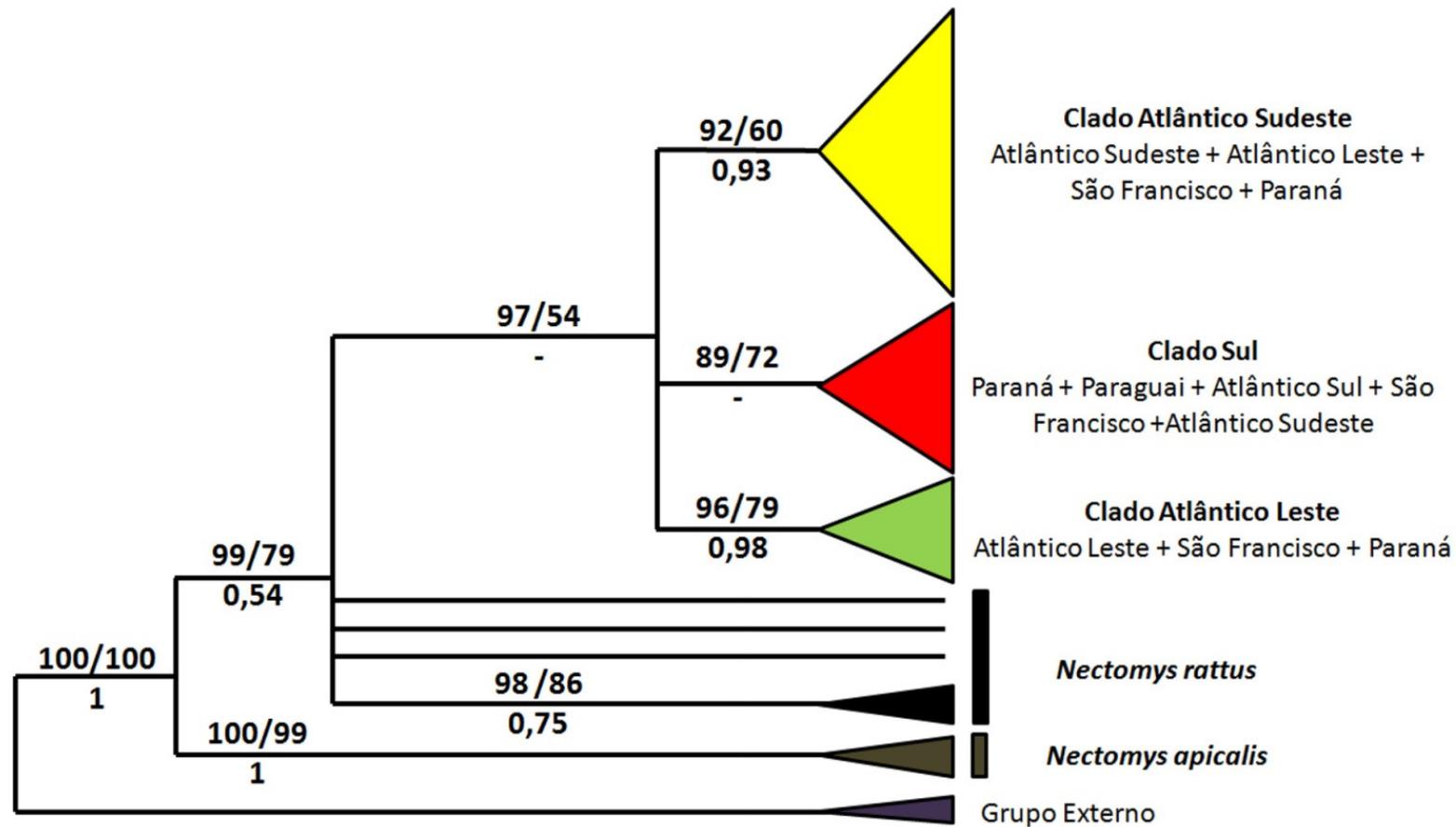


Figura 4: Árvore filogenética para o gene mitocondrial Cit b. Três clados foram recuperados para *Nectomys squamipes* com seus respectivos nomes. Os nomes abaixo dos clados são das regiões hidrográficas que tiveram amostras alocadas dentro dos clados. Os valores acima dos ramos são os de *bootstrap* para a Máxima Parcimônia (MP) e para Máxima Verossimilhança (MV) respectivamente. Os valores abaixo dos ramos são os de probabilidade posterior para a Inferência Bayesiana (IB). (-): Grupo monofilético não recuperado na IB.

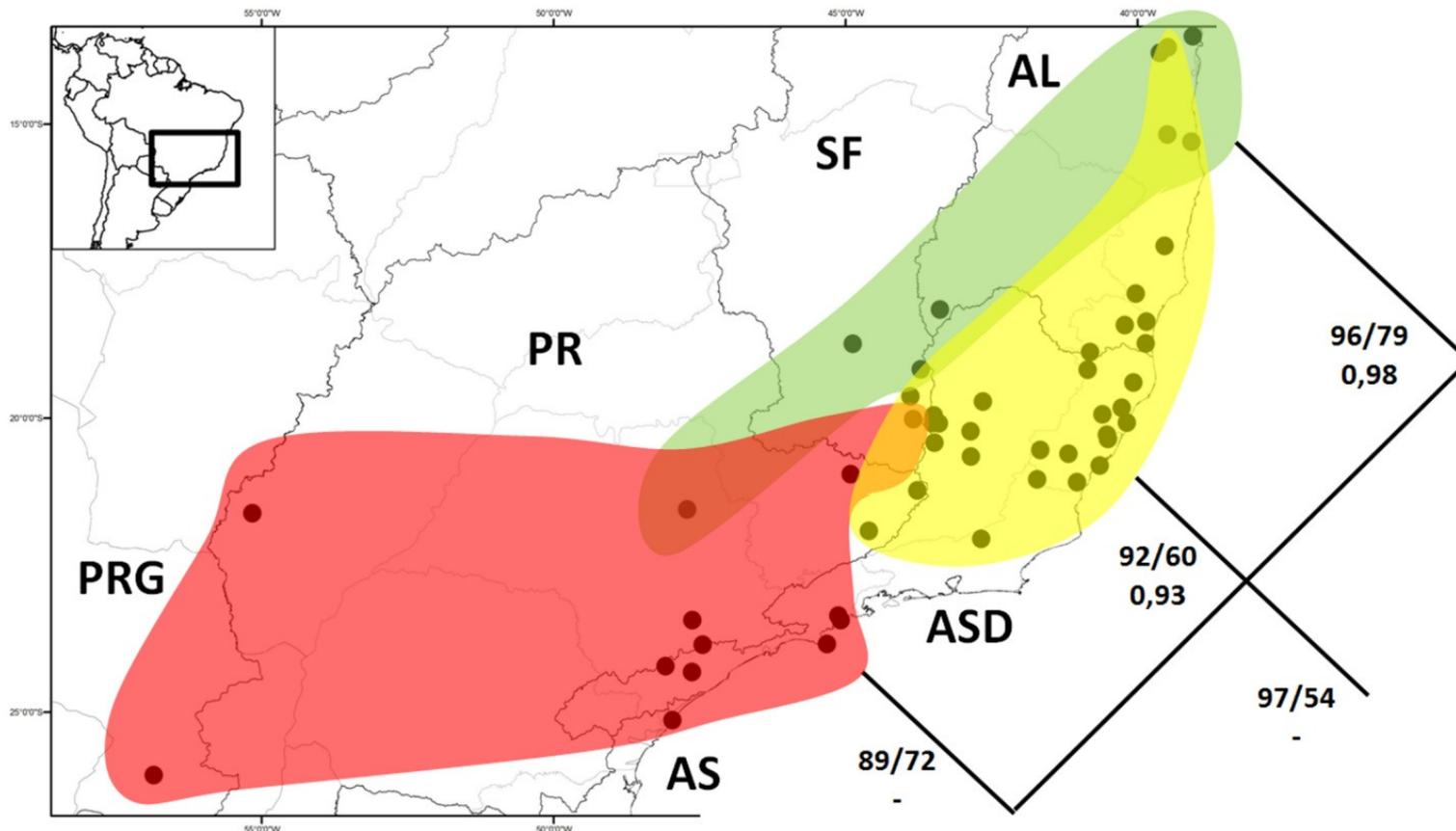


Figura 5: Distribuição geográfica dos três clados encontrados nas árvores filogenéticas pelas regiões hidrográficas. Os valores acima dos ramos são os de *bootstrap* para a Máxima Parcimônia (MP) e para Máxima Verossimilhança (MV) respectivamente. Os valores abaixo dos ramos são os de probabilidade posterior para a Inferência Bayesiana (IB). (-): Grupo monofilético não recuperado na IB. AS: região hidrográfica do Atlântico Sul; ASD: Atlântico Sudeste; AL: Atlântico Leste; SF: São Francisco; PR: Paraná; PRG: Paraguai.

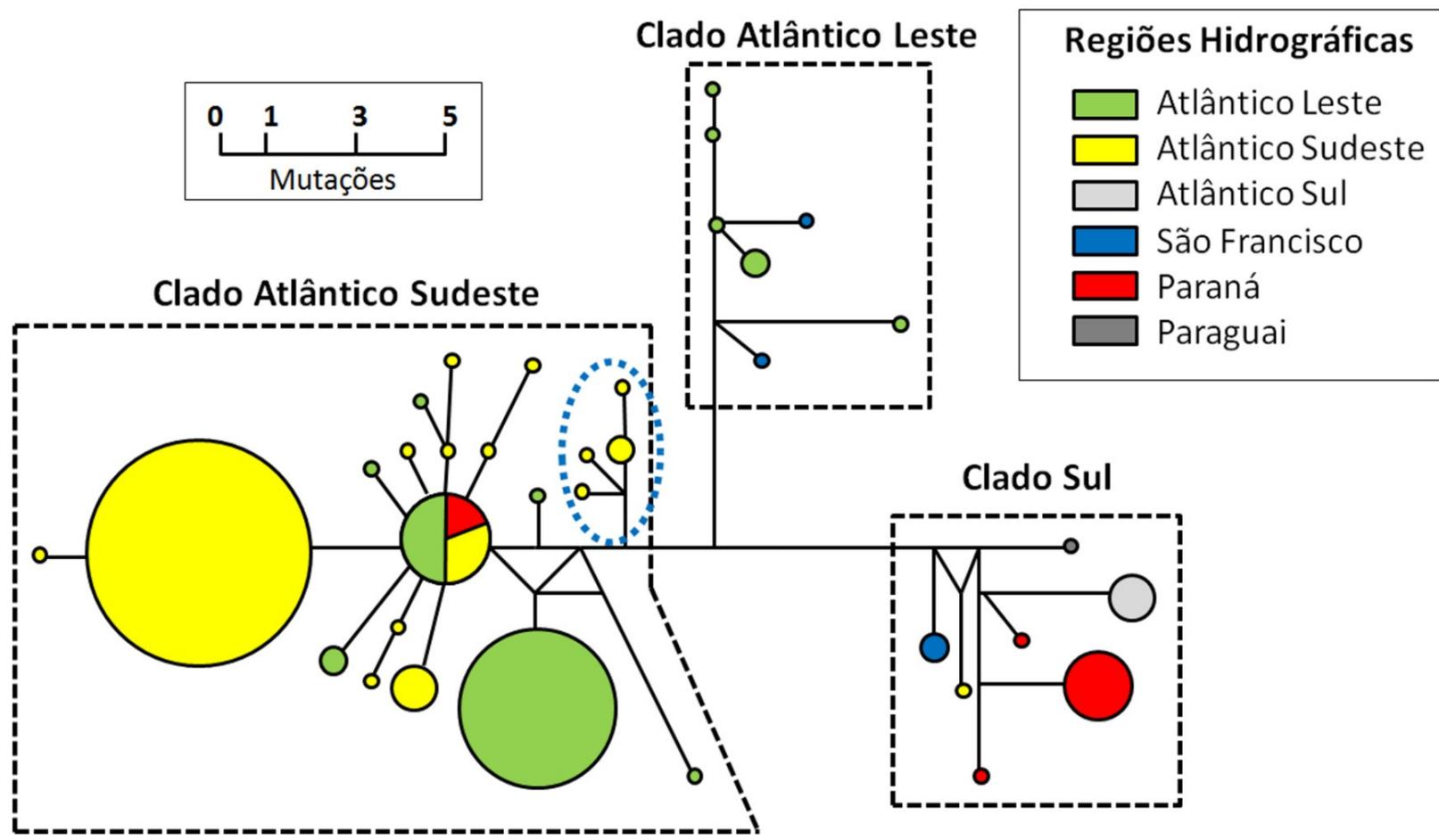


Figura 6: Rede de haplótipos do Cit b de *Nectomys squamipes*. As cores representam as regiões hidrográficas, o tamanho dos círculos o número de haplótipos compartilhados e o tamanho das linhas a distância entre os haplótipos. O círculo azul dentro do clado do Atlântico Sudeste representa o subclado do Parque Nacional do Caparaó.

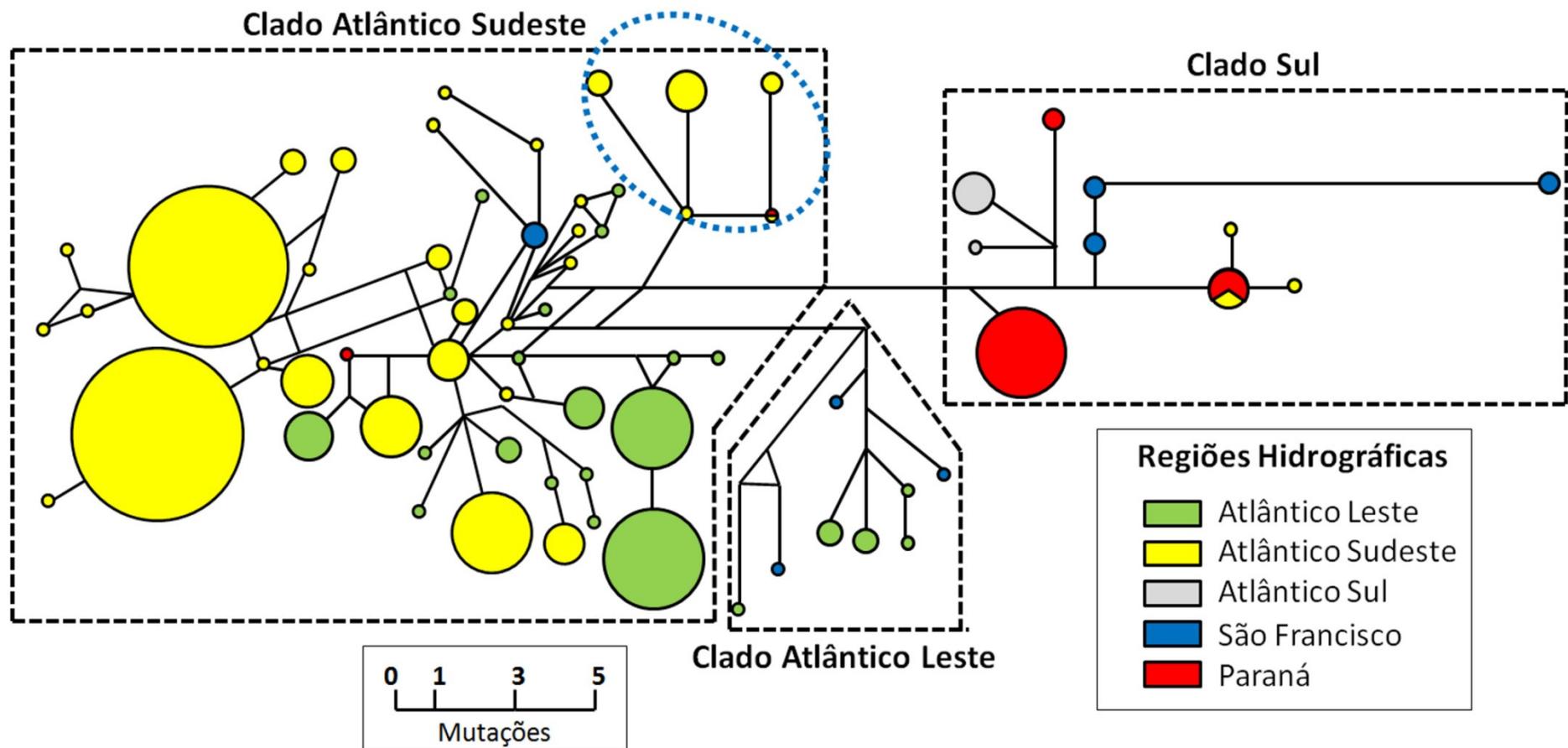


Figura 7: Rede de haplótipos do D-loop de *Nectomys squamipes*. As cores representam as regiões hidrográficas, o tamanho dos círculos o número de haplótipos compartilhados e o tamanho das linhas a distância entre os haplótipos. O círculo azul dentro do clado do Atlântico Sudeste representa o subclado do Parque Nacional do Caparaó.

