

Tesis de Maestría en Ciencias Biológicas
Opción Zoología
PEDECIBA

Estructura poblacional e historia demográfica del “pericote patagónico”, *Phyllotis xanthopygus* (Rodentia: Sigmodontinae) en Patagonia argentina.

Lic. Sabrina Riverón

Orientador: Dr. Enrique P. Lessa

Coorientador: Dr. Guillermo D' Elía

Tribunal:

Dr. Fernando Pérez Miles, Presidente

Dra. Graciela García, Vocal

Dr. Álvaro Novello, Vocal

2011
Montevideo, Uruguay

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo no habría sido posible sin la invaluable colaboración que en forma solidaria, espiritual, profesional y desinteresada, prestaron distintas personas que me alentaron, enriquecieron, corrigieron y perfeccionaron este trabajo, a quienes debo transmitir mi más cálido agradecimiento.

Al Dr. Enrique Lessa por aceptarme como tesista en su laboratorio y el constante e invaluable apoyo para llevar adelante esta investigación, apostando en todo momento al desarrollo personal de todos quienes tenemos el gusto de conocerlo. A los Dres. Guillermo D'Elia y Ulyses Pardiñas quienes aportaron información y material muy importante para contribuir a la calidad del trabajo realizado. A su vez, agradezco a Ulyses Pardiñas por la donación de tejidos correspondientes a un importante número de muestras, lo cual permitió ampliar en gran medida el área de muestreo. A los todos los compañeros de la sección Evolución, especialmente a Cecilia Da Silva, Matías Feijoo, Daiana Mir y Carolina Abud, que siguieron de cerca mi trabajo y con quienes siempre pude contar como consejeros y con su continuo apoyo. A los compañeros de la sección Etología, especialmente a Graciela Izquierdo, por su aliento constante y consejos profesionales que enriquecieron este trabajo, al igual que mi persona. A mi familia, mis principales referentes y a quienes les debo todo lo que soy, por el apoyo y su aliento contante para culminar esta etapa. Especialmente a Yennifer Hernández y Santiago Estellano, personas que estuvieron en cada etapa de éste trabajo brindándome el apoyo y las fuerzas necesarias para lograr culminar éste proyecto. Asimismo, agradezco a los miembros del tribunal por aceptar ser parte del mismo y por la discusión enriquecedora de la tesis, así como a PEDECIBA por la financiación de este trabajo y la ANII por la beca de maestría que me permitió realizar este trabajo en un régimen de dedicación total.

Y finalmente, a todos aquellos anónimos que de una manera u otra contribuyeron directa o indirectamente con su apoyo material y espiritual para culminar este trabajo, que seguramente marcará una etapa importantísima en mi formación profesional.

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	ii
ÍNDICE	iii
RESUMEN	v
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Filogeografía.....	1
1.2. Teoría de refugios	3
1.3. Huellas genéticas de la historia demográfica.....	5
1.4. Contexto geográfico y antecedentes históricos de la Patagonia.....	6
1.5. <i>Phyllotis xanthopygus</i>	11
1.6. Hipótesis de trabajo	14
1.7. Objetivos	14
1.7.1. Objetivo general.....	14
1.7.2. Objetivos específicos	14
2. MATERIALES Y MÉTODOS	15
2.1. Obtención de muestras y su representación geográfica	15
2.2. Trabajo de laboratorio	18
2.2.1. Extracción de ADN	18
2.2.2. Amplificación por PCR y secuenciación	18
2.3. Edición y alineación de secuencias	19
2.4. Análisis de secuencias	19
2.4.1. Análisis preliminares	20
2.4.2. Análisis al nivel de género, <i>Phyllotis</i>	20
2.4.3. Análisis al nivel de especie, <i>Phyllotis xanthopygus</i>	22
2.4.3.1. Relaciones filogenéticas	22
2.4.3.2. Diversidad genética	23
2.4.3.3. Análisis demográfico.....	23
2.4.3.4. Estructura genética.....	27
2.4.3.5. Datación de nodos.....	28
2.4.4. <i>Phyllotis xanthopygus</i> en la región patagónica	29
2.4.4.1. Diversidad génica.....	30
2.4.4.2. Estructura poblacional.....	31
2.4.4.3. Historia demográfica	33
3.1. Análisis preliminares	34

3.2. Sistemática del género <i>Phyllotis</i>	36
3.3. <i>Phyllotis xanthopygus</i>	38
3.3.1. Relaciones filogenéticas.....	38
3.3.2. Diversidad genética.....	43
3.3.3. Análisis demográfico.....	44
3.3.4. Estructura genética	47
3.3.5. Datación de nodos	49
3.4. <i>Phyllotis xanthopygus</i> en la región patagónica.....	49
3.4.1. Diversidad génica	49
3.4.2. Estructura poblacional	51
3.4.3. Historia demográfica.....	53
4.1. Estructura filogeográfica	56
4.2. Resultados filogenéticos y sus implicaciones sistemáticas.....	61
4.3. Conclusiones.....	64
4.4. Perspectivas.....	65
BIBLIOGRAFÍA.....	67
APÉNDICE I	79
APÉNDICE II	92

RESUMEN

Las consecuencias bióticas derivadas de las oscilaciones climáticas producidas por los ciclos glaciares del Cuaternario han recibido una considerable atención. Estos cambios han sido de especial importancia en la determinación de la distribución geográfica de las especies y del patrón de distribución de su variación genética actual. En particular, la teoría de refugios se centra en la posible retracción de los hábitats en áreas más limitadas que pueden servir como refugios para muchas especies asociadas, especialmente durante los períodos glaciares. Una predicción de la existencia de tales escenarios es que, las poblaciones deben experimentar un crecimiento demográfico a medida que ocupan nuevos hábitats disponibles al mejorar las condiciones climáticas durante los períodos interglaciares. Estudios realizados en el hemisferio norte han proporcionado abundante evidencia de importantes cambios relacionados a los ciclos glaciares, en particular en la distribución de las especies en altas latitudes. Sin embargo, la historia evolutiva de la región austral de América del Sur ha sido insuficientemente estudiada. Este trabajo tiene como objetivo ayudar a elucidar los procesos biogeográficos implicados en la estructura de la diversidad biótica a lo largo del gradiente latitudinal de la Patagonia. Se analizaron secuencias de ADN mitocondrial correspondientes al gen del citocromo *b* de la especie *Phyllotis xanthopygus*, un roedor sigmodontino endémico de Sudamérica, ampliamente distribuido. Se analizaron 246 individuos pertenecientes a 46 localidades entre los 11 y 51 grados de latitud sur, con una importante representación en la región patagónica, al sur del río Colorado. Métodos filogenéticos y de genética de poblaciones fueron utilizados para reconstruir la historia de diversificación de *P. xanthopygus* en la región patagónica y evaluar las predicciones de la hipótesis de Refugios. Se plantea un único escenario de expansión poblacional para la historia reciente de *P. xanthopygus* en la región patagónica al sur del río Negro. La cual habría comenzado hace aproximadamente 55.000 años AP en el Pleistoceno Tardío, durante un período relativamente cálido denominado MIS 3. En éste escenario, las poblaciones de *P. xanthopygus* se habrían expandido a partir de por lo menos un refugio ubicado en latitudes más bajas al norte del río Negro. A su vez, a partir de los patrones de diversidad genética encontrados, nuestros resultados indican que las poblaciones ubicadas en altas latitudes parecen ser más susceptibles a los cambios climáticos cuaternarios. *P. xanthopygus* se

caracterizó por presentar profundas divergencias moleculares y una importante estructuración geográfica. Asimismo, se logró detectar una importante disminución en el tamaño poblacional de la especie al sur del río Negro, la cual habría comenzado hace aproximadamente 10.000 años AP, posiblemente asociada a la arbustización de la Patagonia.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Filogeografía

La filogeografía se define como la disciplina que estudia los principios y procesos que gobiernan la distribución geográfica de los linajes genealógicos, sobre todo aquellos entre y dentro de las especies cercanamente emparentadas (Avice, 2000). En otras palabras, se enfoca explícitamente en los componentes históricos o filogenéticos de la estructura poblacional (incluyendo como pueden haber sido influenciados por la deriva genética, flujo génico, la selección natural o cualquier otra fuerza evolutiva).

Parte de la historia del surgimiento de la filogeografía viene ligada a dos aspectos de la biología evolutiva moderna: uno tecnológico, relacionado con el desarrollo de técnicas moleculares y el conocimiento del ADN mitocondrial (ADNmit); y otro conceptual o teórico, que implicó la aplicación de la teoría del Coalescente al estudio de procesos microevolutivos. Las propiedades más interesantes en términos filogeográficos del ADNmit son: su alta tasa de sustitución nucleotídica, su prácticamente nula recombinación, gran variación intraespecífica, y más importante, su herencia materna (con muy escasas excepciones) (Avice, 2004). Las variantes o haplotipos del ADNmit registran la historia matrilineal de los eventos mutacionales. Estos pueden conectarse filogenéticamente en un filograma, el cual a su vez puede superponerse a la distribución geográfica del grupo de estudio con el fin de interpretar los procesos evolutivos responsables de la distribución actual de la especie o grupo de especies (Avice, 2000). La filogenia de genes y la demografía de poblaciones están íntimamente relacionadas, de tal manera que las variables demográficas son factores decisivos que gobiernan la profundidad, la forma y los patrones demográficos de los árboles de genes. La teoría del Coalescente es un análisis matemático y estadístico formal de las genealogías de genes que describe las relaciones históricas entre linajes de genes como una función de los parámetros demográficos (Avice, 2000), y se basa en la hipótesis de que los individuos (haplotipos) de una población son idénticos por descendencia y eventualmente coalescen en un único ancestro común.

Los análisis filogeográficos han puesto en evidencia los diferentes grados de estructuración poblacional de las especies. Casi todas las especies terrestres pequeñas y relativamente inmóviles, muestran una profunda diferenciación filogeográfica al nivel intraespecífico, mientras que especies con una mayor vagilidad, como los mamíferos de mayor tamaño, típicamente presentan estructuras filogeográficas menos pronunciadas. Sin embargo, muchas especies de mamíferos voladores y marinos, a pesar de poseer una gran movilidad, presentan al menos una modesta estructura genealógica poblacional debido a restricciones autoimpuestas en la dispersión, como comportamientos de fidelidad de sitio o de lealtad hacia grupos sociales (Avice, 2000). La arquitectura genética claramente puede verse influida por factores ecológicos y evolutivos que operan en una amplia variedad de escalas espaciales y temporales. Entre estos factores, encontramos los sistemas de apareamiento y regímenes de flujo génico (que a su vez pueden estar influenciados por la capacidad de dispersión especie-específica y el comportamiento de los organismos) y por la estructura física del ambiente. A su vez, la arquitectura genética actual de cualquier especie también se ha visto influenciada por factores biogeográficos y demográficos del pasado (Avice, 2004).

Una de las aplicaciones más amplias de los estudios filogeográficos ha sido el poder determinar el grado de estructuración poblacional de las especies a lo largo de su área de distribución, así como descifrar los procesos que determinan dicha distribución. Las aproximaciones filogeográficas también pueden ser útiles para inferir procesos demográficos históricos como el flujo génico, tamaño efectivo poblacional, secuencias de colonización y cuellos de botella (Avice, 2004). Las interpretaciones históricas de las unidades filogeográficas de ADNmit están comúnmente apoyadas por evidencia geográfica, tal es el caso de especies que presentan linajes con una distribución consistente con la teoría de refugios del Pleistoceno (Vázquez-Domínguez, 2007). Muchos trabajos se han concentrado en evaluar el efecto de las fluctuaciones climáticas del Plioceno y Pleistoceno en la distribución actual de la biodiversidad (véase más adelante). Asimismo, el estudio comparado de los patrones filogeográficos de múltiples taxones codistribuidos contribuye a plantear hipótesis sobre posibles eventos comunes (por ejemplo, vicarianza o dispersión) y

a identificar las causas geológicas, ecológicas o etológicas que pudieron haber influido en ellos (Arbogast & Kenagy, 2001).

Hay dos áreas de estudio donde se utilizan aproximaciones filogeográficas cada vez con mayor frecuencia. Por un lado, en la taxonomía, debido a que, combinadas con otros métodos usados en la taxonomía tradicional las aproximaciones filogeográficas, pueden aportar información para el reconocimiento y establecimiento de límites entre especies. Y por otra parte, su uso específico en la biología de la conservación, principalmente en la definición de unidades evolutivas significativas (ESU, por sus siglas en inglés), las cuales representan grupos de poblaciones que han estado históricamente aisladas y que en conjunto representan la diversidad de un taxón.

1.2. Teoría de refugios

El origen de la elevada diversidad de especies en el neotrópico ha intrigado por largo tiempo a los investigadores, quienes han formulado varias hipótesis que compiten por dar cuenta de los procesos implicados en la gran diferenciación específica. Una de ellas, la hipótesis de Refugios (HR) (Haffer, 1969), propone que durante los períodos glaciares del Pleistoceno el bosque tropical se contrajo a un número de refugios aislados, separados por amplias zonas de vegetación abierta no selvática. Estos sirvieron como “áreas de refugio”, donde las poblaciones de especies que quedaron aisladas; se extinguieron, sobrevivieron sin cambios o se diferenciaron al nivel de subespecie o especie. Posteriormente, durante los períodos interglaciares las selvas aisladas se expandieron y en muchos casos establecieron zonas de contacto entre los taxones previamente aislados. De acuerdo con la teoría, este proceso se repitió varias veces durante el Cuaternario provocando la acumulación de especies formadas originalmente en alopatría en una misma área. Dicha hipótesis tuvo una rápida aceptación desde que fue propuesta, siendo aplicada para explicar patrones de distribución y diferenciación observados en diversos taxones de varias áreas tropicales de diferentes continentes. A modo de ejemplo, se pueden encontrar trabajos realizados en América del Sur (Vanzolini & Williams, 1970; Brown et al., 1974; Brown, 1976; Mayr & O'Hara, 1986; Vanzolini, 2002), África (Anthony et al., 2007; Nicolas et al., 2011), Asia

(Gathorne-Hardy et al., 2002) y Australia (Joseph et al., 1995; Hugall et al., 2002), que apoyan la teoría en áreas tropicales.

Sin embargo, otros estudios realizados en áreas tropicales han resultado en evidencias conflictivas, especialmente en el caso de la Amazonia. Una de las principales críticas se centra en la falta de evidencia paleoecológica y palinológica sobre los eventos postulados de retracción y expansión de las selvas en respuesta a los ciclos climáticos. Existen estudios que proveen evidencias de que las tierras bajas del Amazonas no se fragmentaron durante las glaciaciones cuaternarias, refutando así la Hipótesis de Refugios (e.g., Colinvaux et al., 2000; Cowling et al., 2001; de Freitas et al., 2001; Bush et al., 2004; Urrego et al., 2005; Bush & de Oliveira, 2006 y ver contrapunto de Haffer & Prance, 2001), por ejemplo, se identificó un recambio de especies en la flora, pero no con el grado de remplazo requerido para apoyar la fragmentación histórica de la selva. En cambio, van der Hammen y colaboradores (e.g., Hooghiemstra & van der Hammen, 1998; van der Hammen & Hooghiemstra, 2000) sostuvieron que la evidencia se inclina a favor de la hipótesis de Refugios. Otra argumento importante, en contra de la teoría de Refugios, se refiere a las evidencias crecientes que sugieren que buena parte de los eventos de especiación más recientes para diversos taxones habrían ocurrido antes del Pleistoceno. Revisiones sobre el tema fueron realizadas por Moritz et al. (2000) y recientemente por Rull (2008). Sin embargo, para atender tales evidencias, Haffer (1997) y Haffer & Prance (2001) incorporaron esos eventos más antiguos al modelo y extendieron la formulación original de la hipótesis al proponer que la teoría de Refugios se refiere al origen de las especies y subespecies en refugios independientemente de los períodos de tiempo.

En el hemisferio norte (principalmente en Norteamérica y Europa) existe amplia y creciente evidencia del efecto de los ciclos glaciares en el origen, la historia y estructura actual de la biota. A su vez, las principales áreas de refugios glaciares durante las oscilaciones cuaternarias han sido ampliamente documentadas y bien aceptadas, así como, los patrones de colonización postglaciar de muchos taxones de la región. Hewitt (2000, 2004b) ha realizado revisiones completas sobre el tema. Sin embargo, aún a altas latitudes la hipótesis no ha estado exenta de controversias, principalmente en lo concerniente al papel de las glaciaciones en el origen de las especies. Como ejemplo, puede verse la

discusión entre Klicka & Zink (1997, 1998) y Arbogast & Slowinski (1998) acerca del tiempo de divergencia de las especies de aves cantoras de Norteamérica, y aportes posteriores realizados por Milá et al. (2000) y Johnson & Cicero (2004). Asimismo, Wier & Schluter (2004) proponen que el efecto de la glaciaciones en el origen de las especies de aves boreales es indiscutible, ya que todos los eventos coalescentes para estas especies fueron datados en el Pleistoceno. Sin embargo, aquellas especies distribuidas más hacia el sur fueron afectadas en menor medida, ya que solamente entre un 46 – 56% de la especies se habrían originado durante el Pleistoceno. Esto sugiere que la avifauna que fue directamente fragmentada por las capas de hielo experimentó rápidas tasas de diferenciación debido a las fuertes presiones selectivas operando en los refugios boreales.

1.3. Huellas genéticas de la historia demográfica

Para explicar las diferentes respuestas de las especies a las oscilaciones climáticas ocurridas en los pasados 3 Ma, no solo se deberían considerar las características propias de la especie, de migración y adaptación, sino además las diferencias topográficas, climáticas y latitudinales de la región (Hewitt, 2000). Se ha afirmado que los cambios latitudinales en la distribución involucraron considerables cambios demográficos y brindaron la oportunidad de especiar. Tanto la extinción en parte del rango de algunas especies, la dispersión de otras a nuevas localidades, así como la supervivencia de especies en refugios y su posterior expansión, provocó tanto efectos selectivos como estocásticos en la variación y arquitectura genética de las poblaciones (Hewitt, 2000).

Lessa et al. (2003) haciendo uso de la teoría del Coalescente, buscaron señales genéticas de expansión demográfica postglacial en poblaciones actuales de mamíferos americanos (oeste de Norteamérica y Amazonia occidental), representando extremos de un gradiente latitudinal de diversidad biótica. Los autores encontraron evidencias de una fuerte expansión demográfica luego de la última glaciación en los mamíferos de Norteamérica (particularmente a altas latitudes); éste es precisamente el patrón esperado para poblaciones que experimentaron un marcado crecimiento y expansión poblacional

desde sus áreas de refugios. En contraste, las especies estudiadas de la Amazonia (excepto una) muestran señales mucho más leves o equívocas de expansión, indicando mayor estabilidad poblacional a través del Pleistoceno tardío, proporcionando evidencia confusa para la HR (véase comentarios en Hewitt, 2004a). Es importante notar que la variación genética es capaz de reflejar las variables respuestas demográficas consecuentes a los cambios climáticos a través del gradiente latitudinal.

Con frecuencia se usan las predicciones de que una menor variación molecular dentro de una población indicaría eventos de expansión/colonización a partir de refugios restringidos y que una alta variabilidad genética caracterizaría aquellas poblaciones que persistieron en refugios a través de varios ciclos climáticos del Cuaternario. Sin embargo, se debe considerar que aunque esta predicción es correcta, posee problemas para descartar otros factores que también puedan resultar en una alta o baja variabilidad genética de una población, como lo son: la variación en las tasas de mutación de las especies, los regímenes selectivos y los tamaños poblacionales actuales (Lessa et al., 2003). Por tanto, dichos autores recomiendan realizar evaluaciones adicionales basadas en la teoría del Coalescente, como los test de neutralidad propuestos por Fu (Fu, 1997) y Tajima (Tajima, 1989), parámetro g de expansión poblacional (Kuhner, 2006; Kuhner & Smith, 2007), entre otros, que explotan el hecho de que las poblaciones se encuentran fuera del equilibrio entre deriva y mutación luego de un evento de expansión demográfica.

1.4. Contexto geográfico y antecedentes históricos de la Patagonia

La historia evolutiva de la región austral de América del Sur ha sido moldeada por eventos climáticos y geológicos, incluyendo orogénesis, volcanismo, ciclos glaciares y concurrentes fluctuaciones en el nivel de mar a lo largo de plataforma continental Atlántica, durante los últimos millones de años (Rabassa et al., 2005; Rabassa, 2008). La cronología absoluta de las glaciaciones en la Patagonia y Tierra de Fuego es una de las más completas del mundo y probablemente, la mejor que se dispone en el hemisferio sur (fuera de la Antártida), proveyendo información importante para entender la evolución ambiental de la región. La glaciación más antigua registrada se desarrolló en el Mioceno Tardío – Plioceno

Temprano (ca 7 – 8 Ma), luego de que se abriera el Pasaje de Drake y la cordillera de los Andes alcanzara su rango de elevación actual o incluso mayor (Rabassa, 2008). La mayor glaciación en la región patagónica se conoce como la “Gran Glaciación Patagónica” (GGP) y tuvo lugar entre 1,2 y 1,0 Ma en el Pleistoceno Temprano. Finalmente, la Última Gran Glaciación (UGG) alcanzó su máximo (Último Máximo Glaciar, UMG), hace 21.000 años y finalizó hace 16.000 años, en el Pleistoceno Tardío (Rabassa et al., 2005). Es bien sabido que la extensión de la capa de hielo en el GGP fue significativamente mayor que las que ocurrieron durante las glaciaciones posteriores, incluyendo el UMG (McCulloch et al., 2000; Rabassa et al., 2005; Rabassa, 2008). Los períodos glaciales tuvieron una duración media de entre 80.000 y 90.000 años, mientras que los períodos interglaciales, como el actual, tuvieron una duración media de entre 10.000 y 15.000 años (Latorre, 2008). Se afirma que los ciclos glaciares en la región produjeron cambios climáticos y ambientales, que tuvieron gran influencia en el desarrollo del paisaje y los ecosistemas patagónicos y pampeanos en los últimos 5 Ma (Rabassa et al., 2005; Rabassa, 2008).

Algunos aspectos hacen a las glaciaciones en América del Sur distintivas a las ocurridas en el hemisferio norte. Por ejemplo durante el UMG, en el hemisferio norte el escudo glaciar tendió a cubrir extensas áreas continentales, mientras que en América del Sur se limitó solamente a aquellas áreas a lo largo de la Cordillera de los Andes, manteniendo la mayor parte de la Patagonia Argentina y Tierra de Fuego sin presencia de glaciares (Figura. 1). A su vez, la gran plataforma continental del Atlántico sur fue expuesta compensando en gran medida las áreas cubiertas por capas de hielo a lo largo de los Andes (Rabassa, 2008).

La Patagonia Argentina se extiende hacia el sur del Río Colorado (Figura. 1), con una longitud total de casi 2500 km, entre los 36 y 55 grados de latitud sur, en el lado oriental de la Cordillera de los Andes, incluyendo la Isla Grande de Tierra del Fuego (Rabassa, 2008). Tres biomas principales se encuentran representados en la región: a) Monte, ubicado en el noreste de Patagonia; b) Bosques asociados a los Andes del sur, los cuales se pueden subdividir en Bosque templado valdiviano y Bosque subpolar magallánico; y c) Estepa patagónica, la cual incluye un área más húmeda distinguida como Pastizales patagónicos, localizada en el sur de Santa Cruz (Figura 1). La gran extensión de la región patagónica,

además de explicar la gran variedad de climas y ecosistemas de la región, brinda una oportunidad única de examinar la biogeografía en altas latitudes.

Pese a que el impacto de las glaciaciones en la distribución de la biota en áreas no tropicales del hemisferio sur ha sido insuficientemente estudiado (Beheregaray, 2008), existen algunos antecedentes importantes en varios taxones. Estudios paleobotánicos han documentado con cierto detalle los cambios en la composición de la flora asociada a los bosques de la región Andina (e.g., Haberle & Bennett, 2004; Villagrán et al., 2004; Heusser et al., 2006). Se ha postulado la existencia de múltiples refugios, con ubicaciones variables. Algunos han propuesto que períodos glaciares forzaron a las especies a mantenerse en refugios ubicados al norte y/o al este de sus distribuciones actuales, seguido de una dispersión hacia el sur y/o al oeste en los períodos interglaciares más templado (Pastorino & Gallo, 2002; Pastorino et al., 2004; Pastorino et al., 2009; Cosacov et al., 2010). En otros casos, los refugios han sido localizados al sur de la distribución actual de la especie (Premoli et al., 2000) o patrones de ubicación más complejos como por ejemplo al norte y sur del rango actual (Marchelli & Gallo, 2004; Muellner et al., 2005; Marchelli & Gallo, 2006). Sin embargo, Jakob et al. (2009) encontraron gran estabilidad en la distribución geográfica de tres especies de gramíneas de la estepa patagónica desde el UMG.

Los ciclos climáticos del Pleistoceno, que provocaron la formación de las extensas masas glaciales en el hemisferio norte, tuvieron un efecto más moderado en América del Sur (e.g., Moore, 2000; Rabassa et al., 2005; Schaefer et al., 2006). A pesar de ello, se ha documentado que los ensambles de pequeños mamíferos pueden responder a dichos cambios (Pearson, 1987; Pardiñas, 1999) y contribuir a revelar la historia de los ambientes a los que se encuentran asociados.

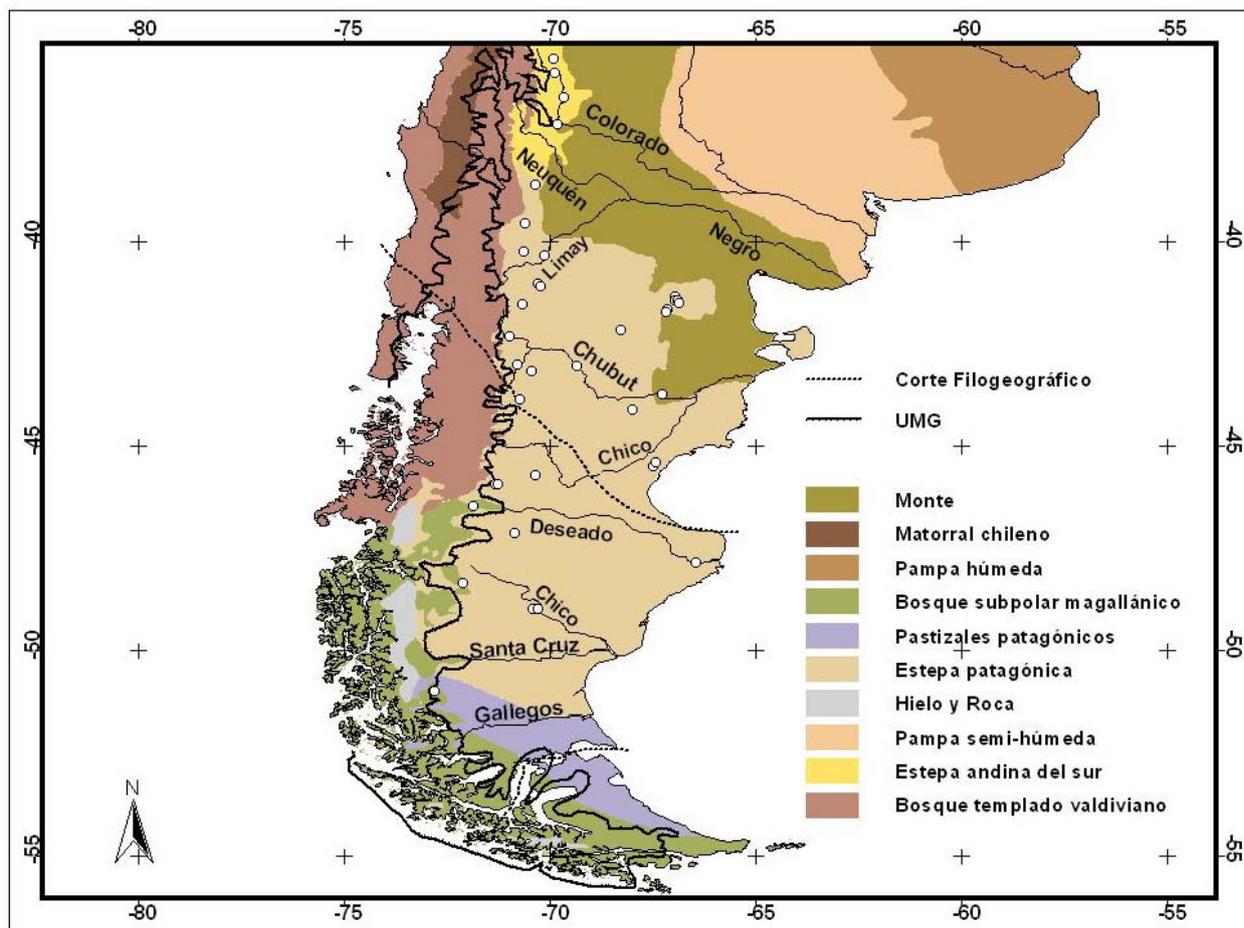


Figura 1. Mapa de la región patagónica indicando los principales biomas y ríos, la extensión de la capa de hielo en el último máximo glaciar (UMG) (tomado de Rabassa, 2008), ubicación aproximada de los quiebres filogeográficos en algunas especies de roedores sigmodontinos y localidades muestreadas.

Los pequeños roedores son buenos candidatos para inferir la historia biótica a partir de los patrones contemporáneos de variación genética. En primer instancia, su corto tiempo generacional y rápida tasa de sustitución en el ADN mitocondrial, incrementa la resolución temporal de los análisis filogeográficos, permitiendo la detección de respuestas bióticas a través de períodos de tiempo tan breves como un solo período glacial. En segundo lugar, la habilidad relativamente limitada de los mamíferos pequeños para dispersarse a través de grandes distancias geográficas, mantiene la señal genética de eventos históricos, limitando los efectos del flujo génico. Tercero, la asociación con hábitats particulares permite una vista más detallada de los factores ambientales que afectan los patrones de variación genética (Fedorov et al., 2008). A su vez, sus distribuciones no son afectadas por la caza y es menos probable que haya sido modificada por actividades humanas recientes (Nicolas et al.,

2011). Sin embargo, Pardiñas et al. (en prensa), plantean que las extinciones locales, colonizaciones y cambios en la abundancia de roedores sigmodontinos en la región patagónica-fueguina son también a menudo el resultado de actividades humanas que han impactado en hábitats locales desde el Holoceno.

Investigaciones realizadas en ratones sigmodontinos de la región han sugerido escenarios filogeográficos alternativos que deben ser considerados. Estudios realizados que incluyen a *Loxodontomys micropus* no detectaron quiebres filogeográficos dentro de la región patagónica (Lessa et al., 2010). No obstante, Cañón et al. (2010), evidenciaron señales de expansión demográfica y estructura filogeográfica, sugiriendo que la especie colonizó su actual rango de distribución desde por lo menos dos áreas de refugio, ubicadas probablemente al este de su rango actual. Smith et al. (2001) y Rodríguez-Serrano et al. (2006), encontraron una reducida divergencia genética y homogeneidad geográfica en *Abrothrix olivaceus*, sugiriendo que se expandió a partir de un único refugio localizado en la costa de Chile central hacia el sur y el este de los Andes. Sin embargo, recientemente Lessa et al. (2010), aumentando el área de muestreo, detectaron la presencia de estructuración geográfica la cual se evidenció al recuperar un clado alopátrico distintivo correspondiente a Isla Grande (Tierra del Fuego). Esto sugiere una historia de fragmentación y diferenciación dentro de la región Patagonia-Fueguina. El ratón colilargo patagónico (*Oligoryzomys longicaudatus*) proporciona un ejemplo de especie ampliamente distribuida en la zona que no presenta quiebres filogeográficos. Para dicha especie se ha sugerido un escenario en el cual la misma habría cruzado los Andes, desde Argentina hacia Chile, con una posterior expansión hacia el norte (Palma et al., 2005b; Belmar-Lucero et al., 2009). Sin embargo, la evidencia para esto no es concluyente (Cañón, et al 2010).

