



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY



FACULTAD DE
CIENCIAS

UDELAR fcien.edu.uy

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE CIENCIAS

Tesina para optar al Título de Licenciado en Ciencias Biológicas

CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y MOLECULAR
DE UNA NUEVA ESPECIE DE *EDRABIUS*
(COLEOPTERA: STAPHYLINIDAE) ASOCIADO AL
TUCU-TUCU *CTENOMYS RIONEGRENSIS*

MAURO LEONEL MARTÍNEZ VILLAR

Tutora: Dra. Ivanna H. Tomasco
Co-tutora: Dra. Patricia González - Vainer

Montevideo, Uruguay
2019

Índice

1-Resumen	3
2-Introducción	5
2.1-Características de la familia Staphylinidae.....	6
2.2-Características de la tribu Amblyopinini.....	9
2.3-Carácterística del género <i>Edrabi</i> us.....	11
3-Objetivo del trabajo	16
3.1-Objetivo general.....	15
3.2-Objetivos específicos.....	15
4-Materiales y Métodos	17
4.1-Trabajo de Campo.....	17
4.2-Descripción morfológica.....	18
4.3-Obtención de secuencias y análisis filogenético.....	19
5-Resultados	21
5.1-Descripción morfológica.....	21
5.2-Characterización molecular.....	28
6-Discusión	30
7-Bibliografía	39

Resumen

Staphylinidae con más de 55.440 especies descritas es la familia más diversa del orden Coleoptera. Representan una de las mayores radiaciones evolutivas sobre la tierra ocupan una gran variedad de hábitats. En su mayoría son animales de vida libre, generalmente depredadores. Sin embargo, aquellos pertenecientes a la tribu Amblyopinini son los únicos que presentan una asociación obligada a pequeños mamíferos. Uno de los géneros menos estudiado es *Edrabius*, donde actualmente se conocen 11 especies asociados a roedores de los géneros *Ctenomys* (Ctenomyidae), *Aconaemys* y *Octodon* (Octodontidae). En Uruguay se ha registrado únicamente la especie *E. philippianus* asociada al tucu-tucu *Ctenomys rionegrensis*. La presencia de *E. philippianus* en nuestro país es dudosa ya que: i) no se encuentran los ejemplares utilizados para la identificación de la especie en la Colección correspondiente, ii) no se hace referencia a los caracteres utilizados para la identificación, iii) la especie sólo se conocía para la región de Antofagasta, Chile y Catamarca, Argentina hasta su mención en Uruguay y que iv) las descripciones están basadas solamente en ejemplares hembras. En este trabajo se caracterizó mediante la combinación de herramientas de sistemática clásica, molecular y taxonomía los individuos del género *Edrabius* recolectados sobre *C. rionegrensis*. Se recolectaron individuos de *Edrabius sp.* en la estancia La Tabaré, departamento de Río Negro en marzo de 2017. Mediante microscopio estereoscópico se observaron, compararon, dibujaron y fotografiaron las diferentes estructuras morfológicas de valor taxonómico para la identificación de los ejemplares. Se encontraron diferencias en estructuras morfológicas con respecto a *E. philippianus* y con las demás especies descritas del género, especialmente en los edeagos de los machos. También, se extrajo ADN y se amplificó por PCR la segunda subunidad de

la COI de dos individuos de *Edrabijs sp.* siendo este el primer registro molecular para el género. La reconstrucción filogenética reafirma la pertenencia del género a la familia. Por las comparaciones morfológicas, y en particular las diferencias encontradas en los edeagos, se propone una nueva especie para el género *Edrabijs*.

Introducción

Los insectos y los mamíferos son dos grupos de animales muy diversos y evolutivamente exitosos que dominan todos los paisajes habitables del planeta (Solodovnikov 2016). Mutuamente dependientes uno del otro, son componentes muy importantes de los ecosistemas terrestres a través de asociaciones indirectas, como, por ejemplo, entre insectos polinizadores de plantas y animales consumidores de las mismas, o como los escarabajos coprófagos y animales productores de excremento. Estas interacciones bióticas entre estos dos grupos de animales son cruciales para la biosfera y trae importantes beneficios para los humanos (Solodovnikov 2016).

A pesar de todas estas interacciones, habría pocos ejemplos de mutualismo entre mamíferos e insectos (Solodovnikov 2016). Esto es bastante sorprendente ya que el mutualismo, definido como interacciones que benefician ambas partes, es frecuentemente encontrado en la naturaleza, como por ejemplo entre insectos polinizadores y las flores o, diferentes vertebrados (murciélagos, pájaros, primates) que se alimentan de frutos dispersando sus semillas (Boucher *et al* 1982; Weiblen & Treiber 2015). Ashe & Timm (1987) encontraron uno de estos muy raros ejemplos entre escarabajos de la familia Staphylinidae y roedores.

Staphylinidae (Latreille, 1802) es una de las familias más diversas del orden Coleoptera, con más de 55.440 especies conocidas alrededor del mundo, representan una de las radiaciones evolutivas más grandes sobre la Tierra. En su mayoría son animales de vida libre y muy diversos en los trópicos (Asenjo *et al.* 2013).

Familia Staphylinidae (Latreille, 1802)

Diagnosis. Coleópteros con élitros cortos que exponen más de la mitad del abdomen; seis u ocasionalmente siete segmentos del abdomen visibles y procoxas contiguas (Thomas 2000).

Descripción. Longitud variable, de 1 a 35 mm; forma alargada, ocasionalmente ovoide; coloración del cuerpo variable, desde tonalidades claras hasta oscuras, en ocasiones con brillos metálicos. **Cabeza** prognata a hipognata, con o sin cuello evidente. Ojos compuestos presentes, en algunos casos prominentes, ausentes o reducidos. Antena con número de artejos variable (2 – 11), principalmente once, de forma variable; inserciones antenales cercanas a los bordes anteriores de los ojos, sobre el margen anterior de la frente o insertadas entre los ojos. Labro libre, con frecuencia con borde anterior escotado; algunas veces modificado, con bordes pilosos, espinas o procesos alargados. Mandíbulas prominentes, generalmente falciformes, curvadas, con ápices agudos o con formaciones molares, frecuentemente con dientes en la parte interna; prosteca generalmente presente. Maxilas con galea y lacinia, palpos normales con cuatro artejos, menos frecuente con cinco, algunas veces el cuarto artejo es alargado, securiforme, aciculado, etc. Palpos labiales en la mayoría de las especies con tres artejos, raramente de cuatro, forma variable, algunas veces el último artejo está modificado, por ejemplo, en forma de media luna. Mentum presente. Gula

esclerosada, suturas gulares separadas, fusionadas o ausentes. Escleritos cervicales (dos pares) presentes (Navarrete & Newton 2003; Thomas 2000).

Tórax. Pronoto de forma variable por lo general más grande que la cabeza; hipomeron con frecuencia visible distinguiéndose la línea superior e inferior. Escutelo visible, triangular, en ocasiones parcial o completamente oculto por la base del pronoto, glabro o con puntuación setífera, ocasionalmente ornamentado, por ejemplo, con una impresión en forma de diamante o en forma de cresta. Élitros truncados, usualmente cortos, excepto en algunas especies de Omaliinae, Scaphidiinae y Proteininae; a veces con carinas, raramente traslapados (Xantholinini), lateralmente con o sin una carina epipleural. Alas metatorácicas presentes, reducidas o ausentes en algunas especies de hojarasca, cavernícolas, endógenos o asociadas a roedores o con distribución restringida a zonas montanas (algunas especies de *Quedius* o *Platydracus*). Venación por lo general reducida, caracterizada por la retención de diferente forma y tamaño; fórmula tarsal variable, 2 – 2 – 2, 3 – 3 – 3, 4 – 4 – 4, 5 – 5 – 5 o heterómera, por ejemplo 5 – 5 – 4, 5 – 4 – 4, entre otras; uñas simples, raramente desiguales en tamaño, aunque pueden estar reducidas o raramente muy desarrolladas.

Abdomen. Constituido por diez segmentos de acuerdo a su origen embrionario. Los dos primeros esternitos por lo general reducidos, siempre están presentes. Los segmentos nueve y diez conforman la terminalia o el segmento genital. Por lo general con cinco, seis o siete esternitos visibles; con uno o dos pares de latero escleritos o paraterguitos, aunque en algunas especies no se presentan lateroescleritos y los esternitos y terguitos están separados por una membrana, o bien se encuentran completamente fusionados, careciendo por completo de lateroescleritos y suturas.

Dimorfismo sexual muy variable; los machos pueden diferenciarse de las hembras por distintos caracteres dependiendo de las especies. Pueden presentar: protarsos expandidos; cabeza y mandíbulas más desarrolladas; metacoxas modificadas, con una proyección externa (algunas especies de *Glenus*); metatrocánter en forma de gancho (algunas especies de *Belonochus*, aunque existen algunas especies en las que tanto machos como hembras presentan espinas); sexto esternito visible escotado en su parte media (especies de varias subfamilias); presencia de sedas modificadas en los esternitos (especies de varias subfamilias); esternitos abdominales con un mechón de sedas en un esclerito, de posición y forma variable, entre otros. En otras especies sin diferenciación externa, el reconocimiento del sexo está restringido exclusivamente a los órganos sexuales internos o a los segmentos de la terminalia. En las hembras, el terguito del segmento abdominal X es el proctiger. Ovipositor por lo general inconspicuo externamente. Dentro de algunos grupos, la espermateca es esclerosada y de forma característica para las especies, mientras en otros es solo membranosa. En los machos, el segmento abdominal IX consta de dos o tres partes. Dorsalmente, el terguito IX puede estar dividido en dos partes laterales o unido en un solo esclerito extendiéndose posteriormente o no a lo largo de los lados; las partes expuestas tienen pocas a muchas sedas. El esternito es un esclerito ventral, con sedas en la parte apical. Edeago de forma variable, pieza basal reducida o ausente, lóbulo medio por lo general bulboso en su base y con un pequeño foramen para la entrada de la vesícula seminal y un foramen apical más grande para la salida del saco interno; dos parámetros (simétrico o no), fusionado a uno solo o ausentes (Navarrete & Newton 2003; Thomas 2000).

Historia natural

Estos escarabajos errantes ocupan una gran variedad de hábitats, como el suelo, flores, carroña, hongos, plantas en descomposición, colonias de insectos sociales como termitas y hormigas, pelaje de roedores, zonas intermareales e incluso cavernas (Asenjo 2004). La mayoría de los estafilínidos son depredadores de vida libre. Pero esto se ha cuestionado en los estafilínidos de la tribu Amblyopinini que aparentemente poseen hábitos diferentes (Ashe & Tim 1987).