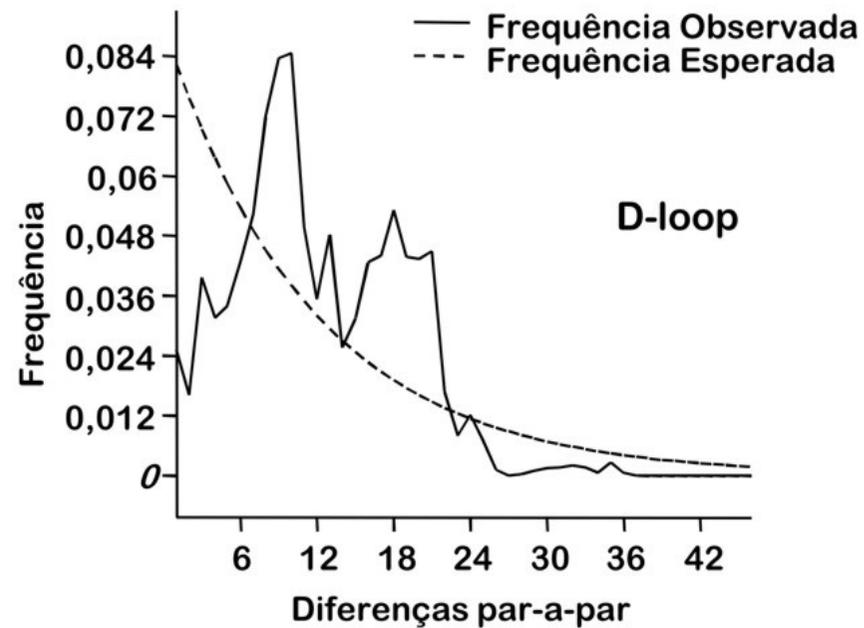
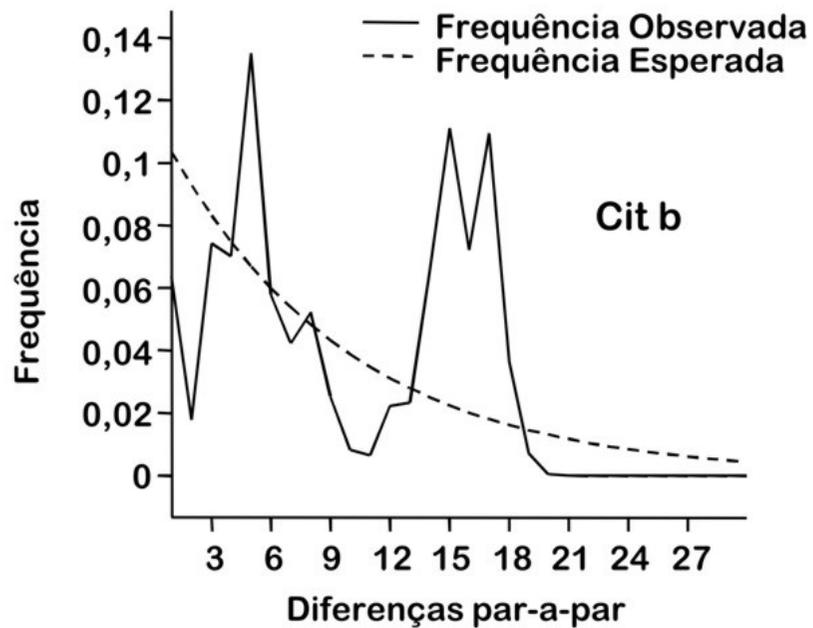


Figura 8: Gráfico de distribuição *mismatch* de *Nectomys squamipes* para os dois marcadores genéticos: Cit b e D-loop. As linhas pontilhadas nos gráficos representam a frequência esperada para populações em expansão populacional, e a linha contínua a frequência observada para *N. squamipes*.

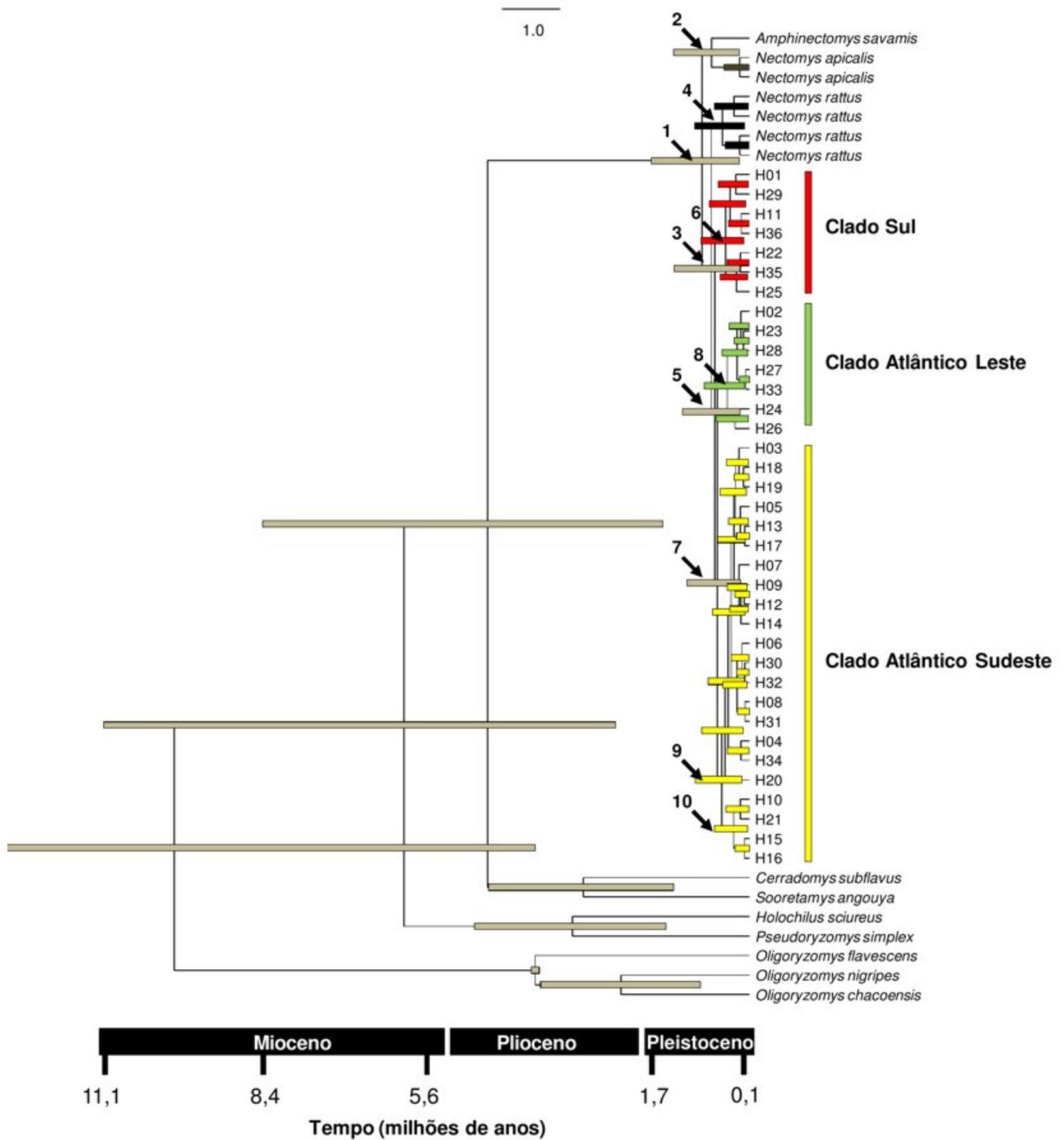


Figura 9: Árvore com a datação dos eventos de cladogênese baseados nas sequências de Cit b. As barras representam o intervalo de confiança (95%) e os principais nós de *Nectomys* estão enumerados de 1 a 10. Os valores exatos dos intervalos de confiança e da média dos eventos estão no Anexo 14. **1:** Origem de *Nectomys*; **2** – *N. apicalis* + *A. savamis*; **3** – *Nectomys rattus* + *Nectomys squamipes*; **4** – *Nectomys rattus*; **5** – *Nectomys squamipes*; **6** – Clado Sul; **7** – Clado Atlântico Leste + Clado Atlântico Sudeste; **8** – Clado Atlântico Leste; **9** – Clado Atlântico Sudeste e **10** – Subclado do Parque Nacional do Caparaó.

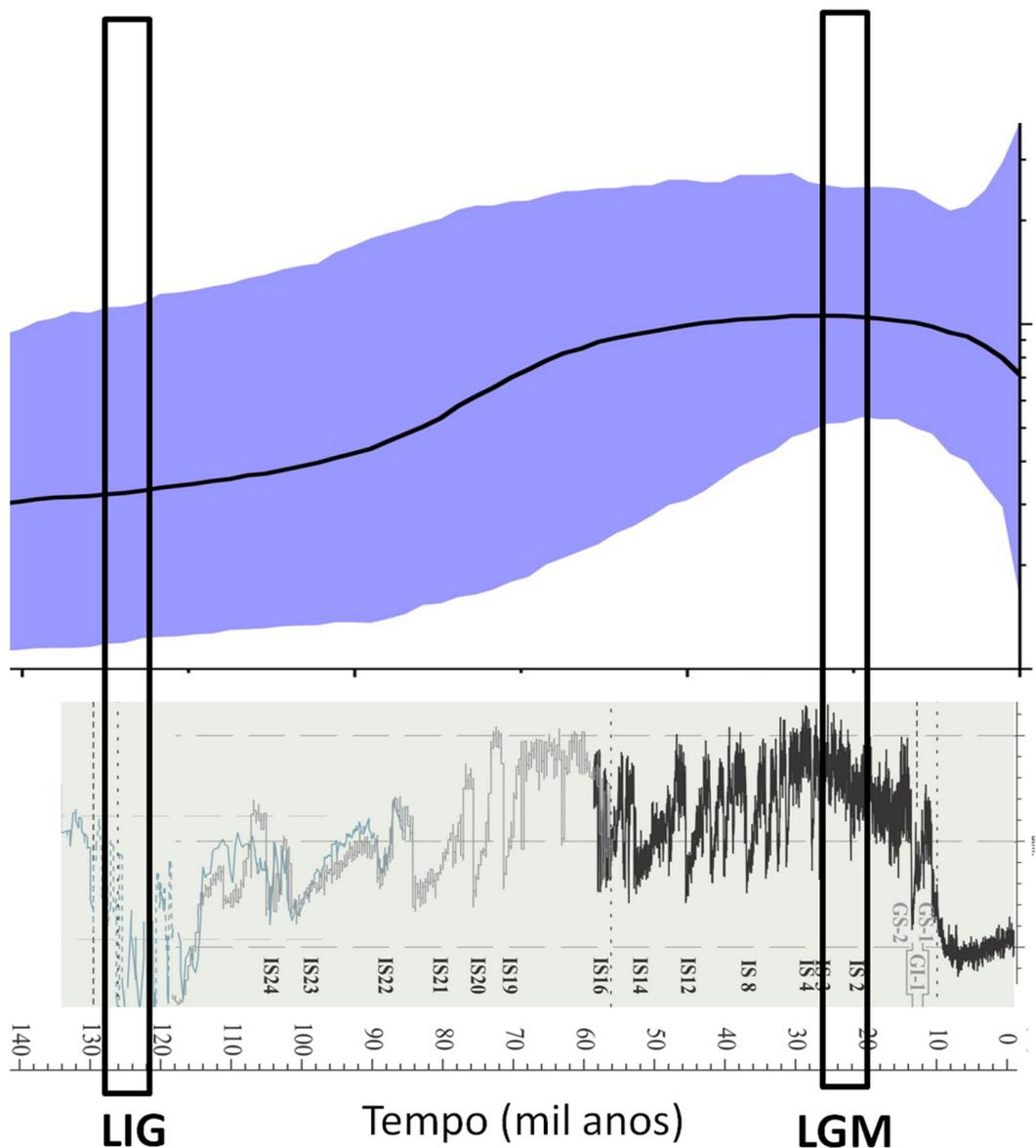


Figura 10: Tamanho efetivo da população (N_e) de *Nectomys squamipes* ao longo do tempo com base no Cit b (acima, com intervalo de confiança de 95% em azul), comparado ao nível de isótopos estáveis de O_{18} (Cohen e Gibbard 2011). As barras verticais indicam o período do último máximo glacial (LGM) e do último interglacial (LIG). No gráfico do nível de isótopos, a linha cinza indica um crescimento rápido, correspondente a um crescimento do N_e de *N. squamipes*. A linha preta indica um nível médio estável de isótopos permanece estável até o LGM, mas com grandes oscilações. Nesse período há também o período estável do tamanho populacional de *N. squamipes*. Após o LGM tanto o nível de isótopos quanto o tamanho populacional de *N. squamipes* caem.

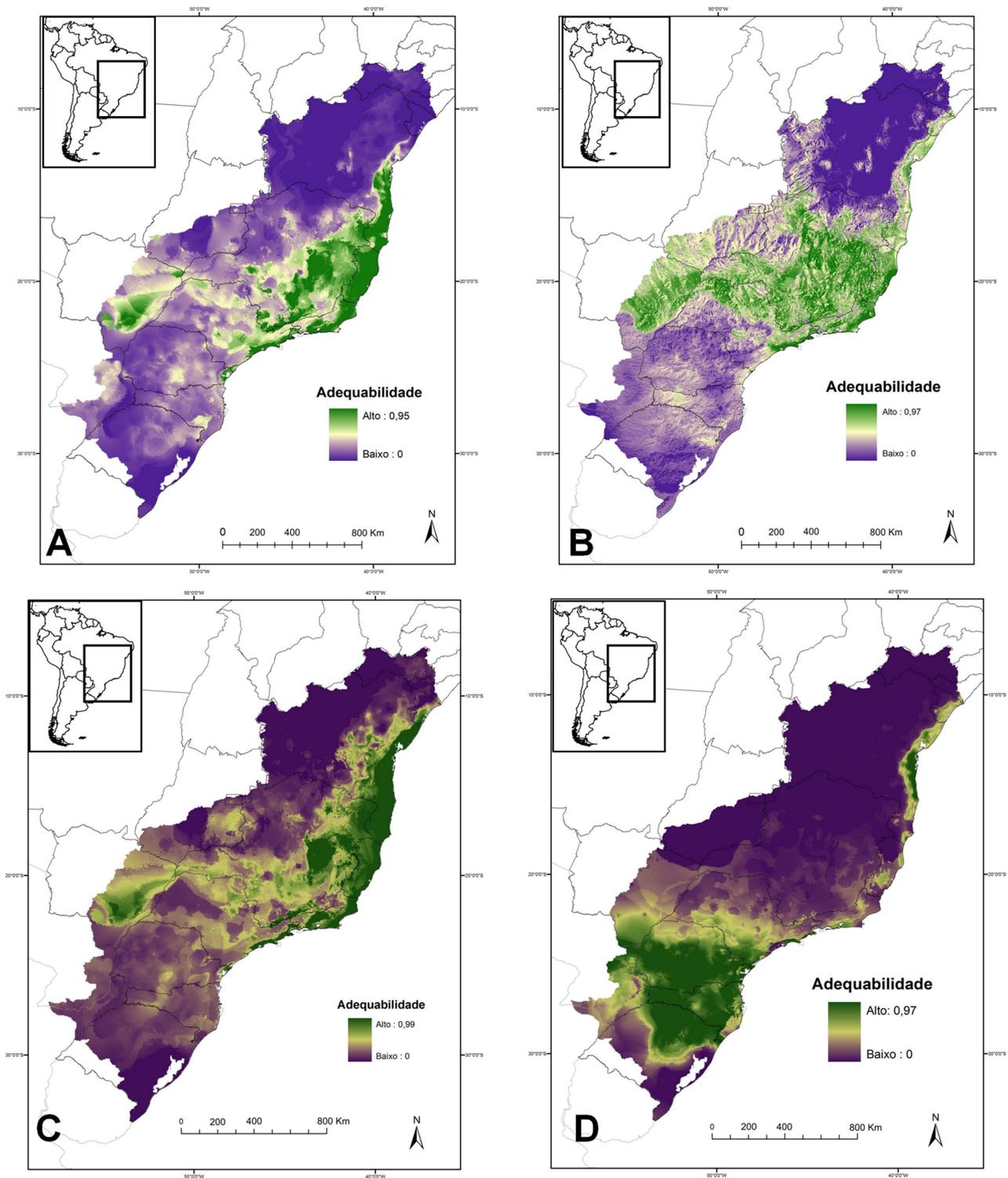


Figura 11: Mapas de adequabilidade ambiental atual (A e B) e no passado (C e D) para *Nectomys squamipes*. (A): Modelo restrito usando só as variáveis climáticas. (B): Modelo amplo usando as variáveis climáticas, topográficas e hidrográficas. (C): Adequabilidade ambiental para 21 mil anos atrás e (D) para 120-140 mil anos atrás. Áreas em roxo indicam baixa adequabilidade enquanto áreas verdes indicam alta adequabilidade.