El estudio de Lessa et al. (2010) que abarca 14 especies de roedores sigmodontinos (que contiene las especies anteriormente mencionadas) pertenecientes a las regiones de Patagonia y Tierra de Fuego, incluye una amplia cobertura de los biomas. Sus resultados indican que la historia biogeográfica reciente de la región comprende tanto, casos de colonización reciente de latitudes más bajas a partir de una única fuente restringida (en muchas de las especies), como casos de diferenciación dentro de la región (particularmente en la tribu Abrotrichini). Trabajos realizados en otros taxones también han detectado

patrones históricos de expansión demográfica asociados con los eventos glaciares del Pleistoceno (e.g., anfibios, Kosciński et al., 2008; artrópodos, Xu et al., 2009; mamíferos, Marin et al., 2007; Marín et al., 2008; Ojeda, 2010; peces, Ruzzante et al., 2008; Zemplak et al., 2010).

Con algunas excepciones (Kim et al., 1998; Jakob et al., 2009; Cosacov et al., 2010; Lessa et al., 2010), los estudios filogeográficos en la zona austral de América del Sur se encuentran restringidos a las laderas de los Andes, principalmente en el noroeste de la Patagonia, sin tener en cuenta las extensas y áridas llanuras al este de la ladera andina o estepa patagónica. Ello hace realmente difícil, por no decir imposible, presentar un escenario integrado para toda la región Patagónica-Fueguina y sus biomas asociados.

La evidencia fósil para la región, en cuanto a sigmodontinos se refiere, está limitada al período postglacial (Pleistoceno Tardío – Holoceno) (Pardiñas et al., en prensa). Registros fósiles disponibles para el centro de Patagonia, estaría indicando que durante el Pleistoceno Tardío el paisaje local estaba dominado por escasa vegetación mezclado con parches de pajonal y grandes exposiciones rocosas, ya que las especies registradas en el lugar fueron *Eligmodontia* spp., *Abrothrix olivaceus* y *P. xanthopygus* (Pardiñas et al., en prensa).

1.5. *Phyllotis xanthopygus*

Phyllotis xanthopygus (Rodentia: Sigmodontinae), también llamado pericote patagónico (Figura 2), fue originalmente colectado en la provincia de Santa Cruz por Darwin durante su viaje en el HMS Beagle y descrito como *Mus xanthopygus* por Waterhouse (1837). Es un roedor endémico de Sudamérica, que se encuentra ampliamente distribuido en Perú, Bolivia, Chile y Argentina. Se encuentra a lo largo de los Andes desde el sur de Perú hasta la Patagonia, desde ca. 15° a 51° de latitud sur (Figura 3) (Kramer et al., 1999). Sus hábitats incluyen ambientes desérticos rocosos y sin vegetación que típicamente existen en “islas” aisladas en una matriz desprovista de rocas de gran tamaño, estepa, bosques bajos y matorrales. Su rango comprende un extenso gradiente altitudinal, desde grandes elevaciones en los Andes centrales (5.600m) hasta el nivel del mar. Su estatus en la lista

roja de especies amenazadas de la UICN (*International Union for Conservation of Nature*) está catalogado como Preocupación Menor y tiene tolerancia un grado de modificaciones de hábitat y por ello es poco probable que la población disminuya lo suficientemente rápido como para calificar para su inclusión en una categoría de mayor riesgo (Vargas et al., 2008).

La distribución de la especie, con su amplio gradiente latitudinal y altitudinal, y sus exigencias de hábitat, hacen de *P. xanthopygus* proporcionar un excelente sistema para adquirir nuevos datos sobre la historia biogeográfica de la región y su influencia en la biota.



Figura 2. Ejemplar de *Phyllotis xanthopygus* (Pericote patagónico). Fotografía R. Sage.

La especie pertenece a la tribu Phyllotini, la cual es endémica de América del Sur; la misma es parte de la subfamilia del Nuevo Mundo Sigmodontinae, dentro de la familia Cricetidae y la superfamilia Muroidea (Musser & Carleton, 2005). El reconocimiento específico de *P. xanthopygus* es apoyada por diferenciación morfométrica, electroforética, cariotípica y molecular (Spotorno & Walker, 1983; Walker et al., 1984; Stepan, 1998). Se considera que está compuesta por seis subespecies: *P. x. chilensis*, *P. x. posticalis*, *P. x. ricardulus*, *P. x. rupestris*, *P. x. vaccarum* y *P. x. xanthopygus* (Stepan, 1998). *Phyllotis bonariensis*, *Phyllotis darwini*, *Phyllotis limatus* y *Phyllotis magister* son las especies más cercanamente emparentadas a *P. xanthopygus* (Stepan et al., 2007).

La estructura filogeográfica para *P. xanthopygus* en el norte de Patagonia (provincias de Chubut y Río Negro) reflejan los posibles efectos de los ciclos glaciares que tuvieron lugar a partir del Pleistoceno Temprano (Kim et al., 1998). Un estudio reciente que abarca toda la región patagónica, plantea que la especie no muestra quiebres filogeográficos dentro de la región y que presenta huellas genéticas de una expansión demográfica que habría tomado lugar aproximadamente durante los pasados 90.000 años (Lessa et al., 2010). A su vez, estudios en base a *P. xanthopygus chilensis*, *P. limatus*, *Abrothrix andinus* y *Abrothrix olivaceus*, plantean que la radiación de los ratones sigmodontinos en los Andes centrales puede haber sido facilitada por eventos históricos durante el Pleistoceno (Palma et al., 2005a). Stepan et al. (2007) y Albright (2004), afirman que *P. xanthopygus* se caracteriza por profundas divergencias y alta diversidad genética.

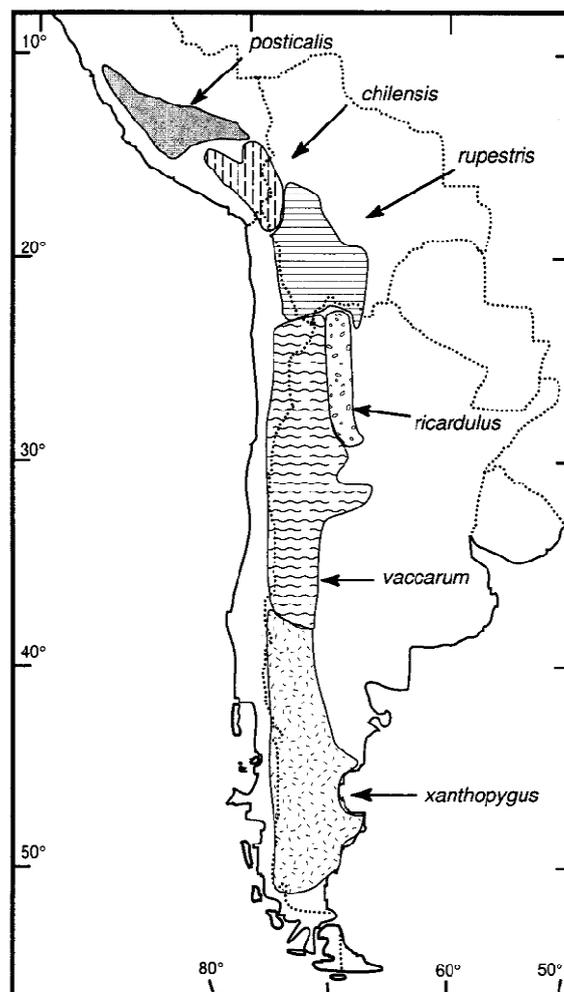


Figura 3. Distribución geográfica de *Phyllotis xanthopygus*. Detallando la distribución de las seis subespecies actualmente reconocidas: *P. x. chilensis*, *P. x. posticalis*, *P. x. ricardulus*, *P. x. rupestris*, *P. x. vaccarum*, *P. x. xanthopygus*. Modificado Stepan (1998).

1.6. Hipótesis de trabajo

Basándonos en los antecedentes aquí planteados, se puede afirmar que el problema de los refugios puede dividirse en tres aspectos: a) la ocurrencia de respuestas de retracción y expansión de la biota a los ciclos climáticos; b) si correspondiese, el número de refugios implicados; y c) las consecuencias de los eventos implicados en la persistencia y diversificación de las especies. En base a ello, se desprende la hipótesis general del trabajo, según la cual las oscilaciones climáticas ocurridas durante el Pleistoceno en la Patagonia, habrían provocado la retracción a refugios de *P. xanthopygus* en la región durante los períodos glaciares, y una posterior expansión poblacional en períodos interglaciares.

1.7. Objetivos

1.7.1. Objetivo general

Generar información sobre la historia evolutiva de *Phyllotis xanthopygus*, contribuyendo así a la comprensión de los procesos biogeográficos implicados en la estructura de la diversidad biótica a lo largo del gradiente latitudinal de la Patagonia.

1.7.2. Objetivos específicos

- Caracterizar la diversidad genética a nivel del ADN mitocondrial, incluyendo la estructura geográfica, del roedor sigmodontino *P. xanthopygus* en la Patagonia argentina.
- Interpretar el patrón filogeográfico, junto con la información paleoclimática y paleogeográfica de la región, para inferir de ésta manera la historia biogeográfica de *P. xanthopygus* y las fuerzas evolutivas implicadas en el proceso.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Obtención de muestras y su representación geográfica

Las muestras provienen de ejemplares colectados en el marco del proyecto “*Postglacial Patagonia: evolutionary responses of small mammals to climate change*” (responsable: E. P. Lessa; coinvestigadores: G. D’Elía, Universidad de Concepción en Chile y U. Pardiñas, Centro Nacional Patagónico en Argentina), (PNG; $n = 90$). Dicho muestreo fue diseñado estableciendo cuatro transectas a cuatro niveles latitudinales diferentes de la Patagonia (Río Negro, Chubut, Santa Cruz y Tierra de Fuego, ésta última no utilizada en el estudio ya que no es parte de la distribución de la especie), abarcando desde la costa atlántica hasta la cordillera de los Andes.

A su vez, se obtuvieron donaciones de tejido que corresponden a un importante número de muestras procedentes de otras localidades, particularmente de Mendoza, Neuquén y Torres del Paine, lo que permitió ampliar en gran medida el rango latitudinal del estudio. Estas muestras fueron provistas por Ulyses Pardiñas (UP, DUS, LTU, PPA; $n = 116$), Texas Tech University (TTU; $n = 8$), Pablo Teta (PT; $n = 2$) y Richard D. Sage (RDS; $n = 1$).

Se incluyeron asimismo las secuencias ya publicadas en GenBank de *P. xanthopygus* ($n = 25$) de una longitud similar a las secuenciadas en el presente estudio (Steppan, 1998; Smith & Patton, 1999; Kuch et al., 2002; D’Elía, 2003; Palma et al., 2005a; Steppan et al., 2007). Ello permitió extender el rango latitudinal hacia el norte, llegando hasta los 11 grados latitud sur en la localidad de Casapalca, provincia de Lima, Perú. A su vez, G. D’ Elía nos proporcionó secuencias provenientes de Mendoza (RAO, GBD, Phyll; $n = 4$).

En total, se analizaron 246 muestras de *P. xanthopygus*, los cuales representan un total de 43 localidades (Tabla 1). Éstas se encuentran distribuidas entre los 11 y 51 grados de latitud sur (Figura 4), cubriendo así la mayor parte del rango latitudinal de distribución de la especie, salvo por un blanco de información en la zona norte de Argentina entre los 23

y 32 grados de latitud sur. A efectos de los análisis, aquellos puntos de muestreo ubicadas a menos de 30 kilómetros de distancia entre ellas, se agruparon y fueron tratadas como una única localidad. El número de individuos por localidad, varía entre 1 – 18, tratando siempre de tener un buena representación de cada localidad ($n > 10$), principalmente para permitir la realización de ciertos análisis poblacionales.

Las muestras de tejido, típicamente de músculo o hígado, se encuentran preservadas en etanol °95 y en buffer de lisis en el caso de las muestras donadas por Texas Tech University. Alícuotas de las muestras utilizadas se encuentran depositadas en la colección del Laboratorio de Evolución, Facultad de Ciencias. Información detallada de las muestras y números de catalogo, se describen en el Apéndice 1.

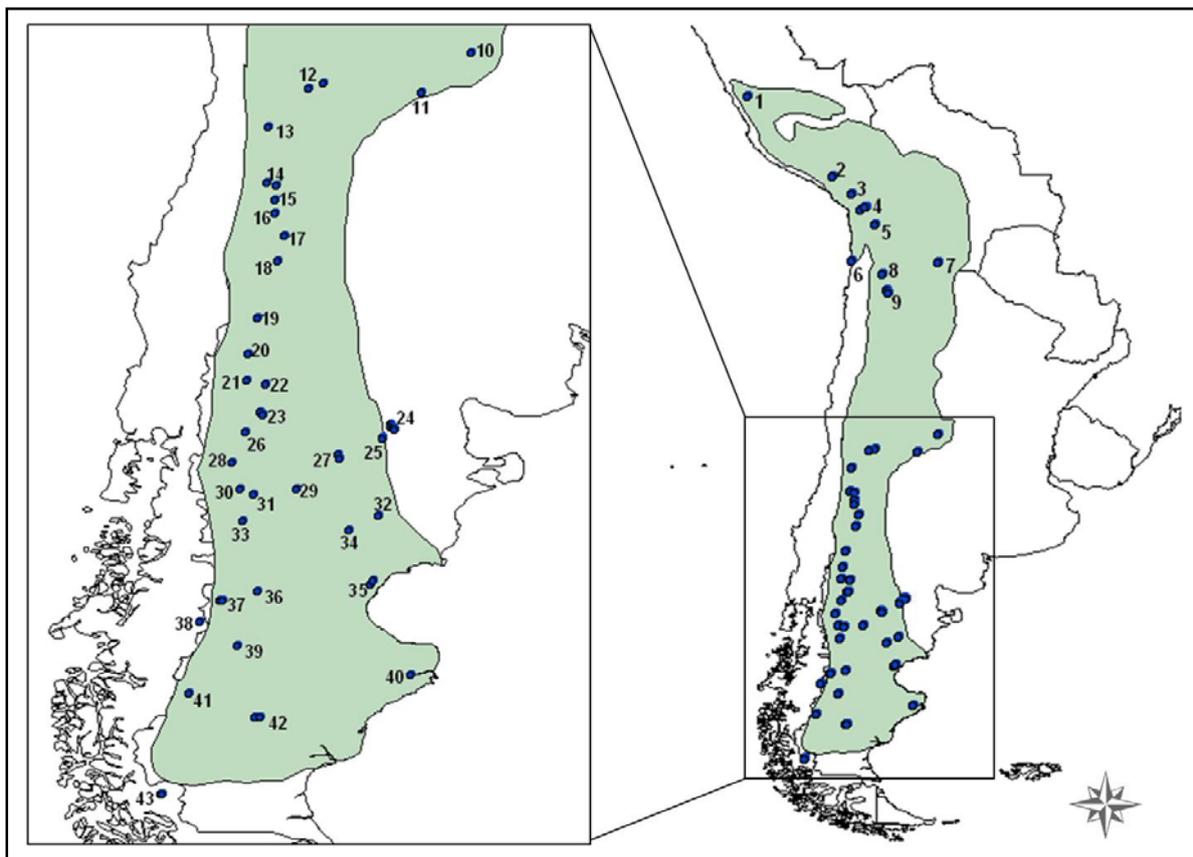


Figura 4. Mapa indicando las localidades analizadas. La numeración corresponde a código utilizado para identificar cada localidad (ver tabla 1, para sus ubicaciones exactas y su correspondencia numérica). La zona sombreada corresponde a la distribución de *Phyllotis xanthopygus* (Patterson et al., 2007).

Tabla 1. Lista de localidades, en la que se incluye el número de la localidad, su ubicación geográfica y la cantidad de individuos (n) que representa cada una de ellas.

N_{Loc}	Localidad	Provincia	País	n
1	Casapalca, Departamento de Lima	Huarochiri	Perú	1
2	53km E Arequipa, Departamento de Arequipa	Arequipa	Perú	1
3	5 km NE Tarata, Departamento de Tacna	Tarata	Perú	1
4	ca 72 km E Arica & 10 km S Chapiquina & 22 km S Putre, XV Reç	Parinacota	Chile	1
	Lago Chungara, Comuna Putre, XV Región	Parinacota	Chile	4
	Parinacota, Comuna Putre, XV Región	Parinacota	Chile	1
5	Suricayo, Comuna Colchane, I Región	Tamarugal	Chile	1
	Enquelga (sitio 1), Comuna Colchane, I Región	Tamarugal	Chile	1
6	Desembocadura Río Loa, Comuna Tocopilla, II Región	Tocopilla	Chile	1
7	Iscayachi, Departamento de Tarija		Bolivia	1
8	Arroyo Coya, II Región	El Loa	Chile	1
9	Quebrada de Jerez, Toconao, Comuna San Pedro de Atacama, II Región	El Loa	Chile	1
	Talabre, Comuna San Pedro de Atacama, II Región	El Loa	Chile	1
10	Pampa de Achala	Córdoba	Argentina	2
11	Camino entre San Francisco del Monte de Oro y La Carolina	San Luis	Argentina	1
12	49.2 km N (por carretera) Mendoza	Mendoza	Argentina	1
	Quebrada del Toro	Mendoza	Argentina	1
13	El Yeso, Región Metropolitana Santiago	Cordillera	Chile	2
14	Valle Hermoso	Mendoza	Argentina	2
	Laguna de la Niña Encantada	Mendoza	Argentina	2
15	La Valenciana	Mendoza	Argentina	1
16	Bardas Blancas	Mendoza	Argentina	13
17	Los Frisos, El Zampal	Mendoza	Argentina	2
18	Estancia Corcel Negro, Buta Ranquil	Neuquén	Argentina	7
19	Estancia La Porteña, Sierra de Cuchillo Curá, Las Lajas	Neuquén	Argentina	5
20	Las Coloradas	Neuquén	Argentina	3
21	Estancia Collón Curá, Cerrito Piñón	Neuquén	Argentina	13
22	Estancia Yuncón, Piedra del Águila	Neuquén	Argentina	7
23	Comallo	Río Negro	Argentina	1
	Departamento Pilcaniyeu, 10 km S Comallo	Río Negro	Argentina	1
24	Meseta de Somuncurá, Puesto Buñuelo	Río Negro	Argentina	1
	Meseta de Somuncurá, Campamento PNG	Río Negro	Argentina	2
	Meseta de Somuncurá, Puerto Quiñelaf	Río Negro	Argentina	1
	Cerro Corona, Laguna Blanca	Río Negro	Argentina	1
	Cerro Corona	Río Negro	Argentina	1
25	Meseta de Somuncurá, Subida del Naciente	Río Negro	Argentina	10
	Meseta de Somuncurá, Establecimiento San Nicolás	Río Negro	Argentina	4
26	Ñorquinco, Escorial de Chenqueniyeu	Río Negro	Argentina	1
27	Estancia Talagapa	Chubut	Argentina	8
	Sierra de Talagapa	Chubut	Argentina	2
28	Gorro Frigio	Chubut	Argentina	5
29	Estancia Leleque, cuadro La Potrada	Chubut	Argentina	1
30	Cabaña Arroyo Pescado	Chubut	Argentina	8
31	Laguna de Aleusco	Chubut	Argentina	2
32	Las Plumas	Chubut	Argentina	6
33	Cañadón de la Madera, Sierra de Tepuel	Chubut	Argentina	7
34	Estancia Bajada del Guanaco	Chubut	Argentina	15
35	Estancia Los Manantiales	Chubut	Argentina	1
	Pico Salamanca	Chubut	Argentina	14
36	Estancia Quichaura	Chubut	Argentina	1
37	Extremo W-SW Lago Blanco	Chubut	Argentina	7
	1 km E Lago Blanco	Chubut	Argentina	4
38	Chile Chico, Región XI	General Carrera	Chile	1
39	Río Ecker, 500 m aguas abajo casco Ea. Casa de Piedra	Santa Cruz	Argentina	9
40	Estancia Cerro del Paso	Santa Cruz	Argentina	18
41	Estancia La Ensenada	Santa Cruz	Argentina	13
42	Estancia Cerro Ventana	Santa Cruz	Argentina	15
43	Parque Nacional Torres del Paine, Región XII	Magallanes	Chile	8

2.2. Trabajo de laboratorio

2.2.1. Extracción de ADN

La extracción de ADN total se realizó según el protocolo propuesto por Miller *et al.* (1988) con modificaciones. El mismo involucra la digestión del tejido con dodecil sulfato de sodio (SDS, por sus siglas en inglés) y proteinasa K, precipitación de proteínas con cloruro de sodio (NaCl) y finalmente precipitación de ADN con isopropanol. Las muestras fueron diluidas en TE 1X y almacenadas a -20 °C hasta su utilización.

2.2.2. Amplificación por PCR y secuenciación

A partir de las diluciones de extracciones de ADN total (en un factor de 1 en 50), se amplificó un fragmento de 801 pares de bases (pb) del extremo 5' del gen de citocromo b del genoma mitocondrial, por la técnica de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés) (Saiki et al., 1988). Se utilizaron los oligonucleótidos MVZ 05 (5'-CGAAGCTTGATATGAAAAACCATCGTTG-3') y MVZ 16 (3'-AAATAGGAARTATCAYTCTGGTTT RAT-5') publicados por Smith & Patton (1991, 1993; respectivamente). El volumen total de reacción para la PCR fue de 20 µl compuestos por 10µl de dilución de ADN y 10 µl de reactivos resultantes en las siguientes concentraciones: Buffer 1X, dNTPs 0,2 mM, oligonucleótidos 0,2 µM, MgCl₂ 3,4 mM y Taq polimerasa 0,06 u/µl. Las amplificaciones fueron realizadas bajo las siguientes condiciones de ciclado: 3 minutos de desnaturalización inicial a 95°C, 30 ciclos de desnaturalización a 95°C, asociación a 46°C y extensión a 72°C por 30 segundos cada uno, finalizando con una fase de extensión final a 72°C por 5 minutos. Todas las reacciones de PCR incluyeron un control negativo. El control de los productos de la amplificación se llevó a cabo mediante corridas electroforéticas en geles de agarosa al 0.8% en TBE 1X, teñidos en solución de bromuro de etidio (BrEt) 5mg/ml y visualizados en un transluminador UV. Los productos que no mostraron bandas secundarias y con una intensidad similar al fragmento de 800 pb del estándar de peso molecular (100bp DNA Ladder, FermentasTM), fueron seleccionados para su secuenciación. Los productos de PCR fueron purificados y posteriormente secuenciados en un secuenciador automático

ABI3730XL en Macrogen Inc. (Corea) con los oligonucleótidos MVZ 05 y MVZ 16. En los casos necesarios, se secuenció más de una vez cada hebra para resolver ambigüedades.

2.3. Edición y alineación de secuencias

Las secuencias fueron editadas a partir de los espectroferogramas obtenidos, utilizando el programa ProSeq versión 3.0 (Filatov, 2002). Se utilizó la herramienta *online* BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) (Altschul et al., 1990) para comparar cada una de las secuencias con la base de datos GenBank. A su vez, se verificó su correcta traducción a proteínas, basándonos en el código mitocondrial de los mamíferos.

Debido a que no se presentan inserciones o deleciones y a que las secuencias de estudio tienen un grado de divergencia muy pequeño, ya que se trabajó a un nivel intraespecífico y poblacional, fue posible realizar el alineamiento de las secuencias manualmente utilizando el mismo programa con que fueron editadas.

2.4. Análisis de secuencias

En una primera instancia, se realizaron análisis preliminares para asegurar que nos encontramos trabajando con secuencias correspondientes al ADN mitocondrial.

Para alcanzar los objetivos propuesto por éste trabajo, los análisis fueron organizados en tres niveles jerárquicos diferentes. Inicialmente se realizó un análisis exploratorio a nivel del género *Phyllotis*, seguido de un análisis a nivel de la especie *P. xanthopygus* y finalmente nos focalizamos en un estudio a nivel poblacional de la especie en la región patagónica.

2.4.1. Análisis preliminares

En una primera instancia se verificó que las secuencias obtenidas en el laboratorio ($n = 217$) se ajustan a los patrones típicos encontrados en genes codificantes de proteínas del ADN mitocondrial. Para ello, se calcularon los sesgos de composición nucleotídica (considerando su distribución por clases de sitios de codón) y se representaron curvas de saturación en relación a clases de cambio, graficando las diferencias pareadas versus la distancia molecular Kimura-2-Parámetros para cada una de las posiciones del codón, para lo cual se utilizó el programa MEGA versión 4.0 (Tamura et al., 2007). A su vez, se determinó el patrón de mutación para cada uno de los sitios del codón y la relación Ts:Tv, utilizando el programa DnaSP versión 5.10 (Librado & Rozas, 2009).

2.4.2. Análisis al nivel de género, *Phyllotis*

Se realizaron análisis filogenéticos para evaluar la hipótesis de monofilia del género *Phyllotis* con respecto a otros géneros integrantes de la tribu Phyllotini, además de analizar las relaciones internas entre las diferentes especies de *Phyllotis*. Para ello se utilizaron las 246 secuencias obtenidas de *P. xanthopygus*, además de secuencias previamente publicadas en GenBank correspondientes a las especies: *Phyllotis osilae* ($n = 4$); *Phyllotis magister* ($n = 9$); *Phyllotis limatus* ($n = 6$); *Phyllotis darwini* ($n = 10$); *Phyllotis bonariensis* ($n = 2$); *Phyllotis andium* ($n = 5$); *Phyllotis amicus* ($n = 1$); *Phyllotis wolffsohni* ($n = 1$) y *Phyllotis anitae* ($n = 2$). Consultar el Apéndice 1 por un listado detallado y los números de acceso de GenBank correspondientes.

El modelo de evolución nucleotídica que mejor se ajustó al conjunto de los datos fue seleccionado por el Criterio de Información de Akaike empíricamente ajustado propuesto por Posada & Crandall (2001) (AIC_2), utilizando el programa ModelGenerator versión 0.85 (Keane et al., 2006). Posada & Crandall (2001) presentaron pruebas que el criterio AIC_2 puede ser a veces más preciso que el AIC (Akaike, 1974) en determinar el modelo de sustitución nucleotídica correcto. La principal diferencia, es que el criterio AIC_2 tiende a elegir modelos más simples que el AIC, ya que penaliza en mayor medida la adición de

parámetros adicionales al modelo. Según AIC₂ el modelo de sustitución que mejor se ajusta a nuestro set de datos es Tamura-Nei (Tamura & Nei, 1993) más sitios invariables y distribución gama (TrN+I+G). La proporción de sitios invariables (I) fue 0,49, mientras que el parámetro de distribución gama (α) fue 0,73, con 5 categorías discretas de tasas de sustitución.

En primer instancia se realizó el análisis filogenético por el método de Máxima Verosimilitud (ML, *Maximum Likelihood*) con el programa PhyML versión 3.0 (Guindon & Gascuel, 2003). El modelo utilizado (TrN93) incluyó 5 categorías de sustitución de bases, un parámetro de distribución gamma y una proporción de sitios invariables; todos ellos estimados por el algoritmo. La topología del árbol fue estimada por el método SPR (*Subtree Pruning & Regrafting*), partiendo de 5 árboles al azar. Ésta última, recomendada por el manual cuando se están estimando relaciones entre especies, ya que utilizar más de un árbol inicial disminuye la posibilidad de quedar atascado en un máximo local de la función de probabilidad. El apoyo de los nodos se evaluó mediante *Bootstrap* (Felsenstein, 1985), utilizando 100 réplicas.

En segunda instancia, se realizó un Análisis Bayesiano utilizando el algoritmo Metropolis-Hastings MCMC (*Markov Chain Monte Carlo*), con el programa BEAST versión 1.6.1 (Drummond & Rambaut, 2007). El análisis en BEAST se corrió por 150.000.000 interacciones, muestreando cada 15.000, con los primeros 15.000.000 pasos descartados como *burn-in*. El primer 25% de los árboles obtenidos fue descartado y el resto de los arboles fue utilizado para estimar el árbol de consenso y obtener la estimación de las probabilidades posteriores para cada uno de los clados. El modelo de sustitución nucleotídica fue configurado con las mismas características que para el análisis por ML.

Los árboles fueron enraizados con el criterio de grupo externo, utilizando las secuencias ya publicadas en GenBank correspondientes a otros géneros integrantes de la tribu Phyllotini: *Calomys* ($n = 9$); *Eligmodontia* ($n = 4$); *Graomys* ($n = 2$); *Auliscomys* ($n = 1$); *Salomys* ($n = 1$); *Trapecomys* ($n = 1$) y *Andalgalomys* ($n = 2$). Los números de acceso se pueden encontrar en el Apéndice 1.

2.4.3. Análisis al nivel de especie, *Phyllotis xanthopygus*

2.4.3.1. Relaciones filogenéticas

Como grupo interno se utilizaron las secuencias correspondientes a *P. xanthopygus*, además de aquellas correspondientes a *P. limatus* y *P. bonariensis*. Para éste conjunto de datos, el modelo óptimo de sustitución nucleotídica seleccionado por el programa Modelgenerator versión 0.85 (Keane et al., 2006) fue Tamura-Nei (Tamura & Nei, 1993) con distribución gama (TrN+G). Cuyo valor del parámetro de distribución gamma (α) fue 0,14, con 4 categorías de tasas de sustitución.

Las relaciones filogenéticas entre los haplotipos fueron reconstruidas mediante dos métodos: con el criterio de máxima verosimilitud y con aproximación bayesiana. En el primer caso se utilizó el programa PhyML versión 3.0 (Guindon & Gascuel, 2003) con una búsqueda heurística mediante la estrategia SPR (*Subtree Pruning & Regrafting*), partiendo de 5 árboles al azar. El modelo utilizado (TrN93) incluyó 4 categorías de sustitución de bases y un parámetro de distribución gama estimado por el algoritmo. El apoyo a los nodos se evaluó mediante un análisis de *bootstrap* (Felsenstein, 1985), utilizando 100 réplicas. En el segundo caso, se usó el paquete de reconstrucción genealógica de BEAST versión 1.4.8 (Drummond & Rambaut, 2007). En esta ocasión el análisis se corrió por 50.000.000 interacciones, muestreando cada 5.000, con los primeros 5.000.000 pasos descartados como *burn-in*. El primer 25% de los árboles obtenidos fue descartado y el resto de los árboles fue utilizado para estimar el árbol consenso y obtener la estimación de las probabilidades posteriores para cada clado. El modelo de sustitución nucleotídica fue configurado con las mismas características que para el análisis por ML.

Como grupo externo se utilizaron las secuencias pertenecientes a las especies *P. darwini* y *P. magister*, que son las más cercanamente emparentadas a *P. xanthopygus*, tomando como referencia la filogenia del género obtenida por Steppan *et al.* (2007).