Los Amblyopinini son únicos entre los estafilínidos e inusuales entre los coleópteros ya que participan en una de las interacciones insectos – mamíferos más enigmática e interesante (Ashe & Tim 1988).

Tribu Amblyopinini

Los escarabajos de esta tribu son fácilmente reconocibles por la presencia de una cabeza modificada, con una reducción extrema de los ojos (localizados muy cerca de la base de la cabeza), élitros cortos y carencia de alas metatorácicas (Navarrete & Newton 2003).

La tribu está compuesta por seis géneros, cinco de distribución Neotropical (*Amblyopinus* Solsky, 1875, *Edrabius* Fauvel, 1900, *Amblyopinodes* Seevers, 1955, *Megamblyopinus* Seevers, 1955 y *Chilamblyopinus* Ashe & Timm, 1988) y uno en la región Australiana (*Myotyphlus* Fauvel 1883) (Ashe & Timm 1995). Con un total de 65 especies (Herman 2001), estos escarabajos son los únicos en la familia que presentan una asociación obligada con pequeños mamíferos (Ashe *et al.* 1996). Recolectados generalmente del pelaje y nidos de roedores (caviomorfos y

cricetinos) y marsupiales, presentan cierto grado de especificidad por su hospedero. Cada especie de ambliopinino es huésped específico, y miembros pertenecientes a taxones más altos como género, presentan una tendencia a estar asociados a un grupo particular de mamíferos (Ashe *et al.* 1996). La estructura inusual de los Amblyopinini (reducción extrema de los ojos y ausencia de alas metatorácicas) sumado a las características de su comportamiento han resultado en intensa discusión. Los adultos son casi siempre recolectados de la piel de sus hospederos mamíferos, por lo que se pensaba que eran ectoparásitos obligados que se alimentaban de sangre causando traumas con sus mandíbulas y se los asociaba a las heridas de sus hospederos (Fauvel 1900). Seevers (1955) observó que el hospedero era insensible a los escarabajos en su cuerpo, incluso si estos les caminaban por los ojos. Luego, Ashe & Timm (1987) sugirieron que los escarabajos se sujetan de sus hospederos agarrando un grupo de pelos con las mandíbulas, sin constatar que las mandíbulas se inserten en la piel. Así mismo demostraron que el anclaje de los escarabajos se da únicamente por la mandíbula, las patas no cumplirían tal función ya que no tienen contacto con el pelo, sino que las usarían para estabilizarse en una posición. También observaron que, en el nido de los hospederos, los escarabajos presentaban una actividad de captura de presas muy alta, mientras que sobre los roedores no evidenciaron tal actividad, sino más bien una postura estática. Estas observaciones son compatibles con la hipótesis de que estos coleópteros y los hospederos tienen una relación mutualista: los primeros usarían a los roedores como vectores para la dispersión entre nidos, donde se alimentan de ácaros y pulgas parásitos de los mismos (Ashe & Timm 1987); los ambliopininos habrían evolucionado para adaptarse al comportamiento de su hospedero el cual es su suministro de alimento (Ashe & Timm 1987).

Uno de los géneros menos estudiados de Amblyopinini es *Edrabi*us. Fauvel (1900) describió el género con la especie tipo *E. philippianus*, basándose en especímenes colectadas sobre *Ctenomys fulvus* (Ashe et al. 1996) en Chile.

Género *Edrabi*us (Fauvel 1900)

Especie tipo: *Edrabi*us *philippianus* Fauvel 1900

Diagnosis. Tarsómero I de patas mesotorácicas sin un peine de espinas cortas y oscuras; placas laterales del IX segmento abdominal con setas extremadamente largas y aciculadas, además de macrosetas dispersas no modificadas; América del Sur (Seevers 1955; Ashe & Timm 1988).

Descripción. Cápsula cefálica distintiva, ampliamente expandida en la base por lo que el cuello es relativamente estrecho en proporción al ancho de la cabeza. Superficie posterior de la cabeza, lateral al cuello, cóncava. Ojos similares a los de *Myotyphlus*, muy pequeños, compuestos de una sola faceta y localizados justo detrás de la fosa de la antena. El labro largo, bilobulado. Gula y submentón muy similar a los de *Myotyphlus*; estructura de la gula subparalela, submentón relativamente corto. Elitros subiguales en largo y ancho. Coxa trasera similar a las del género *Myotyphlus* y a las de la tribu Quediini en su forma. El tarso medio de los machos débilmente expandido y esponjoso; sin ctenidia. El octavo externito emarginado. Placas laterales del noveno segmento del abdomen con un grupo distintivo de setas extremadamente largas y aciculadas (Seevers 1955).

Actualmente se conocen 11 especies de *Edrabi*us, distribuidas en cuatro países sudamericanos y asociadas a roedores subterráneos de los géneros

Ctenomys (Rodentia: Ctenomyidae), *Aconaemys* y *Octodon* (Octodontidae). En la Tabla 1 se indica la distribución y hospedero asociado para cada una de ellas.

Tabla 1. Distribución y hospedero asociado para cada una de las especies de *Edrabius*. Citas: (1) Seevers, 1955; (2) Ashe *et al.* 1996; (3) Scheerpeltz, 1957 y (4) Fauvel, 1900

Especie	Distribución	Hospedero
<i>E. alticolus</i> Seevers, 1955	Perú: Tacna; Bolivia: Oruro; Chile: Parinoca (1; 2)	<i>Ctenomys fulvus</i> ; <i>Ctenomys opimus opimus</i> ; <i>Ctenomys opimus</i> (1; 2)
<i>E. argentinus</i> Seevers, 1955	Argentina: Catamarca, Mendoza (1; 2)	<i>Ctenomys haigi</i> , <i>Ctenomys tucumanus</i> (1; 2)
<i>E. australis</i> Ashe <i>et al.</i> 1996	Chile: Bío - Bío (2)	<i>Ctenomys maulinus maulinus</i> (2)
<i>E. chilensis</i> Scheerpeltz, 1957	Chile: Curicó, Cautín y Malleco (3;2)	<i>Aconaemys porteri</i> ; <i>Aconaemys fuscus</i> (2)
<i>E. chilensiformis</i> Ashe <i>et al.</i> 1996	Chile: Coquimbo (2)	<i>Octodon degus</i> (2)
<i>E. grandis</i> Ashe <i>et al.</i> 1996	Argentina: Río Negro; Chile: Coyhaique (2)	<i>Ctenomys coyhaiquensis</i> <i>Ctenomys haigi</i> (2)
<i>E. kuscheli</i> Scheerpeltz, 1957	Chile: Arica (3)	<i>Galea musteloides</i> (3)
<i>E. pearsoni</i> Seevers, 1955	Perú: Puno (1)	<i>Ctenomys opimus nigriceps</i> (1)
<i>E. peruanus</i> Seevers, 1955	Perú: Puno y Parinacota (1; 2)	<i>Ctenomys peruanus</i> ; <i>Ctenomys opimus</i> (1; 2)
<i>E. philippianus</i> Fauvel, 1900	Chile: Antofagasta; Argentina: Catamarca (4; 3)	<i>Ctenomys fulvus</i> (1; 2)
<i>E. weiseri</i> Seevers, 1955	Bolivia: Oruro, Potosí; Argentina: Jujuy (1; 2)	<i>Ctenomys opimus opimus</i> (2)

En Uruguay sólo se ha registrado hasta el presente la especie *E. philippianus* (Altuna 1999). Este registro se basó sobre cuatro ejemplares de *Edrabijs* asociados al tucu-tucu *Ctenomys rionegrensis*, pero el autor no hace referencia a los caracteres anatómicos que utilizó para la identificación. *C. rionegrensis* es una especie de tucu-tucu que hasta fines del 2018 se creía endémica restringida al suroeste de Uruguay (Langguth & Abella 1970), pero Camarán (2018) también la identificó para el sur de Argentina. Es especialista de hábitat y se encuentra presente en dunas arenosas ubicadas sobre la costa del Río Negro y del Río Uruguay. Por su limitada distribución y debido a la fragmentación y destrucción de su hábitat, es considerada como una especie amenazada por la IUCN (Bidau *et al.* 2008).

Altuna (1999) indicó que depositó los ejemplares de *E. philippianus* en la colección de Etología de la Facultad de Ciencias con el código CA0895, pero estos especímenes no se encuentran presentes en dicha colección, razón por la cual no se pudo confirmar la identificación de los mismos. Por otra parte, salvando este registro, la especie *E. philippianus* es conocida solamente para las regiones de Antofagasta, Norte de Chile y Catamarca, Argentina y asociado a *Ctenomys fulvus* (Seevers, 1955; Ashe *et al.* 1996). Cabe señalar, además, que dicha especie fue descrita originalmente en base a ejemplares hembras. Si bien no existe una descripción completa del macho hasta el presente, Scheerpeltz (1957) aportó dibujos de cabeza, tórax y del edeago de *E. philippianus* con el fin de compararlos con los de dos especies nuevas procedentes de Chile. Por todo lo dicho anteriormente, la presencia de *E. philippianus* sobre *C. rionegrensis* en Uruguay es cuestionable/dudosa. Por otro lado, en miles de ejemplares revisados de *C. pearsoni* y *C. torquatus*, las otras dos especies de tucu-tucus presentes en el país,

no se encontraron ejemplares del género *Edrabi* (I. Tomasco, comunicación personal), lo que sugiere la existencia de cierto grado de especificidad de dicho estafilínido con *C. rionegrensis*.

La identificación de especies del género son problemáticas, ya que no son muy detalladas, las especies son muy similares externamente, los autores no utilizan los mismos caracteres morfológicos, no se han descrito los edeagos de todas las especies conocidas y no existe una revisión general de la sistemática del género.

Existe un gran debate sobre la relación entre los distintos integrantes de la tribu Amblyopinini (Ashe & Timm 1988). En particular la relación entre el género *Edrabi* y el género *Myotyphlus*. Seevers (1955) menciona que dentro de la tribu existirían dos grandes linajes morfológicos. Uno compuesto por *Edrabi* de Sudamérica y *Myotyphlus* de Tasmania y el otro gran grupo comprende al resto de los géneros de centro y sur de América. Seevers postuló que todos estaban relacionados con la tribu Quediini y que *Edrabi* y *Myotyphlus* retuvieron más caracteres de sus ancestros quediines que el resto de los Amblyopinini. *Edrabi* y *Myotyphlus* estarían altamente especializados con la reducción de los ojos en una faceta simple localizados anteriores en la cabeza, cerca de la inserción de la antena; asimismo su similitud en la forma de la cabeza y mandíbulas tridentadas no la comparten con otros Amblyopinini, por lo que una relación entre estos dos géneros no puede ser rechazada (Ashe & Timm 1988).