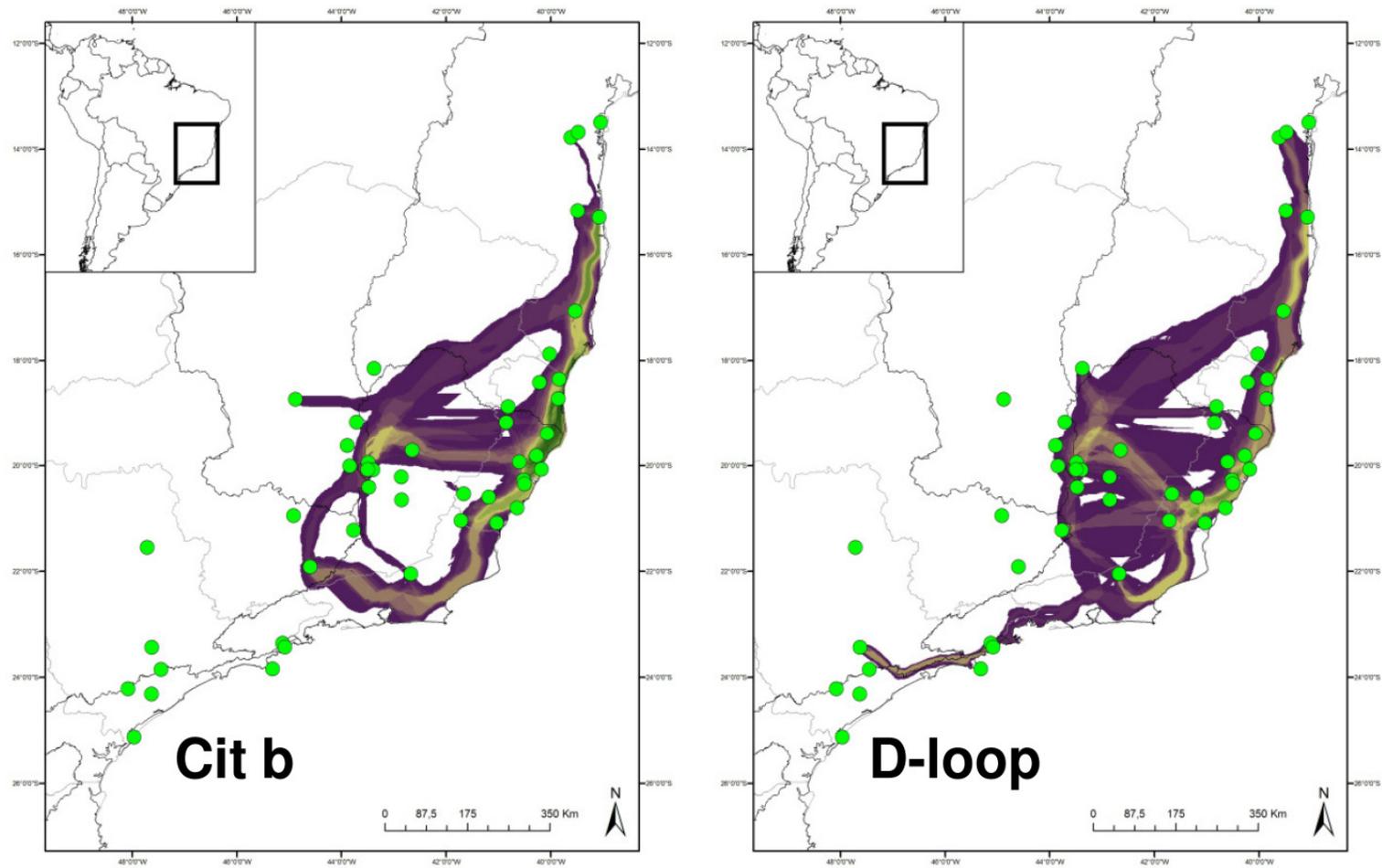


Figura 12: Rotas de fluxo gênico entre populações amostradas de *Nectomys squamipes* inferidas a partir do mapa de adequabilidade ambiental e da distribuição espacial da diversidade genética de sequências do Cit b (A), D-loop (B). Áreas em roxo representam baixa probabilidade de fluxo gênico e áreas verdes representam alta probabilidade.

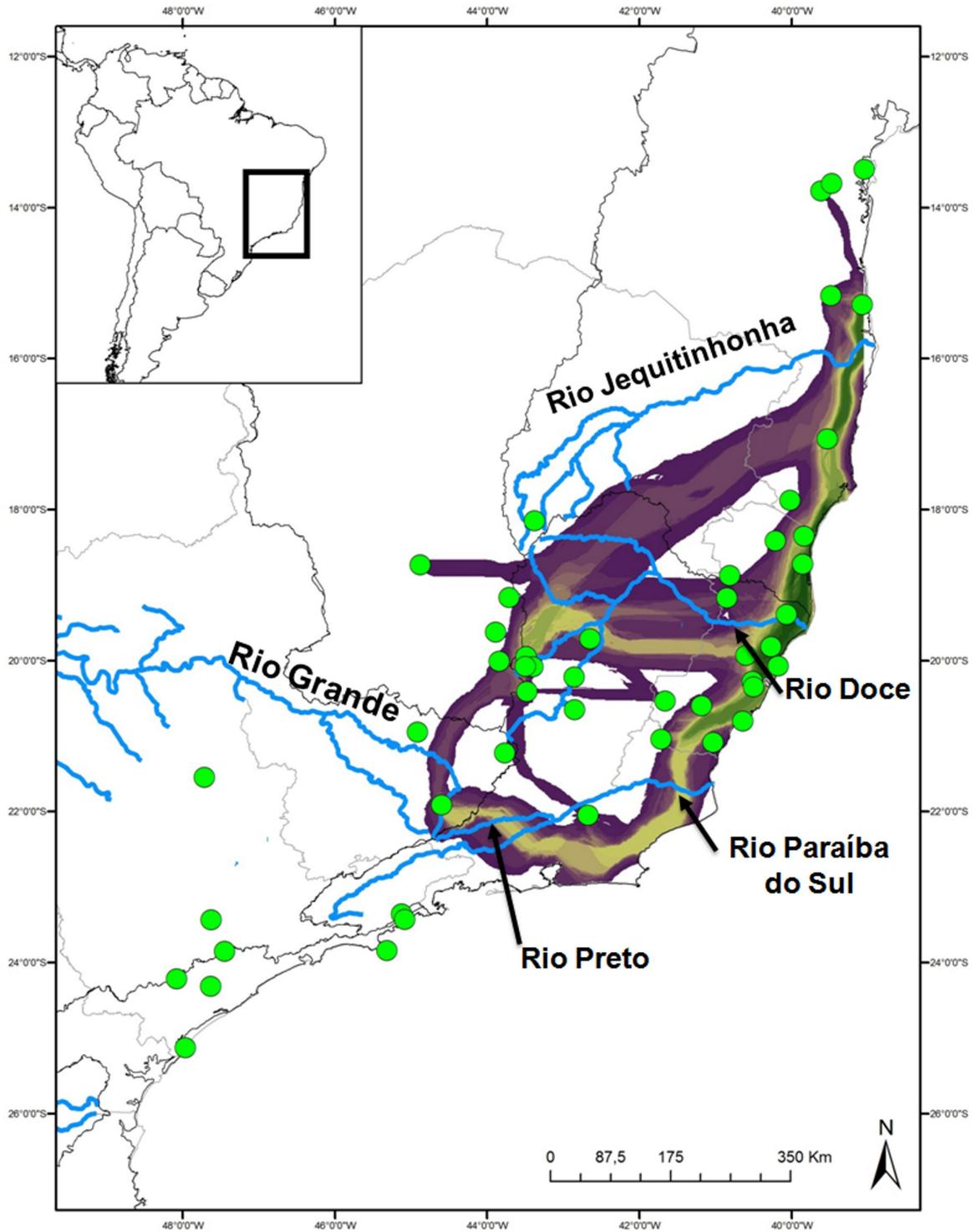


Figura 13: Rotas de fluxo gênico entre populações de *Nectomys squamipes* inferidas a partir do mapa de adequabilidade ambiental e da distribuição espacial da diversidade genética de sequências de citocromo b e D-loop, com adição dos principais rios das regiões hidrográficas que permitem o contato entre as essas regiões. Áreas em roxo representam baixa probabilidade de fluxo gênico e áreas verdes representam alta probabilidade.

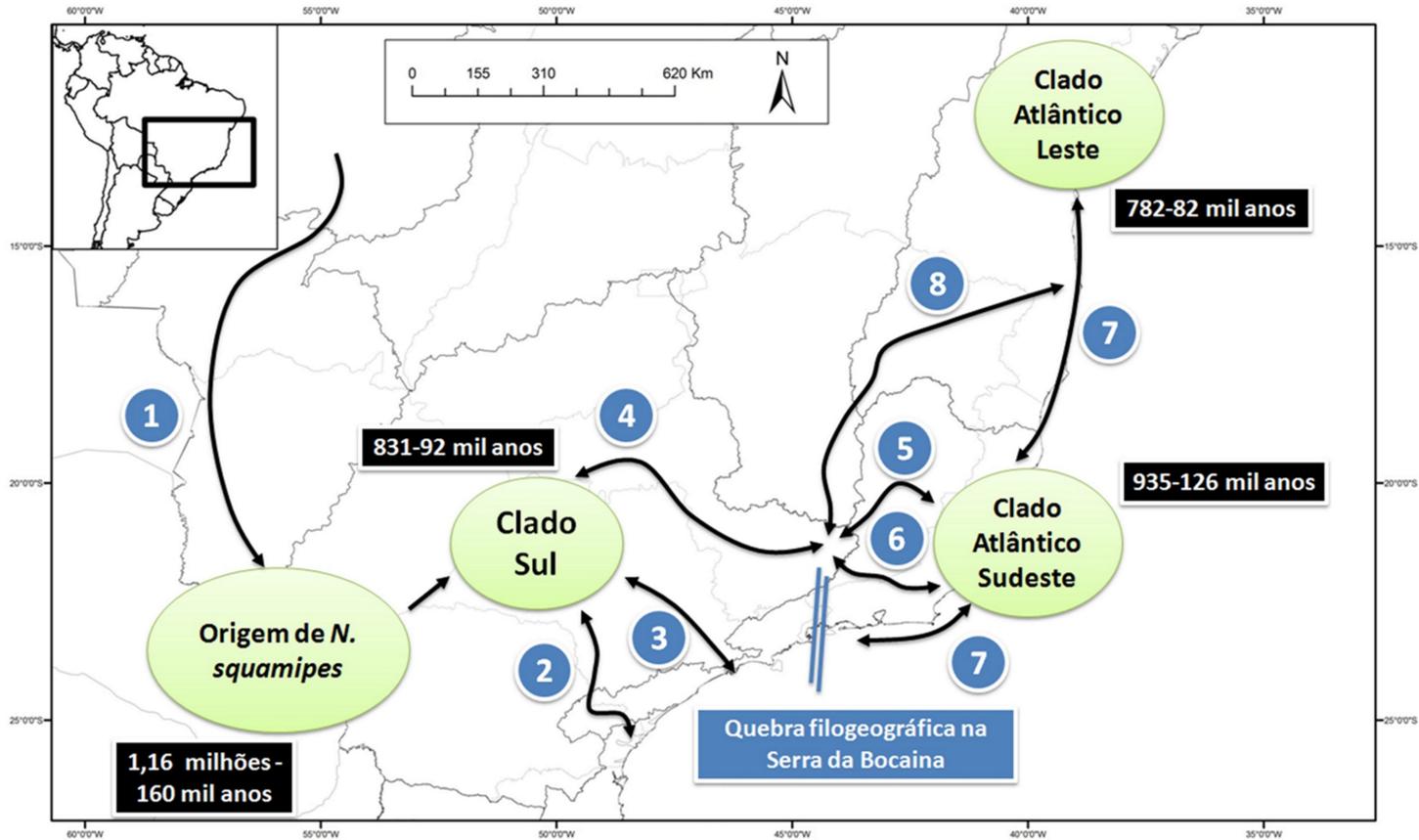


Figura 14: Mapa com as conexões hidrográficas mais importantes para *Nectomys squamipes*. Retângulos representam intervalo de confiança da datação para cada clado e para a origem de *N. squamipes* (Anexo 14). Setas e números indicam as conexões hidrográficas usadas por *N. squamipes*. **1:** Conexão Amazônia-Paraguai-Paraná; **2:** Rio Iguaçu – Rio Ribeira de Iguape; **3:** Rio Tietê – Rio Paraíba do Sul; **4:** Conexão entre a sub-bacia do Rio Grande e os limites das regiões hidrográficas do São Francisco e do Atlântico Sudeste; **5:** Rio Grande – Rio Itapemirim – Rio Paraíba do Sul; **6:** Rio Grande – Rio Preto – Rio Paraíba do Sul; **7:** Conexões pelo litoral durante a redução do nível do mar; **8:** Rio Jequitinhonha – Região Hidrográfica do São Francisco.

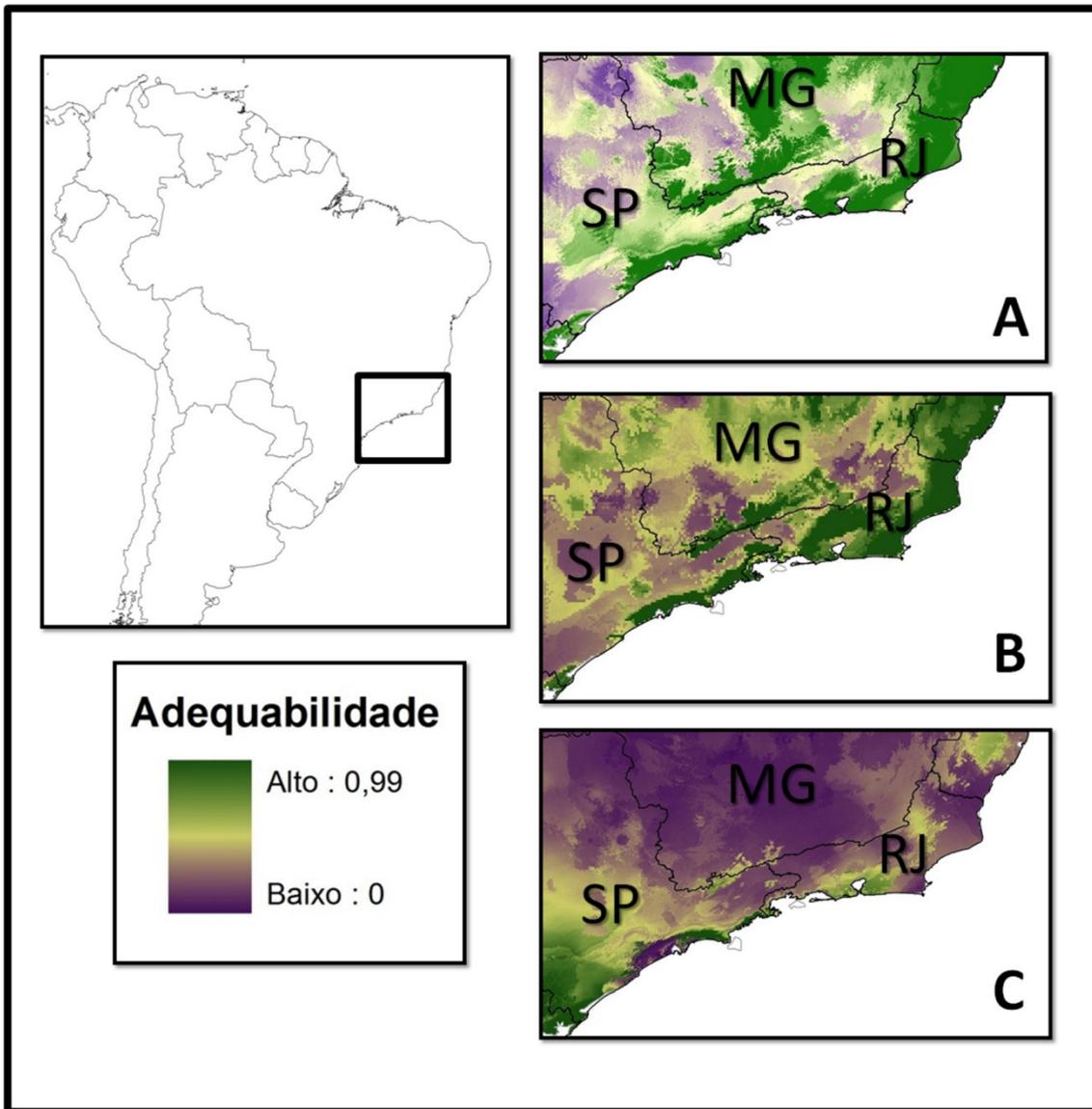


Figura 15: Mapas de adequabilidade ambiental atual (A), para 21 mil anos atrás (B) e para 120-140 mil anos atrás (C) para *Nectomys squamipes* nas áreas entre o Rio de Janeiro e São Paulo. Há a estabilidade de uma área de baixa adequabilidade ambiental nessa região. Áreas em azul e roxo indicam baixa adequabilidade enquanto áreas verdes indicam alta adequabilidade. SP: São Paulo; RJ: Rio de Janeiro; MG: Minas Gerais.