El nivel de diferenciación entre los diferentes clados recuperados en el análisis filogenético, fue calculado como la distancia p promedio entre ellos, utilizando el programa MEGA versión 3.0 (Tamura et al., 2007).

Según los resultados obtenidos se definieron y nombraron las unidades de estudio que serán consideradas para los siguientes análisis (Figura 11). Cada agrupación corresponde a clados con un fuerte apoyo estadístico, considerando valores de *bootstrap* mayores 80% y probabilidades posteriores mayores 0,95. A su vez, se consideró el nivel de divergencia entre los diferentes clados y su distribución geográfica.

2.4.3.2. Diversidad genética

Para cada agrupación definida y para la totalidad de los datos de *P. xanthopygus* se calculó el número de haplotipos (k), diversidad haplotípica (H_d), el número de sitios polimórficos (S), la diversidad nucleotídica (π , número de diferencias pareadas entre pares de haplotipos presentes en la muestra) (Tajima, 1983) y se estimó el parámetro poblacional θ_w , el cual es calculado a partir de S (Watterson, 1975). Para estos cálculos fue utilizado el programa Arlequin versión 3.5 (Excoffier & Lischer, 2010).

2.4.3.3. Análisis demográfico

Se realizaron pruebas de neutralidad de Tajima (Tajima, 1989) y de Fu (Fu, 1997) para cada una de las agrupaciones definidas con $n \geq 10$, utilizando el programa Arlequin versión 3.5 (Excoffier & Lischer, 2010). Estas pruebas nos permitirán evaluar si los datos son consistentes con la ocurrencia de selección a nivel molecular o de diferentes eventos demográficos en el pasado, a partir de la variación poblacional presente en las poblaciones naturales. El estadístico D de Tajima (Tajima, 1989) compara dos estimadores del parámetro poblacional θ , uno basado en el número de sitios segregantes de la muestra (θ_w) y el otro basado en el número promedio de las diferencias pareadas entre haplotipos (π). La significancia de estadístico D se prueba mediante la generación de 1.000 muestras al azar

bajo la hipótesis de neutralidad selectiva y el equilibrio de la población, utilizando un algoritmo de simulación coalescente adaptado de Hudson (1990). Bajo el modelo de sitios infinitos, ambos estimadores deberían estimar los mismos valores, pero pueden surgir diferencias bajo selección, expansión poblacional, cuellos de botella o heterogeneidad de las tasas de mutación entre sitios. El estadístico F_S de Fu (Fu, 1997) está basado en la probabilidad de observar k o más alelos en una muestra de un tamaño poblacional dado, condicionado por el número promedio de diferencias pareadas entre haplotipos. La distribución del estadístico es obtenida por simulaciones de muestras ideales de acuerdo al valor de θ calculado. Esta prueba ha demostrado ser especialmente sensible a expansiones poblacionales demográficas, que generalmente conducen a valores negativos de F_S . La significancia del estadístico F_S se prueba de la misma manera que para el estadístico D . Es importante notar que el estadístico F_S es considerado como significativo a un nivel del 5%, si el p -valor es menor a 0,02 y no a 0,05, como es el caso del estadístico D .

Asimismo, se evaluaron posibles eventos históricos de expansión demográfica en cada clado filogeográfico utilizando máxima verosimilitud, estimando la tasa de crecimiento exponencial (g) con el programa Lamarc versión 2.1.3 (Kuhner, 2006; Kuhner & Smith, 2007). Se integraron resultados de 3 réplicas, cada una consistió en 20 cadenas iniciales y 5 finales, de las cuales 2.000 y 10.000 árboles fueron muestreados, respectivamente, usando incrementos en el muestreo de 20 generaciones, con el modelo de mutación de Felsenstein 84 (Felsenstein, 1984). Un valor negativo de g indica que la población ha estado disminuyendo y un valor positivo indica que ha estado creciendo. Mientras que un valor de cero indica que la población se ha mantenido en un tamaño constante. Se debe tener en cuenta que la estimación de g realizada por éste programa esta sesgada hacia arriba (debido a la forma de la superficie de probabilidad) especialmente cuando se trabaja con uno o pocos genes. Si la estimación de g es positiva y grande, pero los intervalos de confianza incluyen a cero, es muy probable que en realidad exista poco o ningún crecimiento. Si los intervalos de confianza excluyen a cero, esta afirmación es generalmente fiable.

A su vez, se realizó un análisis de distribución del número observado de diferencias pareadas entre pares de haplotipos de la muestra (en inglés, *mismatch distribution*) (Rogers

& Harpending, 1992), utilizando el programa Arlequin versión 3.5 (Excoffier & Lischer, 2010). El principio en el que se basa este análisis es que los procesos demográficos que ocurren a lo largo de la historia evolutiva de una población tienen un efecto en la evolución molecular de las secuencias de ADN, bajo la suposición de que existe poca o nula recombinación (Rogers & Harpending, 1992). La distribución de las diferencias pareadas es usualmente multimodal en poblaciones que exhiben equilibrio demográfico, debido a la alta estocasticidad en la forma de la genealogía y es usualmente unimodal en poblaciones que han pasado por una expansión demográfica reciente (Rogers & Harpending, 1992; Schneider & Excoffier, 1999). Los parámetros de expansión demográfica son calculados utilizando el método propuesto por Schneider & Excoffier (1999). Los intervalos de confianza para estos parámetros son obtenidos por un análisis de *bootstrap* que asume que los datos están distribuidos según un modelo de expansión demográfica. Los cálculos son realizados siguiendo los principios explicados por Schneider & Excoffier (1999), utilizando un algoritmo de simulación coalescente propuesto por Hudson (1990). La hipótesis de que los datos observados se ajustan a un modelo de expansión demográfica se evalúa utilizando la suma de los cuadrados de las desviaciones (SSD, por sus siglas en inglés) entre los datos esperados y observados mediante un análisis de *bootstrap*, donde los valores bajos y no significativos apoyan el modelo de expansión poblacional. A su vez, se utiliza el índice de desigualdad de Harpending de la distribución observada (Harpending, 1994), donde éste índice toma valores más altos para distribuciones multimodales, comúnmente encontradas en poblaciones estables, que para distribuciones unimodales típicas de poblaciones en expansión.

De forma complementaria se realizó el Test de neutralidad de McDonald & Kreitman (1991) con el programa DnaSP versión 5.10 (Librado & Rozas, 2009). Esta prueba está basada en la comparación de los reemplazos sinónimos y no sinónimos dentro y entre especies. Bajo neutralidad, la tasa de reemplazo a sustituciones sinónimas fijas entre especies debería ser la misma que la tasa de reemplazo a polimorfismos sinónimos dentro de especies. La prueba exacta de Fisher de dos colas y el Test *G* de independencia se computan para determinar si las desviaciones en las tasas de reemplazo a sinónimos (sustituciones fijas entre especies contra polimorfismos dentro de especies) son o no significativas.

Cuando los análisis se ajustaron a un modelo de expansión demográfica fue posible estimar la edad de ese evento de expansión por medio del parámetro poblacional Tau (τ) (Schneider & Excoffier, 1999), donde $\tau = 2\mu t$, siendo μ la tasa de mutación y t el tiempo desde el evento detectado. Los parámetros de la expansión que se utilizaran son los obtenidos por el análisis de distribución de diferencias pareadas y utilizando una tasa de evolución (μ) de 0,03544 sustituciones/millones de años para la fracción estudiada del citocromo b de *P. xanthopygus* (Lessa, E. P., com. pers.).

Finalmente, se reconstruyó el tamaño poblacional efectivo (N_e) a través del tiempo a través de un *Bayesian Skyline Plot* (BSP; Drummond et al., 2005) utilizando el programa BEAST versión 1.6.1 (Drummond & Rambaut, 2007). Al igual que el *Skyline Plot* clásico (Pybus et al., 2000) y el generalizado (Strimmer & Pybus, 2001), el *Skyline Plot* bayesiano nos permite descubrir nuevas señales demográficas que no son fácilmente descritas por modelos demográficos simples. A diferencia de los anteriores *Skyline Plots*, éste método tiene en cuenta tanto el error inherente en la reconstrucción filogenética como el error estocástico intrínseco al proceso de coalescencia y por lo tanto produce estimaciones más fiables (Drummond et al., 2005). Un proceso de muestreo con Cadenas de Markov y Monte Carlo (MCMC) es utilizado para estimar la genealogía ancestral, los parámetros del proceso de sustitución y los parámetros demográficos, directamente de las secuencias génicas dado un modelo de sustitución nucleotídica específico. Éste análisis solamente fue realizado para la agrupación correspondiente al clado Sur (S) ya que ha sido la única que presentó indicios de una clara expansión poblacional. Se utilizó el modelo de sustitución de HKY (Hasegawa et al., 1985) con distribución gamma y sitios invariantes, además de considerar que cada posición del codón posee su propia tasa de mutación. Se seleccionó el modelo de reloj

molecular estricto y se utilizaron 10 grupos para la realización del *Skyline Plot* ($m = 10$). Para la datación aproximada de los eventos poblacionales, el número de sustituciones por sitio por millones de años se estableció en 0,03544 (Lessa, com. pers.). El análisis se corrió por 150.000.000 generaciones, con el primer 10% descartado como *burn-in*. De las genealogías y los parámetros del modelo se tomaron muestras cada 15.000 generaciones.

2.4.3.4. Estructura genética

Se realizó un escalamiento multidimensional (MDS, por sus siglas en inglés), para el conjunto de datos correspondiente a la especie *P. xanthopygus*, considerando cada localidad muestreada como una unidad. El escalamiento multidimensional es una clase de método de ordenación diseñado para describir un conjunto complejo de relaciones entre las muestras, inicialmente representado por una matriz de distancias pareadas o de similitudes, en el espacio de unas pocas dimensiones. Es una técnica útil para un análisis exploratorio de la estructura genética geográfica (Lessa, 1990). Se construyó una matriz de F_{st} pareados para todos los pares de localidades con el programa Arlequin versión 3.5 (Excoffier & Lischer, 2010). A continuación, se utilizó el programa XLSTAT (Addinsoft, 2009) en Excel para realizar el MDS. El análisis se realizó para 2 dimensiones bajo el modelo ordinal (2), con 100 repeticiones y 1000 interacciones. Los algoritmos utilizados por éste análisis tienen como objetivo reducir la diferencia entre la disparidad de la matriz de los modelos y la matriz de la distancia obtenida en la configuración de la representación. Ésta diferencia es medida a través del Stress de Kruskal (1).

La estructura poblacional jerárquica se cuantificó a través del cálculo de los estadísticos F (también conocidos como índices de fijación) (Wright, 1965) y sus análogos. Éstos miden la reducción de heterocigosis esperada con apareamiento al azar a cualquier nivel de una jerarquía poblacional en relación a otro nivel más inclusivo de la misma.

Para examinar la estructura genética poblacional, se realizó el análisis de varianza molecular (AMOVA, por sus siglas en inglés), cuya aproximación utilizada por el Arlequin (Excoffier et al., 1992) es esencialmente similar a otros métodos basados en análisis de varianza de las frecuencias génicas, pero toma en cuenta el número de mutaciones entre los haplotipos (que primero tiene que se evalúa). Definiendo grupos de poblaciones, se puede realizar un análisis jerárquico de la varianza, el cual divide la varianza total en componentes de covarianza debido a diferencias dentro y entre poblaciones. La significancia de los índices de fijación fue puesta a prueba utilizando una aproximación de permutación no paramétrica descrita por Excoffier et al. (1992). El análisis fue implementado en el programa Arlequin versión 3.5 (Excoffier & Lischer, 2010), basado en las distancias de Tamura & Nei entre los haplotipos, con distribución gama ($\alpha = 0,13$) y el número de permutaciones fijado en 1000.

Finalmente, las comparaciones pareadas entre poblaciones se realizó mediante el cálculo de distancias F_{ST} (ϕ_{ST}) basado en las distancias de Tamura & Nei entre los haplotipos, con distribución gama ($\alpha = 0,13$). La distribución nula de los valores pareados de ϕ_{ST} bajo la hipótesis de que no existen diferencias entre las poblaciones se obtiene permutando los haplotipos entre las poblaciones. El p -valor del análisis es la proporción de permutaciones que conducen a un valor de ϕ_{ST} mayor o igual a los observados. El número de permutaciones fue fijado en 1000, mientras que el nivel de significancia fue de 0,05.

2.4.3.5. Datación de nodos

Basándose en la topología que se obtuvo a partir de la reconstrucción filogenética para la especie, se estimó el tiempo de diversificación de los clados utilizando el programa BEAST versión 1.6.1 (Drummond & Rambaut, 2007). El modelo sustitución nucleotídica utilizado (TrN93) incluyó 4 categorías de sustitución de bases y un parámetro de distribución gamma estimado por el algoritmo. Para el análisis se empleó el modelo de reloj molecular estricto, donde se utilizó una tasa de sustitución por sitio por millones de años para *P. xanthopygus* de 0,03544 (Lessa, com. pers.). El largo de la cadena fue de 50.000.000 interacciones, con los primeros 5.000.000 pasos descartados como *burn-in* y cada 5.000 generaciones se tomaron muestras de las genealogías y los parámetros del modelo. Como

es recomendado en el manual del programa, la monofilia de los clados es reforzada debido a que existe una considerable duda en las relaciones filogenéticas de algunos clados.

2.4.4. *Phyllotis xanthopygus* en la región patagónica

Para esta sección nos enfocamos en el análisis del clado Sur (S), el cual se encuentra representado por 21 localidades de muestreo (Figura 5 y Tabla 2), cubriendo casi en su totalidad a la región patagónica argentina. Estas localidades fueron nombradas de manera independiente a la numeración utilizada en las primeras secciones, para facilitar así la interpretación de los datos.

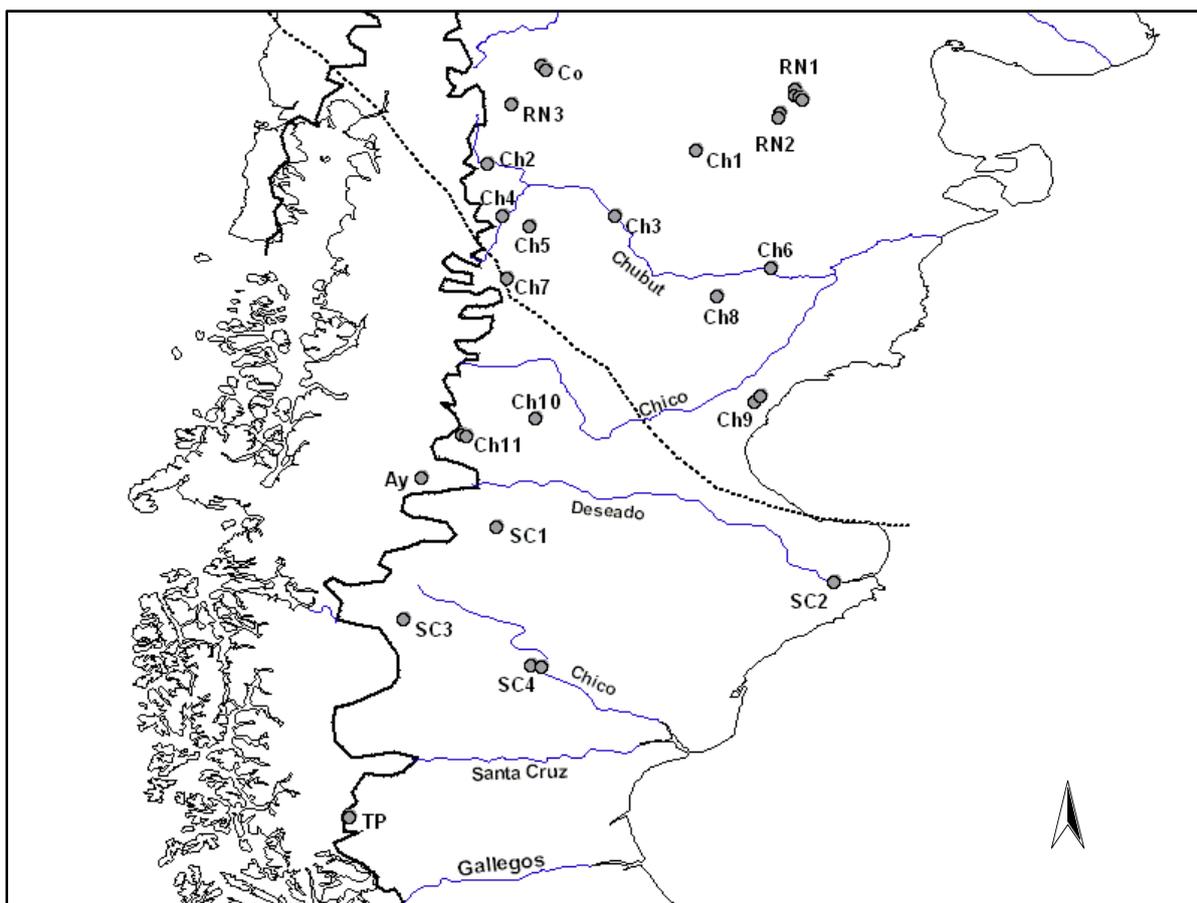


Figura 5. Mapa indicando las localidades analizadas en el sur de Argentina. Ver la tabla 2 por los detalles del código de nomenclatura utilizado. La línea punteada corresponde a corte filogeográfico propuesto por Lessa et al (2010).

Tabla 2. Código de nomenclatura de las 21 localidades utilizadas en las análisis de *P. xanthopygus* en la región sur de Argentina. También son detallados los macroambientes a los cuales corresponde cada localidad.

Código Localidad	Localidad	Macroambientes
Co	Comallo	Estepa patagónica
RN1	Puesto Buñuelo - Cerro Corona - Campamento PNG	Estepa patagónica
RN2	Establecimiento San Nicolás - Subida del Naciente	Estepa patagónica
RN3	Ñorquinco	Estepa patagónica
Ch1	Estancia Talagapa - Sierra Talagapa	Estepa patagónica
Ch2	Estancia Leleque, cuadro La Potrada	Estepa patagónica
Ch3	Gorro Frigio	Estepa patagónica
Ch4	Cabaña A° Pescado	Estepa patagónica
Ch5	Laguna de Aleusco	Estepa patagónica
Ch6	Las Plumas	Monte
Ch7	Cañadón de la Madera, Sierra de Tepuel	Estepa patagónica
Ch8	Estancia Bajada del Guanaco	Estepa patagónica
Ch9	Pico Salamanca - Estancia Los Manantiales	Estepa patagónica (con influencia de monte)
Ch10	Estancia Quichaura	Estepa patagónica
Ch11	Lago Blanco	Ecotono bosque - estepa (principalmente estepa)
Ay	Aysén, Chile Chico	Bosque valdiviano templado
SC1	Río Ecker	Estepa patagónica
SC2	Estancia Cerro del Paso	Estepa patagónica (con influencia de monte)
SC3	Estancia La Ensenada	Bosque valdiviano templado - Estepa patagónica
SC4	Estancia Cerro Ventana	Estepa patagónica
TP	Parque Nacional Torres del Paine	Bosque valdiviano templado

2.4.4.1. Diversidad génica

Debido a que nos encontramos trabajando en un escenario postglaciar, es de interés investigar si existe algún patrón geográfico en la variación poblacional, ya sea con respecto a los diferentes macroambientes, en términos latitudinales, etc. Por lo que, para cada localidad y para el clado filogenético en estudio se calcularon los índices de variación molecular estándar: el número de haplotipos (k), la diversidad haplotípica (H_d), el número de sitios polimórficos (S), la diversidad nucleotídica (π ; Tajima, 1983) y el parámetro poblacional (θ_w ; Watterson, 1975). Para ello, se utilizó el programa Arlequin versión 3.5 (Excoffier & Lischer, 2010).

2.4.4.2. Estructura poblacional

Como previamente hemos notado en el análisis filogenético el clado correspondiente a la región patagónica conforma una gran politomía y no produce una segregación geográfica clara de la variación genética dentro del clado. Por lo cual, se estudiará más en detalle la posibilidad de que exista una estructuración poblacional hasta el momento no aparente. Encontrar evidencia de estructuración poblacional es importante porque, junto al conocimiento de la distribución de las poblaciones muestreadas y la matriz geográfica donde se encuentran, ayuda a entender cómo las condiciones actuales y pasadas del entorno físico (clima y geología) explican los procesos de diversificación.

A su vez, se evaluó la existencia de quiebres filogeográficos para la especie en la región y así comparar los resultados con los obtenidos en el estudio realizado por Lessa et al. (2010). Para que los resultados sean comparables, los quiebres filogeográficos serán identificados cuando exista más de un 3% de divergencia entre las agrupaciones y/o sean significativos (ya que el mayor tamaño muestral de éste trabajo lo permite). Los principales escenarios evaluados fueron basados en el corte filogeográfico propuesto por Lessa et al. (2010) para *Abrothrix longipilis* y *Geoxus valdivianus*, los principales ríos de la región (Río Chico, Chubut y Deseado) y por macro ambientes.

De forma exploratoria se realizó un escalamiento multidimensional (MDS, por sus siglas en inglés), con las poblaciones locales como unidades y utilizando una matriz de distancias de ϕ_{ST} entre las mismas. Los detalles del análisis son idénticos al realizado en la sección anterior.

Se realizó un análisis espacial de la varianza molecular (SAMOVA, por sus siglas en inglés) implementado en el software SAMOVA versión 1.0 (Dupanloup et al., 2002), el cual permite definir grupos de poblaciones que son geográficamente homogéneas, maximizando la diferenciación entre los mismos, sin condicionar el análisis con una estructura poblacional a priori. A su vez, también nos permite identificar barreras genéticas entre estos grupos. El método está basado en un proceso de anidamiento simulado que intenta maximizar la proporción de varianza genética total debido a la diferencia entre grupos de poblaciones

(F_{CT}). Para la realización del análisis cada localidad fue considerada como una única población, eliminando del análisis aquellas poblaciones con 1 o 2 individuos, como es recomendado por Dupanloup et al. (2002). En el caso que no se tuvieran las coordenadas geográficas de alguna de las poblaciones, éstas fueron estimadas a partir de la descripción de su localidad y registrando su ubicación en Google Earth (Google Inc., 2010). Debido a que el análisis considera solamente un único par de coordenadas por población, para aquellas poblaciones con más de una localidad de muestreo se buscó el punto medio entre ellas con el programa Google Earth (Google Inc., 2010). El análisis se ejecutó utilizando un número de condiciones iniciales igual a 100 y valores de K (número de grupos) entre 2 y 10, registrándose los valores de varianza genética F_{ST} , F_{SC} y F_{CT} para cada número de grupos.

Para evaluar si existe o no un patrón de aislamiento por distancia entre las localidades, se realizó un análisis de correlación entre las distancias genéticas y geográficas a través de una Prueba de Mantel (Mantel, 1967), considerándose todas las localidades ($n = 21$). Las distancias geográficas entre las localidades, medidas en kilómetros, fueron calculadas utilizando la herramienta de conversión online de coordenadas a distancias geográficas de la NCEDC (*The Northern California Earthquake Data Center*, <http://www.ncedc.org/convert/distance.html>). La matriz de distancias genéticas basadas en ϕ_{ST} fue estimada con el programa Arlequin versión 3.5 (Excoffier & Lischer, 2010). El test de Mantel consiste en calcular el coeficiente de correlación, que se obtienen luego de permutar las filas y columnas de una de las matrices. El p -valor se obtiene a partir de la distribución de los coeficientes de correlación obtenidos de las permutaciones. Para éste caso se utilizó un número de permutaciones de 10.000.

La divergencia genética entre poblaciones fue analizada utilizando diferentes métodos. Se realizó un análisis de varianza molecular (AMOVA, por sus siglas en inglés) (Excoffier et al., 1992). Las comparaciones pareadas entre todas las localidades fueron realizadas calculando las distancias ϕ_{ST} basadas en las diferencias pareadas entre haplotipos. Para ello se utilizó el programa Arlequin versión 3.5 (Excoffier & Lischer, 2010).

2.4.4.3. Historia demográfica

Con el objetivo de evaluar la historia demográfica de las agrupaciones Patagonia Norte y Patagonia Sur, se realizaron pruebas de neutralidad de Tajima (Tajima, 1989) y de Fu (Fu, 1997), y se calculó el parámetro de expansión poblacional g .

Para aquellas agrupaciones que presentaron apartamientos de la neutralidad, se realizaron el análisis de distribuciones pareadas y un *Bayesian Skyline Plot* (BSP, por sus siglas en inglés). En el caso de que los análisis anteriores presenten señales de una expansión poblacional, dicho evento fue datado por medio del parámetro poblacional Tau (τ) (Schneider & Excoffier, 1999). Para lo cual se utilizaron los parámetros obtenidos por el modelo de expansión demográfica en el análisis de distribuciones pareadas y una tasa de sustitución por sitio por millones de años (μ) de 0,03544 (Lessa, com. pers.).

3. RESULTADOS

3.1. Análisis preliminares

Todas las secuencias obtenidas en el laboratorio reflejan los patrones de sesgo de composición nucleotídica común en el citocromo *b* de los mamíferos (Irwin et al., 1991). De éste modo, la composición de bases en las tres posiciones de los codones difieren en gran medida (Tabla 3). Además de existir una deficiencia de guanina (G) en la composición general, es especialmente importante en las terceras posiciones, mientras que las segundas posiciones son ricas en timina (T) y las primeras posiciones poseen una composición no sesgada de bases. Por otra parte, como se esperaba, la mayoría de los cambios se producen en la tercera posición, con un porcentaje de sustituciones observadas (transiciones más transversiones) de 14,20% en las primeras posiciones, 2,96% en las segundas posiciones y 82,84% en las terceras posiciones. A su vez, las transiciones observadas superan en número a las transversiones en una relación aproximada de 7 a 1 (Ts:Tv = 7,1:0,95). Los gráficos de distancia-*p* versus distancia Kimura-2-Parámetros son lineales, tanto para las primeras y segundas posiciones, pero no para las terceras posiciones (Figura 6). Estos resultados son los esperados para amplificaciones por PCR del gen mitocondrial de citocromo *b* funcional y genuino.

Tabla 3. Composición nucleotídica porcentual en las primeras, segundas y terceras posiciones de los codones.

	T	C	A	G
Total	28,6	28,6	29,0	13,8
1era. posición	25,4	22,9	28,5	23,2
2da. posición	40,4	25,5	20,6	13,5
3era. posición	20,0	37,3	37,9	4,8

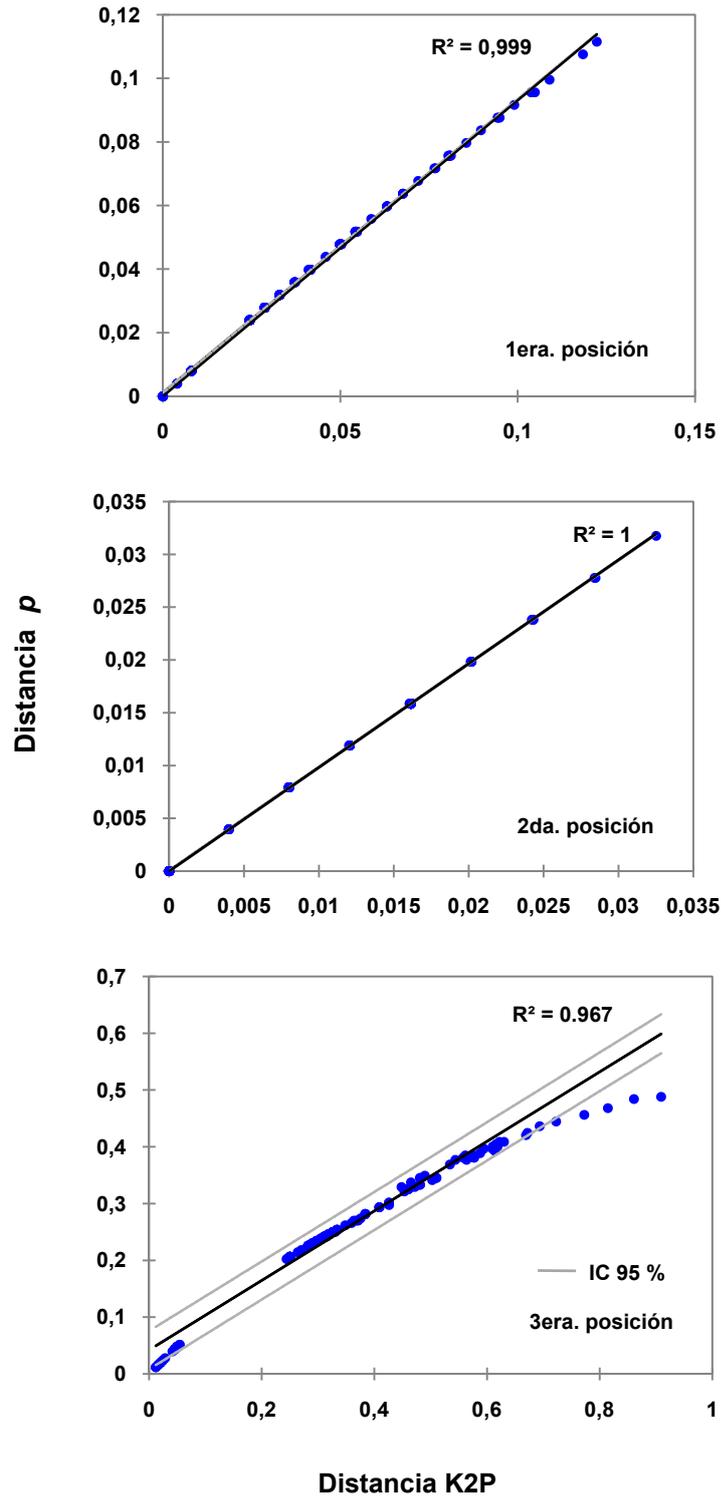


Figura 6. Diagramas de dispersión de las distancias p versus las distancias de Kimura 2-parámetros entre las secuencias de *Phyllotis xanthopygus*.

3.2. Sistemática del género *Phyllotis*

La reconstrucción filogenética por máxima verosimilitud y por métodos bayesianos (Figuras 7 y 8) concuerdan al rechazar la monofilia del género *Phyllotis*, debido a que *Phyllotis wolffsohni* se encuentra más cercanamente emparentado con *Trapecomys primus* que con el resto de los *Phyllotis*. A su vez, el clado *T. primus/P. wolffsohni* se encuentra fuertemente apoyado por valores de probabilidad posterior y *bootstrap* de 1 y 99%. Luego de excluir a *P. wolffsohni*, las especies restantes de *Phyllotis* forman un clado soportado por valores bajos de probabilidad posterior (0,2) y *bootstrap* (42%), y que es polifilético en la reconstrucción bayesiana.

Al estudiar las relaciones dentro del género *Phyllotis* podemos destacar la presencia de tres grandes clados: un grupo *amicus/andium*, otro grupo *osilae/anitae* y por último el grupo de especies *darwini*. Que incluye a las especies: *P. darwini*, *P. magister*, *P. xanthopygus* y dos especies periféricas que se encuentran contenidas en el complejo *xanthopygus*: *P. limatus* y *P. bonariensis*. *P. xanthopygus* es parafilético con respecto a estas dos últimas especies. La monofilia de cada uno de los tres grandes clados fue fuertemente apoyada con valores entre 78% y 100% de *bootstrap* y probabilidades posteriores iguales a 1.