A su vez, Timm & Ashe (1989) encontraron la probable larva de una especie no descrita de *Edrabi*, la cual comparte características con larvas de la tribu

Staphilinini por lo que sostienen que *Edrabi* no sería un Amblyopinini y ponen en duda su relación con *Myotyphlus*.

La relación de los distintos integrantes de esta tribu y su relación con otras tribus continúa siendo un enigma. Por lo que sería importante abordar un estudio filogenético. No existen referencias de datos moleculares de especies del género, solamente se encuentran disponibles secuencias de distintos genes para una especie de la misma tribu, *Amblyopinus emarginatus*, por lo que nuevos aportes en este sentido serían relevantes para dilucidar las relaciones dentro de la tribu y con otras cercanas.

Objetivo del trabajo

Objetivo general

Caracterizar mediante la combinación de herramientas de sistemática clásica, molecular y taxonómicas los individuos del género *Edrabi* encontrados en Uruguay asociadas a *Ctenomys rionegrensis*.

específicos

1. Realizar la descripción morfológica de los ejemplares de *Edrabi* sp. recolectados sobre individuos de *C. rionegrensis* y determinar la especie.

2. Amplificar y secuenciar el gen de la subunidad 1 de la citocromo oxidasa de individuos de *Edrabius sp.*
3. Realizar una comparación filogenética que incluya las secuencias obtenidas y otras de géneros de la misma tribu/familia disponible en bases de datos públicas
4. Corroborar la pertenencia del género *Edrabius* a la tribu Amblyopinini de la familia Staphylinidae, así como posicionar el género en ese contexto.

Materiales y Métodos

Trabajo de Campo

El muestreo se llevó a cabo en la estancia La Tabaré, departamento de Río Negro (33° 21' 36.4" S 58° 18' 52.1" W) donde se encuentra la población de tucu-tucus *C. rionegrensis* que presentan esta asociación con *E. philippianus*. El sitio de muestreo consiste en una duna arenosa relictual ubicada entre el Río Negro y el Río Uruguay, la cual está rodeada de vegetación que consiste en una mezcla de pradera anual y arbustos leñosos (Tassino *et al.* 2011). Los tucu-tucus fueron capturados con trampas de vida (e.g., Lacey *et al.* 1997; Tassino *et al.* 2011) las que fueron colocadas abriendo las entradas de las cuevas recientemente tapadas y ubicadas en los túneles adyacentes. Las trampas se revisaron cada una hora, y los individuos capturados fueron removidos tan pronto como fueron detectados. Los coleópteros que se encontraron sobre los tucu-tucus fueron colocados en ependorffs con etanol 95% y llevados a Facultad de Ciencias donde se los conservó para los estudios morfológicos y moleculares. Los tucu-tucus fueron devueltos al mismo túnel

de los cuales fueron capturados, inmediatamente después de coleccionar los coleópteros.

Material estudiado

Se recolectaron un total de 8 estafilínidos del género *Edrabius* asociados a individuos de *C. rionegrenses* en la zona de muestreo.

Descripción morfológica

Mediante microscopio estereoscópico (Nikon SMZ – 10) y la clave de Seevers (1955) se analizaron las estructuras externas y se corroboró la pertenencia de los escarabajos al género *Edrabius*. Los ejemplares fueron sexados, fotografiados y se realizaron dibujos y fotografías de las estructuras morfológicas más relevantes, en particular los órganos copuladores de los machos (edeago). Los dibujos se realizaron con cámara clara y las fotografías se tomaron con una cámara óptica Nikon Z6 en el microscopio estereoscópico a diferentes profundidades. Mediante el programa Zerene Stacker (Zerene Systems 2018), estas fotos fueron apiladas con el fin de conseguir una única foto de alta calidad y editada mediante el programa Photoshop (www.photoshop.com).

La elección de las estructuras morfológicas relevantes para la identificación de los ejemplares se basó en las utilizadas en las diferentes claves y descripciones (Fauvel 1900; Seevers 1955; Scheerpeltz 1957y Ashe & Timm 1996). Dichas estructuras fueron: la antena, la cabeza envista dorsal y ventral, el pronoto, la coxa III, segmento VIII y edeago de los machos, y el segmento IX de las hembras. Para la identificación de la especie se compararon dichas estructuras con las de las otras

especies conocidas. También se disecaron y se fotografiaron los edeagos de ejemplares de *Edrabijs argentinus* y *Edrabijs grandis* recolectados en Argentina, cedidos por la Dra. I. Tomasco, para una comparación más fehaciente.

Todos los individuos de *Edrabijs sp.* que no fueron utilizados para análisis moleculares fueron ingresados en la Colección de Entomología de la Facultad de Ciencias (6), dos de ellos montados en seco (FCE-Col 4009 ♂ y 4010 ♀) y el resto en alcohol 70% (FCE- Col 4011 al 4014, 2 ♂ y 2 ♀ respectivamente). Asimismo, se depositaron en líquido, en la misma Colección, los ejemplares de *E. grandis* (FCE 4015) y *E. argentinus* (FCE-Col 4016).

Obtención de secuencias y análisis filogenético:

El ADN de los escarabajos fue extraído usando un protocolo de uso corriente (modificado de Miller *et al.* 1988). Se utilizó la totalidad de los ejemplares para la extracción. El resultado de la solución de ADN fue guardado en freezer a -20°C.

Se amplificó la subunidad 1 de la citocromo oxidasa de dos individuos de *Edrabijs sp.* La amplificación se realizó, luego de varios experimentos de optimización, con el kit Taq Hot Start Green Master Mix 2x (Promega) y los oligonucleótidos usados como cebadoras fueron: LCO1490 (3'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG -5') (Folmer *et al.* 1994) y el HCO2198(5'-AACTTCAGGGTGACCAAAAATCA -3') (Folmer *et al.* 1994), en un volumen total de reacción de 25 µl. La mezcla de reacción contenía 12,5 µl de kit Taq Hot Start Green Master Mix 2x, 1 µl de cada primer a una concentración de 1 µM, 8 µl de dilución (1:50) y agua libre de nucleasas hasta alcanzar el volumen total. Luego de su optimización, la reacción definitiva se realizó con un paso inicial de

desnaturalización de 5 minutos a 94°C, seguido por 30 ciclos de 94°C durante 30 segundos, 48°C durante 30 segundos y 72°C durante 30 segundos. La extensión final se realizó durante 5 minutos a 72°C.

La calidad de los productos de PCR se evaluó mediante electroforesis en geles de agarosa 0.8%, a 170 V durante 20 min, y visualizados en transiluminador de luz UV con Bromuro de Etidio. Los productos de PCR de buena calidad, que mostraban una banda limpia del tamaño deseado, fueron enviadas para su secuenciación automática mediante el método Sanger a la empresa Macrogen Inc., a partir de ambos extremos.

Las secuencias así obtenidas fueron evaluadas y editadas mediante el programa de libre acceso Proseq (Filatov 2002), se eliminó la fracción de secuencia que era ilegible (principio y final) y compararon la secuencia directa y reversa para cada ejemplar, y se verificó la ausencia de mutaciones puntuales que corrieran el marco de lectura. Las secuencias así obtenidas se enviaron a Genbank (base de datos pública) con los números de acceso XXXXX y XXXXX, de manera que queden disponibles para su posterior uso por la comunidad científica

La reconstrucción filogenética se realizó mediante el programa libre MEGA versión X (Kumar *et al.* 2018). Se incluyeron en la reconstrucción secuencias de la familia Staphylinidae disponibles en GenBank, cuyos números de acceso se encuentran en la tabla 2. Como grupo externo se utilizaron secuencias de individuos pertenecientes a la familia Elateridae (Tabla 2). Se utilizaron diferentes métodos de reconstrucción filogenética, primero el método de máxima parsimonia, luego el método de máxima verosimilitud (modelo de sustitución de nucleótidos General Time Reversible), siguiendo el método de unión por vecinos (modelo maximum

composite likelihood) y por último el método de Mr. Bayes (Ronquist *et al.* 2012) con 10000 pseudoréplicas de bootstrap para cada uno de ellos.

Tabla 2. Secuencias utilizadas en la reconstrucción filogenética

Especie	Familia	Tribu	Código
Staphylinidae sp.	Staphylinidae		JF888142.1
Staphylinidae sp.	Staphylinidae		KT708810.1
Staphylinidae sp.	Staphylinidae		KT706990.1
<i>Quedius uteanus</i>	Staphylinidae	Quediini	JF887781.1
<i>Quedius fellmanni</i>	Staphylinidae	Quediini	KJ203530.1
<i>Quedius simplicifrons</i>	Staphylinidae	Quediini	HQ164565.1
<i>Atheta graminicola</i>	Staphylinidae	Athetini	GQ980928.1
<i>Atheta castanoptera</i>	Staphylinidae	Athetini	KJ964691.1
<i>Atheta contristata</i>	Staphylinidae	Athetini	GQ980926.1
<i>Philonthus boreas</i>	Staphylinidae	Staphylinini	KM843256.1
<i>Philonthus politus</i>	Staphylinidae	Staphylinini	KU918048.1
<i>Philonthus succicola</i>	Staphylinidae	Staphylinini	KU918119.1
<i>Vuilletus crebrepunctatus</i>	Elateridae		KM613028.1
<i>Vuilletus viridis</i>	Elateridae		KM613031.1
<i>Dalopius tristis</i>	Elateridae		JF888285.1
<i>Dalopius pallidus</i>	Elateridae		JF887915.1
<i>Dalopius vagus</i>	Elateridae		HM411987.1

Resultados

Descripción morfológica

Edrabius sp. Martínez–Villar, González–Vainer, Tomasco, *sp. nov.*

Material tipo: HOLOTIPO (♂): Uruguay, Estancia La Tabaré, Departamento de Río Negro, marzo 2017. col. Tomasco I., Boullosa N. & Martínez – Villar M.

PARATIPOS: 3 ♀, Uruguay, Estancia La Tabaré, Departamento de Río Negro. Marzo 2017. col. Tomasco I., Boullosa N. & Martínez – Villar M; 2 ♂,

Uruguay, Estancia La Tabaré, Departamento de Río Negro. Marzo 2017. col. Tomasco I., Boulosa N. & Martínez – Villar M.

Descripción. Cuerpo. Longitud 5.4 - 6.5 mm. Coloración marrón rojiza claro (Fig. 1).

Cabeza trapezoidal con los márgenes laterales estrechándose uniformemente desde los ángulos posteriores redondeados hacia la frente, aproximadamente de 1.6 - 1.7 veces más ancha que larga (Fig. 2a y b y Fig. 3a y b); tegumento de la cabeza con micropuntuación fina y relativamente densa y microesculturación con rayas finas densas que no forman retículo.