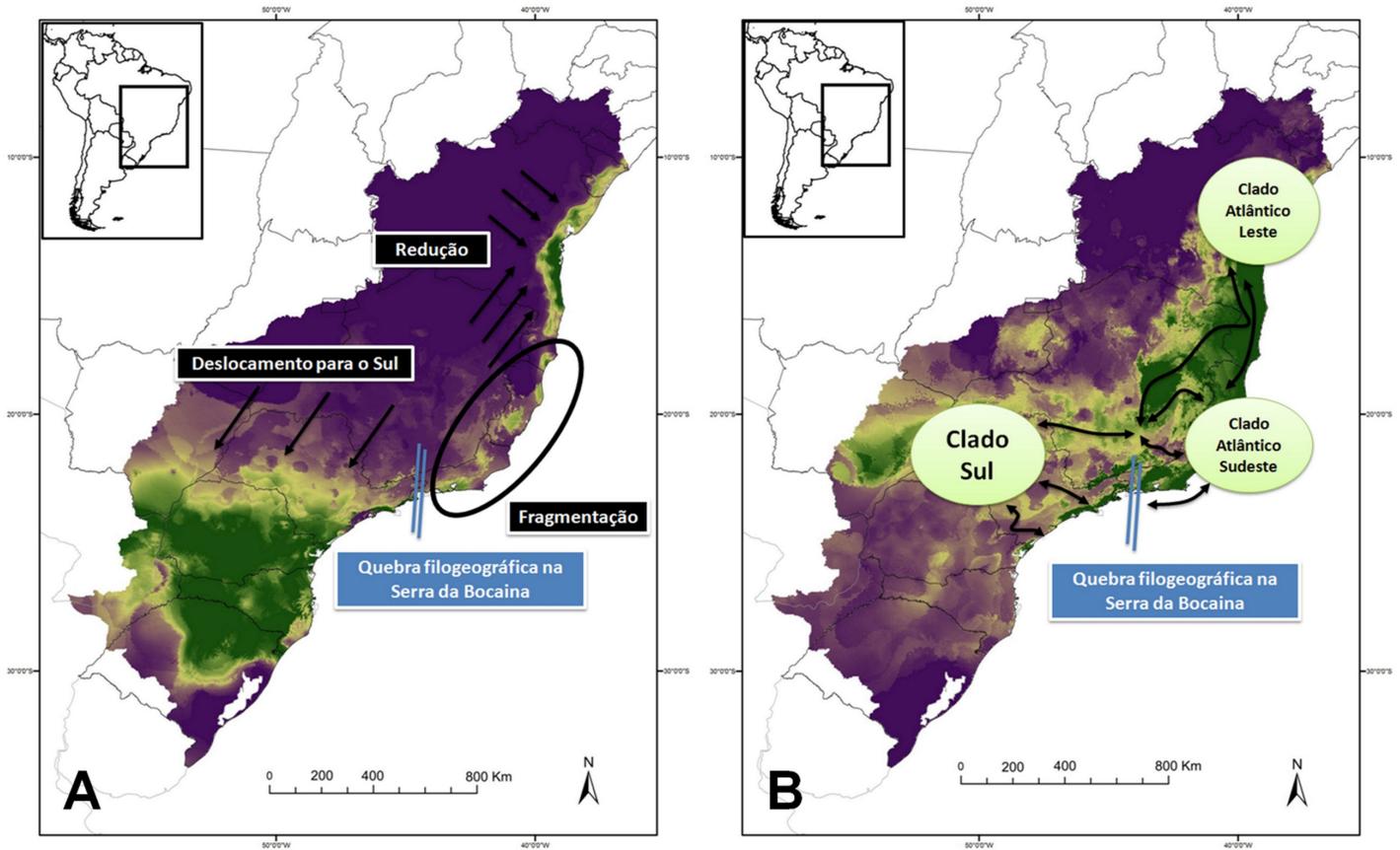


Figura 16: Comportamento das populações de *N. squamipes* durante os períodos interglaciais, exemplo do LIG (A) e durante os períodos glaciais do Pleistoceno, exemplo do LGM (B). (A): Comportamento das populações de *N. squamipes* durante o período interglacial, uma parte da população foi deslocada para o sul; outra no nordeste do Brasil foi reduzida e uma terceira área entre os estados do Rio de Janeiro, Espírito Santo e sul da Bahia foi fragmentada. (B): Comportamento das populações de *N. squamipes* durante o período glacial. As setas indicam as rotas da Figura 14. Essas rotas foram utilizadas para a expansão populacional nos períodos glaciais e são coincidentes com as áreas de maior adequabilidade ambiental do LGM.

ANEXOS

Anexo 1: Lista de amostras examinadas, organizada por espécies e por localidades de coletas. AB – Renata Pardini; CIT - Yatyio Yassuda-Yonenaga; CTA – Coleção de Tecido Animal da Universidade Federal do Espírito Santo; ISSP – Israel de Souza Pinto; LBCE – Cibele Bonvicino; LGA e CVMA – Valéria Fagundes; LPC – Leonora P. Costa; MBML – Museu de Biologia Professor Mello Leitão; MCNM – Museu de Ciências Naturais PUC-Minas; MP – Marcelo Passamani; MVZ – Museum of Vertebrate Zoology (University of California, Berkeley); RM – Raquel Moura; ROD – Raisa Rodarte; TAX e FER – Mariana Ferreira Rocha; YL – Yuri Leite. ML, CC, LT e LGVI sem coletores especificados.

Amphinectomys savamis: PERU: IQUITOS: **San Pedro**: EU579480 (Genbank).

Cerradomys subflavus: BRASIL: MINAS GERAIS: **Não Informada**: Fazenda Canoas: GU126543 (Genbank).

Euryoryzomys russatus: BRASIL: MINAS GERAIS: **Não Informada**: Rodovia MG-354: MP 834.

Holochilus sciureus: BOLÍVIA: SANTA CRUZ: **Ascension**: 6km W: EU579497 (Genbank).

Hylaeamys laticeps: BRASIL: BAHIA: **Una**: Reserva Particular do Patrimônio Natural Santa Angélica (-39,07; -15,29): YL 814.

Nectomys apicalis: NÃO INFORMADA: AY041195 (Genbank). PERU: CUSCO: **La Convención** (-72,83; -12,33): MVZ 166700.

Nectomys rattus: BRASIL: MATO GROSSO: **Aripuanã** (-59,3; -9,98): CIT 669. **Barra do Garças** (-52,35; -15,63): CTA 1348, 1366, 1381 e 1440. PIAUÍ: **Cristino Castro** (-44,16; -8,83): CIT 1386 e 1452. RONDÔNIA: **Porto Velho** (-63,9; -8,76): UFRO 583. PERU: LORETO: **Maynas** (-73,23; -4,30): MVZ 970012.

Nectomys squamipes: NÃO INFORMADA: CC 04, LG VI 1, LG VI 3, LT 02 e RM 223. BRASIL: BAHIA: **Cairu**, Fazenda Subauma (-39,05; -13,50): RM 167. **Itamaraju**, Fazenda Princesa do Pajau (-39,53; -17,06): RM 212. **Itamari**, Fazenda São Roque (-39,61; -13,78): RM 202. **Jussari**, Serra do Teimoso (-39,48; -15,17): CIT 1574, 1586 e 1604. **Nova Viçosa**, Fazenda Elma (-39,56; -17,97): CTA 74 a 81, 90, 91, 93, 756 e 757. Fazenda João Guarda (-39,57; -17,98): CTA 82. Fazenda Suécia (-40,03; -17,88) CTA 83, 84 e 89. **Una**: ESMAI - Estação Experimental Lemos Maia (-39,08; -15,28): CTA 968. Reserva Particular do Patrimônio Natural Santa Angélica (-39,07; -15,29): YL 784, 788, 792, 793, 794, 806 e 833. **Wenceslau Guimarães**: Estação Ecológica Estadual Nova Esperança (-39,48; -13,68): RM 158. ESPÍRITO SANTO: **Águia**

Branca: Fazenda Lacerda, Águas Claras (-40,75; -18,98): CTA 128, 238 e 239. Fazenda do Zequinha Manduca (-40,81; -18,87): CTA 135 e 240. **Anchieta:** Ubu, Samarco (-40,64; -20,80): MBML 2306. **Aracruz:** Barragem da Fibría (-40,27; -19,82): LPC 1347. **Cariacica:** Reserva Biológica de Duas Bocas (-40,52; -20,28): CTA 388, 508 a 518. **Conceição da Barra:** Floresta Nacional do Rio Preto (-39,84; -18,35): LPC 1278, 1283, 1289, 1291, 1295, 1297 e 1300. **Ibitirama:** Parque Nacional do Caparaó (-41,67; -20,54): LGA 1215, 1238 e 1239. **Linhares:** Reserva da Vale (-40,07; -19,39): TAX 07, 17, 18 e 26. **Pancas:** Córrego São Luís (-40,84; -19,17): ISPP 1, 2, 3, 5, 8 e 9. **Pinheiros:** Reserva Biológica Córrego do Veado (-40,22; -18,42): CVMA 7. **Presidente Kennedy:** Alagados do Itabapoana (-41,03; -21,09): FER 01. **Santa Teresa:** Estação Biológica de Santa Lúcia (-40,54; -19,96): CTA 803, LGA 60, 85, 95, 96, 140, 151. Valsugana Velha (-40,60; -19,93) MBML 2467, 2468 e 2685. **São José do Calçado:** Sítio Sapucaia, Alegoria (-41,72; -21,04): LPC 1367 e 1375. Airituba (-41,67; -20,96): LPC 1391 e 1392. **São Mateus** (-39,85; -18,72): LGA 2521. **Serra:** Clube Capixaba de Golfe, Área de Proteção Ambiental do Mestre Álvaro (-40,18; -20,07): YL 774. **Viana:** Pimenta (-40,47; -20,38): CTA 616, 620, 719 a 727. Sítio Bem-te-vi, Formate (-40,50; -20,35): CTA 729 a 732. Fazenda Boa Baixa (-40,46; -20,39): CTA 733 a 735 e 858. Coacas (-40,47; -20,36): CTA 736 e 737. MATO GROSSO DO SUL: **Maracaju:** Fazenda da Mata (-55,17; -21,61): AF181283 (Genbank). MINAS GERAIS: **Aiuruoca** (-44,60; -21,92): MP 318. **Barão dos Cocais:** Mina de Gongo Soco (-43,49; -19,95): MCNM 1425. **Barbacena** (-43,77; -21,23): MCNM 2458. **Catas Altas:** Área Alegria 2 (-43,40; -20,08) MCNM 1593. **Felixlândia** (-44,88; -18,73) MCNM 2005. **Lagoa Santa** (-43,89; -19,63) ML 67 e 83. **Marliéria:** Parque Estadual do Rio Doce (-42,65; -19,72): CTA 1119. **Nova Lima** (-43,84; -20,01) MCNM 1920, 1928 e 1930. **Ouro Preto:** Floresta Estadual do Uaimii (-43,48; -20,41): MCNM 1371. **Santa Bárbara:** Parque do Caraça (-43,50; -20,08): CTA 925 e RM 02. **Santa Cruz do Escalvado:** UHE Cadonga (-42,86; -20,22): MCNM 1362. **Santana do Riacho:** Parque Nacional da Serra do Cipó (-43,71; -19,17): MCNM 2045. **Santo Antônio do Amparo:** (-44,92; -20,95): MP 331. **São Gonçalo do Rio Preto:** Parque Estadual do Rio Preto (-43,38; -18,15): CTA 928, 930 e 1108. **Teixeiras** (-42,86; -20,65): MCNM 303 e 304. RIO DE JANEIRO: **Sumidouro** (-42,67; -22,04): LBCE 7781 e 7805. SÃO PAULO: **Cananéia:** Parque Estadual Ilha do Cardoso (-47,96; -25,13): ROD 131, 135, 150, 154, 297 e GU126522 (Genbank). **Ilhabela:** Fazenda da Toca, Ilha de São Sebastião (-45,32; -23,84): ML 47. **Juquiá** (-47,63; -24,31): CIT 1302. **Luiz Antônio** (-47,72; -21,55): CIT 937. **São Luís do Paraitinga:** Parque Estadual da Serra do Mar (-45,12; -23,36): ROD 41. **Sete Barras:** Fazenda Intervalas (-48,08; -24,22): CIT 02, 41 e 100. **Sorocaba:** Floresta Nacional de Ipanema (-47,63; -23,43) CTA 1737 a 1739, 1745 a

1747, 1751, 1757 e LPC 857. **Tapiraí:** Sítio D. Ivone (-47,45; -23,85): AB 598.
Ubatuba: Praia do Félix (-45,08; -23,43): ML 61. PARAGUAI: PARAGUARI: **Ybycuí:**
Parque Nacional de Ybycuí (-56,86; -26,07) EU074634 (Genbank).

Oligoryzomys chacoensis: NÃO INFORMADA: GU185904 (Genbank).

Oligoryzomys flavescens: BRASIL: SÃO PAULO: **Pedreira:** JQ013746
(Genbank).

Oligoryzomys nigripes: NÃO INFORMADA: GU185870 (Genbank). BRASIL:
SANTA CATARINA: **Jaborá:** JQ013778 (Genbank).

Pseudoryzomys simplex: PARAGUAI: NEEMBUCU: **Não Informada:** Estancia
Yacare: EU579517 (Genbank).

Sooretamys angouya: BRASIL: RIO DE JANEIRO: **Teresópolis:** EU579511
(Genbank).

Anexo 2 Perfis de ampliações dos dois marcadores genéticos (Cit b e D-loop) através da clonagem *in vitro* pela reação em cadeia da polimerase (PCR). (A) Volumes e concentrações dos reagentes e (B) Temperatura e tempo de cada etapa da amplificação em termociclador. Volumes e concentrações dos reagentes para os dois marcadores foram os mesmos. Temperatura em graus Celsius (°C) e tempo em minutos (min) ou em segundos (s).

A

	Concentração na PCR	Volume na PCR
Água Ultrapura	-	9,05µl
Tris-HCl pH 9,0 KCl ₂	10mM	1,25µl
MgCl ₂	2mM	0,5µl
dNTP (cada)	165µM	0,25µl
Iniciador 5'-3'	0,1mM	0,15µl
Iniciador 3'-5'	0,1mM	0,15µl
Taq polimerase	0.05U	0,15µl
DNA	50ng	1µl
Volume Final	-	12,5µl

B

	Desnaturação	Ciclos	Abertura	Anelamento	Extensão	Extensão Final
Cit b	94 °C - 5min	40	94 °C - 30s	48 °C - 30s	72 °C - 45s	72 °C - 5min
D-loop	94 °C - 3min	36	94 °C - 30s	52 °C - 30s	72 °C - 30s	72 °C - 3min

Anexo 3: Lista das 108 localidades usadas para a construção dos modelos de adequabilidade ambiental organizada alfabeticamente por país, estado/província/departamento e municípios. As fontes pesquisadas estão com citação completa em Literatura Citada. Os museus foram identificados por suas respectivas siglas. APN-AR: Administración de Parques Nacionales, Argentina. KUM: University of Kansas (Mammalogy). MAMÍFEROS – ES: Banco de dados sobre mamíferos do Espírito Santo. MBML-MAMÍFEROS: Museu de Biologia Professor Mello Leitão. MVZ-BR: Museum of Vertebrate Zoology (University of California, Berkeley). MZUEL-MAMÍFEROS: Museu de Zoologia da Universidade Estadual de Londrina. MCNM: Museu de Ciências Naturais PUC-Minas. SINBIOTA: Sistema de Informação Ambiental do Programa Biota (Fapesp). UFES-CTA: Coleção de Tecido Animal da Universidade Federal do Espírito Santo. UFES-MAM: Coleção de Mamíferos da Universidade Federal do Espírito Santo. UFMG: Coleção de Mamíferos da Universidade Federal de Minas Gerais. ZUEC-MAM: Coleção de Mamíferos do Museu de Zoologia Professor Adão José Cardoso da Universidade Estadual de Campinas.