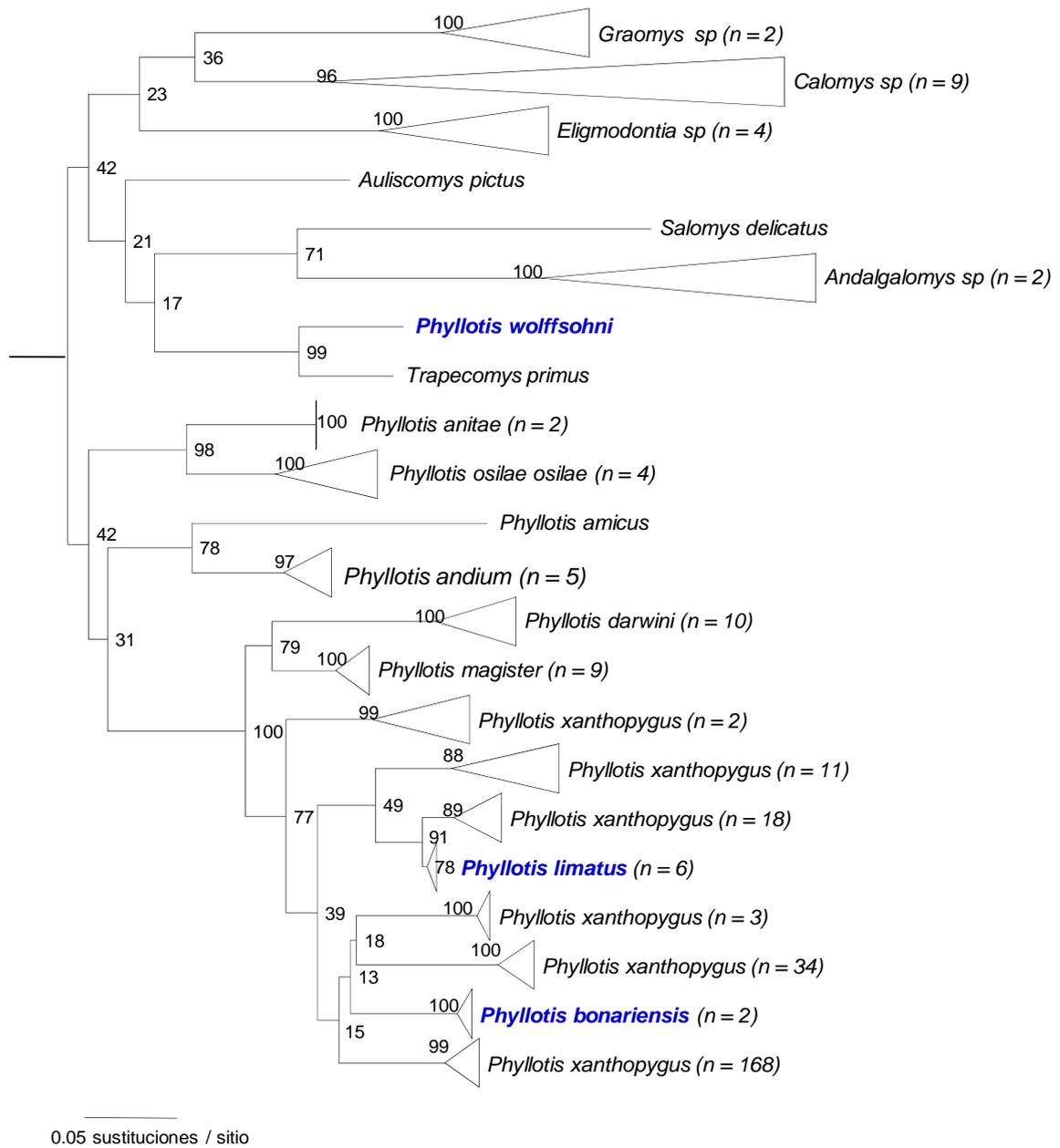


Figura 7. Reconstrucción filogenética realizada por máxima verosimilitud para el gen de citocromo b del género *Phyllotis* y de otros Phyllotini. Los números en cada uno de los nodos representan los valores de 100 réplicas de *bootstrap*. Las ramas terminales de los clados principales fueron colapsadas.

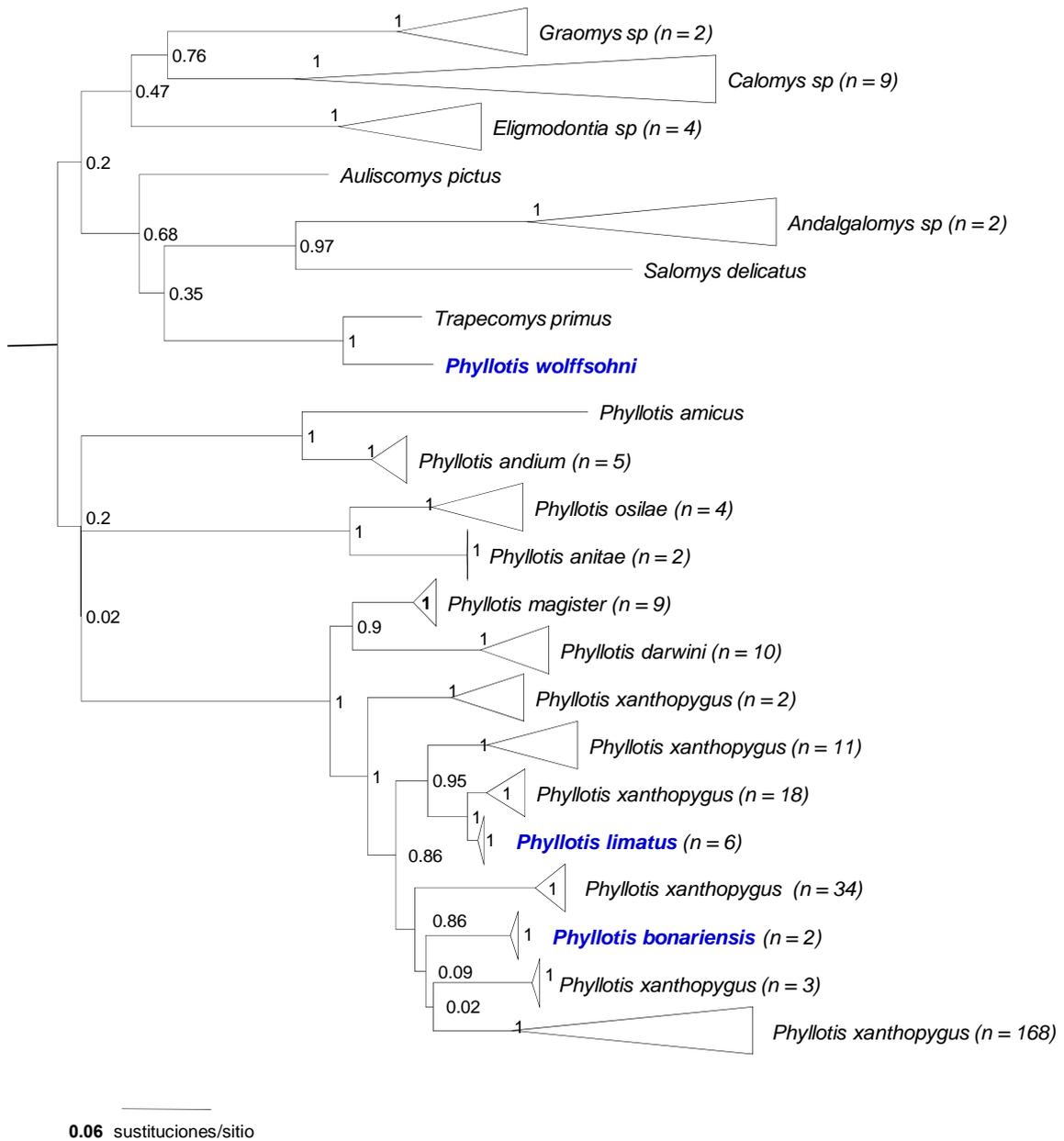


Figura 8. Árbol filogenético bayesiano del género *Phyllotis* y otros Phyllotini. Los números en cada uno de los nodos representan los valores de probabilidad posterior.

3.3. *Phyllotis xanthopygus*

3.3.1. Relaciones filogenéticas

Las relaciones filogenéticas estimadas por medio del análisis bayesiano y por máxima verosimilitud delinearon la misma serie de clados (Figuras 9 y 10), pero mostraron

leves diferencias en los soportes estadísticos para cada uno de los nodos. Esencialmente pueden observarse cinco grandes clados que representan al complejo *xanthopygus*. El clado Norte-1 (N1, $n = 2$) está compuesto por un individuo de *P. x. posticalis* y uno de *P. x. chilensis*, ambos procedentes del sur de Perú. La agrupación Norte-2 (N2, $n = 11$) se encuentra formada casi en su totalidad por individuos de *P. x. chilensis* correspondientes al extremo sur de Perú y el extremo norte de Chile, salvo por un individuo de *P. x. rupestris* procedente de Bolivia. Otro de los clados, el Norte-Centro (NC, $n = 18$) está representado por *P. x. rupestris* de Antofagasta y *P. x. vaccarum* de las provincias de Mendoza y Neuquén y la Región Metropolitana de Chile. El clado Centro-1 (C1, $n = 3$) corresponde a los *P. x. vaccarum* de las provincias de Córdoba y San Luis; el clado Centro-2 (C2, $n = 44$) corresponde a individuos representantes de *P. x. vaccarum* de Mendoza y *P. x. xanthopygus* de la provincia de Neuquén. Finalmente, individuos de la subespecie *P. x. xanthopygus* procedentes de las provincias de Río Negro, Chubut, Santa Cruz y de Torres del Paine forman el clado Sur (S, $n = 168$), el cual se caracteriza por presentar una gran politomía basal. Cada una de estas agrupaciones, al igual que *P. limatus* y *P. bonariensis* se encontraron apoyadas por altas probabilidades posteriores (entre 0,98 y 1) y altos valores *bootstrap* (entre 77% - 100%).

A su vez, estos clados poseen una correspondencia geográfica clara, principalmente desde el punto de vista latitudinal (Figura 11). Los clados N1, N2 y NC se solapan geográficamente con *P. limatus*, al igual que el clado NC lo hace con C2. Los restantes clados: C1, S y *P. bonariensis* son clados alopátridos. En el caso de considerar solo aquellos clados correspondientes a *P. xanthopygus*, son solamente NC y C2 los clados que se solapan. La única localidad que presentó individuos correspondientes a dos clados diferentes (NC y C2) fue Bardas Blancas en la Provincia de Mendoza.

Se obtuvieron dos grupos monofiléticos que representan a las especies *P. limatus* y *P. bonariensis*, con respecto a las cuales *P. xanthopygus* es parafilético.

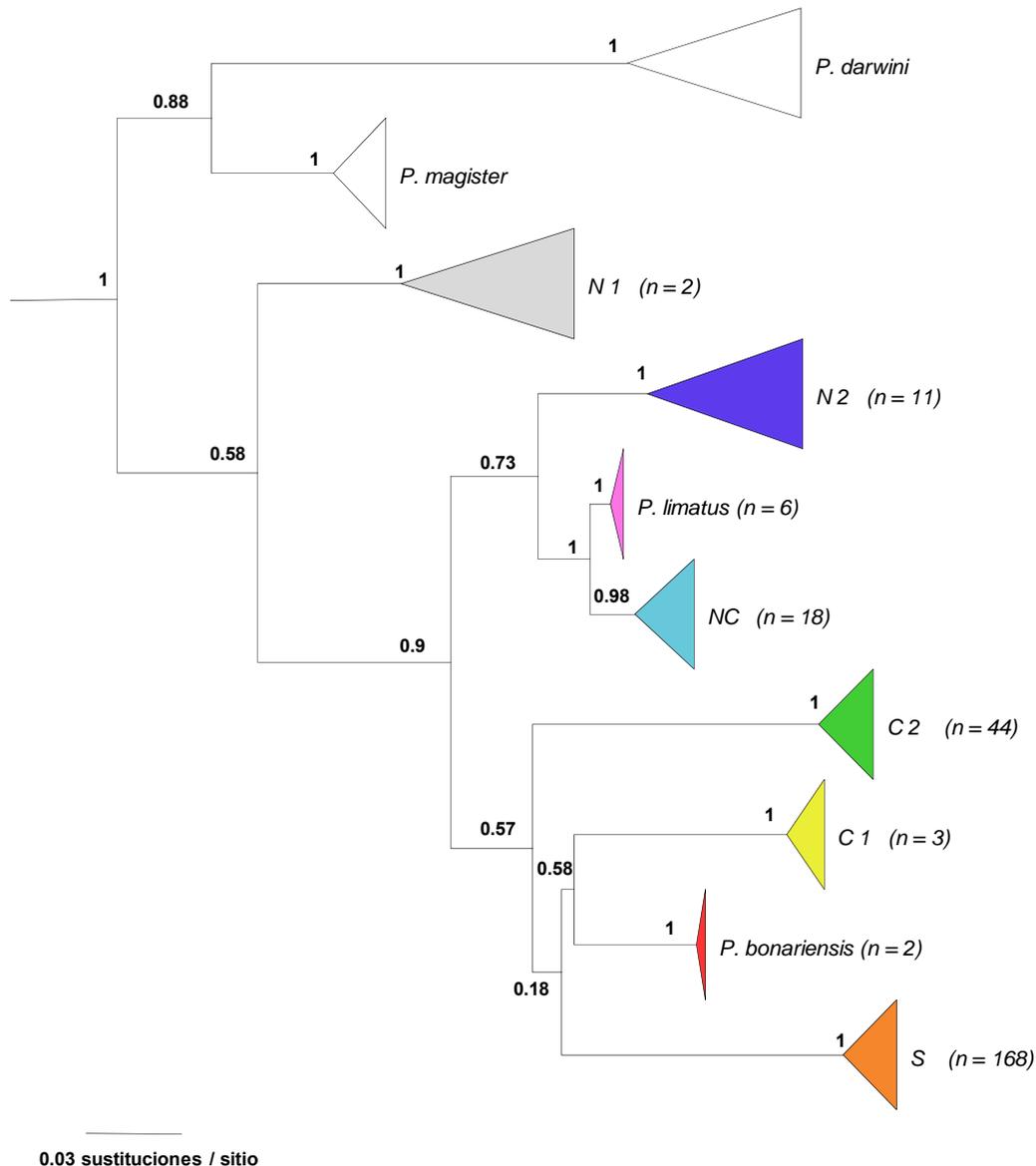


Figura 9. Árbol filogenético bayesiano para el gen de citocromo *b* de la especie *Phyllotis xanthopygus*. Los números en cada uno de los nodos representan los valores de probabilidad posterior. *P. darwini* y *P. magister* fueron usados como grupo externo.

A pesar que las topologías obtenidas por ambos métodos fueron casi idénticas, se encontraron algunas discrepancias entre ellas; en particular, la ubicación de los clados C1 y *P. bonariensis* fue relativamente inestable. El clado C1 puede encontrarse cercanamente emparentado a C2 y tener como grupo hermano a *P. bonariensis* (ML, Figura 10), o estar cercanamente emparentado con *P. bonariensis* y poseer como grupo hermano al clado S (Bayesiano, Figura 9). Todas estas relaciones presentaron muy bajo apoyo estadístico tanto para los valores de *bootstrap* como de probabilidades posteriores.

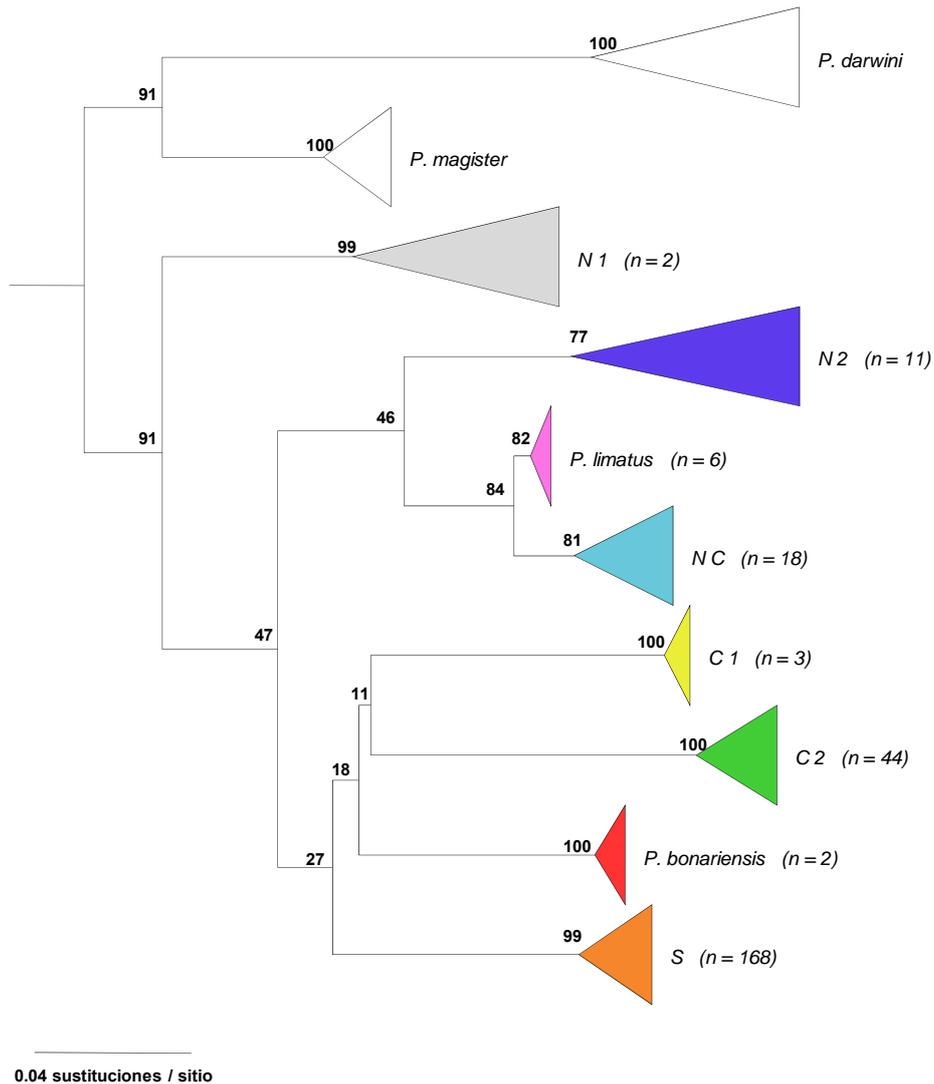


Figura 10. Reconstrucción filogenética realizada por máxima verosimilitud para el gen de citocromo *b* de *Phyllotis xanthopygus*. Los números en cada uno de los nodos representan los valores de 100 réplicas de *bootstrap*. *P. darwini* y *P. magister* corresponden al grupo externo.

El nivel de diferenciación entre los diferentes clados basado en las distancias *p* pareadas (Tabla 4), estuvo entre 0,12 y 0,09. Estos valores fueron casi idénticos a los obtenidos al comparar cada clado con la especie *P. magister* (grupo externo) (0,10 – 0,12) y levemente más altos con su otra especie hermana *P. darwini* (0,12 – 0,14). También es de destacar, que la única distancia pequeña (0,03) fue la obtenida entre *P. limatus* y el clado NC.

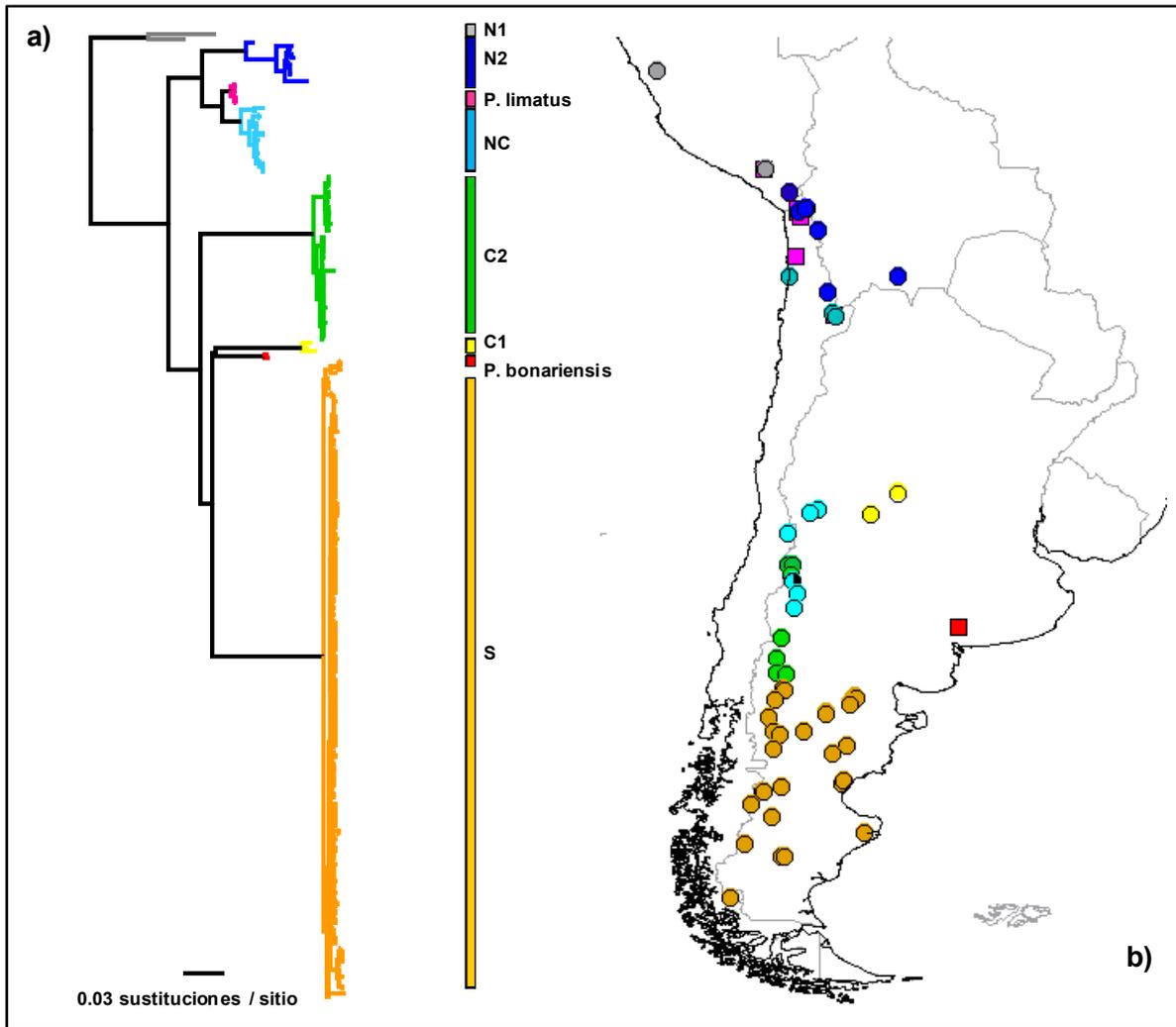


Figura 11. Rangos generalizados de los principales clados obtenidos a partir de las reconstrucciones filogenéticas. a) Árbol genealógico basado en el análisis bayesiano, la coloración corresponde a cada uno de los clados previamente definidos. b) Mapa indicando las localidades de colecta y coloreados según el clado al cual pertenecen. Los círculos corresponden a la especie *P. xanthopygus*, mientras que los cuadrados corresponden a las especies *P. limatus* (fucsia) y *P. bonariensis* (rojos).

Tabla 4. Matriz de distancias p promedio entre clados. En rojo se encuentra resaltado el menor nivel de divergencia registrado.

Clados	N1	N2	NC	C1	C2	S	P.l.	P.b.	P.m.	P.d.
N1	-									
N2	0,09	-								
NC	0,12	0,10	-							
C1	0,12	0,11	0,10	-						
C2	0,12	0,12	0,10	0,12	-					
S	0,11	0,11	0,09	0,10	0,10	-				
P.l.	0,12	0,09	0,03	0,10	0,09	0,09	-			
P.b.	0,11	0,11	0,09	0,09	0,10	0,09	0,09	-		
P.m.	0,10	0,12	0,10	0,11	0,12	0,11	0,10	0,11	-	
P.d.	0,14	0,14	0,13	0,14	0,14	0,12	0,13	0,13	0,12	-

3.3.2. Diversidad genética

Las muestras analizadas de *P. xanthopygus* ($n = 246$) evidenciaron una alta diversidad genética, para el citocromo *b*, ya que presentó 161 sitios informativos en términos de parsimonia en un total de 801 pares de bases, y 98 haplotipos diferentes, con una diversidad haplotípica elevada ($Hd = 0,98$).

Los estimadores de diversidad molecular calculados para cada una de las agrupaciones y la totalidad de ejemplares de *P. xanthopygus* se encuentran resumidos en la Tabla 5. Las agrupaciones N2, NC y C2 fueron las que presentaron una mayor diversidad génica, mientras que la agrupación S fue la que presentó la menor variabilidad. A su vez, es importante destacar que el clado S fue el que presentó la mayor diferencia entre los estimadores de π y θ_w .

Tabla 5. Estimadores de diversidad genética para la totalidad de ejemplares de *P. xanthopygus* y para cada una de las agrupaciones definidas. *n*: tamaño de la muestra, *S*: número de sitios polimórficos, π : diversidad nucleotídica, θ_w : parámetro poblacional θ basado en Watterson (1975) y *k*: número de haplotipos.

	<i>n</i>	<i>S</i>	π	θ_w	<i>k</i>
N1	2	52	52	52	2
N2	11	51	10,11	17,41	9
NC	18	44	9,92	12,79	16
C1	3	10	6,67	6,67	3
C2	44	41	10,04	9,43	20
S	168	64	3,85	11,23	48
Total P.x.	246	219	39,08	36,02	98
<i>P.bonariensis</i>	2	6	6	6	2
<i>P.limatus</i>	6	6	2,40	2,63	4

3.3.3. Análisis demográfico

Los resultados de las pruebas de neutralidad y los cálculos del parámetro de crecimiento exponencial (*g*) se encuentran resumidos en la tabla 6. En ella podemos observar que las agrupaciones N2 y S presentaron valores negativos y significativos de *D*, mientras que para las agrupaciones NC y S el test de *F_u* fue significativamente distinto de cero y negativo. En cuanto al parámetro de crecimiento exponencial (*g*), las agrupaciones que presentaron valores positivos y asociados con un 95% o 99% de intervalos de confianza en el rango de valores positivos, fueron NC y S. Por consiguiente, el clado S fue la única agrupación que presentó apartamientos de la neutralidad en los tres indicadores y por lo tanto estas señales serían indicadoras de expansión poblacional. Sin embargo, debido a que los resultados obtenidos para los clados NC y N2 son contradictorios, no se puede descartar que hayan sufrido una expansión demográfica. La diferencia en el poder estadístico de cada uno de los test podría ser el motivo de las discordancias obtenidas y futuros estudios será necesarios.

Tabla 6. Análisis de neutralidad para cada una de las agrupaciones definidas con un $n \geq 10$. Se presentan los valores de D (Tajima, 1989) y Fs (Fu, 1997) con los correspondientes valores de significancia basados en 1000 réplicas de *bootstrap*. También se presenta el parámetro de crecimiento exponencial g (*95% del intervalo de confianza en el rango de valores positivos; **99% del intervalo de confianza en el rango de valores positivos). En negritas se resaltan los valores significativos.

	N2	NC	C2	S
<i>n</i>	11	18	44	168
D	-1,98	-0,92	0,23	-2,02
p valor	0,008	0,197	0,645	0,001
Fs	-0,85	-5,53	-1,23	-25,79
p valor	0,301	0,015	0,364	0,000
g	47,34	191,28*	108,15	404,13**

A su vez, el análisis de distribución de diferencias pareadas presentó una distribución unimodal solamente para la agrupación S (Figura 12), indicando así, que se trata de una población que ha pasado por una expansión demográfica reciente. No obstante, mediante el análisis de SSD y el índice de desigualdad de Harpending se rechazó el ajuste de los datos a una distribución unimodal ($SSD = 0,03$, $p = 0,61$; Harpending = $0,04$, $p = 0,75$). Por otra parte, las agrupaciones N2, NC y C2 presentaron distribuciones de diferencias pareadas multimodales, típico de poblaciones en equilibrio demográfico (resultados no presentados).

Los resultados del Test de neutralidad de McDonald & Kreitman indican que los cocientes de las sustituciones no-sinónimas a sinónimas entre las agrupaciones estudiadas (S y C2; NC y N2) son iguales (NC y C2) sino casi idénticos (S y C2) al que ocurre dentro de las poblaciones (Tabla 7). Tanto la prueba exacta de Fisher a dos colas y el test G de independencia dan valores no significativos indicando que para estas agrupaciones la región del ADN mitocondrial estudiada se encuentra bajo un régimen de evolución neutral.

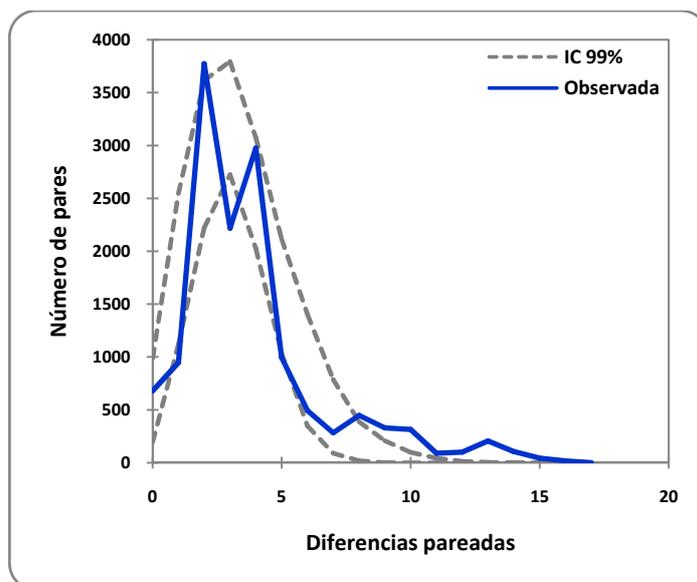


Figura 12. Grafico de distribuciones de diferencias pareadas calculada para la agrupación S ($SSD = 0,03$, $p = 0,61$; Harpending = $0,04$, $p = 0,75$). La distribución observada y los intervalos de confianza a un nivel del 99% de las distribuciones esperadas se encuentran representados en el gráfico.

Tabla 7. Resultado obtenidos para el test de McDonald & Kreitman (McDonald & Kreitman, 1991), realizado entre las agrupaciones: S y C2, NC y N2. Se indican el p valor obtenido de la prueba exacta de Fisher a dos colas (*) y los resultados obtenidos del Test G con su respectivo p valor.

S y C2			NC y N2		
	Fijos	Polimórficos		Fijos	Polimórficos
No sinónimos	37	79	No sinónimos	23	69
Sinónimos	5	14	Sinónimos	3	9
$p = 0,79$ (*)			$p = 1,00$ (*)		
$G = 0,24$, $p = 0,62$			$G = 0,00$, $p = 1,00$		

El tiempo absoluto de la expansión para el clado S fue estimado en 55.141 años antes del presente (IC 49.470 – 63.946).

Los resultados obtenidos del *Bayesian Skyline Plot* (BSP) para la agrupación S (Figura 13) muestran un período de equilibrio poblacional, seguido por una expansión demográfica

reciente que habría comenzado hace aproximadamente 70.000 años AP y finalizado hace 10.000 años AP, a inicios del Holoceno. Período a partir de cual, el tamaño poblacional comienza a declinar hasta la actualidad.

