

Filogeografía del género *Eligmodontia* (Rodentia: Cricetidae) en la Patagonia Argentina.

Lic. Cecilia C. Da Silva

Tesis de Maestría en Ciencias Biológicas
Opción Zoología
PEDECIBA



Orientador: *Dr. Enrique P. Lessa*

Coorientador: *Dr. Ulyses F. J. Pardiñas*

Tribunal: Dra. Graciela Garcia, Dr. Marcelo Loureiro, Dr. Hector Romero.

2011

Montevideo, Uruguay

ÍNDICE GENERAL

Resumen.....	i
Agradecimientos.....	iii
1 Introducción.....	1
1.1 Teoría de Refugios.....	1
1.2 La Patagonia.....	3
1.3 Glaciaciones en la Patagonia.....	4
1.4 El género <i>Eligmodontia</i>	8
1.5 Hipótesis de Trabajo.....	13
1.6 Objetivos	13
1.6.1 Objetivo General.....	13
1.6.2 Objetivos Específicos.....	14
2 Materiales & Métodos.....	15
2.1 Ejemplares.....	15
2.2 Trabajo de Laboratorio.....	20
2.2.1 Obtención de Tejidos y Extracción de ADN.....	20
2.2.2 Amplificación y Secuenciación del Citocromo b.....	20
2.3 Análisis de las Secuencias de ADN.....	21
2.3.1 Edición y Alineamiento de las Secuencias de ADN.....	21
2.3.2 Análisis del Citocromo b.....	22
2.3.2.1 Variación Genética y Diversidad de Haplotipos en el Género <i>Eligmodontia</i>	22
2.3.2.2 Relaciones entre Haplotipos.....	22
2.3.2.3 Porcentaje y Tiempo de Divergencia entre Especies.....	23
2.3.2.4 Estructura y Variación Poblacional.....	24
2.3.2.4.1 Demografía Histórica de las Especies del género <i>Eligmodontia</i>	24
2.3.2.4.2 Estructura Poblacional en <i>E. typus</i> y <i>E. morgani</i>	26
2.3.2.4.3 Variación Poblacional en <i>E. typus</i> y <i>E. morgani</i>	27
3 Resultados.....	35
3.1 Variación Genética y Diversidad de Haplotipos en el género <i>Eligmodontia</i>	35
3.2 Relaciones entre Haplotipos.....	35
3.3 Distribución Geográfica de las Especies del género <i>Eligmodontia</i>	41
3.4 Porcentaje y Tiempo de Divergencia entre Especies del género <i>Eligmodontia</i>	42

3.5	Demografía Histórica de las Especies del género <i>Eligmodontia</i>	47
3.6	Estructura Poblacional en <i>E. typus</i> y <i>E. morgani</i>	51
3.7	Variación Poblacional en <i>E. typus</i> y <i>E. morgani</i>	53
4	Discusión	58
4.1	Consideraciones principales.....	58
4.2	El género <i>Eligmodontia</i>	59
4.3	<i>Eligmodontia</i> en La Patagonia.....	64
5	Conclusiones	68
6	Perspectivas	70
7	Bibliografía	72

ÍNDICE DE APÉNDICES

Apéndice I:	Detalle de los especímenes utilizados en este trabajo.....	87
--------------------	--	----

ÍNDICE DE RECUADROS

Recuadro 1.	Elección del Marcador Molecular.....	21
Recuadro 2.	Pruebas de Neutralidad.....	33