Longitude	Latitude	País	Estado	Município	Fonte Pesquisada
-54,953	-27,088	Argentina	Misiones	Caingúas	Cirignoli <i>et al.</i> 2011
-54,169	-26,938	Argentina	Misiones	Guaraní	APN-AR
-54,440	-25,683	Argentina	Misiones	Iguazú	APN-AR
-39,033	-13,517	Brasil	Bahia	Cairu	UFMG
-39,667	-13,850	Brasil	Bahia	Itamari	UFMG
-41,249	-16,718	Brasil	Bahia	Joáima	Pereira 2006
-41,398	-12,548	Brasil	Bahia	Lençóis	Pereira 2006
-41,383	-12,533	Brasil	Bahia	Lençóis	Pereira e Geise 2009
-40,007	-17,879	Brasil	Bahia	Nova Viçosa	UFES - MAM
-39,566	-17,979	Brasil	Bahia	Nova Viçosa	UFES - MAM
-39,536	-17,975	Brasil	Bahia	Nova Viçosa	UFES - MAM
-39,383	-15,233	Brasil	Bahia	Una	UFMG
-39,166	-15,206	Brasil	Bahia	Una	UFMG
-39,083	-15,283	Brasil	Bahia	Una	UFES - CTA
-39,717	-13,600	Brasil	Bahia	Wenceslau Guimarães	UFMG
-40,786	-18,875	Brasil	Espírito Santo	Águia Branca	UFES - MAM
-40,720	-18,980	Brasil	Espírito Santo	Águia Branca	UFES - MAM
-40,595	-20,774	Brasil	Espírito Santo	Anchieta	MAMIFEROS-ES
-40,592	-20,775	Brasil	Espírito Santo	Anchieta	Passamani <i>et al.</i> 2005
-40,072	-19,840	Brasil	Espírito Santo	Aracruz	UFES - MAM
-40,511	-20,281	Brasil	Espírito Santo	Cariacica	UFES - MAM
-41,185	-20,604	Brasil	Espírito Santo	Castelo	MBML-MAMIFEROS
-39,845	-18,355	Brasil	Espírito Santo	Conceição da Barra	UFES - MAM

Anexo 3: Continuação.

Longitude	Latitude	País	Estado	Município	Fonte Pesquisada
-40,421	-20,600	Brasil	Espírito Santo	Guarapari	Venturini <i>et al.</i> 1996
-40,382	-19,884	Brasil	Espírito Santo	Ibiraçu	MBML - MAMÍFEROS
-41,703	-20,497	Brasil	Espírito Santo	Ibitirama	UFES - MAM
-40,061	-19,149	Brasil	Espírito Santo	Linhares	UFES - MAM
-40,010	-19,097	Brasil	Espírito Santo	Linhares	MAMÍFEROS - ES
-39,786	-19,558	Brasil	Espírito Santo	Linhares	UFES - MAM
-40,846	-19,169	Brasil	Espírito Santo	Pancas	UFES - MAM
-40,532	-20,114	Brasil	Espírito Santo	Santa Leopoldina	MBML-MAMIFEROS
-40,571	-19,965	Brasil	Espírito Santo	Santa Teresa	MAMIFEROS-ES
-40,566	-19,974	Brasil	Espírito Santo	Santa Teresa	Passamani e Ribeiro 2009
-41,719	-21,043	Brasil	Espírito Santo	São José do Calçado	UFES - MAM
-41,671	-20,958	Brasil	Espírito Santo	São José do Calçado	UFES - MAM
-40,233	-20,233	Brasil	Espírito Santo	Serra	UFES - MAM
-40,494	-20,349	Brasil	Espírito Santo	Viana	UFES - MAM
-40,465	-20,379	Brasil	Espírito Santo	Viana	UFES - MAM
-40,461	-20,359	Brasil	Espírito Santo	Viana	UFES - MAM
-40,439	-20,389	Brasil	Espírito Santo	Viana	UFES - MAM
-41,186	-19,509	Brasil	Minas Gerais	Aimorés	MCNM
-44,646	-22,087	Brasil	Minas Gerais	Aiuruoca	MCNM
-44,610	-22,031	Brasil	Minas Gerais	Aiuruoca	MCNM
-44,606	-22,023	Brasil	Minas Gerais	Aiuruoca	MCNM
-40,856	-16,060	Brasil	Minas Gerais	Almenara	MCNM
-43,599	-19,964	Brasil	Minas Gerais	Barão de Cocais	MCNM
-43,380	-19,850	Brasil	Minas Gerais	Barão de Cocais	MCNM
-44,567	-22,250	Brasil	Minas Gerais	Bocaina de Minas	Geise <i>et al.</i> 2004
-42,687	-19,099	Brasil	Minas Gerais	Braúnas	MCNM
-44,039	-20,102	Brasil	Minas Gerais	Brumadinho	MCNM
-47,321	-16,208	Brasil	Minas Gerais	Cabeceira Grande	MCNM
-43,468	-20,159	Brasil	Minas Gerais	Catas Altas	MCNM
-42,675	-16,775	Brasil	Minas Gerais	Cristália	MCNM
-43,616	-18,214	Brasil	Minas Gerais	Diamantina	Lessa <i>et al.</i> 2008
-42,852	-19,085	Brasil	Minas Gerais	Dores de Guanhães	MCNM
-44,780	-18,874	Brasil	Minas Gerais	Felixlândia	MCNM
-45,900	-15,383	Brasil	Minas Gerais	Formoso	Carmignotto 2004
-43,950	-20,250	Brasil	Minas Gerais	Itabirito	MCNM
-43,431	-19,414	Brasil	Minas Gerais	Itambé do Mato Dentro	Lessa <i>et al.</i> 2008
-42,650	-19,717	Brasil	Minas Gerais	Mariléia	MVZ - BR
-40,287	-17,840	Brasil	Minas Gerais	Nanuque	MCNM
-43,976	-20,126	Brasil	Minas Gerais	Nova Lima	MCNM
-43,973	-20,017	Brasil	Minas Gerais	Nova Lima	Lessa <i>et al.</i> 2008
-43,959	-20,066	Brasil	Minas Gerais	Nova Lima	Lessa <i>et al.</i> 2008
-43,879	-20,154	Brasil	Minas Gerais	Nova Lima	MCNM

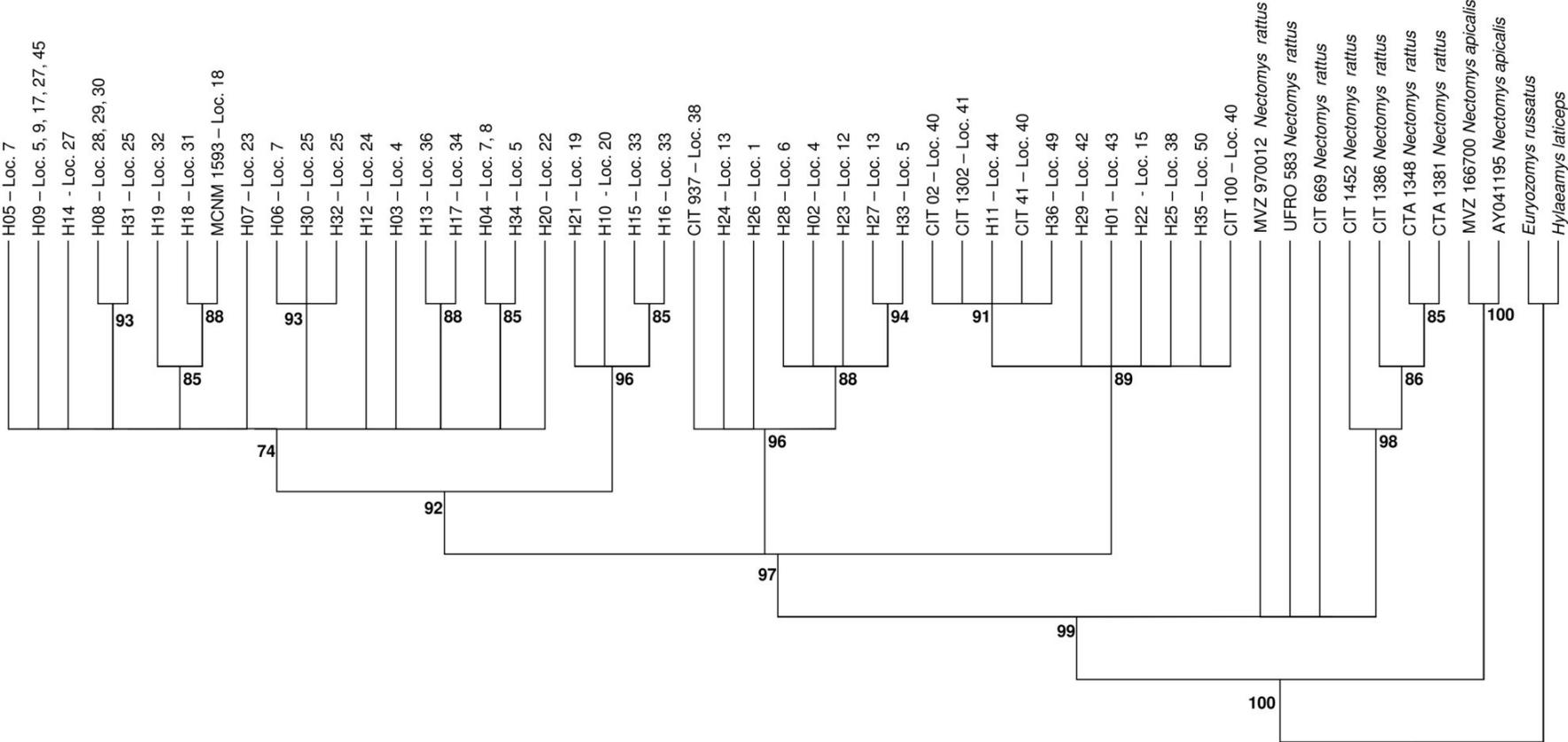
Anexo 3: Continuação.

Longitude	Latitude	País	Estado	Município	Fonte Pesquisada
-43,866	-20,238	Brasil	Minas Gerais	Nova Lima	MCNM
-43,587	-20,249	Brasil	Minas Gerais	Ouro Preto	MCNM
-43,233	-19,948	Brasil	Minas Gerais	Rio Piracicaba	MCNM
-43,500	-20,083	Brasil	Minas Gerais	Santa Bárbara	UFES - CTA
-42,875	-20,219	Brasil	Minas Gerais	Santa Cruz da Escalvado	MCNM
-40,062	-16,400	Brasil	Minas Gerais	Santa Maria do Salto	MCNM
-43,631	-19,343	Brasil	Minas Gerais	Santana do Riacho	MCNM
-44,834	-20,897	Brasil	Minas Gerais	Santo Antônio do Amparo	Rocha <i>et al.</i> 2011
-43,384	-19,873	Brasil	Minas Gerais	São Gonçalo do Rio Abaixo	MCNM
-43,367	-19,883	Brasil	Minas Gerais	São Gonçalo do Rio Abaixo	Lessa <i>et al.</i> 2008
-43,383	-18,150	Brasil	Minas Gerais	São Gonçalo do Rio Preto	UFES - CTA
-51,250	-23,450	Brasil	Paraná	Londrina	MZUEL - MAMÍFEROS
-44,378	-22,887	Brasil	Rio de Janeiro	Angra dos Reis	Cunha e Rajão 2007
-41,441	-21,792	Brasil	Rio de Janeiro	Campos do Goytacazes	Pessôa <i>et al.</i> 2010
-41,643	-22,267	Brasil	Rio de Janeiro	Carapebus	Pessôa <i>et al.</i> 2010
-42,288	-22,453	Brasil	Rio de Janeiro	Casemiro de Abreu	Pessôa <i>et al.</i> 2010
-42,027	-22,438	Brasil	Rio de Janeiro	Casemiro de Abreu	Pessôa <i>et al.</i> 2010
-42,017	-22,538	Brasil	Rio de Janeiro	Casemiro de Abreu	Pessôa <i>et al.</i> 2010
-42,006	-22,303	Brasil	Rio de Janeiro	Macaé	Pessôa <i>et al.</i> 2010
-41,721	-22,288	Brasil	Rio de Janeiro	Macaé	Pessôa <i>et al.</i> 2010
-43,775	-22,682	Brasil	Rio de Janeiro	Paracambi	MCNM
-41,403	-22,070	Brasil	Rio de Janeiro	Quissamã	Pessôa <i>et al.</i> 2010
-41,870	-21,930	Brasil	Rio de Janeiro	Santa Maria Madalena	Modesto <i>et al.</i> 2008
-42,498	-22,498	Brasil	Rio de Janeiro	Silva Jardim	Galliez <i>et al.</i> 2009
-42,306	-22,537	Brasil	Rio de Janeiro	Silva Jardim	Pessôa <i>et al.</i> 2010
-42,249	-22,579	Brasil	Rio de Janeiro	Silva Jardim	Pires <i>et al.</i> 2011
-42,681	-22,028	Brasil	Rio de Janeiro	Sumidouro	Bonecker <i>et al.</i> 2009
-42,873	-22,289	Brasil	Rio de Janeiro	Teresópolis	Vaz <i>et al.</i> 2007
-53,030	-27,997	Brasil	Rio Grande do Sul	Nova Boa Vista	Peters <i>et al.</i> 2010
-49,218	-27,022	Brasil	Santa Catarina	Indaial	Barbosa 2012
-47,967	-25,133	Brasil	São Paulo	Cananéia	UFES - MAM
-46,968	-23,747	Brasil	São Paulo	Cotia	Umetsú <i>et al.</i> 2006
-46,945	-23,715	Brasil	São Paulo	Cotia	SINBIOTA
-47,093	-23,715	Brasil	São Paulo	Ibiúna	SINBIOTA
-45,900	-23,650	Brasil	São Paulo	Salesópolis	MVZ - BR
-47,617	-21,617	Brasil	São Paulo	Santa Rita do Passa Quatro	Lyra Jorge <i>et al.</i> 2001
-45,125	-23,358	Brasil	São Paulo	São Luís do Paraitinga	UFES - MAM
-48,214	-24,225	Brasil	São Paulo	Sete Barras	ZUEC - MAM
-47,976	-24,134	Brasil	São Paulo	Sete Barras	Vieira 1999
-47,628	-23,435	Brasil	São Paulo	Sorocaba	UFES - CTA
-44,832	-23,366	Brasil	São Paulo	Ubatuba	Pinheiro e Geise 2008
-44,829	-23,363	Brasil	São Paulo	Ubatuba	Pinheiro e Geise 2008
-55,510	-26,350	Paraguai	Caazapá	Tabaí	KUM

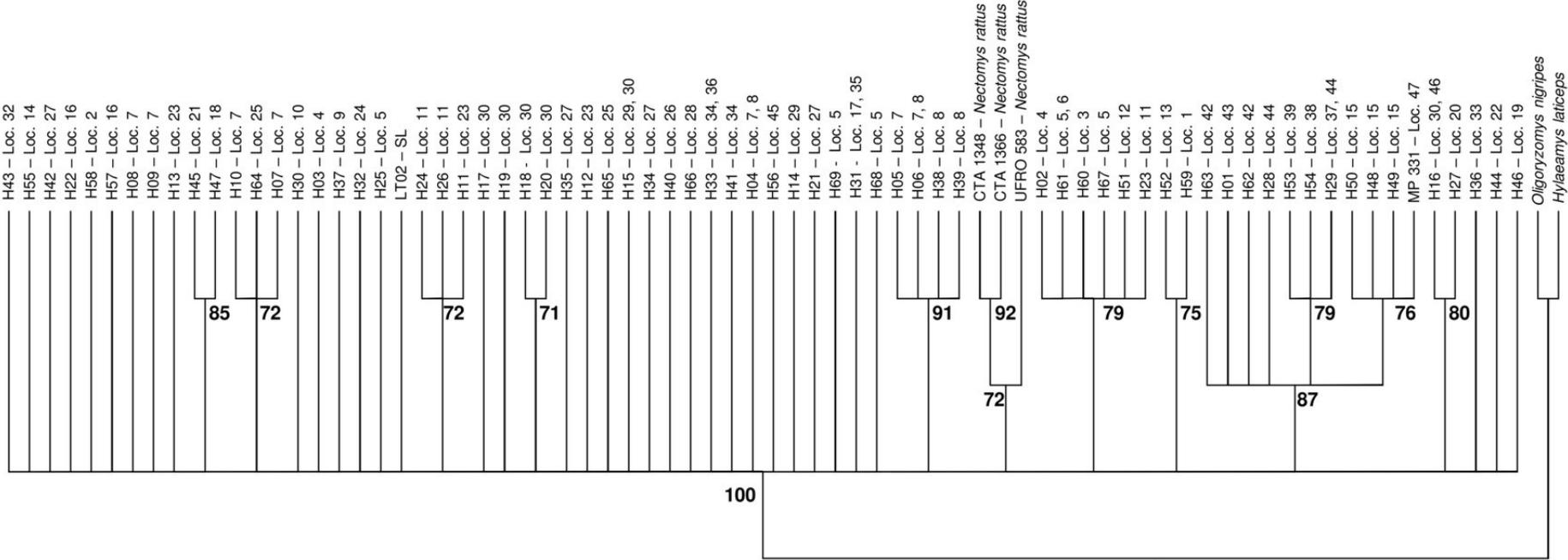
Anexo 4: Variáveis climáticas, topográficas e hidrográficas utilizadas para a construção dos mapas de adequabilidade com seus respectivos códigos.