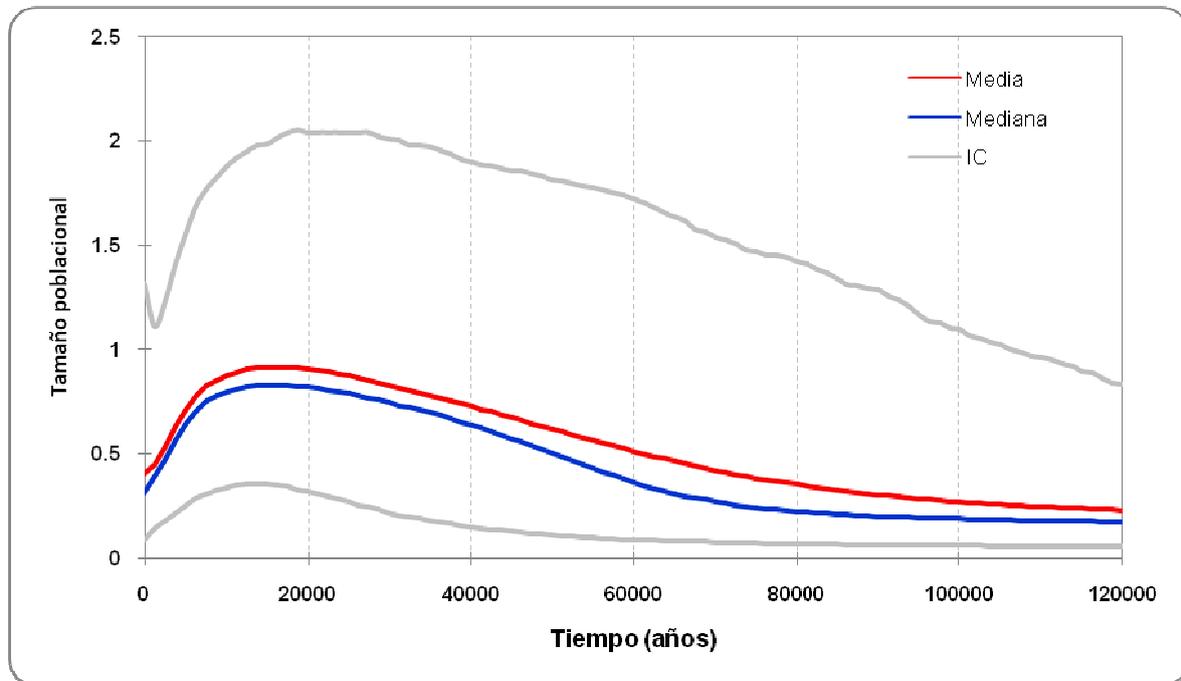


Figura 13. Bayesian Skyline Plot (BSP) realizado para la agrupación correspondiente al clado S, en el cual se representa al tamaño poblacional en función de tiempo medido en años antes del presente. Se representa, la media y la mediana, además de los intervalos de confianza superior e inferior.

3.3.4. Estructura genética

Los resultados del escalamiento multidimensional realizado considerando cada una de las localidades de muestreo de *P. xanthopygus* (Figura 14), recapituló las agrupaciones ya obtenidas en las reconstrucciones filogenéticas y no presentó indicios de que existan nuevas agrupaciones. El escalamiento fue realizado en dos dimensiones y presentó un Stress de Kruskal (1) = 0,266.

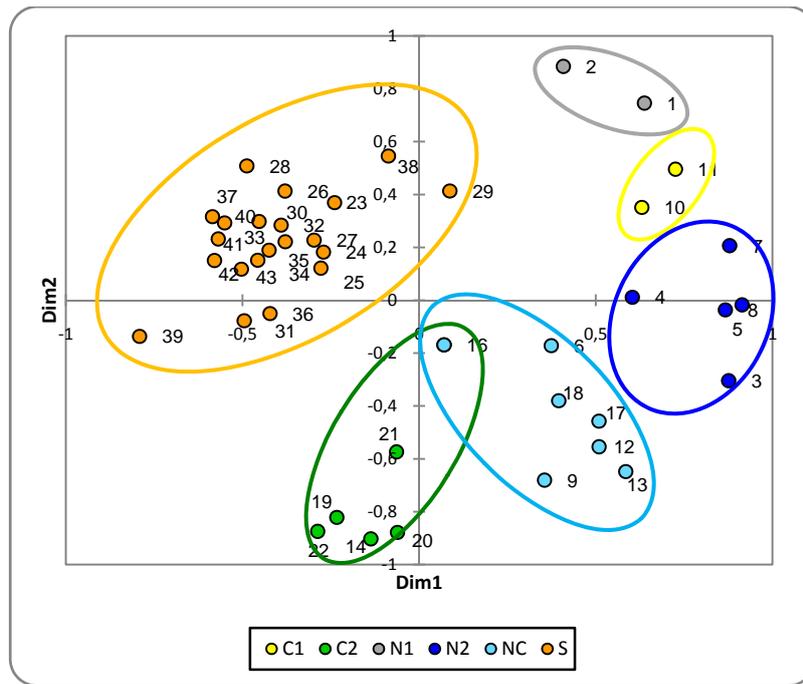


Figura 14. Escalamiento multidimensional en dos dimensiones de las 43 localidades de *P. xanthopygus* basado en las distancias de ϕ_{ST} . Los patrones de coloración están basados y se corresponden con las agrupaciones identificadas en los árboles filogenéticos. Stress de Kruskal (1) = 0,266.

El análisis de AMOVA global entre las agrupaciones dio como resultado que el 96,37% de variación se explica por las diferencias entre grupos ($F_{ST} = 0,96$, $p < 0,001$). Todos los valores de F_{ST} calculados para pares de agrupaciones (Tabla 8) fueron cercanos a 1 y significativos (salvo el caso de cuatro valores correspondientes a las agrupaciones N1, C1 y P.b. que no fueron significativos, presumiblemente debido a su tamaño muestral pequeño). El único valor calculado que se apartó de la media ($F_{ST} = 0.689$) corresponde a la comparación pareada entre las agrupaciones P.I. y NC.

Tabla 8. F_{ST} pareados entre grupos, basado en las distancias de Tamura & Nei (1993) entre los haplotipos, con distribución gamma ($\alpha = 0,13$). * Valor significativo a un nivel de 5% ($\alpha = 0,05$).

	PI	S	C1	Pb	C2	NC	N2	N1
PI	0							
S	0,977*	0						
C1	0,979*	0,980*	0					
Pb	0,985	0,978*	0,963	0				
C2n	0,931*	0,967*	0,956*	0,942*	0			
NC	0,689*	0,969*	0,935*	0,935*	0,929*	0		
N2	0,941*	0,983*	0,941*	0,946*	0,956*	0,926*	0	
N1	0,949*	0,981*	0,884	0,819	0,950*	0,941*	0,879*	0

3.3.5. Datación de nodos

La antigüedad del ancestro común más reciente (Tmrca, por sus siglas en inglés) de cada uno de los clados se presentan en la Figura 15. Para la interpretación de los datos obtenidos, se debe tener en cuenta que a pesar de que se utilizó una tasa de sustitución estimada especialmente para la especie, el árbol en el que se basó el análisis posee la mayoría de sus nodos con bajo apoyo estadístico. Lo cual, a pesar de que no nos permita hablar con propiedad de los eventos de divergencia, nos brindan una idea aproximada de la cronología de estos.

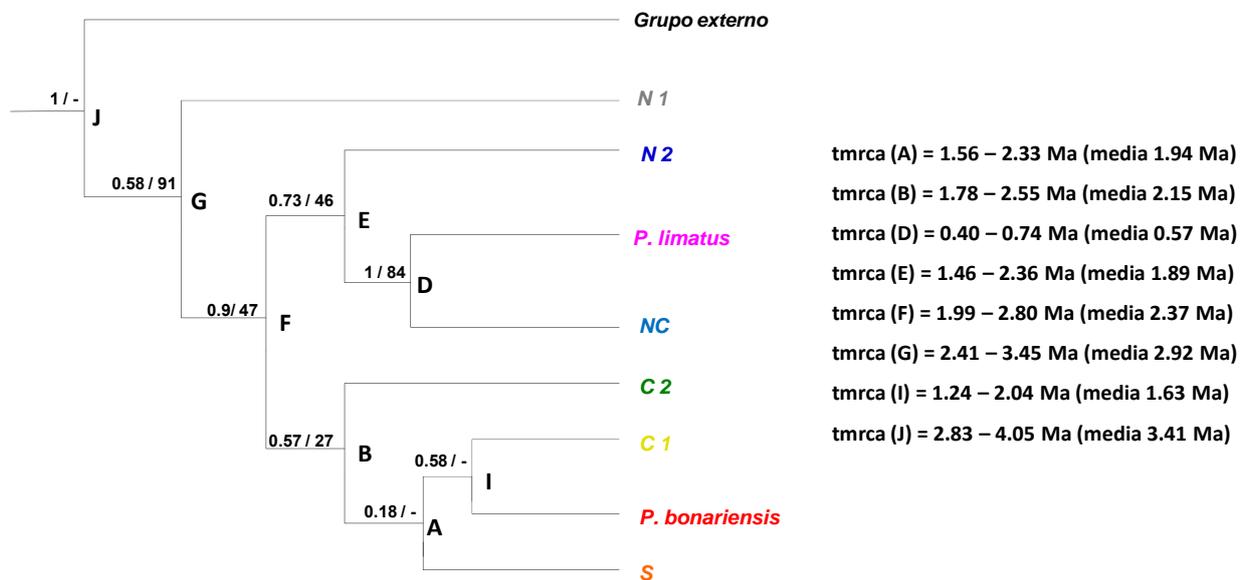


Figura 15. Topología obtenida a partir del análisis filogenético basado en métodos bayesianos, en el cual se encuentran señalados los tiempos estimados al ancestro común más reciente (tmrca, por sus siglas en inglés) en millones de años (Ma) de cada clado.

3.4. Phyllotis xanthopygus en la región patagónica

3.4.1. Diversidad génica

En la Tabla 9 se presentan los estimadores de diversidad genética para cada una de las localidades, ordenadas de norte a sur. Como podemos observar, la diversidad genética

disminuye hacia la zona sur de la región de estudio, patrón que se puede ver de forma clara a partir de la localidad Ch11 inclusive. A su vez, las localidades desde Comallo (Co) hasta Estancia Los Manantiales (Ch9) presentaron diferencias en los valores de π y θ_w . Mientras que las localidades hacia el sur de éstas presentan diferencias mínimas entre ambos valores. La localidad que presentó la mayor cantidad de haplotipos compartidos con otras fue la localidad de estancia Bajada del Guanaco, en Chubut (Ch8). La lista de haplotipos y la tabla de distribución de frecuencias de los haplotipos entre las muestras se presentan en el Apéndice 2.

Tabla 9. Estimadores de diversidad genética para cada una de las localidades que componen el clado Sur (S) y para el total de individuos que lo componen. n : tamaño de la muestra, S : número de sitios polimórficos, π : diversidad nucleotídica, θ_w : parámetro poblacional θ basado en Watterson (1975) y k : número de haplotipos.

Loc.	n	S	π	θ_w	k	Haplotipos compartidos
Co	2	1	1	1	2	-
RN1	6	17	5.67	7.45	5	RN1, Ch1, Ch2, Ch6, Ch7 y Ch8
RN2	14	26	6.25	8.18	10	RN2, Ch1, Ch2, Ch6, Ch7 y Ch8
RN3	1	0	0	0	1	-
Ch1	10	16	4.69	5.66	7	RN1, RN2, Ch2, Ch6, Ch7 y Ch8
Ch2	5	0	0	0	1	RN1, RN2, Ch1, Ch6, Ch7 y Ch8
Ch3	1	0	0	0	1	-
Ch4	8	12	3.46	4.63	7	Ch8
Ch5	2	0	0	0	1	Ch8, Ch9 y Ch10
Ch6	6	7	2.73	3.07	3	RN1, RN2, Ch1, Ch2, Ch7 y Ch8
Ch7	7	6	1.91	2.45	4	RN1, RN2, Ch1, Ch2, Ch6, Ch8 y Ch9
Ch8	15	14	3.07	4.31	8	RN1, RN2, Ch1, Ch2, Ch4, Ch5, Ch6, Ch7, Ch9, Ch10, SC1 y SC4
Ch9	15	9	2.93	2.77	8	Ch5, Ch7, Ch8, Ch10, SC1 y SC4
Ch10	1	0	0	0	1	Ch5, Ch8 y Ch9
Ch11	11	3	0.98	1.02	2	-
Ay	1	0	0	0	1	-
SC1	9	4	1.39	1.47	3	Ch8, Ch9, SC2 y SC3
SC2	18	0	0	0	1	SC1
SC3	13	4	0.62	1.29	2	SC1 y SC4
SC4	15	3	0.91	0.92	3	Ch8, Ch9 y SC3
TP	8	6	2.57	2.31	2	-
Total	168	64	4.13	11.23	49	

3.4.2. Estructura poblacional

El escalamiento multidimensional (MDS) en 3 dimensiones presentó un valor de Stress de Kruskal (1) = 0,195. El gráfico de las tres dimensiones mostró una posible estructuración en las poblaciones del sur de la región (SC1, SC2, SC3, SC4 y TP), mientras que las demás localidades se agruparon juntas (gráfico no presentado).

El análisis espacial de la varianza molecular (SAMOVA), no pudo determinar la existencia de agrupaciones dentro del clado sur, ya que no se detectó ningún valor de F_{CT} que se despegara de la media inferida para los diferentes grupos. Como se puede observar en la figura 16, los índices de fijación estimados varían lo esperado teóricamente con el aumento de K, ya que cuando éste aumenta, el número de poblaciones se vuelve más chico, llevando a una disminución de F_{SC} y a un aumento del F_{CT} . Como es indicado por Dupanloup et al. (2002), cuando la media de F_{CT} inferida para los diferentes grupos no es significativamente diferente el uno del otro, la diferencia entre las poblaciones es pequeña, como es éste el caso.

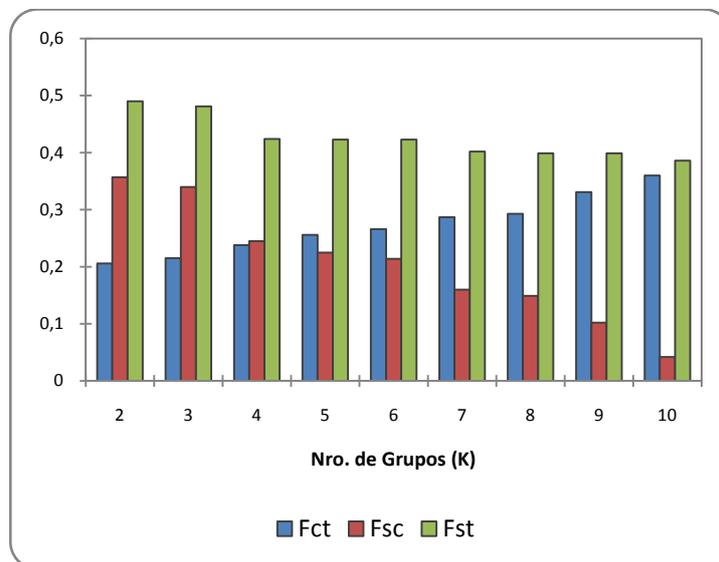


Figura 16. Histograma representando los valores de los índices de fijación (F_{CT} , F_{SC} y F_{ST}) inferidos para los diferentes grupos testeados. Como se puede observar, los índices de fijación varían lo esperado con el aumento de K. El F_{ST} debería ser un poco insensible al aumento de K, pero a medida que K aumenta, el número de poblaciones se vuelve más chico, llevando a una disminución de F_{SC} y a un aumento del F_{CT} .

Cuando se aplicó el test de Mantel, la correlación entre la matriz de distancias geográficas (km) y la matriz de distancias genéticas (Φ_{ST}) resultó significativa ($r = 0,186$, p -valor (bilateral) = $0,009$, $\alpha = 0,05$, Figura 17). Se debe notar que el valor de r obtenido, a pesar de ser significativo, es bastante bajo para poder afirmar que existe una buena correlación entre las dos matrices, lo cual queda bastante claro al observar la figura.

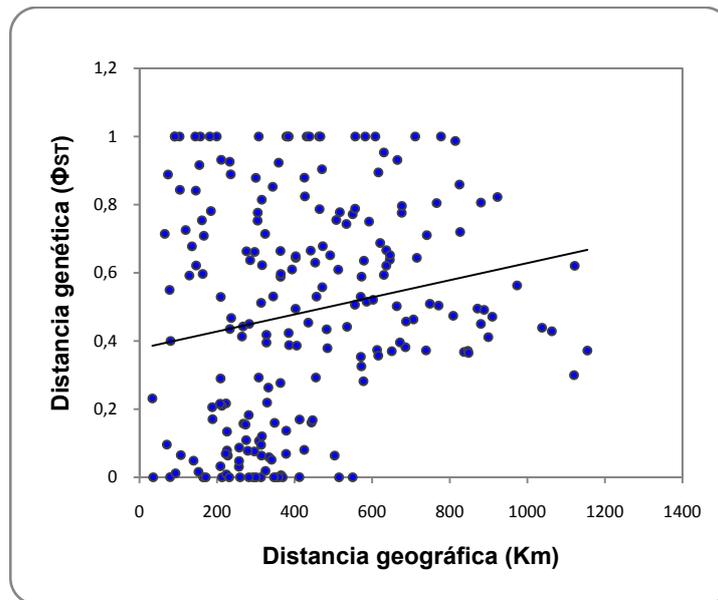


Figura 17. Prueba de Mantel realizada para todas las localidades pertenecientes al clado sur, representando las distancias genéticas (Φ_{ST}) en función de las distancias geográficas (km). La prueba de Mantel resultó significativa con un valor de $r = 0,186$ (p -valor (bilateral) = $0,009$, $\alpha = 0,05$).

No se encontraron cortes filogeográficos para la especie *P. xanthopygus* en la región, ya que las distancias medias p entre las agrupaciones testeadas siempre presentaron valores de divergencia iguales a 0,01. La matriz de distancias p entre localidades no presentó valores superiores a 0,02.

No obstante, se obtuvieron resultados interesantes al analizar las agrupaciones obtenidas, utilizando como límite de éstas el corte filogeográfico sugerido por Lessa et al. (2010). Para detallar los resultados obtenidos, llamaremos al grupo ubicado al norte del corte filogeográfico, Patagonia Norte y al que se encuentra al sur de este, Patagonia Sur.

El análisis de AMOVA global para estas agrupaciones dio como resultado que el 17,68 % de la variación se explica por las diferencias entre grupos ($F_{ST} = 0,1768$, $p < 0,000$) y el 82,32% restante de la variación por las diferencias presentadas dentro de los grupos. En la tabla 10 se puede observar que la diversidad genética en Patagonia norte es casi el doble de la que presenta Patagonia sur. Debido a que los estimadores de diversidad genética π y θ_w presentaron valores muy disimiles en Patagonia Norte ($\pi = 4,23$, $\theta_w = 10,60$), mientras que en Patagonia Sur sus valores fueron muy similares ($\pi = 2,60$, $\theta_w = 3,88$), se procedió a estudiar la historia demográfica de ambos grupos.

Tabla 10. Estimadores de diversidad genética para las agrupaciones definidas como Patagonia norte y Patagonia sur. n : tamaño de la muestra, S : número de sitios polimórficos, k : número de haplotipos, π : diversidad nucleotídica y θ_w : parámetro poblacional θ basado en Watterson (1975).

	Patagonia Norte	Patagonia Sur
n	92	76
s	54	19
k	40	12
π	4,23	2,60
θ_w	10,60	3,88

3.4.3. Historia demográfica

Los resultados de los test de neutralidad para las agrupaciones Patagonia Norte y Patagonia Sur se muestran en la Tabla 11. Como se puede observar D de Tajima, F_s de Fu y el parámetro de crecimiento exponencial (g) presentaron valores negativos y significativos para la agrupación Patagonia Norte, indicando apartamientos de la Neutralidad, mientras que para la agrupación Patagonia Sur ninguno de ellos fue significativo.

Tabla 11. Análisis de neutralidad de las agrupaciones Patagonia Norte y Sur. Se presentan los valores de D (Tajima 1989) y Fs (Fu 1997) con los correspondientes valores de significancia basados en 1000 réplicas de *bootstrap*.

	Tajima (D)	<i>p</i>	Fs Fu	<i>p</i>	<i>g</i>
Patagonia Norte	-1,94	0,004	-25,77	0,000	526**
Patagonia Sur	-0,98	0,175	-1,42	0,305	135

El análisis de distribuciones pareadas realizado para Patagonia norte, presentó una distribución unimodal (Figura 17a), indicando así, que se trata de una población que ha pasado por una expansión demográfica reciente. El índice de desigualdad de Harpending fue bajo y no significativo (Harpending = 0,019, *p* = 0,999), lo cual está indicando una expansión demográfica. Sin embargo, mediante el análisis de SSD se rechazó el ajuste de los datos a una distribución unimodal (*SSD* = 0,077, *p* = 0,000). Por otra parte, Patagonia Sur, presentó una distribución multimodal (Figura 17b), sugiriendo que nos encontramos ante una población en equilibrio demográfico. El índice de desigualdad de Harpending = 0,305 (*p* = 0,000) y la *SSD* = 0,077 (*p* = 0,000), apoyan estos resultados.

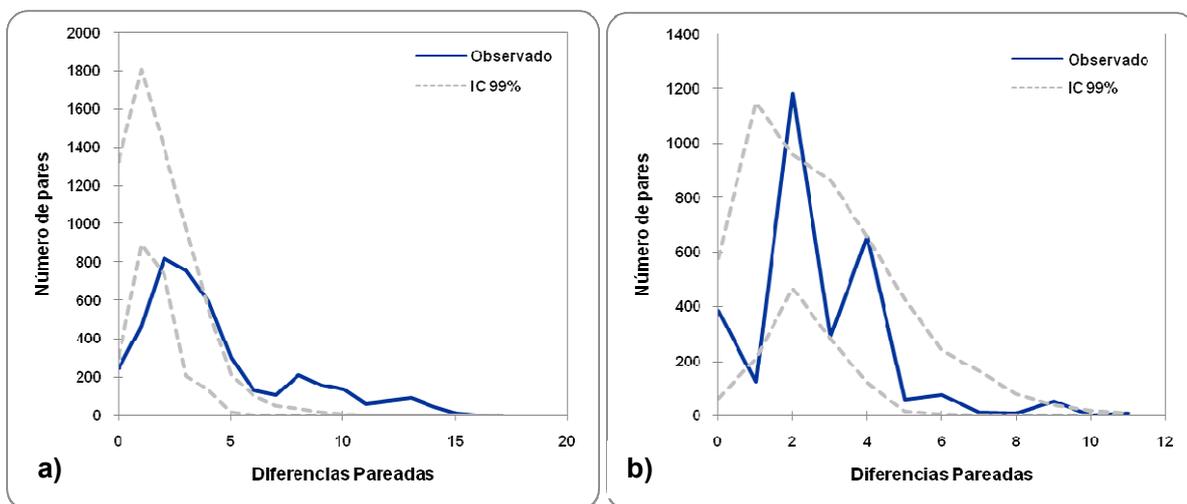


Figura 17. Grafico de distribución de diferencias pareadas a partir de los datos obtenidos bajo el modelo de expansión demográfica para: a) Patagonia norte y b) Patagonia sur. En el caso de Patagonia norte el gráfico presenta una distribución unimodal, indicando que la población pasó por un evento de expansión demográfica (Harpending = 0,019, *p* = 0,99; *SSD* = 0,077, *p* = 0,000), Por otra parte, Patagonia sur posee una distribución multimodal, característica de poblaciones en equilibrio demográfico (Harpending = 0,305, *p* = 0,000; *SSD* = 0,077, *p* = 0,000).

El *Bayesian Skyline Plot* (BSP) para la agrupación Patagonia Norte presentó un patrón relativamente similar al obtenido para el clado S, excepto que el comienzo de la expansión demográfica se produjo un poco después, ca. 70.000 años AP (Figura 18). El tiempo relativo de la expansión para la agrupación Patagonia Norte fue estimado en 29.781 años (IC 20.939 – 38.252).

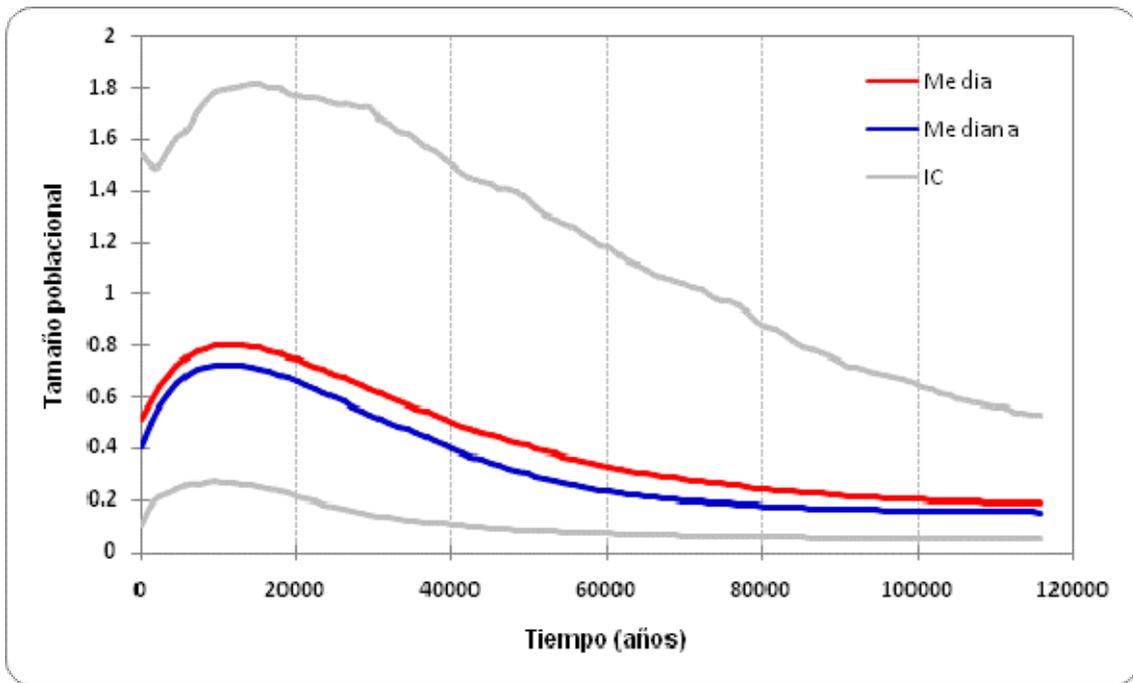


Figura 18. *Bayesian Skyline Plot* (BSP) realizado para la agrupación correspondiente a la agrupación Patagonia Norte, en el cual se representa al tamaño poblacional en función de tiempo medido en años antes del presente. Se representa, la media y la mediana, además de los intervalos de confianza superior e inferior.

4. DISCUSIÓN

4.1. Estructura filogeográfica

Phyllotis xanthopygus se caracteriza por presentar una importante estructuración geográfica, pudiéndose identificar más de una unidad filogeográfica bien diferenciada dentro de su amplio rango de distribución. Los clados recuperados en los análisis filogenéticos revelaron una clara correspondencia geográfica, la cual queda en evidencia con el ordenamiento latitudinal norte-sur que presentaron (Figura 11). El clado N1 se extiende entre los 11° y 16°, el clado N2 entre los 17° y 22°, el clado NC entre los 21° y 37°, el clado C1 entre los 31° y 32°, el clado C2 entre los 35° y 40° y el clado S entre 41° y 50° de latitud sur. Se destaca que los resultados obtenidos por el análisis de varianza, indicaron que 96,37% de la variación encontrada se explica por la varianza entre grupos, lo que da cuenta del nivel de estructuración geográfica de la especie. Valores cercanos a 0,9 de FST pareados entre clados (a excepción del obtenido para la comparación entre *P. limatus* y NC) y el análisis de escalamiento multidimensional confirman lo anterior. El nivel de diferenciación entre los clados principales se caracterizó por profundas divergencias (entre 9,0% y 12,0%), las cuales son comparables con los niveles de divergencia encontrados entre las especies reconocidas del género (entre 10,0% y 14,0%). Estos datos concuerdan con el valor ya obtenido por Steppan (1998) para la divergencia promedio estimada entre las especies de *Phyllotis* (13,6%). Asimismo, niveles de divergencia en el citocromo *b* mayores a 11% suelen corresponder a diferentes especies de mamíferos (e.g., Bradley & Baker, 2001; Baker & Bradley, 2006). La estructuración geográfica general de la especie ya había sido reportada en análisis anteriores (e.g., Albright, 2004; Steppan et al., 2007). Por la evidencia aquí planteada se recomienda realizar una revisión sistemática de la especie.

Al focalizar el estudio en la región Patagónica, la cual corresponde al rango de distribución de la subespecie *P. x. xanthopygus*, se encontró estructuración geográfica en su variabilidad genética, constituyendo dos unidades filogeográficas que difieren 10% en la divergencia de secuencias observadas. Una de esas unidades corresponde al clado C2, el

cual se encuentra constituido en parte por individuos distribuidos entre el río Colorado y el río Limay, provincias de Neuquén y Mendoza. La segunda agrupación corresponde al clado Sur, que comprende a aquellos individuos ubicados al sur del río Negro. El grado de divergencia existente entre esas dos unidades sugiere que han diferenciado en relativo aislamiento por un considerable período de tiempo. Asimismo, no fue posible detectar quiebres filogeográficos importantes dentro de la región al sur de río Negro asociados a los principales macroambientes (diferenciados principalmente de este a oeste en la región) o ríos (río Chico, Chubut y Deseado) de la región, lo cual apoya los resultados obtenidos por Lessa et al. (2010) con un mayor tamaño muestral y una cobertura geográfica más fina y amplia. *Reithrodon auritus*, *Eligmodontia morgani*, *Abrothrix olivaceus* y *Chelemys macronyx*, son especies con un rango de distribución similar al que presenta *P. xanthopygus* en la región patagónica continental y de las cuales tampoco hay alguna evidencia de estructuración geográfica (Lessa et al., 2010). Por otra parte, quiebres filogeográficos ubicados al norte de la región patagónica (en la provincia de Mendoza) también fueron detectados para las especies de roedores sigmodontinos: *Abrothrix longipilis* y *Abrothrix olivaceus* (Lessa et al., 2010). A su vez, estudios realizados en otros taxa de la región, detectaron quiebres filogeográficos al sur del río Negro (en la provincia de Neuquén) (e.g., marsupiales, Himes et al., 2008; plantas, Cosacov et al., 2010).

Se detectaron señales inequívocas de expansión poblacional solamente para el clado S, lo cual confirma los resultados obtenidos por Lessa et al. (2010). Las condiciones climáticas y ambientales desfavorables producidas durante los ciclos glaciares en el Pleistoceno, junto con el paulatino estrechamiento del continente hacia altas latitudes, habrían provocado extinciones locales y efectos de deriva que explicarían la baja variabilidad genética que existe en las poblaciones de Patagonia Sur. Esa baja cantidad de polimorfismos puede restar significancia a los test de neutralidad no sean significativos y provocar que la región por sí sola no mantenga la señal de expansión (Ramos-Onsins & Rozas, 2002; Ramirez-Soriano et al., 2008). Esto explica los resultados obtenidos para la región Patagonia Sur y lleva a considerar un único escenario de expansión poblacional para toda la región al sur del río Negro.