Antena (Figs. 4 y 5c) tan larga como la cabeza y mitad del pronoto; 2º segmento un poco más largo que el 3º, del 4º al 10º iguales entre sí, trapezoidales, más pequeños que el 3º; 11º más largo que el 10º con el borde apical oblicuo.

Pronoto (Figs. 2 y 3c; 4 y 5d) moderadamente transverso; de 1.4 - 1.6 veces más ancho que largo; macroseta ántero - lateral presente; microsetas muy pequeñas que se extienden desde los márgenes ántero - laterales hasta cerca de la mitad del margen lateral; tegumento sin microesculturación evidente; micropuntuación fina y relativamente densa, pubescencia dorada sobre el margen ántero - lateral y más abundante sobre el ángulo humeral hasta la mitad anterior del margen lateral.

Élitros (Figs. 2 y 3c) con una puntuación densa más gruesa que la de la cabeza y el pronoto; pubescencia dorada de sedas cortas, relativamente densas; sedas largas y doradas en los ángulos posteriores externos, vértice marcado.

Abdomen con superficie dorsal uniformemente cubierta por una pubescencia fina dorada densa; cada terguito con tres setas (la del medio más corta) sobre el margen

posterior próximos a los ángulos posteriores; sedas doradas largas todo a lo largo del margen posterior; puntuaciones dispuestas en una hilera paralela próximas al margen posterior.

Macho. -Terguito VIII trapezoidal, bordes laterales rectilíneos en la mitad superior y curvatura poco pronunciada en la mitad inferior; escotadura amplia y moderada en el margen posterior (Fig. 2e y 4f). Esternito VIII con márgenes laterales suavemente curvados hacia los ángulos póstero-laterales; margen posterior con una escotadura ancha y pronunciada; máxima profundidad de la escotadura un tercio del ancho (Fig. 2f y 4g).

Edeago. -Ápice del lóbulo medio rectangular con el borde anterior recto y pequeños y numerosos dientes en el borde inferior; dos setas centrales y pequeñas setas en el borde anterior. Presencia de dientes en el saco interno. Longitud del lóbulo medio de aprox. de 1.45 mm (Fig. 4i).

Hembra. -Terguito VIII trapezoidal (Fig. 3e y 5g). Esternito VIII similar en forma al del macho, pero más corto; escotadura igual a la de éste (Fig. 3f y 5g).

Diagnosis. La especie se puede distinguir por la combinación de las siguientes características: cabeza trapezoidal con los ángulos posteriores redondeados hacia la frente; antena corta, antenonero 11 con borde apical oblicuo; tegumento del pronoto con una puntuación fina y sin una esculpturación marcada; élitros con gruesas setas negras en el ángulo humeral, un mechón de sedas doradas largas en el ángulo posterior externo y con los vértices marcados; coxa III de forma particular; terguito VIII del macho con una escotadura amplia y moderada; ápice del lóbulo medio del edeago rectangular y borde anterior recto.

Distribución. Conocida únicamente para la estancia La Tabaré (33° 21' 36.4" S 58° 18' 52.1" W), Departamento de Río Negro, Uruguay.

Hospedero. Recolectado únicamente sobre *Ctenomys rionegrensis*

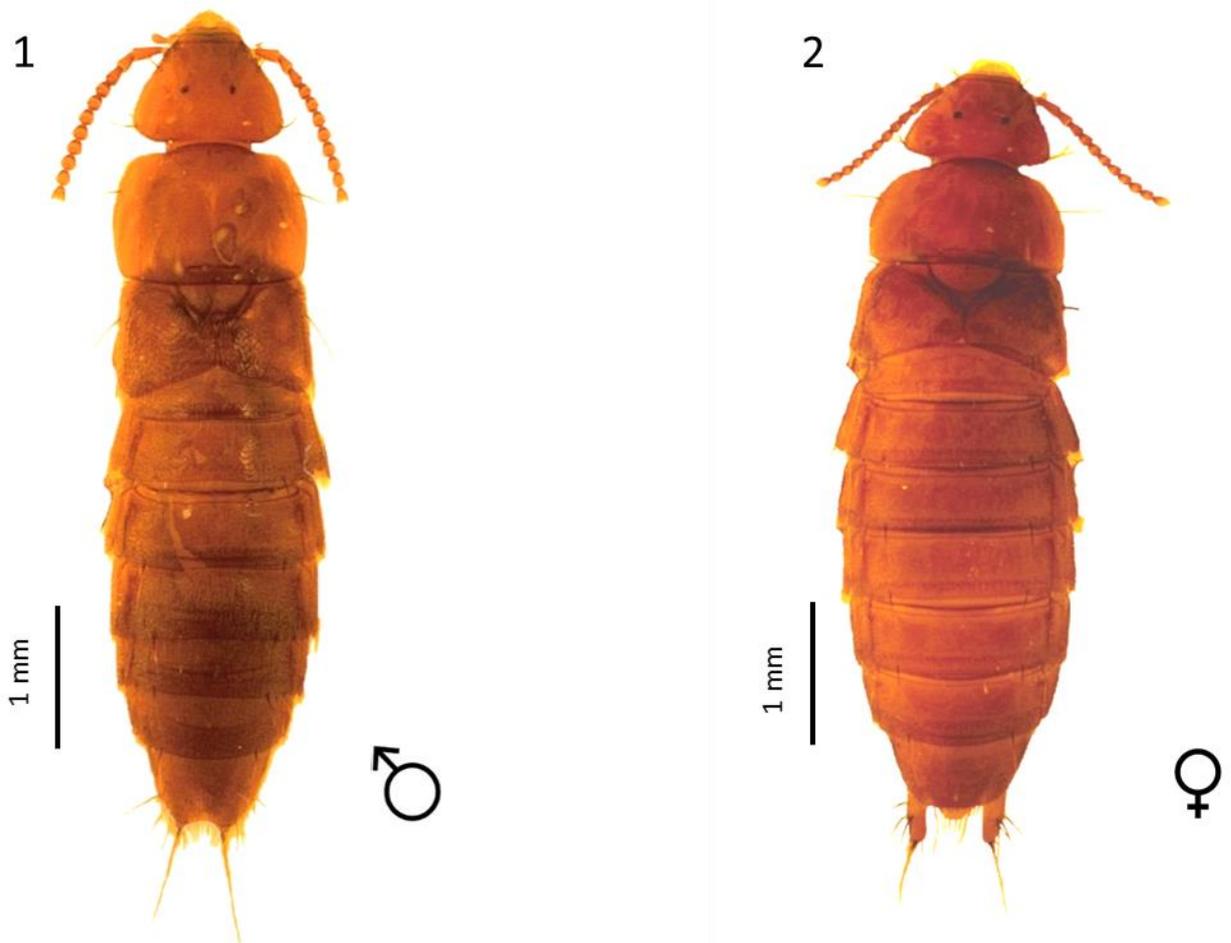


Figura 1. *Edrabius* sp. 1. Hábito del macho, vista dorsal; 2. Hábito de la hembra, vista dorsal

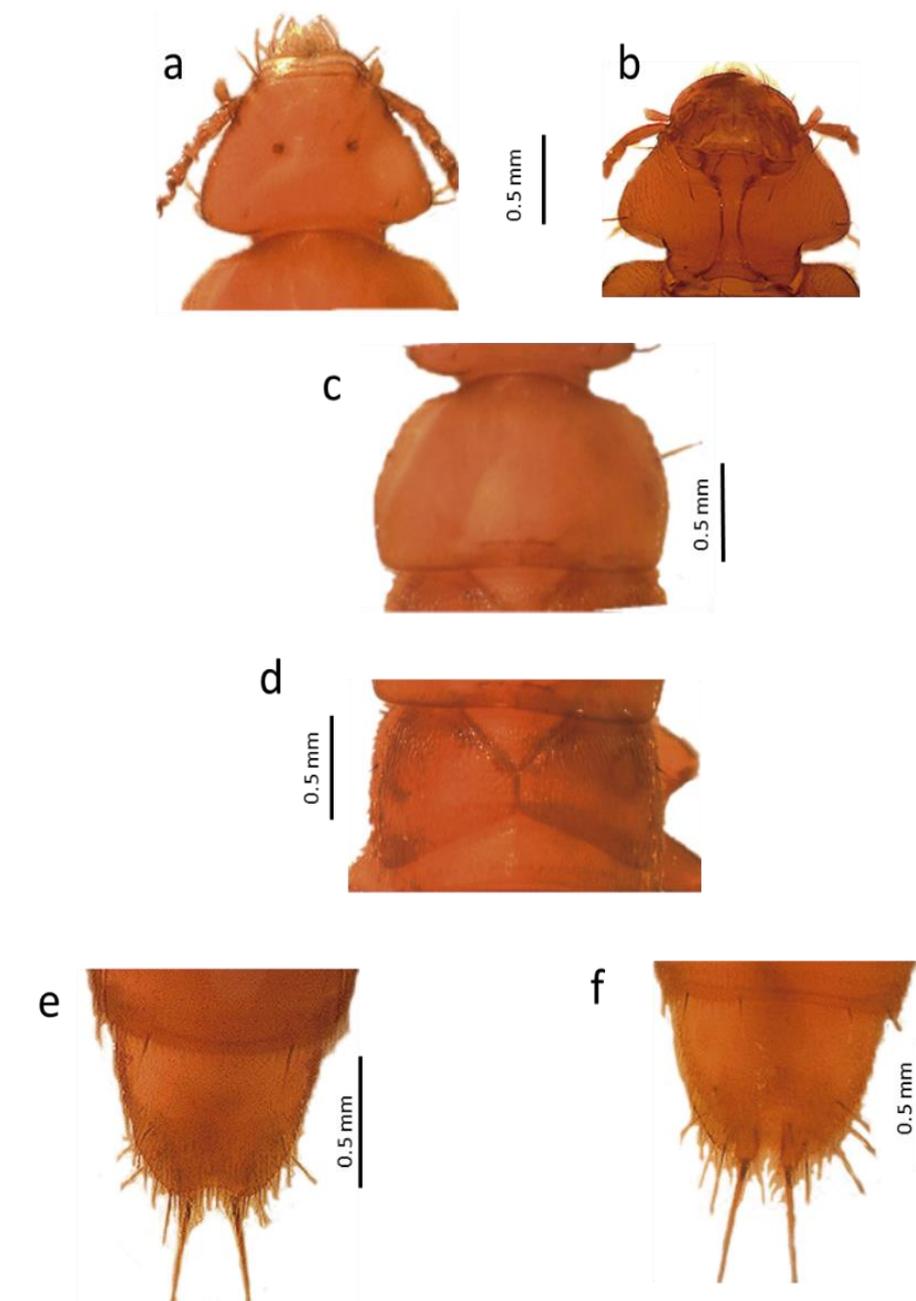


Figura 2. *Edrabius* sp. Macho a) Cabeza, vista dorsal; b) Cabeza, vista ventral; c) Pronoto; d) Élitros; e) Segmento VIII, vista dorsal; f) Segmento VIII, vista ventral