Código	Variável
Bio 1	Temperatura anual média
Bio 2	Variação diurna média de temperatura (média mensal (temperatura máxima - temperatura mínima))
Bio 3	Isotermalidade (Bio 2/Bio 7) (*100)
Bio 4	Sazonalidade da temperatura (Desvio-padrão*100)
Bio 5	Temperatura máxima do mês mais quente
Bio 6	Temperatura mínima do mês mais frio
Bio 7	Variação anual da temperatura (Bio 5 - Bio 6)
Bio 8	Temperatura média do trimestre mais úmido
Bio 9	Temperatura média do trimestre mais seco
Bio 10	Temperatura média do trimestre mais quente
Bio 11	Temperatura média do trimestre mais frio
Bio 12	Precipitação anual
Bio 13	Precipitação do mês mais úmido
Bio 14	Precipitação do mês mais seco
Bio 15	Sazonalidade da precipitação (coeficiente de variação)
Bio 16	Precipitação do trimestre mais úmido
Bio 17	Precipitação do trimestre mais seco
Bio 18	Precipitação do trimestre mais quente
Bio 19	Precipitação do trimestre mais frio
alt	Altitude
aspect	Direção para onde a face do terreno está voltada
dem	Elevação do terreno
flowacc	Acumulação do fluxo de água no terreno
flowdir	Direção do fluxo de água no terreno
slope	Declividade do terreno
topo	Índice Composto Topográfico (CTI)

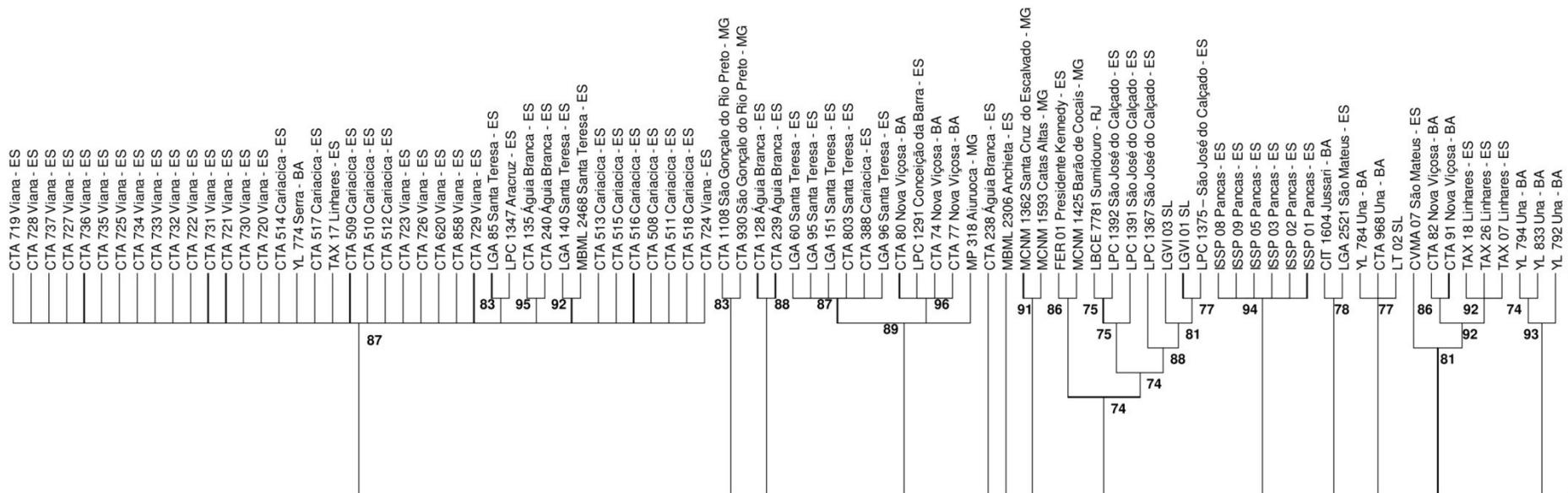
Anexo 5: Árvore de Máxima Parcimônia (MP) dos haplótipos de Cit b. Nos táxons terminais há o número do haplótipo ou o número da amostra e as localidades de ocorrências dos mesmos. Os valores dos ramos são de *bootstrap* e para verificar as localidades utilize o mapa da Figura 1.



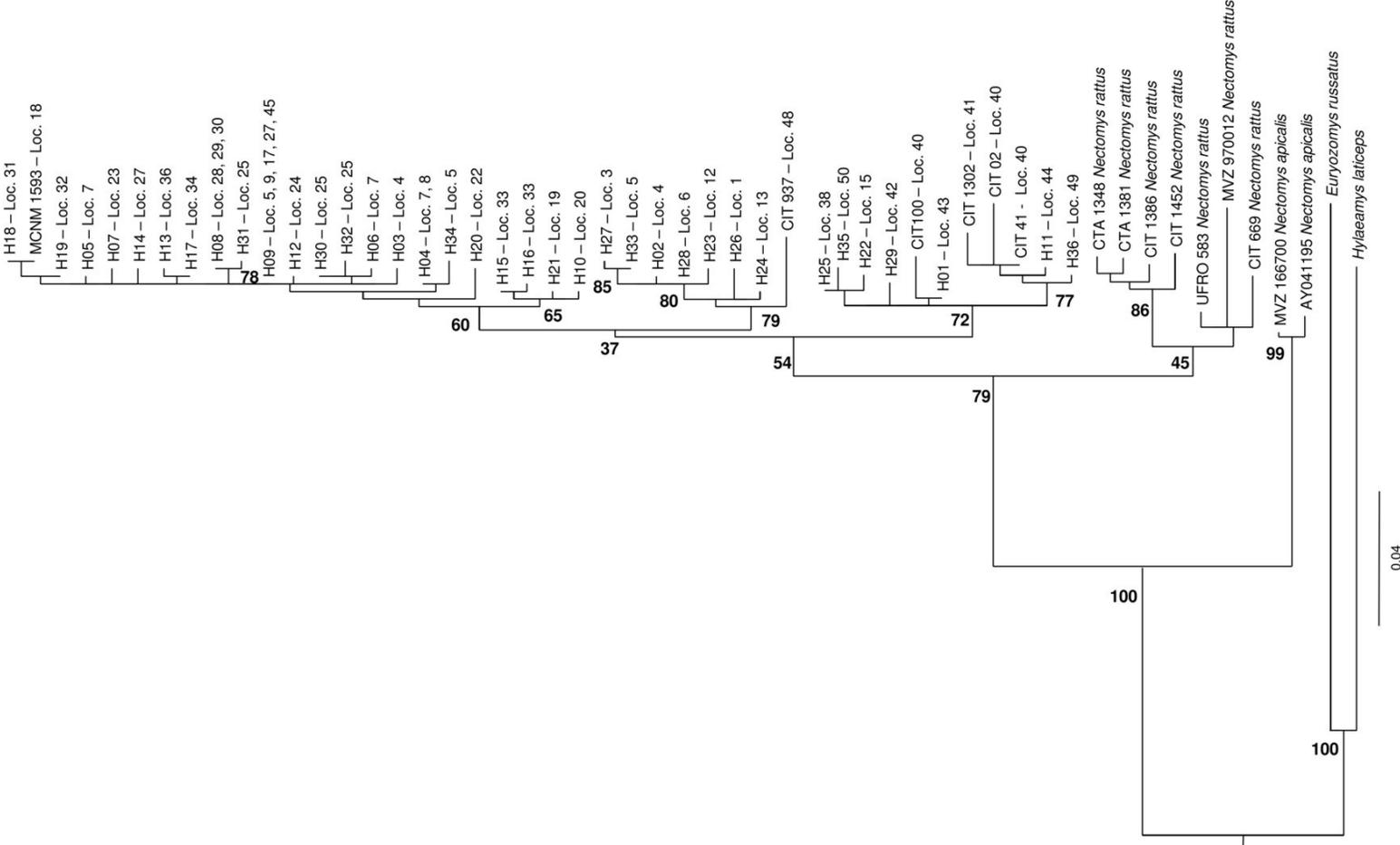
Anexo 6: Árvore de Máxima Parcimônia (MP) dos haplótipos de D-loop. Nos táxons terminais há o número do haplótipo ou da amostra e as localidades de ocorrências dos mesmos. Os valores dos ramos são de *bootstrap* e para verificar as localidades utilize o mapa da Figura 1. SL: Sem localidade especificada pelo coletor.



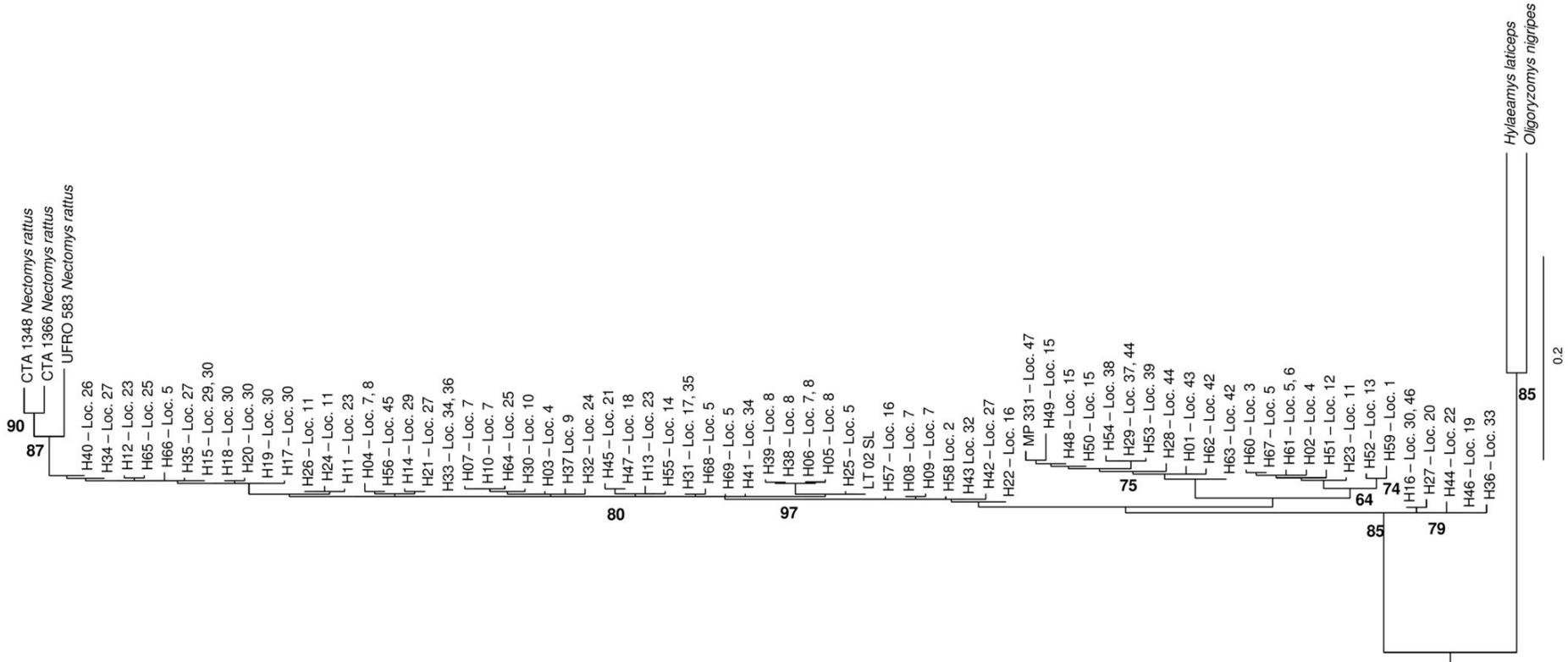
Anexo 7: Árvore de Máxima Parcimônia (MP) dos dados concatenados. Nos táxons terminais há o número da amostra e as localidades de ocorrências dos mesmos. Os valores dos ramos são de *bootstrap*. SL: Sem localidade especificada pelo coletor.



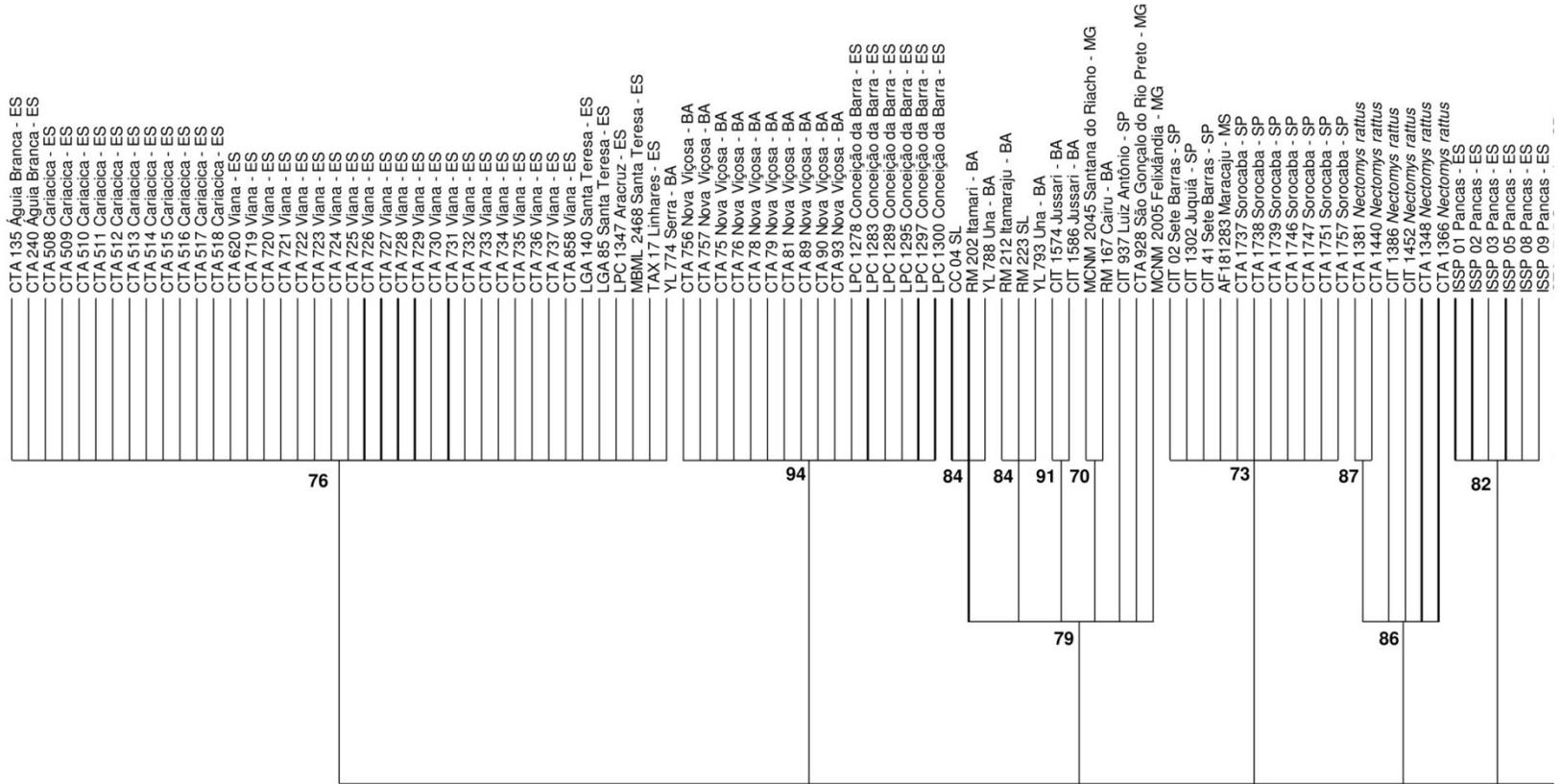
Anexo 8: Filograma de Máxima Verossimilhança (MV) dos haplótipos de Cit b. Nos táxons terminais há o número do haplótipo ou o número da amostra e as localidades de ocorrências dos mesmos. Os valores dos ramos são de *bootstrap* e para verificar as localidades utilize o mapa da Figura 1.