Es de destacar, que el patrón en el cual la diversidad genética promedio en el norte de Patagonia es mayor a la encontrada en el sur, también fue registrado en otras dos especies de roedores sigmodontinos y en una especie de plantas, con tamaños muestrales comparables a los utilizados en la presente investigación. Esas especies fueron *Eligmodontia typus* (Da Silva, *com. pers.*), *Abrothrix olivaceus* (Abud, *com. pers.*) y *Calceolaria polyrhiza* (Cosacov et al., 2010). A su vez, se encontró que las poblaciones de *P. xanthopygus* (n = 18) y *A. olivaceus* (n = 14) en la localidad Estancia Cerro del Paso (Provincia de Santa Cruz) se encuentran representadas por un único haplotipo.

El tiempo estimado para la expansión del clado Sur es de 55.000 años AP (IC; 49.500 – 64.000 años), en el Pleistoceno Tardío. Este valor resultó ser menor al rango estimado para especie en la misma región por Lessa et al. (2010), que fue entre 60.000 y 100.000 años AP. Esa diferencia seguramente se deba al mayor tamaño muestral utilizado en el presente estudio. Los resultados se confirman con los obtenidos por el *Bayesian Skyline Plot*, el cual indica un período de estabilidad demográfica, seguido por una expansión demográfica reciente que habría comenzado hace aproximadamente 60.000 años y finalizado hace 10.000 años, a inicios del Holoceno, cuando el tamaño poblacional comenzó un proceso de declinación que se extiende hasta hoy. Estudios recientes en otras especies de roedores sigmodontinos con tamaños muestrales semejantes, estiman valores similares para los eventos de expansión poblacional en la región. En el caso de *Eligmodontia typus* dicho evento fue de 63.500 años AP (IC: 42.000- 105.000) (Da Silva, *com. pers.*) y para *A. olivaceus* de 52.200 años AP (IC; 46.000 – 54.000) (Abud, *coms. pers.*). Asimismo, un estudio realizado en peces patagónicos (Ruzzante et al., 2008), también sugiere eventos de expansión demográfica durante el Pleistoceno Tardío, que habrían dado comienzo hace 60.000 años.

A pesar de que se ha propuesto una relativa estabilidad durante los últimos 10.000 años en la comunidad de roedores sigmodontinos de la región patagónica (Pardiñas et al., en prensa), se ha registrado una importante disminución en la abundancia de *P. xanthopygus* en la región (Pardiñas & Teta, 2008). Evidencias provenientes de los sitios arqueológicos Los Toldos (47° 22' S; 68° 58' O, Santa Cruz), Piedra Museo (47° 22' S; 68° 58' O, Santa Cruz) y Cueva del Milodon (51° 36' S, 72° 36' O, Magallanes), indican una alta

abundancia de *P. xanthopygus* durante el Pleistoceno Tardío y la Mayor parte del Holoceno Temprano en la región. Esto sugiere que condiciones inhóspitas y frías, con cobertura vegetal escasa y mayor exposición rocosa pueden haber estado ampliamente distribuidas a lo largo de Patagonia en dicho período (Pardiñas et al., en prensa). En la actualidad la abundancia de *P. xanthopygus* en dichas localidades es muy baja, lo cual apoya los resultados obtenidos de una importante disminución en el tamaño poblacional de la especie en la región patagónica que comenzó hace aproximadamente 10.000 años. A pesar de que las actividades humanas provocaron cambios significativos en las comunidades de roedores, solo estarían explicando la reducción de la población en los últimos 200 años (Udrizar, 2009; Pardiñas et al., en prensa). Una posible explicación es que la paulatina arbustización de la Patagonia, asociada a la disminución de las áreas de exposición rocosa, habrían llevado a la pérdida de hábitats propicios para la especie, provocando la disminución en su tamaño poblacional y probablemente la extinción de poblaciones locales. En contraste, *P. xanthopygus* parece ser un elemento dominante y estable durante los últimos 10.000 años en norpatagonia (que incluye el norte de Río Negro y Neuquén), ya que la abundancia encontrada para la especie en los sitios arqueológicos de Cueva Epullán Grande (40° 23' S, 70° 11' O, Neuquén), Cueva Traful (40° 43' S, 71° 7' O, Neuquén) y El Trébol (41° 04' S, 71° 29' O, Río Negro) es comparable a la actual (Pardiñas & Teta, 2008).

Los patrones de diversidad genética observados en plantas y animales de zonas templadas muestran bajos niveles de diversidad en aquellas áreas que estuvieron cubiertas por glaciares debido a, por ejemplo, repetidos cuellos de botella durante el proceso de colonización (e.g., Hewitt, 1996, 2004b). A su vez, para aquellas poblaciones que habitan en regiones recientemente colonizadas se puede predecir que presentaran bajos niveles de variación genética y filogenias en forma de estrella. Sin embargo, las poblaciones que persistieron en o cerca de refugios glaciares presentaran una alta diversidad genética y estructuración filogeográfica (e.g., Hewitt, 1996). Como ha sido mencionado, las evidencias genéticas de expansión demográfica pueden ser indicadoras de una historia de colonización postglaciar, mientras que indicios de equilibrio poblacional serían indicadores de zonas de refugio, o más en general de zonas estables históricamente (e.g., Lessa et al, 2003; Hewitt, 2004b).

Con base en la información propuesta en la presente investigación, se sugiere el siguiente escenario para la historia reciente de *P. xanthopygus* en la región patagónica. En el Pleistoceno Tardío, durante un período relativamente cálido identificado como MIS 3 (*Marine Isotope Stages*, por sus siglas en inglés), se habría iniciado una expansión demográfica hacia el sur de la región patagónica, a partir de una distribución más restringida en latitudes más bajas al norte del río Negro. Ese proceso de colonización posiblemente acompañó la retracción de la capas de hielo durante un período interglaciar, previo al UMG, a medida que la especie colonizaba nuevos hábitats disponibles debidos a una mejora en el clima regional. Como fue mencionado anteriormente, ese evento de expansión previo al UMG se corresponde con los registrados para otras especies en la región (e.g., Da Silva com. pers., Abud, com. pers., Ruzzante et al, 2008). La menor variabilidad molecular que presenta la especie en la región en comparación con poblaciones ubicadas al norte del río Negro y la inequívoca señal de expansión que presenta, apoyan el escenario propuesto. En contraste, las poblaciones al norte del río Negro, en la provincia de Neuquén y Mendoza, presentan señales históricas de estabilidad demográfica y una mayor variabilidad, lo cual sugeriría la posible ubicación de un refugio para la especie. Sin embargo, los datos existentes son insuficientes para determinar la localización exacta de la fuente de origen de dicha expansión, ya que es posible que se encuentre por fuera del área analizada en el presente estudio.

Si bien la filogenia mitocondrial de *P. xanthopygus* presenta una gran politomía en la región patagónica al sur del río Negro, existen leves niveles de estructuración en el extremo sur y norte de su distribución. Esos niveles de estructuración en Santa Cruz se explican, como fue mencionado anteriormente, por la diferenciación de las poblaciones locales provocadas por efectos de deriva y extinciones locales. Esos mismos, ocasionados por las condiciones climáticas y ambientales desfavorables de los ciclos glaciares luego de que estas poblaciones se encontraban establecidas en la región. Mientras que la leve estructuración que presentan algunas localidades en Río Negro y Chubut se explicaría por su cercana ubicación al centro de origen de la expansión demográfica y habrían comenzado un proceso de diferenciación local. Esos resultados confirman la estructuración geográfica registrada para la especie por Kim et al (1998), en la región de Río Negro y Chubut.

A pesar de que los efectos de los repetidos avances y retracciones de los glaciares en la fauna y flora son en gran parte desconocidos, varios taxones presentaron evidencias de cambios en sus rangos de distribución en el transcurso de los períodos glaciares ocurridos en el Cuaternario, lo cual ha ayudado a realizar generalizaciones para la historia biogeográfica de la región patagónica. Entre ellas se mencionan escenarios de colonización reciente, e incluso de diferenciación dentro de la región, siendo los procesos de expansión a partir de refugios pleistocénicos una de las principales ideas que se utilizan para explicar el patrón de distribución actual de las especies. A la hora de proponer escenarios integrativos, es importante considerar que las diferentes características individuales (ej. fecundidad y capacidad de dispersión) y ecológicas (ej. tolerancia a temperaturas extremas) entre las especies pueden provocar diferentes respuestas a los ciclos glaciares (e.g., Avise, 2000; Ruzzante et al., 2008). A su vez, en más de una ocasión es necesario evocar más de un proceso para lograr explicar los patrones de distribución y diversidad actual de las especies, como se puede observar en el presente trabajo. A modo de síntesis, los resultados obtenidos muestran evidencias de la presencia de al menos un refugio ubicado al norte de río Negro (probablemente ubicado en la región de las provincias de Neuquén y Mendoza), a partir del cual ocurrió un proceso de expansión poblacional hacia latitudes más altas de la región.

4.2. Resultados filogenéticos y sus implicaciones sistemáticas

Los resultados obtenidos de las reconstrucciones filogenéticas para el género *Phyllotis*, indican que la información brindada por el gen de citocromo *b* permite identificar un conjunto de clados bien definidos, pero las relaciones entre ellos no se resuelven con claridad. Esa característica ya ha sido registrada en estudios previamente realizados utilizando el gen de citocromo *b* (Steppan, 1998; Steppan et al., 2007), el gen nuclear RAG1 (Steppan et al., 2007) y por estudios basados en caracteres morfológicos (e.g., Braun, 1993; Steppan, 1993, 1995a, 1995b, 1998). Independientemente del método de inferencia filogenética, las relaciones internas en el género *Phyllotis* se encuentran pobremente resueltas, patrón que es consistente con un rápido proceso de diversificación reciente en la historia del género (e.g., Castillo et al., 2005).

Una de las principales conclusiones que se desprende de los resultados obtenidos, hace referencia a la clasificación sistemática de *P. wolffsohni*. Esa especie se recupera como parafilética en su ADN mitocondrial con respecto al género *Phyllotis*; por otra parte, la monofilia del clado *P. wolffsohni/T. primus* es la única fuertemente apoyada en los análisis filogenéticos, respaldando los resultados obtenidos por Steppan et al. (2007). Ambas especies, además de compartir varias características morfológicas derivadas, poseen cariotipos casi idénticos que son distintos de los de cualquier otro filotino. Al igual que Steppan et al. (2007), se sugiere que *P. wolffsohni* sea removido del género *Phyllotis* y ubicado dentro del género *Tapecomys*.

Al excluirse *P. wolffsohni* del género *Phyllotis*, este último podría considerarse como un grupo monofilético, a pesar de la falta de resolución filogenética entre sus principales clados. Al igual que otros estudios realizados por Steppan (1995a, 1998), se verificó con un excelente apoyo estadístico que *P. amicus* y *P. andium* son especies hermanas, al igual que *P. darwini* y *P. magister*. Lo que no pudo ser evaluado fue la posible parafilia de *P. amicus* reportada por Steppan et al. (2007), ya que la especie *Phyllotis gerbillus* no fue incluida en el estudio.

La mayoría de las agrupaciones recuperadas en los análisis filogenéticos confirman datos previos para *P. xanthopygus* (Albright, 2004; Steppan et al., 2007). Este el primer estudio que abarca la casi totalidad del área de distribución de la especie, focalizando su esfuerzo de muestreo en la región patagónica, lo cual brindó nuevos aportes al conocimiento de la compleja sistemática de la especie.

Albright (2004) y Steppan et al. (2007) detectaron una división basal donde dos grupos son evidentes dentro del complejo *xanthopygus*, los cuales coinciden con un grupo del altiplano (que correspondería a los clados N1 y N2), y otro ampliamente distribuido y registrado en áreas de menor elevación (clados NC, C1, C2, C3, S, *P. limatus* y *P. bonariensis* del presente estudio). A pesar de que el conjunto de datos utilizado es comparable al usado por Steppan et al. (2007), no se logró recuperar dicha división. Eso se debe a que en todas las reconstrucciones realizadas, el clado N1 nunca fue detectado como grupo hermano del

clado N2, ya que este último se encuentra más cercanamente emparentado con el grupo constituido por individuos característicos de elevaciones más bajas, que con N1.

Como ya fue señalado por Albright (2004), la parafilia de *P. xanthopygus* con respecto a las especies *P. limatus* y *P. bonariensis*, tiene implicancias tanto para la sistemática del grupo como para su patrón de especiación. Stepan (1998), a partir de datos morfológicos y moleculares, propone que *P. limatus* derivó recientemente de un linaje occidental de *P. x. rupestris*, resultados que más tarde fueron reafirmados por Kuch et al. (2002). El grado de divergencia molecular entre los clados *P. limatus* y NC (el cual incluye los individuos de *P. x. rupestris* del norte de Chile, correspondientes a la ladera oeste de los Andes) fue el único que se desprendió de la media con el menor valor registrado de 3,0%, también obtenido por Palma et al. (2005a). A su vez, presentaron el menor y único valor que se apartó de la media ($F_{ST} = 0,69$, $p < 0,05$) en el cálculo de los F_{ST} pareados, calculados para los pares de agrupaciones. Esos resultados, al igual que los obtenidos por Palma et al. (2005a) y Kuch et al. (2002), afirman lo propuesto inicialmente por Stepan (1998).

El tiempo de divergencia entre el clado *P. limatus* - NC se estimó en 0,57 Ma AP (IC; 0,40 – 0,74 Ma AP) y entre NC/*P. limatus* – N2 se encontró que es de 1,89 Ma AP (IC; 1,46 – 2,36 Ma AP), ambos ubicados en el Pleistoceno. Estos datos estarían indicando que la diferenciación de *P. limatus* se encuentra asociada a las extensivas glaciaciones ocurridas en el Pleistoceno Medio (Ruzzante et al., 2008). Esos valores son similares a los obtenidos por Palma et al. (2005a), quienes dataron los nodos en c. 0,48 Ma AP y 1,50 Ma AP, respectivamente. En contraste con esos resultados, Albright (2004) propone que *P. limatus* pudo haber tenido un linaje independiente desde aproximadamente 140.000 años AP, utilizando una tasa de sustitución obtenida a partir de una calibración entre los géneros *Mus* – *Rattus* realizada por Stepan et al. (2004). Incluso Stepan et al. (2007), quienes también utilizaron esa calibración, mencionan los errores a los cuales están sujetas sus estimaciones (utilizar géneros filogenéticamente muy distantes para ser aplicados al citocromo *b* con confianza) y la subestimación de las tasas que estas realizan, sugiriendo mejores calibraciones basadas en fósiles.

Como fue mencionado anteriormente, la ubicación de *P. bonariensis* fue muy inestable en las reconstrucciones filogenéticas. Sin embargo, al compararlo con los resultados obtenidos en trabajos anteriores (Albright, 2004; Stepan et al., 2007), observamos que siempre se encontró más cercanamente emparentado al clado C1 (individuos correspondientes a *P. x. vaccarum* del este de los Andes, al este de Mendoza en Pampa Achala y San Luis) que a C2 (individuos procedentes de Neuquén y Mendoza en la pendiente este de los Andes). Albright (2004) propone que la diferenciación entre ellos ocurrió por fragmentación alopátrida, lo cual apoya la idea que *Phyllotis* era una especie con una distribución más amplia durante el Pleistoceno y que una reducción en su rango de distribución causó el aislamiento de las regiones disjuntas hacia el este. El tiempo estimado al ancestro común más reciente de *P. bonariensis* fue de 1,63 Ma AP (IC; 1,24 – 2,04 Ma AP), lo cual lo ubica en el Pleistoceno Temprano y sugiere que la diferenciación de la especie se encuentra asociada a la Gran Glaciación Patagónica (GGP).

La baja resolución obtenida en las relaciones más basales de la filogenia de *Phyllotis xanthopygus* estaría indicando un rápido proceso de diversificación de la especie. Este habría ocurrido luego de que su ancestro llegara a América del Sur entre 5 – 6 Ma AP, habitando lo que son hoy las provincias centrales de Argentina (provincias de Buenos Aires y La Pampa) (D'Elía, 2003). La edad estimada del ancestro común más reciente de *P. xanthopygus* fue de 3,41 Ma AP (IC; 2,83 – 4,05 Ma AP), lo cual indica que el origen de la especie se remonta al Plioceno.

4.3. Conclusiones

- La presente investigación indica que las especies y poblaciones a altas latitudes parecen ser más susceptibles a los cambios climáticos ocurridos durante el Cuaternario, en conjunto con otros estudios de variación genética realizados en otras especies de roedores sigmodontinos a través de un gradiente latitudinal.
- Se plantea un único escenario de expansión poblacional para la región patagónica al sur del río Negro, la cual habría comenzado hace aproximadamente 55.000 años AP durante el Pleistoceno Tardío. Las poblaciones de *P. xanthopygus* se habrían

expandido a partir de por lo menos un refugio ubicado al norte del río Negro, en la provincia de Neuquén.

- *Phyllotis xanthopygus* se caracterizó por ser una especie que presenta profundas divergencias moleculares y una importante estructuración geográfica desde el punto de vista latitudinal, recomendándose una revisión sistemática de la especie.
- Se registró una importante disminución en el tamaño poblacional de *P. xanthopygus* en aquellas poblaciones ubicadas al sur del río Negro, proceso que ocurrió en el transcurso de los últimos 10.000 años. Posiblemente se encuentre asociado a la paulatina arbustización de la Patagonia, que habría provocado la pérdida de hábitats propicios para la especie.
- A pesar de las dificultades debidas a la heterogeneidad en la cobertura geográfica y ambiental de estudios anteriores, la información obtenida con enfoques más amplios e integradores está permitiendo generar mejores aproximaciones comparables para reconstruir un escenario integrado para toda la región patagónica.

4.4. Perspectivas

Futuros estudios utilizando diferentes marcadores moleculares no ligados, ayudarán a discriminar expansiones demográficas de barridas selectivas. Los intrones parecen ser prometedoras regiones moleculares para reconstruir la historia filogenética de los grupos de origen relativamente reciente (Castillo et al., 2005), como es el caso *Phyllotis xanthopygus*. A su vez, un mayor esfuerzo de muestreo, aumentando la cobertura geográfica y el tamaño muestral de aquellas localidades donde no fue posible realizar los estudios demográficos, permitirá refinar la ubicación de las poblaciones origen y la datación de los eventos demográficos. Se realizará un modelo de nichos basado en datos climáticos y ecológicos, para reconstruir la potencial paleodistribución de *P. xanthopygus*. A dicha información se le aplicarán modelos que se basan en la teoría de Coalescente integrados al modelaje de nichos ecológicos (Knowles et al., 2007) y así poder realizar predicciones de los patrones de variación genética basados en la distribución pasada de la especie. De forma más generalizada, brindará la oportunidad de obtener un panorama más amplio de los

efectos de las fluctuaciones climáticas pleistocénicas en las poblaciones de *P. xanthopygus*, y a su vez, de los ensambles de micromamíferos patagónicos.

BIBLIOGRAFÍA

- Akaike H. 1974. A new look at the statistical model identification. *IEEE Transactions on Automatic Control* 19:716-723.
- Albright JC. 2004. Phylogeography of the sigmodontine rodent, *Phyllotis xanthopygus*, and a test of the sensitivity of nested clade analysis to elevation - based alternative distance. Tesis de Maestría. The Florida State University. Tallahassee, Florida, U.S.A.
- Altschul S, Gish W, Miller W, Myers E, Lipman D. 1990. Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology* 215:403-410.
- Anthony NM, Johnson-Bawe M, Jeffery K, Clifford SL, Abernethy KA, Tutin CE, Lahm SA, White LJT, Utley JF, Wickings EJ, Bruford MW. 2007. The role of Pleistocene refugia and rivers in shaping gorilla genetic diversity in central Africa. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 104:20432-20436.
- Arbogast BS, Kenagy GJ. 2001. Comparative phylogeography as an integrative approach to historical biogeography. *Journal of Biogeography* 28:819-825.
- Arbogast BS, Slowinski JB. 1998. Pleistocene speciation and the mitochondrial DNA clock. *Science* 282:1955.
- Avice JC. 2000. *Phylogeography: the history and formation of species*. Harvard University Press, Cambridge. viii + 447pp.
- Avice JC. 2004. *Molecular markers, natural history, and evolution, segunda edición.*: Sinauer Associates, Sunderland. 684pp.
- Baker RJ, Bradley RD. 2006. Speciation in mammals and the genetic species concept. *Journal of Mammalogy* 87:643-662.
- Beheregaray LB. 2008. Twenty years of phylogeography: the state of the field and the challenges for the Southern Hemisphere. *Molecular Ecology* 17:3754-3774.
- Belmar-Lucero S, Godoy P, Ferrés M, Vial P, Palma RE. 2009. Range expansion of *Oligoryzomys longicaudatus* (Rodentia, Sigmodontinae) in Patagonian Chile, and first record of Hantavirus in the region. *Revista chilena de historia natural* 82:265-275.
- Bradley RD, Baker RJ. 2001. A test of the genetic species concept : cytochrome-*b* sequences and mammals. *Journal of Mammalogy* 82:960-973.

- Braun JK. 1993. Systematic relationships of the tribe Phyllotini (Muridae: Sigmodontinae) of South America. Special Publication Oklahoma Museum of Natural History. Oklahoma Museum of Natural History, Norman. 50pp.
- Brown KS. 1976. Geographical patterns of evolution in Neotropical Lepidoptera. Systematics and derivation of known and new Heliconiini (Nymphalidae: Nymphalinae). Journal of Entomology Series B 44:201-242.
- Brown KS, Sheppard PM, Turner JRG. 1974. Quaternary refugia in tropical America: evidence from race formation in *Heliconius* Butterflies. Proceedings of the Royal Society of London. Series B. 187:369-378.
- Bush MB, de Oliveira PE. 2006. The rise and fall of the refugial hypothesis of Amazonian speciation: a paleoecological perspective. Biota Neotropica 6:1-17.
- Bush MB, de Oliveira PE, Colinvaux PA, Miller MC, Moreno JE. 2004. Amazonian paleoecological histories: one hill, three watersheds. Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology 214:359-393.
- Cañón C, D'Elía G, Pardiñas UFJ, Lessa EP. 2010. Phylogeography of *Loxodontomys micropus* with comments on the alpha taxonomy of *Loxodontomys* (Cricetidae: Sigmodontinae). Journal of Mammalogy 91:1449-1458.
- Castillo AH, Cortinas MN, Lessa EP. 2005. Rapid diversification of south american tuco-tucos (Ctenomys; Rodentia, Ctenomyidae): contrasting mitochondrial and nuclear intron sequences. Journal of Mammalogy 86:170-179.
- Colinvaux PA, De Oliveira PE, Bush MB. 2000. Amazonian and neotropical plant communities on glacial time-scales: The failure of the aridity and refuge hypotheses. Quaternary Science Reviews 19:141-169.
- Cosacov A, Sérsic AN, Sosa V, Johnson LA, Cocucci AA. 2010. Multiple periglacial refugia in the Patagonian steppe and post-glacial colonization of the Andes: the phylogeography of *Calceolaria polyrhiza*. Journal of Biogeography 37:1463-1477.
- Cowling SA, Maslin MA, Sykes MT. 2001. Paleovegetation simulations of lowland Amazonia and implications for neotropical allopatry and speciation. Quaternary Research 55:140-149.
- D'Elía G. 2003. Phylogenetics of Sigmodontinae (Rodentia, Muroidea, Cricetidae), with special reference to the akodont group, and with additional comments on historical biogeography. Cladistics 19:307-323.

- de Freitas HA, Pessenda LCR, Aravena R, Gouveia SEM, de Souza Ribeiro A, Boulet R. 2001. Late Quaternary vegetation dynamics in the southern Amazon basin inferred from carbon isotopes in soil organic matter. *Quaternary Research* 55:39-46.
- Drummond A, Rambaut A. 2007. BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC Evolutionary Biology* 7:214.
- Drummond AJ, Rambaut A, Shapiro B, Pybus OG. 2005. Bayesian coalescent inference of past population dynamics from molecular sequences. *Molecular Biology and Evolution* 22:1185-1192.
- Dupanloup I, Schneider S, Excoffier L. 2002. A simulated annealing approach to define the genetic structure of populations. *Molecular Ecology* 11:2571-2581.
- 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.
- Excoffier L, Smouse PE, Quattro JM. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics* 131:479-491.
- Fedorov VB, Goropashnaya AV, Boeskorov GG, Cook JA. 2008. Comparative phylogeography and demographic history of the wood lemming (*Myopus schisticolor*): implications for late Quaternary history of the taiga species in Eurasia. *Molecular Ecology* 17:598-610.
- Felsenstein J. 1984. Distance methods for inferring phylogenies: a justification. *Evolution* 38:16-24.
- Felsenstein J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution* 39:783-791
- Filatov DA. 2002. PROSEQ: A software for preparation and evolutionary analysis of DNA sequence data sets. *Molecular Ecology Notes* 2:621-624.
- Fu YX. 1997. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics* 147:915-925.
- Gathorne-Hardy FJ, Syaukani, Davies RG, Eggleton P, Jones DT. 2002. Quaternary rainforest refugia in south-east Asia: using termites (Isoptera) as indicators. *Biological Journal of the Linnean Society* 75:453-466.

- Guindon S, Gascuel O. 2003. A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood. *Systematic Biology* 52:696-704.
- Haberle SG, Bennett KD. 2004. Postglacial formation and dynamics of North Patagonian Rainforest in the Chonos Archipelago, Southern Chile. *Quaternary Science Reviews* 23:2433-2452.
- Haffer J. 1969. Speciation in Amazonian forest birds. *Science* 165:131-137.
- Haffer J. 1997. Contact Zones between birds of southern Amazonia. *Ornithological Monographs* 48:281-305
- Haffer J, Prance GT. 2001. Climatic forcing of evolution in Amazonia during the Cenozoic: On the refuge theory of biotic differentiation. *Amazoniana* 16:579-607.
- Harpending RC. 1994. Signature of ancient population growth in a low-resolution mitochondrial DNA mismatch distribution. *Human Biology* 66:591-600.
- Hasegawa M, Kishino H, Yano T. 1985. Dating of the human-ape splitting by a molecular clock of mitochondrial DNA. *Journal of Molecular Evolution* 22:160-174.
- Heusser L, Heusser C, Pias N. 2006. Vegetation and climate dynamics of southern Chile during the past 50,000 years: results of ODP site 1233 pollen analysis. *Quaternary Science Reviews* 25:474-485.
- Hewitt GM. 1996. Some genetic consequences of ice ages, and their role in divergence and speciation. *Biological Journal of the Linnean Society* 58:247-276.
- Hewitt GM. 2000. The genetic legacy of the Quaternary ice ages. *Nature* 405:907-913.
- Hewitt GM. 2004a. Biodiversity: A climate for colonization. *Heredity* 92:1-2.
- Hewitt GM. 2004b. Genetic consequences of climatic oscillations in the Quaternary. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 359:183-195.
- Himes CMT, Gallardo MH, Kenagy GJ. 2008. Historical biogeography and post-glacial recolonization of South American temperate rain forest by the relictual marsupial *Dromiciops gliroides*. *Journal of Biogeography* 35:1415-1424.
- Hooghiemstra H, van der Hammen T. 1998. Neogene and Quaternary development of the neotropical rain forest: the forest refugia hypothesis, and a literature overview. *Earth-Science Reviews* 44:147-183.
- Hudson RR. 1990. Gene genealogies and the coalescent process. Pp 1-77. En: Futuyma D, Antonovics J, Eds. *Oxford Surveys in Evolutionary Biology*, Oxford.

- Hugall A, Moritz C, Moussalli A, Stanisic J. 2002. Reconciling paleodistribution models and comparative phylogeography in the wet tropics rainforest land snail *Gnarosiphia bellendenkerensis* (Brazier 1875). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 99:6112-6117.
- Irwin DM, Kocher TD, Wilson AC. 1991. Evolution of the cytochrome *b* gene of mammals. *Journal of Molecular Evolution* 32:128-144.
- 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.
- Johnson NK, Cicero C. 2004. New mitochondrial DNA data affirm the importance of Pleistocene speciation in North American birds. *Evolution* 58:1122-1130.
- Joseph L, Moritz C, Hugall A. 1995. Molecular support for vicariance as a source of diversity in rainforest. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B.* 260:177-182.
- Keane T, Creevey C, Pentony M, Naughton T, McInerney J. 2006. Assessment of methods for amino acid matrix selection and their use on empirical data shows that ad hoc assumptions for choice of matrix are not justified. *BMC Evolutionary Biology* 6:29.
- Kim I, Phillips CJ, Monjeau JA, Birney EC, Noack K, Pumo DE, Sikes RS, Dole JA. 1998. Habitat islands, genetic diversity, and gene flow in a Patagonian rodent. *Molecular Ecology* 7:667-678.
- Klicka J, Zink RM. 1997. The importance of recent Ice Ages in speciation: a failed paradigm. *Science* 277:1666-1669.
- Klicka J, Zink RM. 1998. Pleistocene speciation and the mitochondrial DNA clock. *Science* 282:1955.
- Knowles LL, Carstens BC, Keat ML. 2007. Coupling genetic and ecological-niche models to examine how past population distributions contribute to divergence. *Current Biology* 17: 940–946.
- Koscinski D, Handford P, Tubaro PL, Sharp S, Lougheed SC. 2008. Pleistocene climatic cycling and diversification of the andean treefrog, *Hypsiboas andinus*. *Molecular Ecology* 17:2012-2025.
- Kramer KM, Birney EC, Monjeau JA, Sikes RS. 1999. *Phyllotis xanthopygus*. *Mammalian Species* 617:1-7.

- Kuch M, Rohland N, Betancourt JL, Latorre C, Stepan S, Poinar HN. 2002. Molecular analysis of a 11 700-year-old rodent midden from the Atacama Desert, Chile. *Molecular Ecology* 11:913-924.
- Kuhner MK. 2006. LAMARC 2.0: maximum likelihood and bayesian estimation of population parameters. *Bioinformatics* 22:768-770.
- Kuhner MK, Smith LP. 2007. Comparing likelihood and bayesian coalescent estimation of population parameters. *Genetics* 175:155-165.
- Latorre C. 2008. Historia de la biota chilena. Pp. 60-65. En: Rovira J, Ugalde J, Stutzin M, Eds. *Biodiversidad de Chile. Patrimonio y desafíos, Tercera edición. Comisión Nacional del Medio Ambiente (CONAMA), Santiago, Chile.*
- Lessa EP. 1990. Multidimensional analysis of geographic genetic structure. *Systematic Zoology* 39:242-252.
- Lessa EP, Cook JA, Patton JL. 2003. Genetic footprints of demographic expansion in North America, but not Amazonia, during the Late Quaternary. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100:10331-10334.
- Lessa EP, D'Elía G, Pardiñas UFJ. 2010. Genetic footprints of late Quaternary climate change in the diversity of Patagonian-Fuegian rodents. *Molecular Ecology* 19:3031-3037.
- Librado P, Rozas J. 2009. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics* 25:1451-1452.
- Mantel N. 1967. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Research* 27:209-220.
- Marchelli P, Gallo L. 2006. Multiple ice-age refugia in a southern beech of South America as evidenced by chloroplast DNA markers. *Conservation Genetics* 7:591-603.
- Marchelli P, Gallo LA. 2004. The combined role of glaciation and hybridization in shaping the distribution of genetic variation in a Patagonian southern beech. *Journal of Biogeography* 31:451-460.
- Marín JC, Casey CS, Kadwell M, Yaya K, Hoces D, Olazabal J, Rosadio R, Rodriguez J, Spotorno A, Bruford MW, Wheeler JC. 2007. Mitochondrial phylogeography and demographic history of the vicuña: implications for conservation. *Heredity* 99:70-80.
- Marín JC, Spotorno AE, González BA, Bonacic C, Wheeler JC, Casey CS, Bruford MW, Palma RE, Poulin E. 2008. Mitochondrial DNA variation and systematics of the guanaco (*Lama guanicoe*, Artiodactyla: Camelidae). *Journal of Mammalogy* 89:269-281.