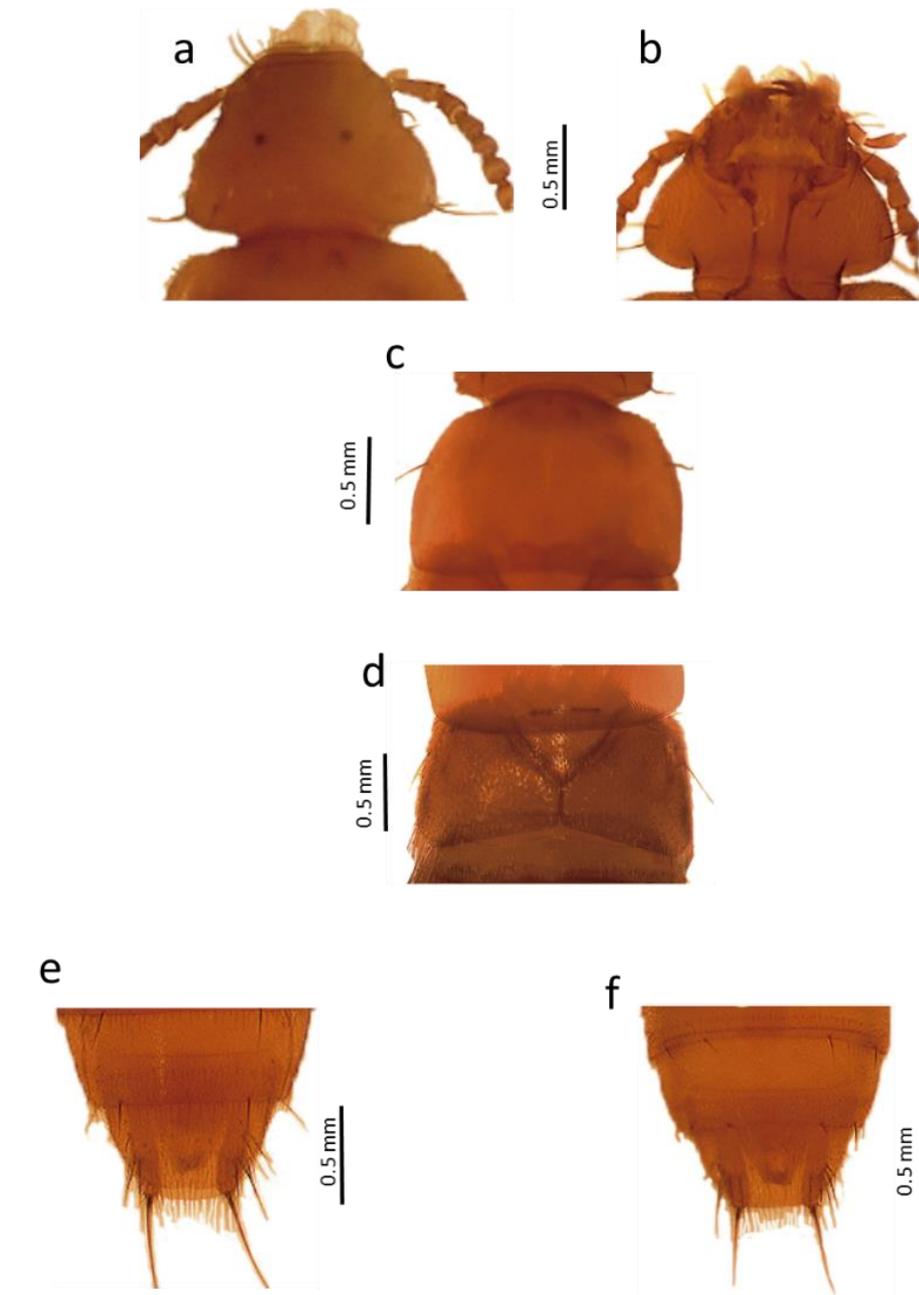


Figura 3. *Edrabius* sp. Hembra a) Cabeza, vista dorsal; b) Cabeza, vista ventral; c) Pronoto; d) Élitros; e) Segmento VIII, Vista dorsal; f) Segmento VIII, vista ventral

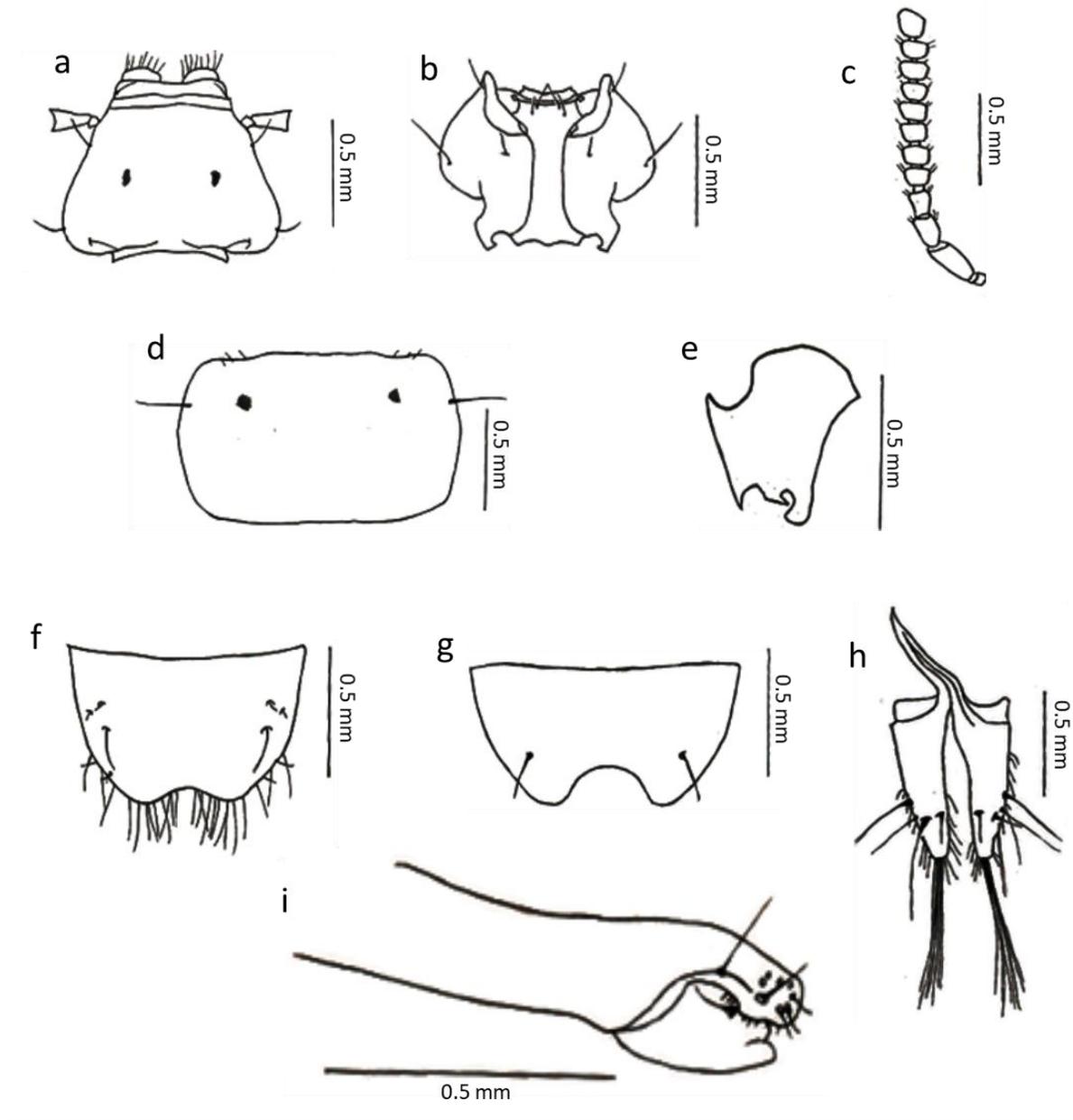


Figura 4. *Edrabius* sp. Macho a) Cabeza, vista dorsal; b) Cabeza, vista ventral; c) Antena; d) Pronoto; e) Coxa III; f) Segmento VIII, vista dorsal; g) Segmento VIII, vista ventral; h) Placas laterales del IX segmento; i) Edeago