Anexo 9: Filograma de Máxima Verossimilhança (MV) dos haplótipos de D-loop. Nos táxons terminais há o número do haplótipo ou da amostra e as localidades de ocorrências dos mesmos. Os valores dos ramos são de *bootstrap* e para verificar as localidades utilize o mapa da Figura 1. SL: Sem localidade especificada pelo coletor.



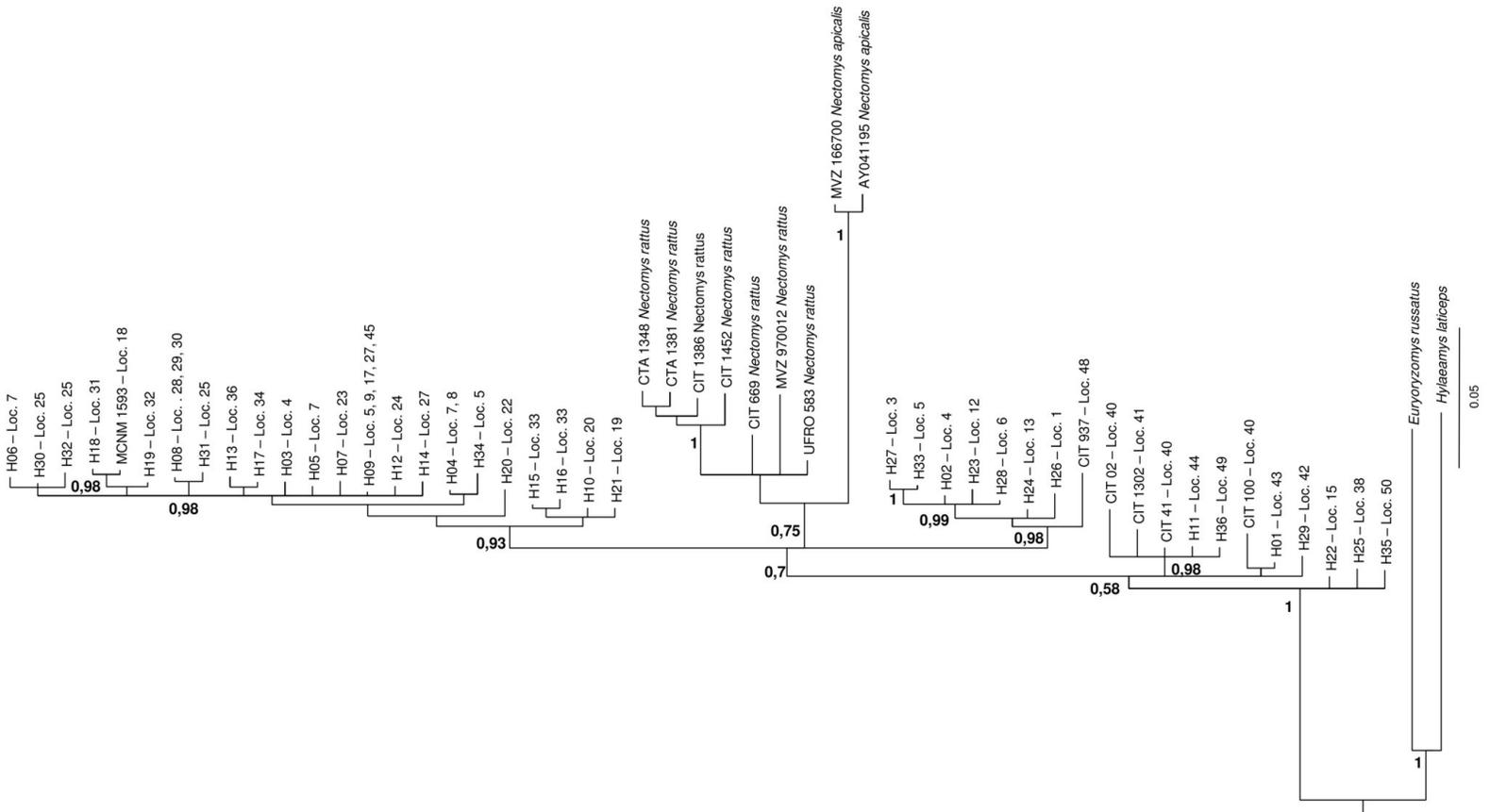
Anexo 10: Árvore de Máxima Verossimilhança (MV) dos dados concatenados. Nos táxons terminais há o número da amostra e as localidades de ocorrências dos mesmos. Os valores dos ramos são de *bootstrap*. SL: Sem localidade especificada pelo coletor.



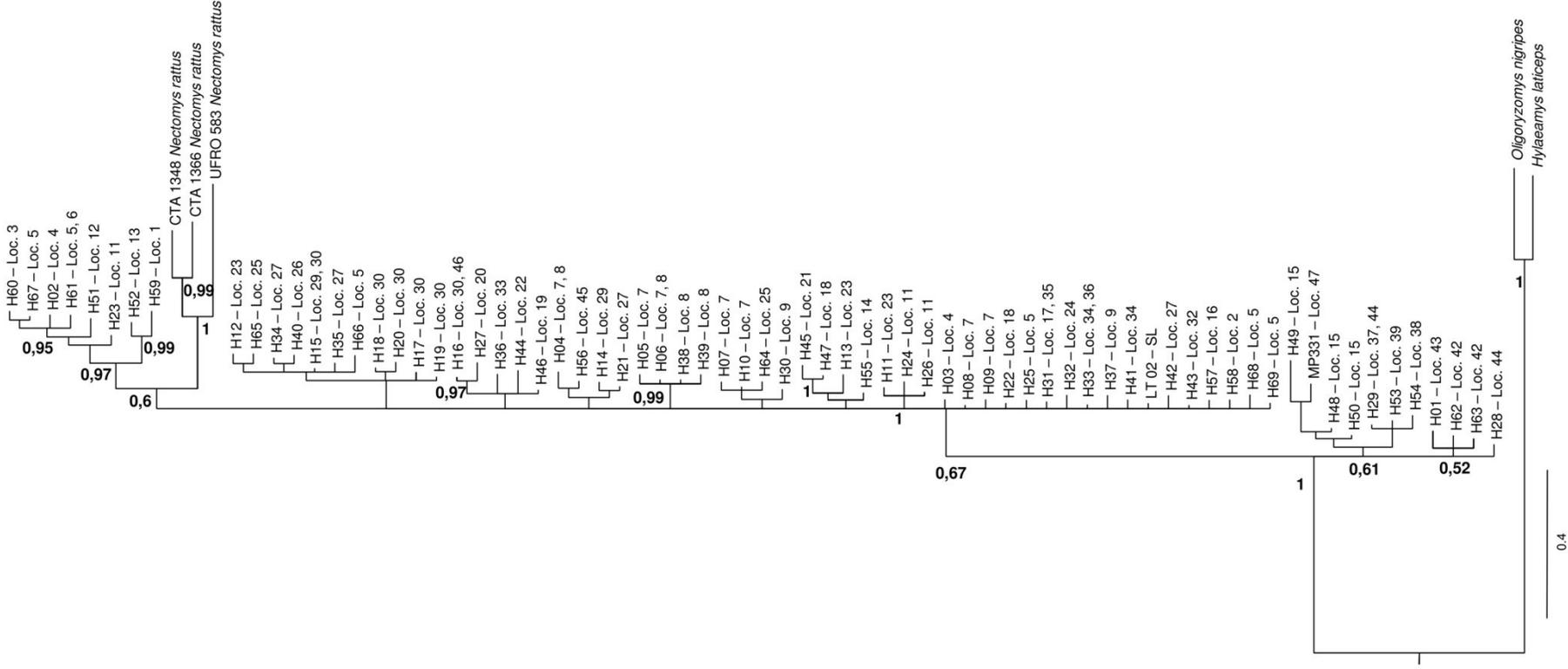
Anexo 10: Continuação.

		CTA 1745 Sorocaba - SP
		LPC 857 Sorocaba - SP
		ML 47 Ilhabela - SP
		ML 61 Ubatuba - SP
	73	ROD 41 São Luís do Paraitinga - SP
		GU126522 Cananéia - SP
	84	ROD 131 Cananéia - SP
		ROD 150 Cananéia - SP
		ROD 154 Cananéia - SP
		ROD 297 Cananéia - SP
		CTA 1108 São Gonçalo do Rio Preto - MG
	82	CTA 128 Águia Branca - ES
		CTA 239 Águia Branca - ES
		CTA 930 São Gonçalo do Rio Preto - MG
	93	CTA 74 Nova Viçosa - BA
		CTA 77 Nova Viçosa - BA
		CTA 80 Nova Viçosa - BA
		LPC 1291 Conceição da Barra - ES
	92	LGA 1215 Ibitirama - ES
		LGA 1238 Ibitirama - ES
		LGA 1239 Ibitirama - ES
	74	MBML 2306 Anchieta - ES
		MCNM 1362 Santa Cruz do Escalvado - MG
	75	YL 792 Una - BA
		YL 794 Una - BA
		YL 833 Una - BA
	76	CTA 616 Viana - ES
		MCNM 2458 Barbacena - MG
	85	MCNM 303 Teixeira - MG
		MCNM 304 Teixeira - MG
	98	MVZ 166700 <i>Nectomys apicalis</i>
		AY041195 <i>Nectomys apicalis</i>
		AB 598 Tapirai - SP
		CIT 100 Sete Barras - SP
		CIT 1604 Jussari - BA
		CIT 669 <i>Nectomys raitus</i>
		CTA 1119 Marihéria - MG
		CTA 238 Águia Branca - ES
		CTA 388 Cariacica - ES
		CTA 803 Santa Teresa - ES
		CTA 82 Nova Viçosa - BA
		CTA 83 Nova Viçosa - BA
		CTA 84 Nova Viçosa - BA
		CTA 91 Nova Viçosa - BA
		CTA 925 Santa Bárbara - MG
		CTA 968 Una - BA
	97	CVMA 07 São Mateus - ES
		FER 01 Presidente Kennedy - ES
		LBCE 7781 Sumidouro - RJ
		LBCE 7805 Sumidouro - RJ
		LGA 151 Santa Teresa - ES
		LGA 2521 São Mateus - ES
		LGA 60 Santa Teresa - ES
		LGA 95 Santa Teresa - ES
		LGA 96 Santa Teresa - ES
		LGV101 - SL
		LGV103 - SL
		LPC 1367 São José do Calçado - ES
		LPC 1375 São José do Calçado - ES
		LPC 1391 São José do Calçado - ES
		LPC 1392 São José do Calçado - ES
		LT 02 - SL
		MBML 2467 Santa Teresa - ES
		MBML 2685 Castelo - ES
		MCNM 1371 Ouro Preto - MG
		MCNM 1425 Barão de Cocais - MG
		MCNM 1920 Nova Lima - MG
		MCNM 1928 Nova Lima - MG
		MCNM 1930 Nova Lima - MG
		ML 67 Lagoa Santa - MG
		ML 83 Lagoa Santa - MG
		MP 318 Aluruoca - MG
		MP 331 Santo Antônio do Amparo - MG
		MVZ 970012 <i>Nectomys raitus</i>
		RM 02 Santa Bárbara - MG
		RM 158 Wenceslau Guimarães - BA
		ROD 135 Cananéia - SP
		TAX 18 Linhares - ES
		TAX 26 Linhares - ES
		TAX 07 Linhares - ES
		EU074634 <i>Ybycui</i> - Paraguai
		UFRO 583 <i>Nectomys raitus</i>
		YL 784 Una - BA
		YL 806 Una - BA
		<i>Euryzomys russatus</i>
		<i>Hyalaemys laticeps</i>
	97	

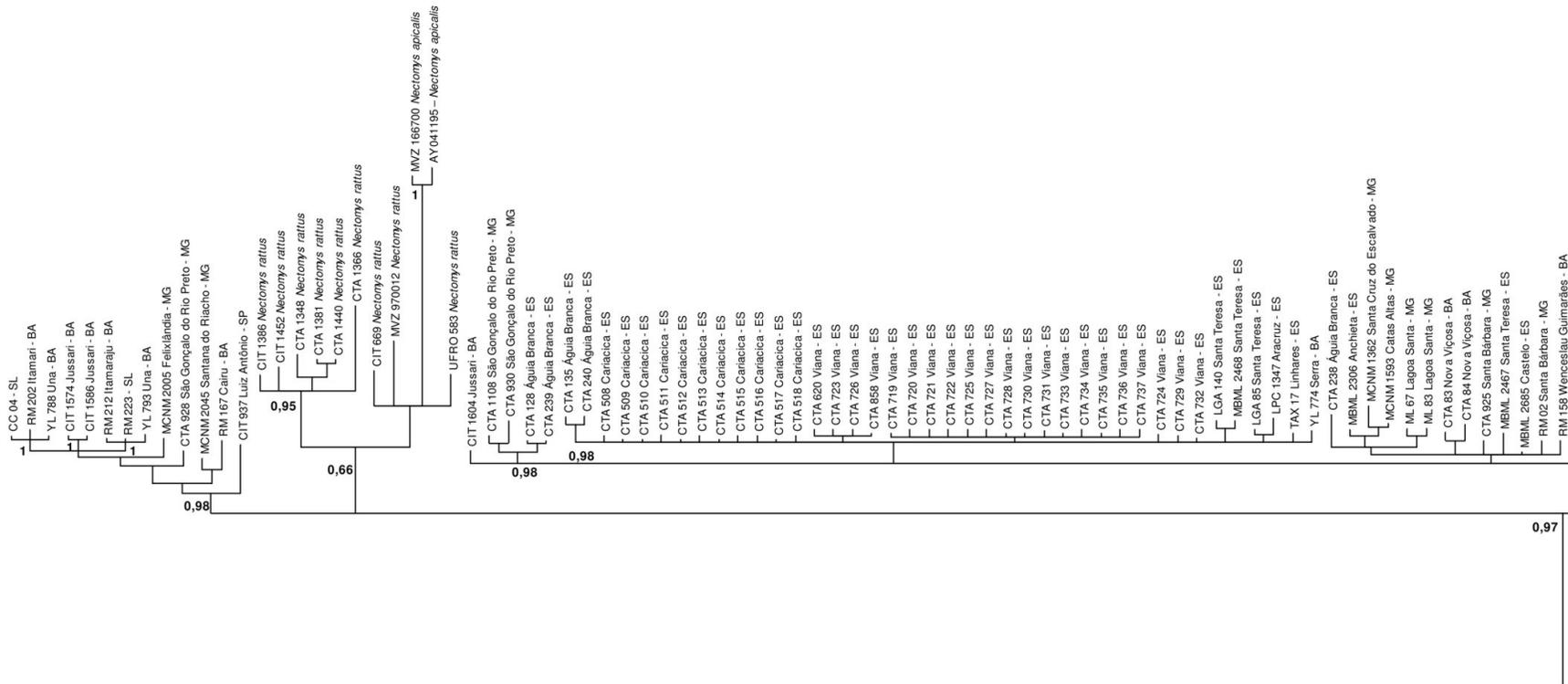
Anexo 11: Filograma de Inferência Bayesiana (IB) dos haplótipos de Cit b. Nos táxons terminais há o número do haplótipo ou o número da amostra e as localidades de ocorrências dos mesmos. Os valores dos ramos são de probabilidade posterior e para verificar as localidades utilize o mapa da Figura 1.