- Mayr E, O'Hara RJ. 1986. The biogeographic evidence supporting the Pleistocene forest refuge hypothesis. *Evolution* 40:55-67.
- McCulloch RD, Bentley MJ, Purves RS, Hulton NRJ, Sugden DE, Clapperton CM. 2000. Climatic inferences from glacial and palaeoecological evidence at the last glacial termination, southern South America. *Journal of Quaternary Science* 15:409-417.
- McDonald JH, Kreitman M. 1991. Adaptive protein evolution at the *Adh* locus in *Drosophila*. *Nature* 351:652-654.
- Milá B, Girman DJ, Kimura M, Smith TB. 2000. Genetic evidence for the effect of a postglacial population expansion on the phylogeography of a North American songbird. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 267:1033-1040.
- Miller SA, Dikes DD, Polesky HH. 1988. A simple salting procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Research* 16:1215.
- Moore PD. 2000. Biogeography: Chile refuges. *Nature* 408:532-533.
- Moritz C, Patton JL, Schneider CJ, Smith TB. 2000. Diversification of rainforest faunas: an integrated molecular approach. *Annual Review of Ecology and Systematics* 31:533-563.
- Muellner AN, Tremetsberger K, Stuessy T, Baeza CM. 2005. Pleistocene refugia and recolonization routes in the southern Andes: insights from *Hypochaeris palustris* (Asteraceae, Lactuceae). *Molecular Ecology* 14:203-212.
- Musser G, Carleton M. 2005. Superfamily Muroidea. Pp. 894-1531. En: Wilson DE, Reeder DM, Eds. *Mammal Species of the World*. Smithsonian Institution Press, Washington, D.C.
- Nicolas V, Missouf AD, Denys C, Kerbis Peterhans J, Katuala P, Couloux A, Colyn M. 2011. The roles of rivers and Pleistocene refugia in shaping genetic diversity in *Praomys misonnei* in tropical Africa. *Journal of Biogeography* 38:191-207.
- Ojeda AA. 2010. Phylogeography and genetic variation in the South American rodent *Tympanoctomys barrerae* (Rodentia: Octodontidae). *Journal of Mammalogy* 91:302-313.
- Palma RE, Marquet PA, Boric-Bargetto D. 2005a. Inter- and intraspecific phylogeography of small mammals in the Atacama Desert and adjacent areas of northern Chile. *Journal of Biogeography* 32:1931-1941.

- Palma RE, Rivera-Milla E, Salazar-Bravo J, Torres-Pérez F, Pardiñas UFJ, Marquet PA, Spotorno AE, Meynard AP, Yates TL. 2005b. Phylogeography of *Oligoryzomys longicaudatus* (Rodentia: Sigmodontinae) in temperate South America. *Journal of Mammalogy* 86:191-200.
- Pardiñas UFJ. 1999. Fossil murids: taxonomy, palaeoecology, and palaeoenvironments. Pp 225-254. En: Rabassa J, Salemme M, Eds. Quaternary of South America and Antarctic Peninsula. A. A. Balkema, Rotterdam.
- Pardiñas UFJ, Teta P. 2008. Small mammals and paleoenvironments around the Pleistocene–Holocene boundary in Patagonia. *Current Research in the Pleistocene* 25:186–188.
- Pardiñas UFJ, Teta P, D'Elía G, Lessa EP. en prensa. The evolutionary history of sigmodontine rodents in Patagonia and Tierra del Fuego. *Biological Journal of the Linnean Society*.
- Pastorino M, Marchelli P, Milleron M, Soliani C, Gallo L. 2009. The effect of different glaciation patterns over the current genetic structure of the southern beech *Nothofagus antarctica*. *Genetica* 136:79-88.
- Pastorino MJ, Gallo LA. 2002. Quaternary evolutionary history of *Austrocedrus chilensis*, a cypress native to the Andean–Patagonian forest. *Journal of Biogeography* 29:1167-1178.
- Pastorino MJ, Gallo LA, Hattemer HH. 2004. Genetic variation in natural populations of *Austrocedrus chilensis*, a cypress of the Andean-Patagonian forest. *Biochemical Systematics and Ecology* 32:993-1008.
- Patterson BD, Ceballos G, Sechrest W, Tognelli MF, Brooks T, Luna L, Ortega P, Salazar I, Young BE. 2007. Digital Distribution Maps of the Mammals of the Western Hemisphere, version 3.0. NatureServe, Arlington, Virginia, USA.
- Pearson OP. 1987. Mice and the postglacial history of the Trafal Valley of Argentina. *Journal of Mammalogy* 68:469-478.
- Posada D, Crandall KA. 2001. Selecting the best-fit model of nucleotide substitution. *Systematic Biology* 50:580-601.
- Premoli AC, Kitzberger T, Veblen TT. 2000. Isozyme variation and recent biogeographical history of the long-lived conifer *Fitzroya cupressoides*. *Journal of Biogeography* 27:251-260.

- Pybus OG, Rambaut A, Harvey PH. 2000. An integrated framework for the inference of viral population history from reconstructed genealogies. *Genetics* 155:1429-1437.
- Rabassa J. 2008. Late Cenozoic glaciations in Patagonia and Tierra del Fuego. Pp. 151- 204. En: Rabassa J, Ed. *Developments in Quaternary Science*, vol 11. Elsevier, Amsterdam.
- Rabassa J, Coronato AM, Salemme M. 2005. Chronology of the Late Cenozoic Patagonian glaciations and their correlation with biostratigraphic units of the Pampean region (Argentina). *Journal of South American Earth Sciences* 20:81-103.
- Ramirez-Soriano A, Ramos-Onsins SE, Rozas J, Calafell F, Navarro A. 2008. Statistical power analysis of neutrality tests under demographic expansions, contractions and bottlenecks with recombination. *Genetics* 179:555-567.
- Ramos-Onsins SE, Rozas J. 2002. Statistical properties of new neutrality tests against population growth. *Molecular Biology and Evolution* 19:2092-2100.
- Rodríguez-Serrano E, Cancino RA, Palma RE. 2006. Molecular phylogeography of *Abrothrix olivaceus* (Rodentia: Sigmodontinae) in Chile. *Journal of Mammalogy* 87:971-980.
- Rogers AR, Harpending H. 1992. Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences. *Molecular Biology and Evolution* 9:552-569.
- Rull V. 2008. Speciation timing and neotropical biodiversity: the Tertiary–Quaternary debate in the light of molecular phylogenetic evidence. *Molecular Ecology* 17:2722-2729.
- Ruzzante DE, Walde SJ, Gosse JC, Cussac VE, Habit E, Zemplak TS, Adams EDM. 2008. Climate control on ancestral population dynamics: insight from Patagonian fish phylogeography. *Molecular Ecology* 17:2234-2244.
- Saiki R, Gelfand D, Stoffel S, Scharf S, Higuchi R, Horn G, Mullis K, Erlich H. 1988. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science* 239:487-491.
- Schaefer JM, Denton GH, Barrell DJA, Ivy-Ochs S, Kubik PW, Andersen BG, Phillips FM, Lowell TV, Schlüchter C. 2006. Near-synchronous interhemispheric termination of the last glacial maximum in mid-latitudes. *Science* 312:1510-1513.
- Schneider S, Excoffier L. 1999. Estimation of past demographic parameters from the distribution of pairwise differences when the mutation rates vary among sites: application to human mitochondrial DNA. *Genetics* 152:1079-1089.

- Smith MF, Kelt DA, Patton JL. 2001. Testing models of diversification in mice in the *Abrothrix olivaceus/xanthorhinus* complex in Chile and Argentina. *Molecular Ecology* 10:397-405.
- Smith MF, Patton JL. 1991. Variation in mitochondrial cytochrome *b* sequence in natural populations of South American akodontine rodents (Muridae: Sigmodontinae). *Molecular Biology and Evolution* 8:85-103.
- Smith MF, Patton JL. 1993. The diversification of South American murid rodents: evidence from mitochondrial DNA sequence data for the akodontine tribe. *Biological Journal of the Linnean Society* 50:149-177.
- Smith MF, Patton JL. 1999. Phylogenetic relationships and the radiation of sigmodontine rodents in South America: evidence from cytochrome *b*. *Journal of Mammalian Evolution* 6:89-128.
- Spotorno AE, Walker LI. 1983. Análisis electroforético y biométrico de dos especies de *Phyllotis* en Chile central y sus híbridos experimentales. *Revista Chilena de Historia Natural* 56:51-59.
- Steppan S. 1993. Phylogenetic relationships among the phyllotini (rodentia: Sigmodontinae) using morphological characters. *Journal of Mammalian Evolution* 1:187-213.
- Steppan SJ. 1995a. Phylogenetic relationships of the phyllotine rodents (Sigmodontinae) and the evolution of phenotypic patterns of covariation in *Phyllotis*. Tesis de Doctorado. University of Chicago, Chicago, USA.
- Steppan SJ. 1995b. Revision of the tribe Phyllotini (Rodentia: Sigmodontinae) with a phylogenetic hypothesis for the Sigmodontinae. *Fieldiana: Zoology* 80:1-112.
- Steppan SJ. 1998. Phylogenetic relationships and species limits within *Phyllotis* (Rodentia: Sigmodontinae): concordance between mtDNA sequence and morphology. *Journal of Mammalogy* 79:573-593.
- Steppan SJ, Adkins RM, Anderson J. 2004. Phylogeny and divergence-date estimates of rapid radiations in muroid rodents based on multiple nuclear genes. *Systematic Biology* 53:533-553.
- Steppan SJ, Ramirez O, Banbury J, Huchon D, Pacheco V, Walker LI, Spotorno AE. 2007. A molecular reappraisal of the systematics of the leaf-eared mice *Phyllotis* and their relatives. Pp 799-826. En: Kelt DA, Lessa EP, Salazar-Bravo J, Patton JL, Eds. The

- quintessential naturalist: honoring the life and legacy of Oliver P. Pearson, Part II. University of California Publication in Zoology 134, Berkeley.
- Strimmer K, Pybus OG. 2001. Exploring the demographic history of DNA sequences using the generalized skyline plot. *Molecular Biology and Evolution* 18:2298-2305.
- Tajima F. 1983. Evolutionary relationships of DNA sequences in finite populations. *Genetics* 105:437-460.
- Tajima F. 1989. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics* 123:585-595.
- Tamura K, Dudley J, Nei M, Kumar S. 2007. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) Software Version 4.0. *Molecular Biology and Evolution* 24:1596-1599.
- Tamura K, Nei M. 1993. Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Molecular Biology and Evolution* 10:512-526.
- Udrizar DE. 2009. Los micromamíferos y la evolución ambiental durante el Holoceno en el río Chubut (Chubut, Argentina) *Mastozoología Neotropical* 16:521-523.
- Urrego DH, Silman MR, Bush MB. 2005. The Last Glacial Maximum: stability and change in a western Amazonian cloud forest. *Journal of Quaternary Science* 20:693-701.
- van der Hammen T, Hooghiemstra H. 2000. Neogene and Quaternary history of vegetation, climate, and plant diversity in Amazonia. *Quaternary Science Reviews* 19:725-742.
- Vanzolini PE. 2002. A second note on the geographical differentiation of *Amphisbaena fuliginosa* L., 1758 (Squamata, Amphisbaenidae), with a consideration of the forest refuge model of speciation. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 74:609-648.
- Vanzolini PE, Williams EE. 1970. South American anoles: the geographic differentiation and evolution of the *Anolis chrysolepis* species group (Sauria, Iguanidae). *Arquivos de Zoologia* 19:1-298.
- Vargas J, Bernal N, Zeballos H, Vivar E, Patterson BD, Pardinas U, Jayat JP. 2008. *Phyllotis xanthopygus*. En: IUCN 2010. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2010.4. www.iucnredlist.org
- Vázquez-Domínguez E. 2007. Filogeografía y vertebrados. Pp 441-466. En: Eguiarte LE, Souza V, Aguirre X, Eds. *Ecología Molecular*. Instituto Nacional de Ecología, Semarnat

& Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (Conabio), México.

- Villagrán C, León A, Roig FA. 2004. Paleodistribución del alerce y ciprés de las Guaitecas durante períodos interestadiales de la Glaciación Llanquihue: provincias de Llanquihue y Chiloé, Región de Los Lagos, Chile. *Revista geológica de Chile* 31:133-151.
- Walker LI, Spotorno AE, Arrau J. 1984. Cytogenetic and reproductive studies of two nominal subspecies of *Phyllotis darwini* and their experimental hybrids. *Journal of Mammalogy* 65:220-230.
- Waterhouse GR. 1837. Characters of new species of the genus *Mus*, from the collection of Mr. Darwin. *Proceedings of the Zoological Society of London* 1837:15-32.
- Watterson GA. 1975. On the number of segregating sites in genetical models without recombination. *Theoretical Population Biology* 7:256-276.
- Weir JT, Schluter D. 2004. Ice sheets promote speciation in boreal birds. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 271:1881-1887.
- Wright S. 1965. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution* 19:395-420.
- Xu J, Pérez-Losada M, Jara CG, Crandall KA. 2009. Pleistocene glaciation leaves deep signature on the freshwater crab *Aegla alacalufi* in Chilean Patagonia. *Molecular Ecology* 18:904-918.
- Zemlak T, Habit E, Walde S, Carrea C, Ruzzante D. 2010. Surviving historical Patagonian landscapes and climate: molecular insights from *Galaxias maculatus*. *BMC Evolutionary Biology* 10:67.

APÉNDICE I

Lista de especímenes utilizados. Se incluye el número de catalogo, número de acceso a Genebank, localidad y coordenadas geográficas.

Abreviaturas: **Ea** = Estancia; **Establ** = Establecimiento. **Acrónimos:** **ARB** = colección Alexandra Bezerra; **AMV** = Centro de Investigación en Ecología y Zonas Áridas Venezuela; **AC, DUS, UP, LTU, PPA y SA** = Colección Ulyses Pardiñas; **RAO, GBD, Phyll** = proporcionadas por Guillermo D'Elía; **CLM** = Universidad Nacional Tucumán Colección Mamíferos Lillo; **CNP** = Colección de mamíferos Centro Nacional Patagónico; **CML** = Colección Mamíferos Lillio, Universidad Nacional Tucumán; **FMNH** = Field Museum of Natural History; **LCM** = Laboratorio de citogenética de Mamíferos Universidad de Chile; **LSUMZ** = Louisiana State University; **MFS** = Colección de Margaret F. Smith, Museum of Vertebrate Zoology of California; **MMP** = Museo Ciencias Naturales y Tradicional de Mar del Plata; **MSB** = Museum of Southwestern Biology, University of New Mexico; **MUSN** = Museo de Historia Natural, Universidad Nacional Mayor de San Marcos; **MVZ** = Museum of Vertebrate Zoology of California; **NM** = University of New Mexico, Museum of Southwestern Biology; **NK** = Museum of Southwestern Biology, Division of Genomic Resources; **OMNH** = Oklahoma Museum of National History; **ORB** = Oswaldo Ramírez-Baca; **PAM, SSUC-MA** = Colección Eduardo Palma; **PT** = Colección de Pablo Teta; **RDS** = Colección de Richard D. Sage; **TTU** = Texas Tech University; **TK** = Texas Tech University; **UWBM** = University of Washington, Burke Museum; **PNG** = Proyecto National Geographic "Postglacial Patagonia: evolutionary responses of small mammals to climate change" (Responsables: E. P.Lessa UdelaR; Uruguay; coinvestigadores: G. D'Elía, Universidad de Concepción, Chile y U. Pardiñas, Centro Nacional Patagónico, Argentina). (*) Coordenadas geográficas obtenidas a partir de Google Earth (Google Inc., 2010).

Espece	Nº Colección	# Genebank	Localidad	Latitud	Longitud
Grupo interno					
<i>Phyllotis xanthopygus posticalis</i>	ORB 82	AY956730	Perú, Provincia de Huarochiri, Departamento de Lima, Casapalca	-11.6513 (*)	-76.2305
<i>Phyllotis xanthopygus chilensis</i>	LSUMZ 27861	AF484212	Perú, Provincia de Arequipa, Departamento de Arequipa, 53km E Arequipa	-16.37	-71.14
<i>Phyllotis xanthopygus chilensis</i>	FMNH 107606	U86830	Perú, Provincia de Tarata, Departamento de Tacna, 5 km NE Tarata	-17.4667	-70.0333
<i>Phyllotis xanthopygus chilensis</i>	FMNH 133830	U86831	Chile, XV Región, Provincia Parinacota, ca 72 km E Arica and 10 km S Chapiquina and 22 km S Putre	-18.4167	-69.55
<i>Phyllotis xanthopygus chilensis</i>	MSB 209875	AY746970	Chile, XV Región, Provincia Parinacota, Comuna de Putre, Lago Chungara	-18.2457 (*)	-69.1554
<i>Phyllotis xanthopygus chilensis</i>	MSB 210385	AY746969	Chile, XV Región, Provincia Parinacota, Comuna de Putre, Lago Chungara	-18.2457 (*)	-69.1554
<i>Phyllotis xanthopygus chilensis</i>	MSB 209874	AY746968	Chile, XV Región, Provincia Parinacota, Comuna de Putre, Lago Chungara	-18.2457 (*)	-69.1554

Espece	Nº Colección	# Genebank	Localidad	Latitud	Longitud
<i>Phyllotis xanthopygus chilensis</i>	MSB 210383	AY341052	Chile, XV Región, Provincia Parinacota, Comuna de Putre, Lago Chungara	-18.2457 (*)	-69.1554
<i>Phyllotis xanthopygus chilensis</i>	MSB 210372	AY341053	Chile, XV Región, Provincia Parinacota, Comuna de Putre, Parinacota	-18,20 (*)	-69,2667
<i>Phyllotis xanthopygus chilensis</i>	MSB 210393	AY341051	Chile, I Región, Provincia Tamarugal, Comuna de Colchane, Suricayo	-19,28 (*)	-68,6753
<i>Phyllotis xanthopygus chilensis</i>	MSB 209886	AY341050	Chile, I Región, Provincia Tamarugal, Comuna de Colchane, Enquelga (sitio 1)	-19,28 (*)	-68,6753
<i>Phyllotis xanthopygus rupestris</i>	LCM 1737	AY956739	Chile, II Región, Provincia Tocopilla, Comuna de Tocopilla, Desembocadura Río Loa	-21.4555 (*)	-70.0211
<i>Phyllotis xanthopygus rupestris</i>	MSB 67261	U86832	Bolivia, Departamento de Tarija, Iscayachi	-21.4833	-64.9167
<i>Phyllotis xanthopygus chilensis</i>	PAM 00006	AY341049	Chile, II Región, Provincia El Loa, Arroyo Coya	-22,2189 (*)	-68,2167
<i>Phyllotis xanthopygus rupestris</i>	LCM 1780	AF484211	Chile, II Región, Provincia El Loa, Comuna San Pedro de Atacama, Toconao, Quebrada de Jerez	-23.1896 (*)	-67.9957
<i>Phyllotis xanthopygus rupestres</i>	LCM 1829	AF484210	Chile, II Región, Provincia El Loa, Comuna San Pedro de Atacama, Talabre	-23,3667 (*)	-67,85
<i>Phyllotis xanthopygus vaccarum</i>	AC 20	AF484209	Argentina, Provincia Córdoba, Pampa de Achala	-31.7138	-64.8927
<i>Phyllotis xanthopygus vaccarum</i>	AC 21	AY956733	Argentina, Provincia Córdoba, Pampa de Achala	-31.7138	-64.8927
<i>Phyllotis xanthopygus vaccarum</i>	UWBM 72232	AY956734	Argentina, Provincia Mendoza, 49.2 km N (por carretera) Mendoza	-32.5136	-68.6402
<i>Phyllotis xanthopygus vaccarum</i>	Phyll 1		Argentina, Provincia Mendoza, Quebrada del Toro	-32.6333 (*)	-69.0333
<i>Phyllotis xanthopygus vaccarum</i>	LCM 1156	AY956735	Chile, Región Metropolitana Santiago, Provincia Cordillera, El Yeso	-33.6342 (*)	-70.0771
<i>Phyllotis xanthopygus vaccarum</i>	LCM 1157	AY956736	Chile, Región Metropolitana Santiago, Provincia Cordillera, El Yeso	-33.6342 (*)	-70.0771
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	RAO 125		Argentina, Provincia Mendoza, Valle Hermoso	-35.0979 (*)	-70.1025
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	RAO 126		Argentina, Provincia Mendoza, Valle Hermoso	-35.0979 (*)	-70.1025
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	UP 497		Argentina, Provincia Mendoza, Laguna de la Niña Encantada	-35.1606	-69.8692
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	UP 505		Argentina, Provincia Mendoza, Laguna de la Niña Encantada	-35.1606	-69.8692
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	GBD 1032		Argentina, Provincia Mendoza, La Valenciana	-35.5490 (*)	-69.9088
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	UP 476		Argentina, Provincia Mendoza, Bardas Blancas	-35.8744	-69.8794
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	UP 477		Argentina, Provincia Mendoza, Bardas Blancas	-35.8744	-69.8794

Especie	N° Colección	# Genbank	Localidad	Latitud	Longitud
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	UP 480		Argentina, Provincia Mendoza, Bardas Blancas	-35.8744	-69.8794
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	UP 481		Argentina, Provincia Mendoza, Bardas Blancas	-35.8744	-69.8794
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	UP 482		Argentina, Provincia Mendoza, Bardas Blancas	-35.8744	-69.8794
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	UP 483		Argentina, Provincia Mendoza, Bardas Blancas	-35.8744	-69.8794
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	UP 484		Argentina, Provincia Mendoza, Bardas Blancas	-35.8744	-69.8794
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	UP 485		Argentina, Provincia Mendoza, Bardas Blancas	-35.8744	-69.8794
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	UP 486		Argentina, Provincia Mendoza, Bardas Blancas	-35.8744	-69.8794
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	UP 487		Argentina, Provincia Mendoza, Bardas Blancas	-35.8744	-69.8794
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	UP 488		Argentina, Provincia Mendoza, Bardas Blancas	-35.8744	-69.8794
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	UP 489		Argentina, Provincia Mendoza, Bardas Blancas	-35.8744	-69.8794
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	UP 490		Argentina, Provincia Mendoza, Bardas Blancas	-35.8744	-69.8794
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	UP 474		Argentina, Provincia Mendoza, Los Frisos, El Zampal	-36.475	-69.6483
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	UP 475		Argentina, Provincia Mendoza, Los Frisos, El Zampal	-36.475	-69.6483
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	UP 466		Argentina, Provincia Neuquén, Ea Corcel Negro, Buta Ranquil	-37.1456	-69.8083
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	UP 467		Argentina, Provincia Neuquén, Ea Corcel Negro, Buta Ranquil	-37.1456	-69.8083
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	UP 468		Argentina, Provincia Neuquén, Ea Corcel Negro, Buta Ranquil	-37.1456	-69.8083
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	UP 469		Argentina, Provincia Neuquén, Ea Corcel Negro, Buta Ranquil	-37.1456	-69.8083
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	UP 470		Argentina, Provincia Neuquén, Ea Corcel Negro, Buta Ranquil	-37.1456	-69.8083
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	UP 471		Argentina, Provincia Neuquén, Ea Corcel Negro, Buta Ranquil	-37.1456	-69.8083
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	UP 472		Argentina, Provincia Neuquén, Ea Corcel Negro, Buta Ranquil	-37.1456	-69.8083
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	UP 437		Argentina, Provincia Neuquén, Ea La Porteña, Sierra Cuchillo Curá, Las Lajas	-38.6117	-70.3497
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	UP 438		Argentina, Provincia Neuquén, Ea La Porteña, Sierra Cuchillo Curá, Las Lajas	-38.6117	-70.3497
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	UP 439		Argentina, Provincia Neuquén, Ea La Porteña, Sierra Cuchillo Curá, Las Lajas	-38.6117	-70.3497
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	UP 440		Argentina, Provincia Neuquén, Ea La Porteña, Sierra Cuchillo Curá, Las Lajas	-38.6117	-70.3497
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	UP 441		Argentina, Provincia Neuquén, Ea La Porteña, Sierra Cuchillo Curá, Las Lajas	-38.6117	-70.3497
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	UP 425		Argentina, Provincia Neuquén, Las Coloradas	-39.555	-70.5797
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	UP 426		Argentina, Provincia Neuquén, Las Coloradas	-39.555	-70.5797

Especie	N° Colección	# Genebank	Localidad	Latitud	Longitud
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	UP 427		Argentina, Provincia Neuquén, Las Coloradas	-39.555	-70.5797
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	UP 409		Argentina, Provincia Neuquén, Ea Collón Curá, Cerrito Piñón	-40.2492	-70.6317
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	UP 410		Argentina, Provincia Neuquén, Ea Collón Curá, Cerrito Piñón	-40.2492	-70.6317
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	UP 411		Argentina, Provincia Neuquén, Ea Collón Curá, Cerrito Piñón	-40.2492	-70.6317
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	UP 412		Argentina, Provincia Neuquén, Ea Collón Curá, Cerrito Piñón	-40.2492	-70.6317
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	UP 413		Argentina, Provincia Neuquén, Ea Collón Curá, Cerrito Piñón	-40.2492	-70.6317
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	UP 414		Argentina, Provincia Neuquén, Ea Collón Curá, Cerrito Piñón	-40.2492	-70.6317
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	UP 415		Argentina, Provincia Neuquén, Ea Collón Curá, Cerrito Piñón	-40.2492	-70.6317
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	UP 416		Argentina, Provincia Neuquén, Ea Collón Curá, Cerrito Piñón	-40.2492	-70.6317
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	UP 417		Argentina, Provincia Neuquén, Ea Collón Curá, Cerrito Piñón	-40.2492	-70.6317
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	UP 418		Argentina, Provincia Neuquén, Ea Collón Curá, Cerrito Piñón	-40.2492	-70.6317
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	UP 419		Argentina, Provincia Neuquén, Ea Collón Curá, Cerrito Piñón	-40.2492	-70.6317
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	UP 420		Argentina, Provincia Neuquén, Ea Collón Curá, Cerrito Piñón	-40.2492	-70.6317
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	UP 421		Argentina, Provincia Neuquén, Ea Collón Curá, Cerrito Piñón	-40.2492	-70.6317
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	UP 388		Argentina, Provincia Neuquén, Ea Yuncón, Piedra del Águila	-40.345	-70.1311
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	UP 389		Argentina, Provincia Neuquén, Ea Yuncón, Piedra del Águila	-40.345	-70.1311
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	UP 390		Argentina, Provincia Neuquén, Ea Yuncón, Piedra del Águila	-40.345	-70.1311
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	UP 391		Argentina, Provincia Neuquén, Ea Yuncón, Piedra del Águila	-40.345	-70.1311
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	UP 392		Argentina, Provincia Neuquén, Ea Yuncón, Piedra del Águila	-40.345	-70.1311
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	UP 393		Argentina, Provincia Neuquén, Ea Yuncón, Piedra del Águila	-40.345	-70.1311
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	UP 394		Argentina, Provincia Neuquén, Ea Yuncón, Piedra del Águila	-40.345	-70.1311
<i>Phyllotis xanthopygus xanthopygus</i>	MFS 1324	U86833	Argentina, Provincia Río Negro, Comallo	-41.0339	(*) -70.2740
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	MVZ 182703	AF108693	Argentina, Provincia Río Negro, Departamento Pilcaniyeu, 10 km S Comallo	-41.09	-70.21
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	UP 847		Argentina, Provincia Río Negro, Meseta Somuncurá, Puesto Buñuelo	-41.3514	-66.9508
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	UP 866		Argentina, Provincia Río Negro, Meseta Somuncurá, Campamento PNG	-41.4267	-66.9556
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 167		Argentina, Provincia Río Negro, Meseta Somuncurá, Campamento PNG	-41.4526	-66.8977
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	UP 857		Argentina, Provincia Río Negro, Meseta Somuncurá, Puerto Quiñelaf	-41.4531	-66.897

Especie	N° Colección	# Genebank	Localidad	Latitud	Longitud
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	UP 858		Argentina, Provincia Río Negro, Cerro Corona, Laguna Blanca	-41.4531	-66.897
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 154		Argentina, Provincia Río Negro, Cerro Corona	-41.493	-66.8524
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 173		Argentina, Provincia Río Negro, Meseta Somuncurá, Subida del Naciente	-41.6741	-67.1516
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 175		Argentina, Provincia Río Negro, Meseta Somuncurá, Subida del Naciente	-41.6741	-67.1516
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 176		Argentina, Provincia Río Negro, Meseta Somuncurá, Subida del Naciente	-41.6741	-67.1516
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 177		Argentina, Provincia Río Negro, Meseta Somuncurá, Subida del Naciente	-41.6741	-67.1516
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 178		Argentina, Provincia Río Negro, Meseta Somuncurá, Subida del Naciente	-41.6741	-67.1516
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 179		Argentina, Provincia Río Negro, Meseta Somuncurá, Subida del Naciente	-41.6741	-67.1516
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 180		Argentina, Provincia Río Negro, Meseta Somuncurá, Subida del Naciente	-41.6741	-67.1516
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 183		Argentina, Provincia Río Negro, Meseta Somuncurá, Subida del Naciente	-41.6741	-67.1516
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 186		Argentina, Provincia Río Negro, Meseta Somuncurá, Subida del Naciente	-41.6741	-67.1516
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 190		Argentina, Provincia Río Negro, Meseta Somuncurá, Subida del Naciente	-41.6741	-67.1516
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	UP 782		Argentina, Provincia Río Negro, Meseta Somuncurá, Establ. San Nicolás	-41.7306	-67.1636
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	UP 783		Argentina, Provincia Río Negro, Meseta Somuncurá, Establ. San Nicolás	-41.7306	-67.1636
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	UP 800		Argentina, Provincia Río Negro, Meseta Somuncurá, Establ. San Nicolás	-41.7306	-67.1636
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	UP 820		Argentina, Provincia Río Negro, Meseta Somuncurá, Establ. San Nicolás	-41.7306	-67.1636
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	RDS 17939		Argentina, Provincia Río Negro, Ñorquinco, Escorial de Chenqueniye	-41.55 (*)	-70.6667
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 196		Argentina, Provincia Chubut, Ea Talagapa	-42.1556	-68.2651
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 197		Argentina, Provincia Chubut, Ea Talagapa	-42.1556	-68.2651
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 198		Argentina, Provincia Chubut, Ea Talagapa	-42.1556	-68.2651
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 199		Argentina, Provincia Chubut, Ea Talagapa	-42.1556	-68.2651
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 204		Argentina, Provincia Chubut, Ea Talagapa	-42.1556	-68.2651
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 205		Argentina, Provincia Chubut, Ea Talagapa	-42.1556	-68.2651
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 224		Argentina, Provincia Chubut, Ea Talagapa	-42.1556	-68.2651
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 225		Argentina, Provincia Chubut, Ea Talagapa	-42.1556	-68.2651
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PT 07		Argentina, Provincia Chubut, Sierra Talagapa	-42,2347	-68,2419
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PT 08		Argentina, Provincia Chubut, Sierra de Talagapa	-42,2347	-68,2419