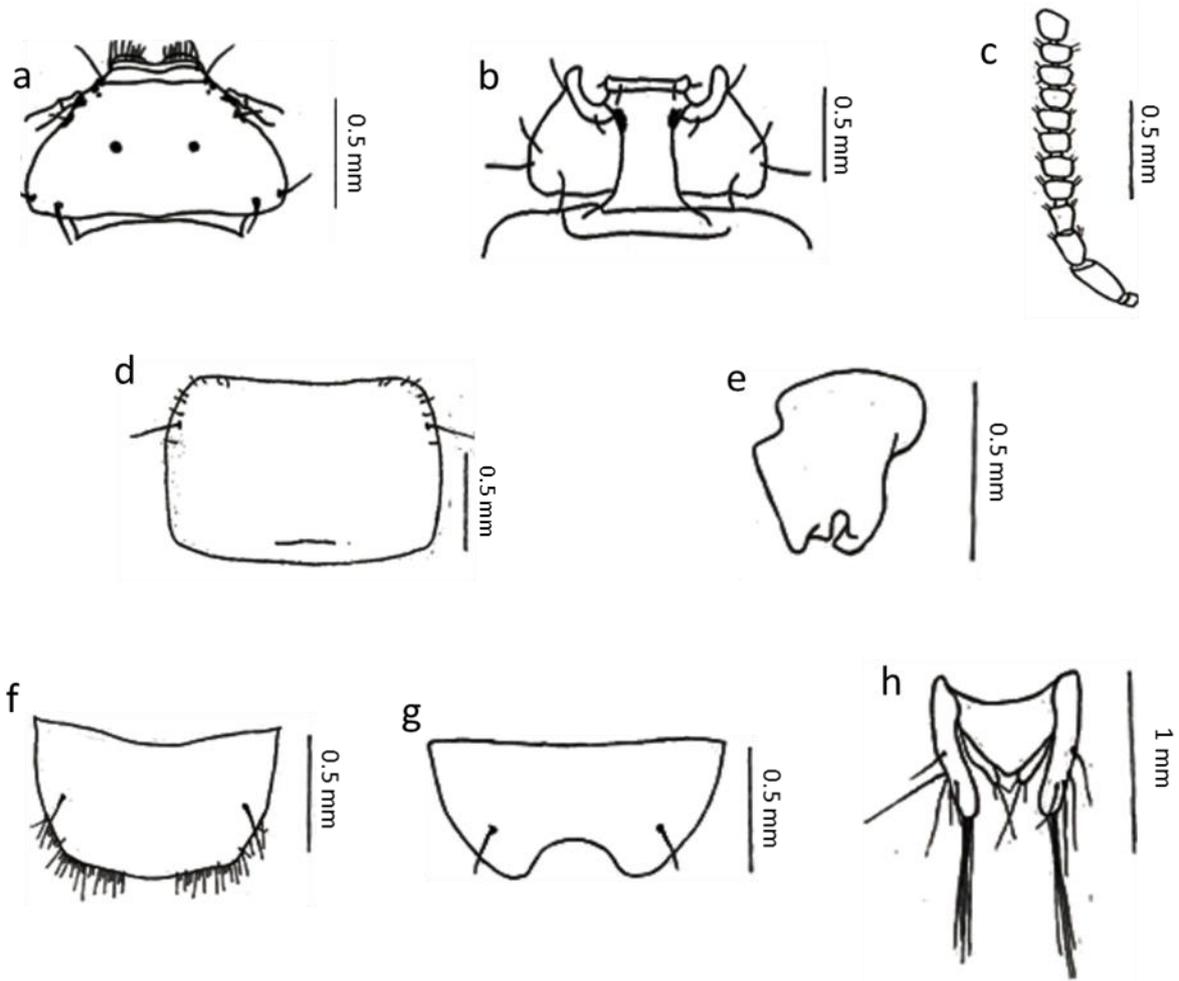


Figura 5. *Edrabius* sp. Hembra a) Cabeza, vista dorsal; b) Cabeza, vista ventral; c) Antena; d) Pronoto; e) Coxa III; f) Segmento VIII, vista dorsal; g) Segmento VIII, vista ventral; h) Placas laterales del IX segmento

Caracterización molecular

Se logró amplificar y secuenciar exitosamente la segunda mitad del gen mitocondrial de la citocromo oxidasa subunidad 1, que es utilizada de rutina en los proyectos de sistemática molecular por barcoding. En este caso se logró obtener una secuencia de 646 pares de bases utilizable, para dos ejemplares de esta especie. Las mismas serán depositadas oportunamente en la base de datos pública de GenBank. Entre estas dos secuencias se encontraron 4 cambios, lo que equivale

a una distancia p de 0.7% ($p = 0.007$). Las distancias genéticas promedios entre diferentes secuencias de la familia Staphylinidae fueron mucho mayores.

La comparación de estas secuencias con otras obtenidas reportadas en Genbank en un análisis filogenético se muestra en la Figura 6. Como era de esperar, las dos secuencias de los ejemplares de *Edrabius* secuenciados se agrupan, y con un valor de bootstrap alto (i.e.: 99%). Asimismo, para todos los géneros incluidos se recupera la monofilia con altos valores de bootstrap. Otro resultado esperable es la pertenencia del género *Edrabius* a la familia Staphylinidae. En general, los valores de bootstrap fueron altos en las relaciones filogenéticas más próximas, como la monofilia de los géneros, o las relaciones de las especies dentro de un género, pero bajos a intermedios en las relaciones más distantes, como las relaciones entre géneros o familias.

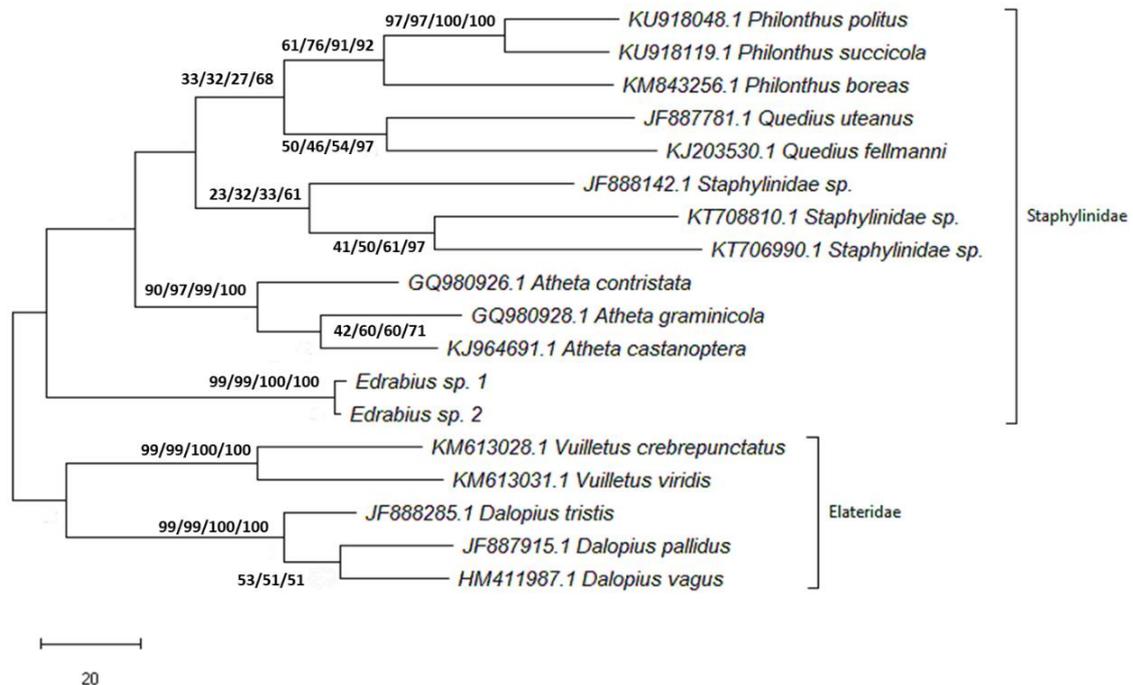


Figura 6. Reconstrucción filogenética de la COI. Los números sobre los nodos corresponden al porcentaje de 10000 pseudoréplicas de bootstrap para los diferentes métodos de reconstrucción: Máxima parsimonia, Máxima Verosimilitud, Unión de Vecinos y Mr. Bayes respectivamente (CI = 0.41)

Discusión

Las especies del género *Edrabius* pueden ser divididas en dos grandes grupos (Ashe & Timm 1996). El primero formado por *E. chilensis* y *E. chilensiformis*, recolectados sobre *Aconaemys* y *Octodon* respectivamente. Estas dos especies comparten la característica de un extremo puntiagudo elevado hacia arriba en el ápice del edeago. El segundo grupo está formado por las restantes especies que comparten las siguientes características: pronoto sin una macroseta póstero – lateral, y un muy distinto y prominente mechón de setas aciculadas en el ápice de los estiletes laterales del IX segmento del abdomen (Ashe & Timm 1996). Los miembros de este grupo son encontrados en varias especies del género *Ctenomys*.

Los ejemplares de *Edrabijs* colectados en la estancia La Tabaré descritos en este trabajo, pertenecen a una especie de este segundo grupo ya que comparten las características antes mencionadas y además fueron colectados sobre individuos de *Ctenomys rionegrensis*. La comparación de los caracteres morfológicos de esta especie de *Edrabijs* con las otras especies del género, y en particular las diferencias encontradas en los edeagos, permiten concluir que se trata de una nueva especie para el género.

Se encontraron diferencias en varios caracteres morfológicos de los individuos colectados con respecto a *E. philippianus* y con las demás especies descritas del género. Estos se distinguen de las demás especies de *Edrabijs* por las siguientes características. La esculturación de la cabeza está representada por finas líneas onduladas que no forman retículo, sólo similar al caso de *E. chilensiformis*. La antena (Fig. 7) es más corta que la de *E. grandis* y *E. australis*, similar en longitud a la de *E. chilensiformis* pero se diferencia de ésta y de la de *E. philippianus* en que el borde apical del último antenómero no es mellado. El pronoto (Fig. 8) marcadamente transverso es similar en su forma y en la quetotaxia al de *E. grandis* pero se diferencia de éste por presentar en el tegumento una puntuación fina y por la ausencia de esculturación marcada. Se diferencia del de *E. philippianus* por presentar los ángulos posteriores redondeados. Los élitros se diferencian de los de las especies restantes por la presencia de gruesas setas negras en el ángulo humeral, un mechón de sedas doradas largas en el ángulo posterior externo y se diferencia de los de *E. philippianus* por presentar el vértice del escutelo de los élitros marcado, mientras que en *E. philippianus* el vértice es redondeado. La coxa III (Fig. 9) es marcadamente diferente a las descritas para las demás especies y marcadamente diferente a la de *E. philippianus*. El terguito VIII (Fig. 10) se

diferencia de los de *E. peruanus*, *E. pearsoni* y *E. argentinus* por presentar una escotadura más profunda, los márgenes laterales son rectos y los ángulos superiores son más pronunciados. El edeago (Fig. 11) se diferencia de los de *E. chilensiformis* y *E. chilensis* por la ausencia de una protuberancia en el ápice del mismo, siendo similar en forma al de *E. philippianus*, *E. grandis* y *E. argentinus* pero se diferencia de estos por ser más pequeño (*Edrabius sp.* - 1.45 mm; *E. philippianus* - 1.7 mm; *E. grandis* - 1.95 mm; *E. argentinus* - 1.55 mm), en particular, se diferencia del de *E. argentinus* por no presentar una curvatura marcadamente pronunciada en el borde ventral y por tener el borde extremo del ápice más rectangular; asimismo se diferencia del de *E. philippianus* por presentar una serie de dientes en el borde ventral del ápice, una curvatura menos pronunciada y además el ápice es rectangular mientras que el de *E. philippianus* es triangular.

La hembra se diferencia de la de *E. philippianus* por las siguientes características: tener el abdomen más angosto de 1,6 a 1,7 mm mientras que el de *E. philippianus* es de 2,5 mm (Seevers 1955); cabeza y pronoto con una fina y relativamente densa puntuación; esculpturación del tegumento con rayas finas densas que no forman retículo. Pronoto sin ángulos posteriores marcados, sino redondeados. Élitros casi del mismo tamaño que el pronoto; puntuación más densa que la de la cabeza y pronoto. Coxa III de forma diferente (Fig. 8).