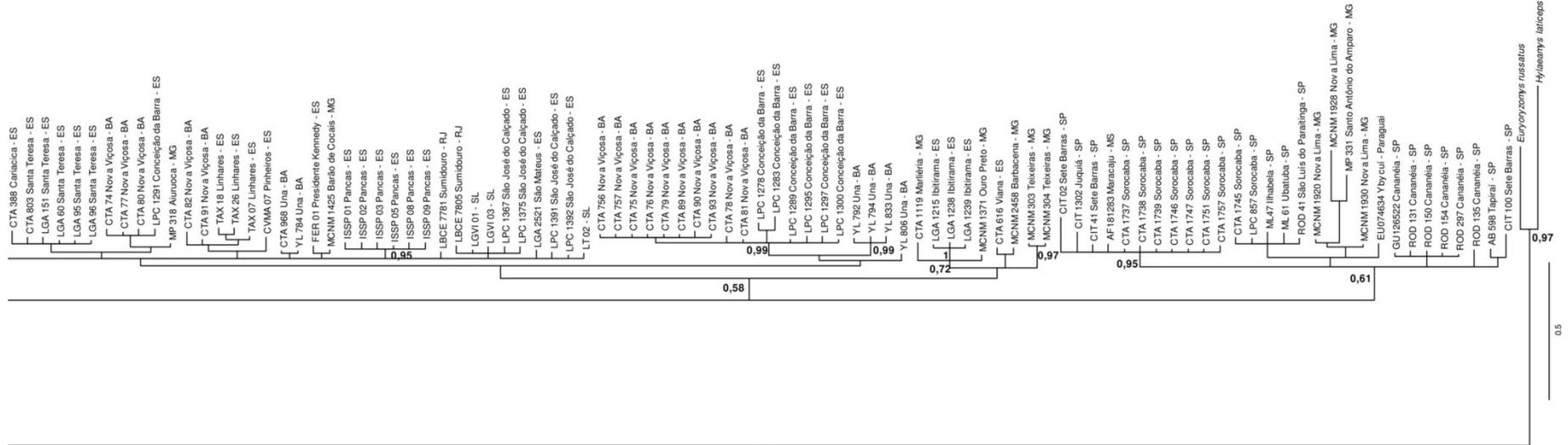
Anexo 12: Filograma de Inferência Bayesiana (IB) dos haplótipos de D-loop. Nos táxons terminais há o número do haplótipo ou da amostra e as localidades de ocorrências dos mesmos. Os valores dos ramos são de probabilidade posterior e para verificar as localidades utilize o mapa da Figura 1. SL: Sem localidade especificada pelo coletor.



Anexo 13: Árvore de Inferência Bayesiana (IB) dos dados concatenados. Nos táxons terminais há o número da amostra e as localidades de ocorrências dos mesmos. Os valores dos ramos são de probabilidade posterior. SL: Sem localidade especificada pelo coletor.



Anexo 13: Continuação.



Anexo 14: Datas em milhões de anos dos principais eventos de cladogênese dentro do gênero *Nectomys*. Os nós foram enumerados de 1 a 10 e estão representados na Figura 9.

Nó	Cladogênese	Mediana	Intervalo de Confiança (95%)	
			Superior	Inferior
1	Origem de <i>Nectomys</i>	0,711	0,168	1,700
2	<i>N. apicalis</i> + <i>A. savamis</i>	0,593	0,168	1,309
3	<i>Nectomys rattus</i> + <i>Nectomys squamipes</i>	0,597	0,161	1,295
4	Origem de <i>Nectomys rattus</i>	0,415	0,089	0,944
5	Origem de <i>Nectomys squamipes</i>	0,545	0,160	1,160
6	Clado Sul	0,370	0,092	0,831
7	Clado Atlântico Leste + Clado Atlântico Sudeste	0,510	0,151	1,082
8	Clado Atlântico Leste	0,341	0,082	0,782
9	Clado Atlântico Sudeste	0,432	0,126	0,935
10	Subclado do Parque Nacional do Caparaó	0,235	0,030	0,605

Anexo 15: Autovalores adquiridos a partir da PCA para a escolha das variáveis não correlacionadas a serem utilizadas na construção dos dois modelos. Os componentes em negrito apresentaram variação superior a 1% e por isso foram utilizadas para escolha das variáveis. Modelo restrito (variáveis climáticas) e modelo amplo (Variáveis climáticas + topográficas + hidrográficas).

Componentes	Modelo Restrito		Modelo Amplo	
	Autovalores	% Variância	Autovalores	% Variância
1	269996	65,98	789532000000	98,76
2	95420	23,32	444560	0,56
3	38811	9,48	229467	0,29
4	2397	0,59	123610	0,15
5	1531	0,37	83070	0,10
6	393422	0,10	63431	0,08
7	340747	0,08	19437	0,02
8	148063	0,04	15353	0,02
9	82883	0,02	6343	0,01
10	364563	0,01	1928	0,00
11	16849	0,00	1150	0,00
12	752405	0,00	365563	0,00
13	603602	0,00	331	0,00
14	516355	0,00	164832	0,00
15	442747	0,00	120937	0,00
16	0,37	0,91	564359	0,71
17	0,22	0,55	300831	0,38
18	0,10	0,23	15852	0,20
19	0,00	0,00	727713	0,09
20	-	-	541572	0,07
21	-	-	413642	0,05
22	-	-	370521	0,05
23	-	-	0,32	0,00
24	-	-	0,23	0,00
25	-	-	0,08	0,00
26	-	-	0,00	0,00

Anexo 16: Contribuição de cada variável para cada eixo dos componentes da PCA. Para o modelo restrito três componentes tinham autovalor superior a 1% e para o modelo amplo apenas um autovalor era superior a 1% (Anexo 15). Os três maiores módulos de cada componente foram escolhidos para o teste de mantel e estão em negrito na tabela. Modelo restrito (variáveis climáticas) e modelo amplo (Variáveis climáticas + topográficas + hidrográficas).

	Modelo Restrito			Modelo Amplo
	Componente 1	Componente 2	Componente 3	Componente 1
Bio 1	-0,0287	-0,0286	0,0491	-0,0006
Bio 2	0,0137	0,0015	-0,0592	0,0003
Bio 3	-0,0054	0,0034	-0,0074	-0,0768
Bio 4	0,8950	-0,4313	-0,0761	0,0146
Bio 5	-0,0121	-0,0398	0,0317	-0,0003
Bio 6	-0,0495	-0,0317	0,1017	-0,0009
Bio 7	0,0373	-0,0081	-0,0700	0,0006
Bio 8	-0,0243	-0,0215	0,0279	-0,0006
Bio 9	-0,0385	-0,0253	0,0661	-0,0007
Bio 10	-0,0177	-0,0357	0,0529	-0,0004
Bio 11	-0,0400	-0,0249	0,0534	-0,0008
Bio 12	0,3702	0,7062	0,3667	0,0070
Bio 13	0,0412	0,1397	-0,1953	0,0009
Bio 14	0,0183	0,0023	0,1391	0,0002
Bio 15	-0,0037	0,0182	-0,1052	0,0094
Bio 16	0,1176	0,3864	-0,4466	0,0025
Bio 17	0,0566	0,0082	0,4615	0,0007
Bio 18	0,1766	0,3725	-0,2631	0,0040
Bio 19	0,0509	0,0283	0,5259	0,0004
alt	-	-	-	0,0056
aspect	-	-	-	0,9998
dem	-	-	-	0,0063
flowacc	-	-	-	-0,0033
flowdir	-	-	-	-0,0005
slope	-	-	-	0,0046
topo	-	-	-	-0,0055

Anexo 17: Teste de Mantel para as sete variáveis selecionadas pelo PCA, com seus respectivos p-valores e índices de correlação (r). Todos os valores foram significativos. Modelo restrito (variáveis climáticas) e modelo amplo (Variáveis climáticas + topográficas + hidrográficas).

Código	Variáveis	Modelo Restrito		Modelo Amplo	
		r	p-valor	r	p-valor
Bio 4	Sazonalidade da temperatura	0,903	>0,001	0,906	>0,001
Bio 12	Precipitação anual	0,252	0,001	0,253	0,001
Bio 16	Precipitação do trimestre mais úmido	0,090	0,012	-	-
Bio 17	Precipitação do trimestre mais seco	0,506	>0,001	-	-
Bio 18	Precipitação do trimestre mais quente	0,111	0,024	-	-
Bio 19	Precipitação do trimestre mais frio	0,521	>0,001	-	-
aspect	Direção para onde a face do terreno está voltada	-	-	0,142	0,005

Anexo 18: Contribuição de cada variável para a construção dos modelos e a importância das variáveis na permutação dos modelos.

Modelo restrito (variáveis climáticas) e modelo amplo (Variáveis climáticas + topográficas + hidrográficas).

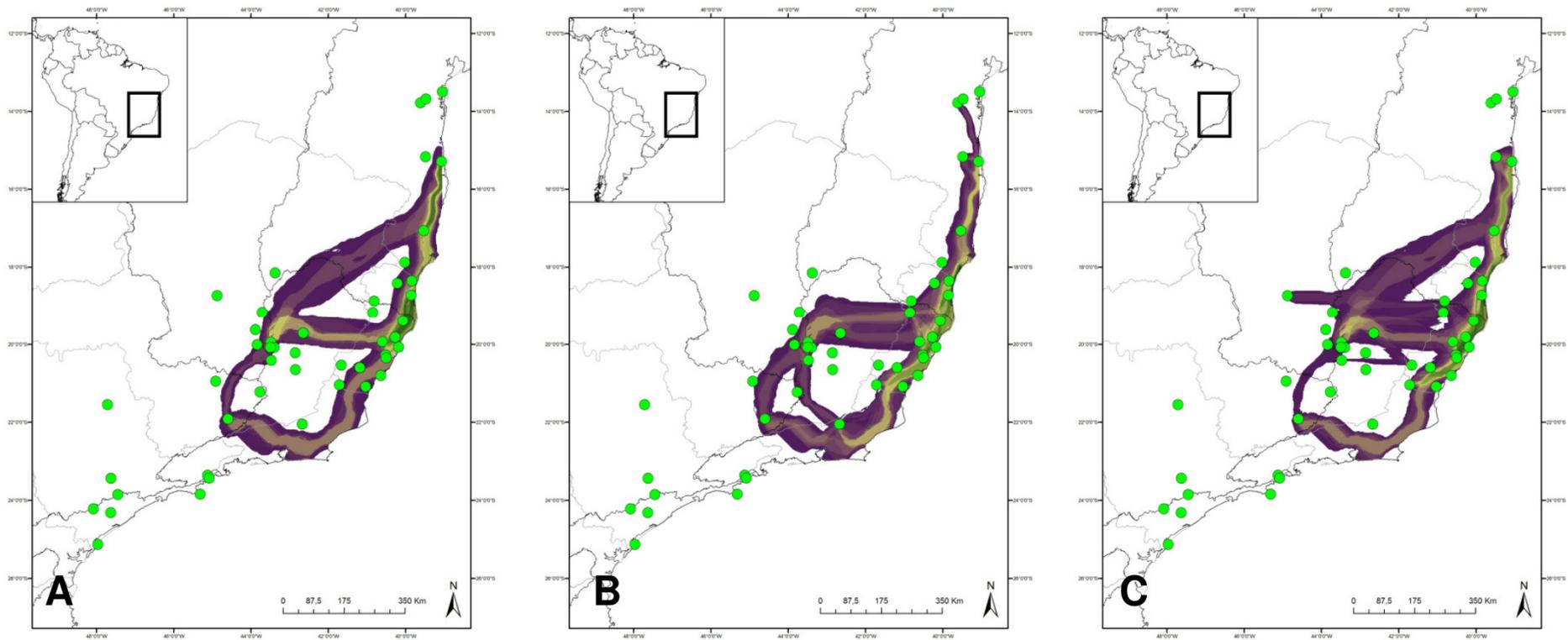
	Variável	Contribuição (%)	Importância na Permutação (%)
Modelo Restrito	Sazonalidade da temperatura	27,8	18,4
	Precipitação do trimestre mais seco	20,9	32,3
	Precipitação do trimestre mais úmido	20,1	8,9
	Precipitação anual	14,9	2,6
	Precipitação do trimestre mais quente	8,8	5
	Precipitação do trimestre mais frio	7,5	32,8
Modelo Amplo	Sazonalidade da temperatura	48,2	46,2
	Precipitação anual	39,3	45,3
	Direção para onde a face do terreno está voltada	12,5	8,5

Anexo 19: Matriz de confusão para os dois modelos de adequabilidade ambiental para *Nectomys squamipes*. Modelo restrito (variáveis climáticas) e modelo amplo (Variáveis climáticas + topográficas + hidrográficas).

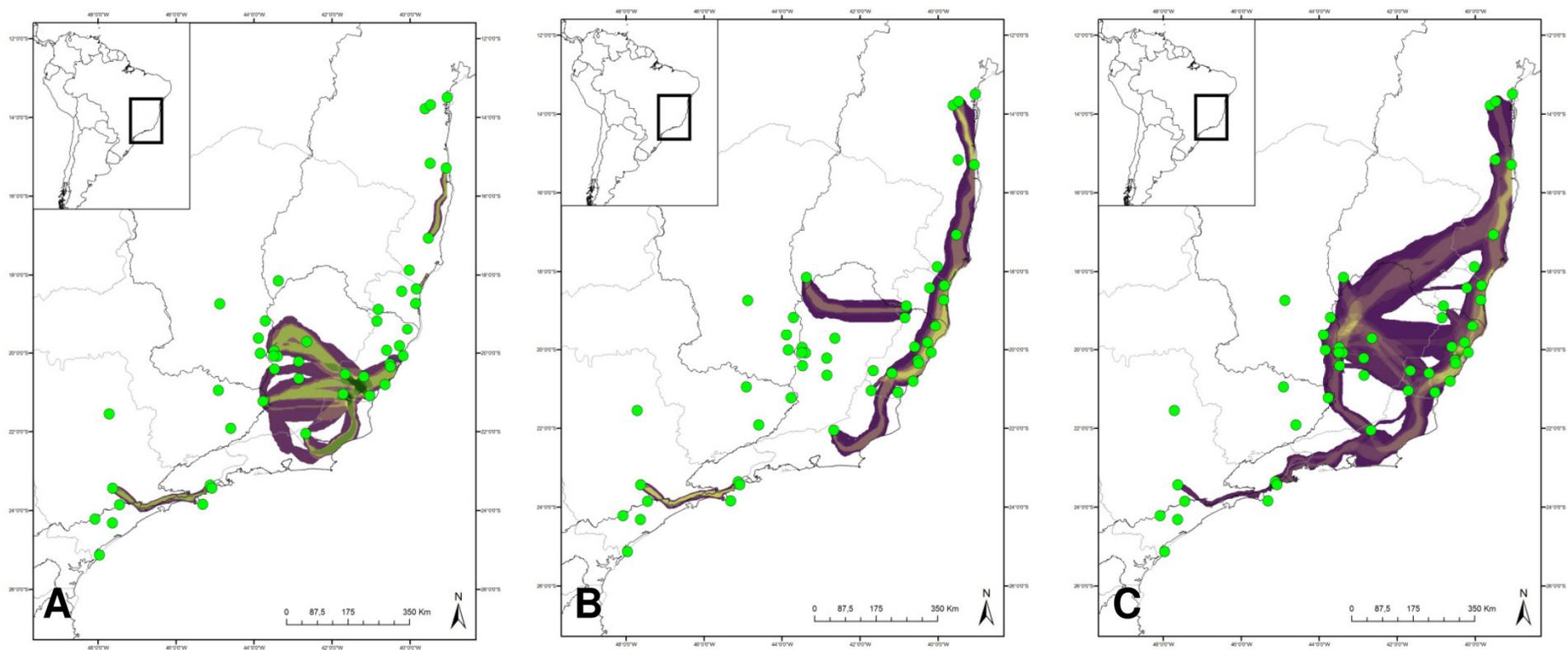
		Presença Real	Ausência Real
Modelo Restrito	Presença Prevista	107	194
	Ausência Prevista	1	886
Modelo Amplo	Presença Prevista	108	229
	Ausência Prevista	0	851

Anexo 20: Medidas quantitativas derivadas da matriz de confusão para os dois modelos de adequabilidade ambiental de *Nectomys squamipes*. Modelo restrito (variáveis climáticas) e modelo amplo (Variáveis climáticas + topográficas + hidrográficas).

Medidas	Modelo Restrito	Modelo Amplo
Sensibilidade	0,991	1,000
Especificidade	0,820	0,788
Acurácia	0,836	0,807
TSS	0,811	0,788
Teste Binomial (p-valor)	<0,01	<0,01
Erro de Sobrevisão	0,180	0,212
Erro de Omissão	0,009	0,000
Taxa de Acerto	0,836	0,807
Taxa de Erro	0,164	0,193



Anexo 21: Mapas de conectividade populacional mostrando as rotas de fluxo gênico do Cit b entre as localidades amostradas de *Nectomys squamipes*. (A) rotas entre localidades que compartilham haplótipos. (B) rotas entre localidades que possuem um passo mutacional de distância. (C) rotas entre localidades que possuem dois passos mutacionais de distância. Áreas em roxo representam baixa probabilidade de fluxo gênico e áreas verdes representam alta probabilidade.



Anexo 22: Mapas de conectividade populacional mostrando as rotas de fluxo gênico do D-loop entre as localidades amostradas de *Nectomys squamipes*. (A) rotas entre localidades que compartilham haplótipos. (B) rotas entre localidades que possuem um passo mutacional de distância. (C) rotas entre localidades que possuem dois passos mutacionais de distância. Áreas em roxo representam baixa probabilidade de fluxo gênico e áreas verdes representam alta probabilidade.