Especie	Nº Colección	# Genebank	Localidad	Latitud	Longitud
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	DUS 121		Argentina, Provincia Chubut, Gorro Frigio	-42.3322	-70.9833
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	DUS 122		Argentina, Provincia Chubut, Gorro Frigio	-42.3322	-70.9833
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	DUS 132		Argentina, Provincia Chubut, Gorro Frigio	-42.3322	-70.9833
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	DUS 146		Argentina, Provincia Chubut, Gorro Frigio	-42.3322	-70.9833
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	DUS 153		Argentina, Provincia Chubut, Gorro Frigio	-42.3322	-70.9833
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 1287		Argentina, Provincia Chubut, Ea Leleque, cuadro La Potrada	-43.0408	-69.3319
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	DUS 109		Argentina, Provincia Chubut, Cabaña Arroyo Pescado	-43.0253	-70.7928
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	DUS 110		Argentina, Provincia Chubut, Cabaña Arroyo Pescado	-43.0253	-70.7928
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	DUS 113		Argentina, Provincia Chubut, Cabaña Arroyo Pescado	-43.0253	-70.7928
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	DUS 114		Argentina, Provincia Chubut, Cabaña Arroyo Pescado	-43.0253	-70.7928
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	DUS 115		Argentina, Provincia Chubut, Cabaña Arroyo Pescado	-43.0253	-70.7928
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	DUS 116		Argentina, Provincia Chubut, Cabaña Arroyo Pescado	-43.0253	-70.7928
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	DUS 117		Argentina, Provincia Chubut, Cabaña Arroyo Pescado	-43.0253	-70.7928
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	DUS 118		Argentina, Provincia Chubut, Cabaña Arroyo Pescado	-43.0253	-70.7928
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PPA 110		Argentina, Provincia Chubut, Laguna de Aleusco	-43.1714	-70.4389
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PPA 113		Argentina, Provincia Chubut, Laguna de Aleusco	-43.1714	-70.4389
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 1032		Argentina, Provincia Chubut, Las Plumas	-43.7283	-67.2681
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 1034		Argentina, Provincia Chubut, Las Plumas	-43.7283	-67.2681
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 1035		Argentina, Provincia Chubut, Las Plumas	-43.7283	-67.2681
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 1045		Argentina, Provincia Chubut, Las Plumas	-43.7283	-67.2681
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 1047		Argentina, Provincia Chubut, Las Plumas	-43.7283	-67.2681
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 1053		Argentina, Provincia Chubut, Las Plumas	-43.7283	-67.2681
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PPA 33		Argentina, Provincia Chubut, Cañadón de la Madera, Sierra Tepuel	-43.8517	-70.7281
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PPA 53		Argentina, Provincia Chubut, Cañadón de la Madera, Sierra Tepuel	-43.8517	-70.7281
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PPA 54		Argentina, Provincia Chubut, Cañadón de la Madera, Sierra Tepuel	-43.8517	-70.7281
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PPA 55		Argentina, Provincia Chubut, Cañadón de la Madera, Sierra Tepuel	-43.8517	-70.7281
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PPA 9		Argentina, Provincia Chubut, Cañadón de la Madera, Sierra Tepuel	-43.8653	-70.7261

Especie	N° Colección	# Genebank	Localidad	Latitud	Longitud
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PPA 89		Argentina, Provincia Chubut, Cañadón de la Madera, Sierra Tepuel	-43.8653	-70.7261
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PPA 93		Argentina, Provincia Chubut, Cañadón de la Madera, Sierra Tepuel	-43.8653	-70.7261
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 337		Argentina, Provincia Chubut, Ea Bajada del Guanaco	-44.1	-67.9769
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 338		Argentina, Provincia Chubut, Ea Bajada del Guanaco	-44.1	-67.9769
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 340		Argentina, Provincia Chubut, Ea Bajada del Guanaco	-44.1	-67.9769
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 341		Argentina, Provincia Chubut, Ea Bajada del Guanaco	-44.1	-67.9769
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 342		Argentina, Provincia Chubut, Ea Bajada del Guanaco	-44.1	-67.9769
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 344		Argentina, Provincia Chubut, Ea Bajada del Guanaco	-44.1	-67.9769
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 345		Argentina, Provincia Chubut, Ea Bajada del Guanaco	-44.1	-67.9769
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 346		Argentina, Provincia Chubut, Ea Bajada del Guanaco	-44.1	-67.9769
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 347		Argentina, Provincia Chubut, Ea Bajada del Guanaco	-44.1	-67.9769
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 348		Argentina, Provincia Chubut, Ea Bajada del Guanaco	-44.1	-67.9769
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 349		Argentina, Provincia Chubut, Ea Bajada del Guanaco	-44.1	-67.9769
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 354		Argentina, Provincia Chubut, Ea Bajada del Guanaco	-44.1	-67.9769
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 355		Argentina, Provincia Chubut, Ea Bajada del Guanaco	-44.1	-67.9769
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 358		Argentina, Provincia Chubut, Ea Bajada del Guanaco	-44.1	-67.9769
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 359		Argentina, Provincia Chubut, Ea Bajada del Guanaco	-44.1	-67.9769
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 1615		Argentina, Provincia Chubut, Ea Los Manantiales	-45.5078	-67.4889
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	DUS 684		Argentina, Provincia Chubut, Pico Salamanca	-45.4103	-67.4175
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	DUS 685		Argentina, Provincia Chubut, Pico Salamanca	-45.4103	-67.4175
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	DUS 686		Argentina, Provincia Chubut, Pico Salamanca	-45.4103	-67.4175
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	DUS 687		Argentina, Provincia Chubut, Pico Salamanca	-45.4103	-67.4175
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	DUS 688		Argentina, Provincia Chubut, Pico Salamanca	-45.4103	-67.4175
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	DUS 689		Argentina, Provincia Chubut, Pico Salamanca	-45.4103	-67.4175
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	DUS 690		Argentina, Provincia Chubut, Pico Salamanca	-45.4103	-67.4175
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	DUS 698		Argentina, Provincia Chubut, Pico Salamanca	-45.4103	-67.4175
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	DUS 699		Argentina, Provincia Chubut, Pico Salamanca	-45.4103	-67.4175

Especie	N° Colección	# Genebank	Localidad	Latitud	Longitud
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	DUS 714		Argentina, Provincia Chubut, Pico Salamanca	-45.4103	-67.4175
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	DUS 744		Argentina, Provincia Chubut, Pico Salamanca	-45.4103	-67.4175
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	DUS 747		Argentina, Provincia Chubut, Pico Salamanca	-45.4103	-67.4175
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	DUS 749		Argentina, Provincia Chubut, Pico Salamanca	-45.4103	-67.4175
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	DUS 752		Argentina, Provincia Chubut, Pico Salamanca	-45.4103	-67.4175
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 325		Argentina, Provincia Chubut, Ea Quichaura	-45.7068	-70.3499
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	LTU 141		Argentina, Provincia Chubut, Extremo W-SW Lago Blanco	-45.9224	-71.3174
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	LTU 142		Argentina, Provincia Chubut, Extremo W-SW Lago Blanco	-45.9224	-71.3174
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	LTU 143		Argentina, Provincia Chubut, Extremo W-SW Lago Blanco	-45.9224	-71.3174
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	LTU 144		Argentina, Provincia Chubut, Extremo W-SW Lago Blanco	-45.9224	-71.3174
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	LTU 158		Argentina, Provincia Chubut, Extremo W-SW Lago Blanco	-45.9224	-71.3174
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	LTU 171		Argentina, Provincia Chubut, Extremo W-SW Lago Blanco	-45.9224	-71.3174
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	LTU 180		Argentina, Provincia Chubut, Extremo W-SW Lago Blanco	-45.9224	-71.3174
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	LTU 145		Argentina, Provincia Chubut, 1 km E Lago Blanco	-45.9261	-71.2496
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	LTU 146		Argentina, Provincia Chubut, 1 km E Lago Blanco	-45.9261	-71.2496
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	LTU 147		Argentina, Provincia Chubut, 1 km E Lago Blanco	-45.9261	-71.2496
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	LTU 150		Argentina, Provincia Chubut, 1 km E Lago Blanco	-45.9261	-71.2496
<i>Phyllotis xanthopygus xanthopygus</i>	LCM 1161	AY 956737	Chile, Región XI, Provincia General Carrera, Chile Chico	-46.4803	(*) -71.8429
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	LTU 181		Argentina, Provincia Santa Cruz, Río Ecker, 500 m aguas abajo casco Ea. Casa de Piedra	-47.1281	-70.86
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	LTU 187		Argentina, Provincia Santa Cruz, Río Ecker, 500 m aguas abajo casco Ea. Casa de Piedra	-47.1281	-70.86
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	LTU 188		Argentina, Provincia Santa Cruz, Río Ecker, 500 m aguas abajo casco Ea. Casa de Piedra	-47.1281	-70.86
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	LTU 189		Argentina, Provincia Santa Cruz, Río Ecker, 500 m aguas abajo casco Ea. Casa de Piedra	-47.1281	-70.86
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	LTU 193		Argentina, Provincia Santa Cruz, Río Ecker, 500 m aguas abajo casco Ea. Casa de Piedra	-47.1281	-70.86
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	LTU 194		Argentina, Provincia Santa Cruz, Río Ecker, 500 m aguas abajo casco Ea. Casa de Piedra	-47.1281	-70.86
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	LTU 195		Argentina, Provincia Santa Cruz, Río Ecker, 500 m aguas abajo casco Ea. Casa de Piedra	-47.1281	-70.86

Especie	N° Colección	# Genebank	Localidad	Latitud	Longitud
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	LTU 196		Argentina, Provincia Santa Cruz, Río Ecker, 500 m aguas abajo casco Ea. Casa de Piedra	-47.1281	-70.86
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	LTU 199		Argentina, Provincia Santa Cruz, Río Ecker, 500 m aguas abajo casco Ea. Casa de Piedra	-47.1281	-70.86
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 981		Argentina, Provincia Santa Cruz, Ea Cerro del Paso	-47.8592	-66.4358
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 982		Argentina, Provincia Santa Cruz, Ea Cerro del Paso	-47.8592	-66.4358
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 983		Argentina, Provincia Santa Cruz, Ea Cerro del Paso	-47.8592	-66.4358
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 984		Argentina, Provincia Santa Cruz, Ea Cerro del Paso	-47.8592	-66.4358
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 985		Argentina, Provincia Santa Cruz, Ea Cerro del Paso	-47.8592	-66.4358
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 1505		Argentina, Provincia Santa Cruz, Ea Cerro del Paso	-47.8592	-66.4358
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 1506		Argentina, Provincia Santa Cruz, Ea Cerro del Paso	-47.8592	-66.4358
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 1507		Argentina, Provincia Santa Cruz, Ea Cerro del Paso	-47.8592	-66.4358
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 1508		Argentina, Provincia Santa Cruz, Ea Cerro del Paso	-47.8592	-66.4358
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 1511		Argentina, Provincia Santa Cruz, Ea Cerro del Paso	-47.8592	-66.4358
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 1551		Argentina, Provincia Santa Cruz, Ea Cerro del Paso	-47.8592	-66.4358
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 1552		Argentina, Provincia Santa Cruz, Ea Cerro del Paso	-47.8592	-66.4358
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 1553		Argentina, Provincia Santa Cruz, Ea Cerro del Paso	-47.8592	-66.4358
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 1554		Argentina, Provincia Santa Cruz, Ea Cerro del Paso	-47.8592	-66.4358
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 1563		Argentina, Provincia Santa Cruz, Ea Cerro del Paso	-47.8592	-66.4358
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 1599		Argentina, Provincia Santa Cruz, Ea Cerro del Paso	-47.8592	-66.4358
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 1600		Argentina, Provincia Santa Cruz, Ea Cerro del Paso	-47.8592	-66.4358
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 1601		Argentina, Provincia Santa Cruz, Ea Cerro del Paso	-47.8592	-66.4358
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 613		Argentina, Provincia Santa Cruz, Ea La Ensenada	-48.365	-72.0889
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 614		Argentina, Provincia Santa Cruz, Ea La Ensenada	-48.365	-72.0889
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 615		Argentina, Provincia Santa Cruz, Ea La Ensenada	-48.365	-72.0889
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 620		Argentina, Provincia Santa Cruz, Ea La Ensenada	-48.365	-72.0889
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 621		Argentina, Provincia Santa Cruz, Ea La Ensenada	-48.365	-72.0889
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 622		Argentina, Provincia Santa Cruz, Ea La Ensenada	-48.365	-72.0889
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 688		Argentina, Provincia Santa Cruz, Ea La Ensenada	-48.365	-72.0889

Especie	N° Colección	# Genebank	Localidad	Latitud	Longitud
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 689		Argentina, Provincia Santa Cruz, Ea La Ensenada	-48.365	-72.0889
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 696		Argentina, Provincia Santa Cruz, Ea La Ensenada	-48.365	-72.0889
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 705		Argentina, Provincia Santa Cruz, Ea La Ensenada	-48.365	-72.0889
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 769		Argentina, Provincia Santa Cruz, Ea La Ensenada	-48.365	-72.0889
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 778		Argentina, Provincia Santa Cruz, Ea La Ensenada	-48.365	-72.0889
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 784		Argentina, Provincia Santa Cruz, Ea La Ensenada	-48.365	-72.0889
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 950		Argentina, Provincia Santa Cruz, Ea Cerro Ventana	-48.9656	-70.4142
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 952		Argentina, Provincia Santa Cruz, Ea Cerro Ventana	-48.9656	-70.4142
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 953		Argentina, Provincia Santa Cruz, Ea Cerro Ventana	-48.9656	-70.4142
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 957		Argentina, Provincia Santa Cruz, Ea Cerro Ventana	-48.9656	-70.4142
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 960		Argentina, Provincia Santa Cruz, Ea Cerro Ventana	-48.9656	-70.4142
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 961		Argentina, Provincia Santa Cruz, Ea Cerro Ventana	-48.9656	-70.4142
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 971		Argentina, Provincia Santa Cruz, Ea Cerro Ventana	-48.9656	-70.4142
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 791		Argentina, Provincia Santa Cruz, Ea Cerro Ventana	-48.9897	-70.2653
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 799		Argentina, Provincia Santa Cruz, Ea Cerro Ventana	-48.9897	-70.2653
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 800		Argentina, Provincia Santa Cruz, Ea Cerro Ventana	-48.9897	-70.2653
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 808		Argentina, Provincia Santa Cruz, Ea Cerro Ventana	-48.9897	-70.2653
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 845		Argentina, Provincia Santa Cruz, Ea Cerro Ventana	-48.9897	-70.2653
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 857		Argentina, Provincia Santa Cruz, Ea Cerro Ventana	-48.9897	-70.2653
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 878		Argentina, Provincia Santa Cruz, Ea Cerro Ventana	-48.9897	-70.2653
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	PNG 894		Argentina, Provincia Santa Cruz, Estancia Cerro Ventana	-48.9897	-70.2653
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	TTU 88284		Chile, Región XII, Provincia Magallanes, Parque Nacional Torres del Paine	-50.9925	-72.8000
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	TTU 88285		Chile, Región XII, Provincia Magallanes, Parque Nacional Torres del Paine	-50.9925	-72.8000
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	TTU 88286		Chile, Región XII, Provincia Magallanes, Parque Nacional Torres del Paine	-50.9871	-72.8237
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	TTU 88329		Chile, Región XII, Provincia Magallanes, Parque Nacional Torres del Paine	-50.9925	-72.8000
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	TTU 88330		Chile, Región XII, Provincia Magallanes, Parque Nacional Torres del Paine	-50.9925	-72.8000
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	TTU 88336		Chile, Región XII, Provincia Magallanes, Parque Nacional Torres del Paine	-50.9925	-72.8000

Espece	Nº Colección	# Genebank	Localidad	Latitud	Longitud
Grupo externo					
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	TTU 88337		Chile, Región XII, Provincia Magallanes, Parque Nacional Torres del Paine	-50.9925	-72.8000
<i>Phyllotis xanthopygus</i>	TTU 88341		Chile, Región XII, Provincia Magallanes, Parque Nacional Torres del Paine	-50.9925	-72.8000
<i>Phyllotis osilae osilae</i>	MSB 63366	U86827			
<i>Phyllotis osilae osilae</i>	MSB 68539	U86828			
<i>Phyllotis osilae osilae</i>	MSB 67256	U86829			
<i>Phyllotis magister</i>	FMNH 107611	U86824			
<i>Phyllotis magister</i>	ORB 14	AY956720			
<i>Phyllotis magister</i>	LSUMZ 27832	AY956721			
<i>Phyllotis magister</i>	LSUMZ 27830	AF484214			
<i>Phyllotis magister</i>	LSUMZ 27823	AY956719			
<i>Phyllotis magister</i>	LCM 1894	AY956718			
<i>Phyllotis magister</i>	LCM 1817	AF484213			
<i>Phyllotis magister</i>	LCM 1813	AY956717			
<i>Phyllotis magister</i>	LCM 1804	AY956716			
<i>Phyllotis limatus</i>	LSUMZ 27841	AY956740			
<i>Phyllotis limatus</i>	MSB 209827	AY341047			
<i>Phyllotis limatus</i>	MSB 209831	AY341046			
<i>Phyllotis limatus</i>	PAM 00212	AY341045			
<i>Phyllotis limatus</i>	SSUC-MA00210	AY341044			
<i>Phyllotis limatus</i>	SSUC-MA00209	AY341043			
<i>Phyllotis darwini</i>	LCM 2523	AY956729			
<i>Phyllotis darwini</i>	LCM 2511	AY956728			
<i>Phyllotis darwini</i>	LCM 2509	AY956726			
<i>Phyllotis darwini</i>	LCM 2507	AY956725			
<i>Phyllotis darwini</i>	LCM 2493	AY956727			
<i>Phyllotis darwini</i>	LCM 2488	AY956722			

Especie	N° Colección	# Genebank	Localidad	Latitud	Longitud
<i>Phyllotis darwini</i>	LCM 2485	AY956724			
<i>Phyllotis darwini</i>	LCM 2481	AY956723			
<i>Phyllotis darwini</i>	MSB 69977	U86820			
<i>Phyllotis darwini</i>	MSB 133014	AY746971			
<i>Phyllotis bonariensis</i>	SA 03	AY956732			
<i>Phyllotis bonariensis</i>	SA 02	AY956731			
<i>Phyllotis andium</i>	ORB 140	AY956702			
<i>Phyllotis andium</i>	ORB 64	AY956703			
<i>Phyllotis andium</i>	LCM 10794	AY956704			
<i>Phyllotis andium</i>	LCM 10793	AY956706			
<i>Phyllotis andium</i>	LCM 10784	AY956705			
<i>Phyllotis amicus</i>	MUSN 10787	AY956708			
<i>Phyllotis wolffsohni</i>	MSB 67270	U86834			
<i>Phyllotis anitae</i>	CNP 736	AY627299			
<i>Phyllotis anitae</i>	CML 6379	AY627298			
<i>Calomys venustus</i>	TK49116	AY033175			
<i>Calomys tener</i>	CRB2382	DQ447302			
<i>Calomys hummelincki</i>	AM V001	AF385598			
<i>Calomys musculinus</i>	MMP 4009	AF385603			
<i>Calomys laucha</i>	NK25158	AY033189			
<i>Calomys lepidus</i>	MVZ 171562	EU579473			
<i>Calomys sorellus</i>	FMNH 107709	AF385608			
<i>Calomys expulsus</i>	OT5180	AY964041			
<i>Calomys tocantinsi</i>	ARB12	DQ447277			
<i>Eligmodontia moreni</i>	TK85446	EU377654			
<i>Eligmodontia morgani</i>	FMNH 133049	EU377631			
<i>Eligmodontia puerulus</i>	TK85428	EU377651			

Especie	N° Colección	# Genebank	Localidad	Latitud	Longitud
<i>Eligmodontia typus</i>	OMNH34663	EU377643			
<i>Graomys griseoflavus</i>	UP 278	AY275117			
<i>Graomys domorum</i>	NM 87131	AF159291			
<i>Auliscomys pictus</i>	MVZ172700	U03545			
<i>Salinomys delicatus</i>	OMNH23602	EU377608			
<i>Tapecomys primus</i>	NK 23413	AF159288			
<i>Andalgalomys roigi</i>	CML3693	AF159286			
<i>Andalgalomys pearsoni</i>	MSB55245	AF159285			

APÉNDICE II

Se presenta a continuación la lista de haplotipos del clado Sur (Tabla 1) y distribución de frecuencias de los haplotipos correspondientes al mismo clado para cada una de las localidades (Tabla 2).

Tabla 1. Lista de haplotipos correspondiente al clado Sur de *Phyllotis xanthopygus*.

Haplotipo ID	Definición del Haplotipo
Hap_1	ACACCCCATATATACTTTGTTTATAAAGCTCTCACAGTCAAGCAATGGTGTCCCTCTGTCCCCGTG
Hap_2	ACACCCGATATATACTTTGTTTATAAAGCTCTCACAGTCAAGCAATGGTGTCTGTCTGTCCCCGTG
Hap_3	ACACCCCATATATACTTTGTTTATAAACTCTCACAGTCATGCAATCGTGTCCCTCTGTCCCCATG
Hap_4	ACACCCCATATATACTTTGTTTATAAACTCTCACAGTCAAGCAATCGTGTCCCTCTGTCCCCGTG
Hap_5	ACACCCCATATATACTTTGTTTATAAACTCTCGCAGTCAAGCAATCGTGTCCCTCTGTCCCCGTG
Hap_6	ACATACCATCTGTACCTCGTTACAAACCTCACAGTCTAGCAATCGTGTCCCTTTGTCTCCGTG
Hap_7	ACACCCCATATATACTTTGTTTATAAACTCTCACAGTCAAGCAATCGTGTCCCTCCGTTCCCGTG
Hap_8	ACACCCCATATATACTTTGTTTATAAACTCTCACAGTCAAGCAGTCGTGTCTCTGTCCCCGTG
Hap_9	ACACCCCGTATATACCTCACTTATAAACTCTCACAATCTAGCAATCGTGTCTTCTGTCCCCGTG
Hap_10	ACACCCCATATATGCTTTGTTTATAAACTCTCACAGTCAAGCAATCGTGTCCCTCTGTCCCCGTG
Hap_11	ACACCCCATGTATACCTCGTTACAAACTTTTACAGTCTAGCAATCGTGTCCCTCTGTCCCCGTG
Hap_12	ACACCCCATATATACTTTGTTTATAAACTCTCACAGTCAAGCAATGGTGTCCCTCTGTCCCCGTG
Hap_13	ACACCCCATGTATACCTCGTTACAAACTTTTACAGTCTAGCAATCGTGTCCCTCTGTCCCCGTG
Hap_14	ACATACCATCTATACCTCGTTTACAAACCTCACAGTCTAGCAATCGTGTCCCTTTGTCTCCGTG
Hap_15	ACACCCCATATATACTTTGTTTATAAACTCTCACAGTCAAGCAATCGTGTCCCTCTGTCCCCGTG
Hap_16	GCACCCCATATATACTTTGTTTATAAACTCTCACAGTCAAGCAATCGTGTCCCTCTGTCCCCGTG
Hap_17	ACACCCCATATATACTTTGTTTACAAGCTCTCACAGTCAAGCAATGGTGTCCCTCTGTCCCCGTG
Hap_18	ACACCCCATATATACTTTGTTTATAAATTCTCACAGTCAAGCAATCGTGTCCCTCTGTCCCCGTG
Hap_19	ACACCCCATATATACCTCGTTACAAACTCTCACAGTCTAGCAACCGTGTCCCTCTGTCCCCGTG
Hap_20	ACACCTCATCTATACCTCGTTTACAAACTCTCACGGTTTAGCAATCGTGTCCCTCTGTCCCCGTG
Hap_21	ACATACCATCTGTACCTCGTTTACAAACCTCACAGTCTAGCAATCGTGTCCCTTTGTCTCCGTG
Hap_22	GCACCCCATACATACTTTGTTTATAAACTCTCACAGTCAAGCAATCGTGTCCCTCTGTCCCCGTG
Hap_23	ATTCCCATATATACTTTGTTTATAAACTCTCACAATCAAGCAATCGTGTCCCTCTGTCCCCGTG
Hap_24	ACACCCCATATATATTTGCTTATAAACTCTCACAGTCAAGCAATGGTGTCCCTCTGTCCCCGTG
Hap_25	ACACCCCATATATACTTTGTTTATAAACTCTCACAGTCAAGCAATGGTGTCCCTCTGTCCCCGTG
Hap_26	ACACCCCATATATACTTTGTTTATAAACTCTCACAGTCAAGCAATCGTGTCCCTCCGTTCCCGTG
Hap_27	ACACCCCGTATATACTTTGTTTATAAACTCTCACAGTCAAGCAATGGTGTCCCTCTGTCCCCGTG
Hap_28	ACACCCCATATATACTTTGTTTACAAACTCTCACAGTCAAGCAATCGTGTCCCTCTGTCCCCGTG
Hap_29	ATACCCCATATATACTTTGTTTATAAACTCTCACAATCAAGCAATCGTGTCCCTCTGTCCCCGTG
Hap_30	ACACCCCATATATACTTTGTTTATAAACTCCCACAGTCAAGCAATCGTATCCCTCTGTCCCCGTG
Hap_31	ACACCCCATATATACTTTGTTTATAAACTCTCACAGTCAACCAATCGTGTCTCTCTCCACGAG
Hap_32	ACACCCCATATATACTTTGTTTATAAACTCTCACAGTCAAGCAATCTGTCCCTCTGTCCCCGTG
Hap_33	ATACCCCATATATACTTTGTTTATAAACTCTCACAATTAAGCAATCGTGTCCCTCTGTCCCCGTG
Hap_34	ACACCCCATATATACTTTGTTTATAAACTCTCACAATCAAGCAATCGTGTCCCTCTGTCCCCGTG
Hap_35	ATACCCCATATATACTTTGCTTATAAACTCTCACAATCAAGCAATCGCGTCCCTCTGTCCCCGTG
Hap_36	ACACCCCATATATACCTCGCTACAAACTCTCACAATCTAGCAATCGTGTCCCTCTGTCCCCGTA
Hap_37	ACACCCCATATATACTTTGTTTATAAACTCTCACAATCAAGCAATCGTGTCCCTCTGTCCCCGTG
Hap_38	ACACCCCATATATACTTTGTTTATAAACTCTTACAATCAAGCAATCGTGTCCCTCTGTCCCCGTG
Hap_39	ACACCCCATATATACTTTGTTTATAAACTCCCACAGTCAAGCAATCGTGTCCCTCTGTCCCCGTG
Hap_40	ACACCCCATATATACTTTGTTTATAAACTCTCACAGTCAAGCAATCTGTCCCTCTGTCCCCGTG
Hap_41	ACACCCCATATATACTTTGTTTATAAACTCTCACAATCAAGCAATCGTGTCCCTCTGTCCCCGTG
Hap_42	ACACCCCATATACACTTTGTTTATAAACTCTCACAGTCAAGCAATCGTGTCCCTCTGTCCCCGTG
Hap_43	ACACCCCATATACCTGTTTATAAGACTCTCACAGCCAAGTAATCGTGTCCCTCTGTCCCCGTG
Hap_44	ACACCCCATATATACTTTGTTTATAAACTCTCACAATCAAGCAATCGCGTCCCTCTGTCCCCGTG
Hap_45	ACACCCCATATATACTTTGTTTATAAACTCTCACAATCAAGCAACCGTGTCCCTCTGTCCCCGTG
Hap_46	ACACCCCATATATACTTTGTTTATAAACTCTCATAATCAAGCAATCGTATCCCTCTGTCCCCGTG
Hap_47	ACACCCCATATATACTTTGTTTATAAACTCTCACAATCAAGCAATCGTGTCCCTCTGTCCCCGTG
Hap_48	ACACCCCATATATACTTTGTTTATAAAGTTTACAATCAAGCAATCGCGTCCCTCTGTCCCCGTG
Hap_49	ACACCCCGTATATACTTTGTTTATAAACTCTCACAGTCAAGCAATCGTGTCCCTCTGTCCCTGTG

Tabla 2. Frecuencias haplotípicas en las poblaciones de *P. xanthopygus* correspondientes al clado Sur para cada una de las localidades analizadas. **Co**= Comallo, **RN1**= Puesto Buñuelo - Cerro Corona - Campamento PNG, **RN2**= Establecimiento San Nicolás – Subida del Naciente, **RN3**= Ñorquinco, **Ch1**= Estancia Talapaga – Sierra Talapaga, **Ch2**= Estancia Leleque. **Ch3**= Gorro Frigio, **Ch4**= Cabaña Arroyo Pescado, **Ch5**= Laguna de Aleusco, **Ch6**= Las Plumas, **Ch7**= Cañadón de la Madera – Sierra de Tapuel, **Ch8**= Estancia Bajada del Guanaco, **Ch9**= Pico Salamanca – Estancia Los Manantiales, **Ch10**= Estancia Quichaura, **Ch11**= Lago Blanco, **Ay**= Aysén, **SC1**= Río Ecker, **SC2**= Estancia Cerro del Paso, **SC3**= Estancia La Ensenada, **SC4**= Estancia Cerro Ventana, **TP**= Torres del Paine.

Haplotipo	Co	RN1	RN2	RN3	Ch1	Ch2	Ch3	Ch4	Ch5	Ch6	Ch7	Ch8	Ch9	Ch10	Ch11	Ay	SC1	SC2	SC3	SC4	TP	Total
Hap_1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Hap_2	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Hap_3	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
Hap_4	-	2	3	-	1	5	-	-	-	3	3	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	19
Hap_5	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Hap_6	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Hap_7	-	1	-	-	1	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3
Hap_8	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Hap_9	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
Hap_10	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Hap_11	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Hap_12	-	-	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
Hap_13	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Hap_14	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Hap_15	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
Hap_16	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Hap_17	-	-	-	-	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4
Hap_18	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Hap_19	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Hap_20-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Hap_21	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Hap_22	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Hap_23	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Hap_24	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Hap_25	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
Hap_26	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2

Haplotipo	Co	RN1	RN2	RN3	Ch1	Ch2	Ch3	Ch4	Ch5	Ch6	Ch7	Ch8	Ch9	Ch10	Ch11	Ay	SC1	SC2	SC3	SC4	TP	Total
Hap_27	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Hap_28	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Hap_29	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	3	3	1	-	-	-	-	-	-	-	9
Hap_30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5
Hap_31	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Hap_32	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	3
Hap_33	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Hap_34	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	2	-	-	-	1	-	-	-	-	6
Hap_35	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	2	-	-	-	-	-	-	-	-	3
Hap_36	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Hap_37	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	9	-	11
Hap_38	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	2
Hap_39	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Hap_4-0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	-	-	-	-	-	-	-	-	3
Hap_41	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	9	-	-	-	-	-	-	9
Hap_42	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	2
Hap_43	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1
Hap_44	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	18	-	-	-	19
Hap_45	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	12	2	-	14
Hap_46	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7	-	1	-	-	8
Hap_47	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4	-	4
Hap_48	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6	6
Hap_49	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	2
<i>n</i>	2	6	14	1	10	5	1	8	2	6	7	15	15	1	11	1	9	18	13	15	8	168