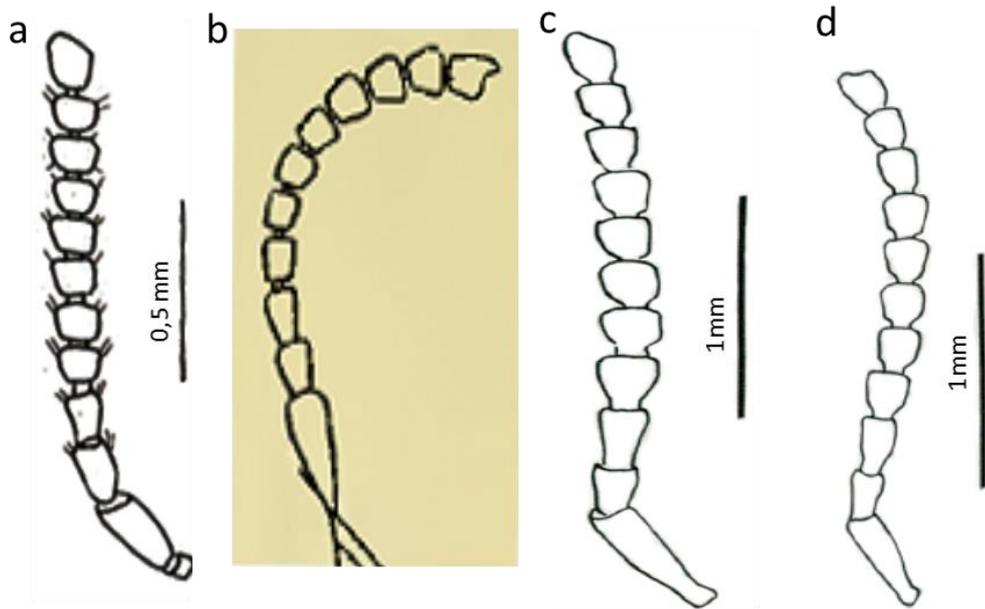


Figura 7. Antenas de a) *Edrabiidae* sp.; b) *E. philippianus* (tomado de Scheerpeltz 1957); c) *E. grandis* (tomado de Ashe et. al. 1996); d) *E. argentinus* (tomado de Ashe et. al. 1996)

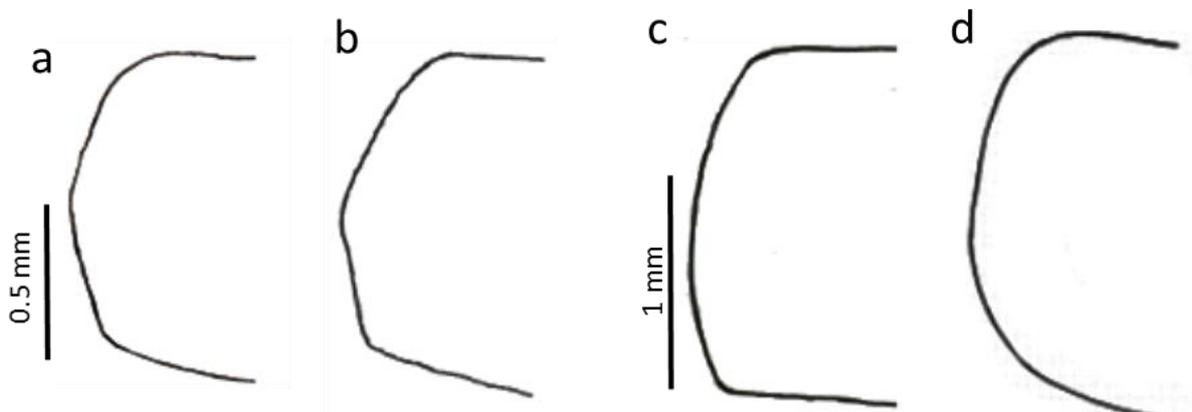


Figura 8. Pronotos de a) *Edrabiidae* sp.; b) *E. philippianus* (tomado de Seevers 1955); c) *E. grandis* (tomado de Ashe et. al. 1996); d) *E. argentinus* (tomado de Ashe et. al. 1996)

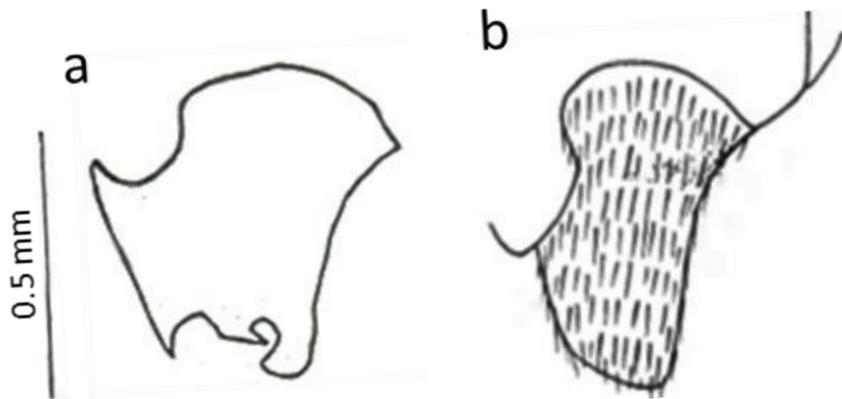


Figura 9. Coxa de a) *Edrabiidae* sp.; b) *E. philippianus* (tomado de Seevers 1955)

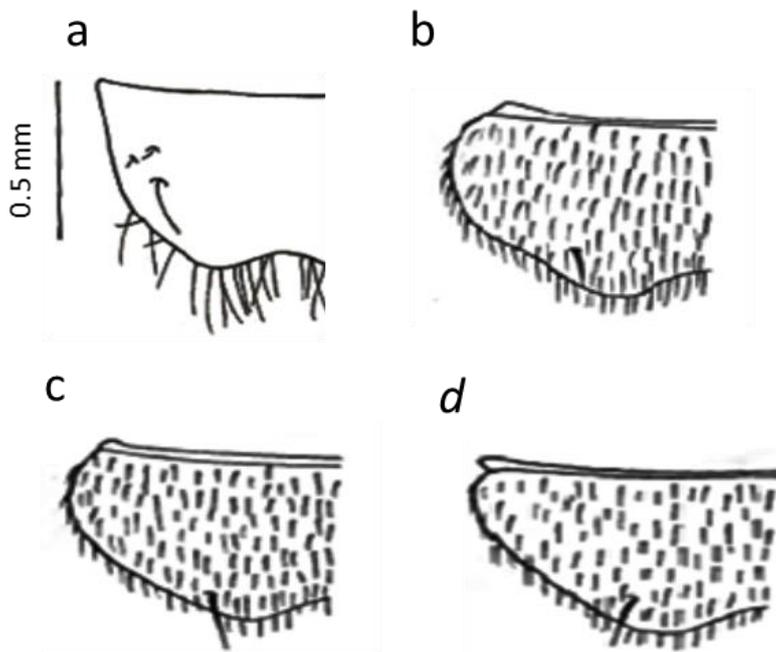


Figura 10. Terguitos VIII de a) *Edrabiidae* sp.; b) *E. peruanus* (tomado de Seevers 1955); c) *E. pearsoni* (tomado de Seevers 1955); d) *E. argentinus* (tomado de Seevers 1955).

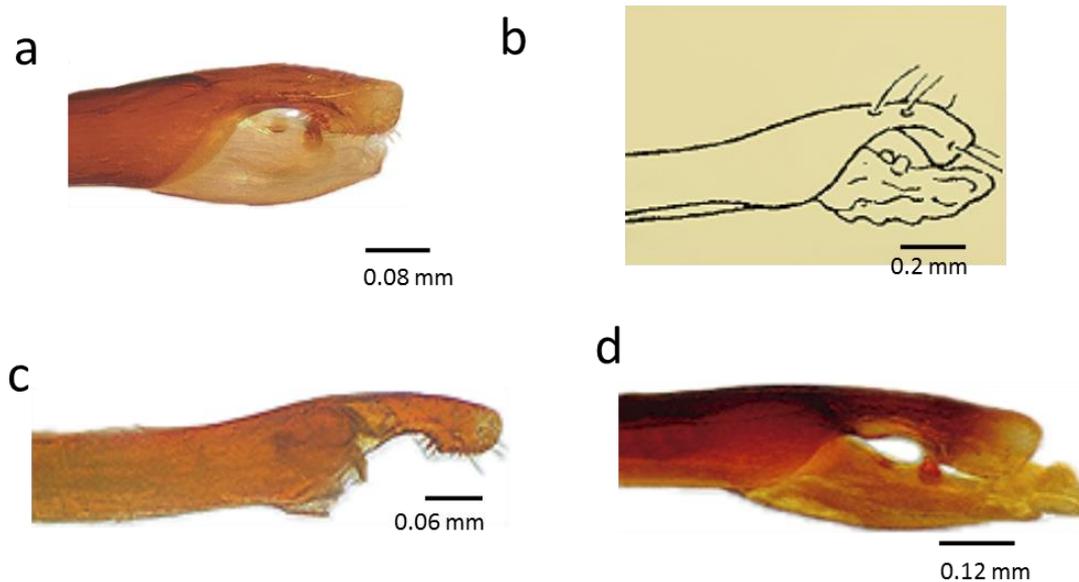


Figura 11. Ápices de edeagos de a) *Edrabius* sp.; b) *E. philippianus* (tomado de Scheerpeltz 1957); c) *E. argentinus*; d) *E. grandis*;

Las secuencias nucleotídicas obtenidas reafirman la pertenencia de *Edrabius* sp. a la familia Staphylinidae. Las secuencias obtenidas fueron sutilmente diferentes entre ellas (0.7%), y estas diferencias podrían corresponderse a las observadas entre los individuos de la misma especie, dato aún no disponible. Esta es una subestimación de la distancia intraespecífica. Si bien las dos secuencias se agrupan, no se puede decir que se recupera la monofilia del género, porque no hubo secuencias de otras especies de este como para poder comparar.

Reig *et al.* (1990) notaron que las familias Ctenomyidae y Octodontidae son grupos hermanos. Los Octodontidos son conocidos desde el Oligoceno de Argentina (Mares & Ojeda, 1982; Nowak, 1991; Contreras *et al.* 1987), y parece posible que la asociación de *Edrabius* con este linaje de roedores cavimorfos podría datarse al menos desde ese período. Mientras que el género *Ctenomys* data del Pleistoceno temprano (Reig *et al.* 1990). Dado que la diferenciación de los *Ctenomys* es

relativamente reciente, Ashe & Timm (1996) sugieren que esto podría estar reflejado en la evolución de los *Edrabius* encontrados sobre estos roedores ya que el número de especies que se conocen hasta ahora están pobremente diferenciadas, al menos desde el punto de vista morfológico. Una vez se tenga más datos moleculares, se podrá poner a prueba esta hipótesis con datos independientes, e incluso poder datar el momento de la radiación del género.

Como es prácticamente difícil discriminar las especies de *Edrabius* basados exclusivamente en características externas, se utilizan las características de los edeagos ya que son las más distintivas (Ashe & Timm 1996). Un complemento que ha mostrado ser sumamente útil en estos casos es la sistemática molecular, ya que una secuencia nucleotídica aporta muchos caracteres variables, y, por ende, posiblemente informativos para resolver las relaciones entre los géneros. En este caso particular, no podemos saber cómo son las diferencias interespecíficas a nivel del gen evaluado porque no existen secuencias disponibles en bases de datos de otras especies del género, por lo que este trabajo es importante ya que se reportan las primeras secuencias de una especie para el género. Es importante poder generar más secuencias de otras especies, para facilitar los estudios en sistemática molecular, ya que a este nivel se podrían encontrar diferencias que a nivel morfológico no se detectan.

Los métodos de reconstrucción filogenética a grandes rasgos arrojan los mismos resultados, la base de datos no es buena para resolver las relaciones entre géneros dentro de la familia, pero sí para cuestiones más próximas. En el método de Máxima Parsimonia, el índice de consistencia arroja un valor de 0.41, lo que se traduce en que hay poca señal filogenética y mucho ruido (Homoplasia), es decir

que la base de datos no es buena para resolver estas relaciones. Esto se refleja también en los bajos valores de bootstrap que se dan en las relaciones más profundas

Estos valores de bootstrap observados en la filogenia para las relaciones más profundas, podrían interpretarse como que el nivel de variación del fragmento utilizado parece ser apropiado para comparaciones de especies dentro del mismo género, no así para comparaciones entre géneros de la familia. Esto puede deberse a las propiedades del ADN mitocondrial, el cual tiene una tasa de mutación mayor a la del material nuclear. Podría interpretarse que lo que estamos observando es la “saturación del ADN” mitocondrial, que ocurre por la acumulación de cambios sobre cambios anteriores, y que borra la señal filogenética, bajando los valores de bootstrap.

La relación de *Edrabi* con sus parientes más cercanos es de amplia discusión (Seevers 1955; Ashe & Timm 1988; Ashe & Timm 1989). Las secuencias que se pudieron utilizar para la reconstrucción filogenética son de otras tribus como Staphylinini, Athetini y Quediini. Según Seevers (1955) y Ashe & Timm (1988) la tribu Quediini es ancestral a la tribu Amblyopinini a la cual pertenece *Edrabi*. Esta hipótesis no se pudo corroborar ni rechazar con los resultados obtenidos. Tampoco se pudo corroborar lo propuesto por Ashe & Timm (1989) donde ponen en discusión la relación de *Edrabi* en la tribu Amblyopinini gracias a una posible larva del mismo encontrada, la cual presentaba características comunes a larvas de la tribu Staphylinini ya que no se cuentan con secuencias disponibles de otras especies de la tribu. Aunque con los diferentes métodos de reconstrucción filogenética, los individuos de *Edrabi* se agrupan con los individuos de estas dos tribus con valores

bajos a medios de bootstrap, no se pueden dilucidar estas relaciones con las secuencias disponibles. Sería sumamente importante agregar secuencias de más ejemplares de la misma tribu. La única secuencia de una especie de la tribu Amblyopinini pertenece a *Amblyopiuns emarginatus* pero es de otro segmento de la COI por lo que no se pudo utilizar en la reconstrucción.

A futuro nos interesaría poder amplificar la primera parte de la COI para poder compararla con la de *Amblyopinus emarginatus* y poder así intentar dilucidar la relación de estos grupos tan conflictivos ya que con las características de la larva no se pudo. También nos proponemos avanzar en la secuenciación de individuos de *E. argentinus* y *E. grandis*, las especies con distribución más cercana para poder compararlas con los individuos presentes en Uruguay y corroborar que estos son efectivamente especies diferentes y poder seguir avanzando para poder dilucidar la relación del género *Edrabius* dentro de la familia Staphylinidae. Asimismo, dados los bajos valores de bootstrap encontrados para este gen y las características particulares del genoma mitocondrial, sería deseable amplificar y secuenciar otros marcadores independientes, como marcadores nucleares de genes un poco más conservados que sean más informativos para las relaciones entre géneros y familias, como pueden ser (i.e.: 28S; ArgK; Wingless; Topoisomerasa 1; CAD) reportadas para *Amblyopinus emarginatus*.

Bibliografía

Altuna, C.A (1999). Ampliaciones de Ámbito. *Revista de Biología Tropical*, 627-628

Asenjo, A. (2004). Lista preliminar de las especies de Staphylinidae (Coleoptera) registradas para Perú. *Revista peruana de Entomología*, 44, 55-64.

Asenjo, A., Irmiler, U., Klimaszewski, J., Herman, L. H., & Chandler, D. S. (2013). A complete checklist with new records and geographical distribution of the rove beetles (Coleoptera, Staphylinidae) of Brazil. *Insecta Mundi*, 277, 1-419.

Ashe, J. S., & Timm, R. M. (1987). Predation by and activity patterns of 'parasitic' beetles of the genus *Amblyopinus* (Coleoptera: Staphylinidae). *Journal of Zoology*, 212(3), 429-437.

Ashe, J. S., & Timm, R. M. (1988). *Chilamblyopinus piceus*, a new genus and species of amblyopinine (Coleoptera: Staphylinidae) from southern Chile, with a discussion of amblyopinine generic relationships. *Journal of the Kansas Entomological Society*, 46-57.

Ashe, J. S., & Timm, R. M. (1995). Systematics, distribution, and host specificity of *Amblyopinus* Solsky 1875 (Coleoptera Staphylinidae) in Mexico and Central America. *Tropical Zoology*, 8(2), 373-399.

Ashe, J. S., R. M. Timm, & M. H. Gallardo. (1996). Systematics, distribution, and host specificity of *Edrabijs* Fauvel (Insecta: Coleoptera: Staphylinidae). *Proceedings of the Biological Society of Washington* 109(4), 731-743.

Bidau C., Lessa E., & Ojeda. R. (2008). *Ctenomys rionegrensis*. The IUCN Red List of Threatened Species 2008: e. T136635A4320816. Bajado el 22 de agosto de 2016.

Boucher, D. H., James, S., & Keeler, K. H. (1982). The ecology of mutualism. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 13(1), 315-347.

Camarán, A. 2018. Cita *Ctenomys rionegrensis* para el Parque Nacional Pre Delta. Informe N° 250/2018. Administración de Parques Nacionales. 4 pp

Contreras, L. C., Torres-Mura, J. C., & Yáñez, J. L. (1987). Biogeography of octodontid rodents: an eco-evolutionary hypothesis. *Fieldiana Zoology, New Series*, 39, 401-411.

Fauvel, A. (1883). *Amblyopinus* et *Myotyphlus*. *Revue d'Entomologie*, 2:37-40.

Fauvel, A. (1900). *Amblyopinus*, *Myotyphlus* et *Edrabijs*. *Revue d'Entomologie*, 19:61-66.

Filatov D. A. (2002). ProSeq: a software for preparation and evolutionary analysis of AND sequence data sets. *Molecular Ecology Notes*. 2(4), 621-624.

Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R., & Vrijenhoek, R. (1994). DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 3(5), 294-9.

Herman L. (2001). Herman: catalog of Staphylinidae. Part V. *Bulletin of the American Museum of Natural History* 265, 2441-45

Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., & Tamura, K. (2018). MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular biology and evolution*, 35(6), 1547-1549.

Lacey, E.A., Braude, S.H. &Wieczorek, J.R. (1997). Burrow sharing by colonial tuco-tucos (*Ctenomys sociabilis*). *Journal of Mammalogy*, 78:556–562.

Langguth, A., & Abella, A. (1970). Las especies uruguayas del género *Ctenomys* (Rodentia, Octodontidae). *Comunicaciones Zoológicas del Museo de Historia Natural de Montevideo*, 10(129), 1-20.

Miller, S. A., Dykes, D. D., & Polesky, H. F. (1988). A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic acids research*, 16:1215.

Mares, M. A., & Ojeda, R. A. (1982). Patterns of diversity and adaptation in South American hystricognath rodents. *Mammalian Biology in South America*, 6, 393-432.

Navarrete, J. L., & Newton, A. F. (2003). Guía ilustrada para los géneros de Staphylinidae (Coleoptera) de México. *Biota Colombiana*, 4, 2.

Nowak, R. M., & Paradiso, J. (1991). Walker's mammals of the world. *Johns Hopkins Univ, PreSS, Baltimore*, 1629pp.

Photoshop (2018). Photoshop.com

Reig, O. A., Busch, C., Ortells, M. O., & Contreras, J. R. (1990). An overview of evolution, systematics, population biology, cytogenetics, molecular biology and speciation in *Ctenomys*. *Progress in clinical and biological research*, 335, 71.

Ronquist, F., Teslenko, M., P. van der Mark, Ayres, D. L., Darling, A., Höhna, S., Larget, B., Liu, L., Suchard, M. A., & Huelsenbeck, J. P. (2012). MR BAYES 3.2: Efficient Bayesian phylogenetic inference and model selection across a large model space. *Systematic Biology* 61:539-542

Seevers, C. H. (1955). *Revision of the Tribe Amblyopinini: Staphylinid Beetles Parasitic on Mammals*. Chicago Natural History Museum.

Solodovnikov, A., & Jenkins Shaw, J. (2016). The remarkable Australian rove beetle genus *Myotyphlus*: its cryptic diversity and significance for exploring mutualism among insects and mammals (Coleoptera: Staphylinidae). *Austral Entomology*, 56:311-321.

Scheerpeltz, O. (1957). Zwei neue arten der neotropischen ektoparasitischen engattung *Edrabius* Fauvel (Coleoptera Staphylinidae). *Revista Chilena de Entomología* 5:219-224

Tassino B., Estevan I., Garbero R. P., Altesor P. & Lacey E. A. (2011). Space use by Rio Negro tuco-tucos (*Ctenomys rionegrensis*): Excursions and spatial overlap. *Mammalian Biology* 76:143-147.

Thomas M.C (2000). *American Beetles, Volume I: Archostemata, Myxophaga, Adephaga, Polyphaga: Staphyliniformia*. CRC Press

Timm, R. M., & Ashe, J. S. (1989). The probable larva of an undescribed species of *Edrabius* (Coleoptera: Staphylinidae) and its implications for the systematics of the tribe *Amblyopinini*. *Journal of the Kansas Entomological Society*, 374-380.

Weiblen, G. D., & Treiber, E. L. (2015). Evolutionary origins and diversification of mutualism. *Mutualism*, 37-56.

Zerene Systems. (2018). Zerenesystems.com/cms/home