RESUMEN

El género *Eligmodontia* F. Cuvier, comúnmente conocido como lauchas sedosas, son pequeños roedores habitantes de regiones áridas y semi-áridas de América del Sur. La monofilía del género es bien aceptada, y apoyada por caracteres genéticos y morfológicos. Actualmente se reconocen 6 especies: *Eligmodontia typus* (habita tierras bajas de la Patagonia), *Eligmodontia morgani* (tierras altas de la Patagonia), *Eligmodontia bolsonensis* (tierras altas de la provincia de Catamarca, Argentina), *Eligmodontia moreni* (desierto del Monte septentrional), *Eligmodontia hirtipes* (tierras altas de Bolivia y norte de Argentina) y *Eligmodontia puerulus* (tierras altas del sur de Perú, norte de Chile y noroeste de Argentina). Debido a que este género tiene una amplia distribución en Sudamérica, y en particular en la Patagonia, se lo eligió para poner a prueba la Teoría de Refugios. Esta teoría postula que la principal causa de especiación es el aislamiento geográfico causado por la retracción de hábitat durante los ciclos glaciares del Cuaternario. El presente trabajo tiene como objetivo principal contribuir a la comprensión de la diversidad, distribución, e historia biogeográfica de los pequeños mamíferos de la Patagonia; y con esto a los procesos biogeográficos implicados en la estructura de la diversidad biótica a lo largo del gradiente latitudinal en Sudamérica. Para ello muestreamos 20 localidades entre 38°S y 51°S. Secuenciamos el gen del citocromo b de 166 especímenes, y junto a 74 secuencias obtenidas de Genbank caracterizamos la variación de este gen mitocondrial a nivel poblacional, establecimos la estructura filogeográfica y realizamos inferencias sobre aspectos demográficos. Con estos análisis encontramos a nivel del género: 1) grupos monofiléticos que corresponden a las especies reconocidas para este género, 2) vemos parafilia de *E. typus* con respecto a *E. bolsonensis* 3) encontramos especímenes de *E. bolsonensis* en 2 localidades de la Patagonia (Biedma: Puerto Lobos y Paso de Indios: Establecimiento Cañadón Carbón, Provincia de Chubut), 5) encontramos simpatria entre *E. typus* y *E. morgani* en 4 localidades (Escalante: Pampa de Salamanca: Estancia Los Manantiales, Provincia de Chubut, Deseado: ría del Deseado, Estancia Cerro del Paso; Corpen Aike: río Santa Cruz, Punta Piedrabuena y Corpen Aike: río Santa Cruz, 4 km O Punta Quilla s/RP 288, Provincia de Santa Cruz) y entre *E. typus* y *E. bolsonensis* en 2 localidades (Biedma: Puerto Lobos y Paso de Indios: Establecimiento Cañadón Carbón, Provincia de Chubut) en la Patagonia, 6) los test de neutralidad muestran resultados negativos y significativos solo para las especies que habitan la Patagonia. Y a nivel de las especies patagónicas (*E. typus* y *E. morgani*): 1) no detectamos estructuración geográfica en estas especies, 2) encontramos que para *E. typus* la región entre el río Colorado y el corte filogeográfico propuesto por Lessa et al. 2010 y para *E. morgani* la región al sur de este corte filogeográfico muestran resultados negativos y significativos en los test de neutralidad y

distribuciones unimodales en la distribución de diferencias pareadas. Con estos resultados: 1) expandimos el rango de distribución de *E. bolsonensis* hasta la Patagonia, determinando la presencia de 3 especies de este género en esta región; 2) reportamos localidades de simpatria entre *E. typus* y *E. bolsonensis*; 3) ampliamos el rango de distribución de *E. morgani* hasta la costa Atlántica de la Patagonia; 4) sugerimos una historia de expansión demográfica reciente en *E. typus* y *E. morgani*, en cada caso desde una fuente única y restringida; 6) planteamos al menos un refugio para cada especie sin poder determinar si éste fue común para ambas, posiblemente ubicado al norte de la Patagonia. Estos cambios demográficos estarían asociados a cambios en la disponibilidad de hábitat en estas especies durante los últimos períodos interglacial y glacial del Cuaternario, concordando con la Teoría de Refugios. Esto concuerda con la idea de que especies y poblaciones en altas latitudes parecen ser más susceptibles al cambio climático, tanto en el corto plazo como en asociación con los ciclos climáticos históricos del Cuaternario. Más en general este estudio contribuye a dilucidar la historia evolutiva de la biota en el sur del continente.

AGRADECIMIENTOS

A Enrique P. Lessa por haber confiado en mí al aceptarme como estudiante de maestría, por respaldarme en la presentación de este trabajo en congresos, por sus aportes y correcciones a este trabajo y por último, pero no menos importante, por sus valiosas enseñanza, las cuales le dieron rumbo a mi vocación científica.

A Ulyses F.J. Pardiñas por guiarme durante la realización de este trabajo con sus valiosos aportes y correcciones.

A Guillermo D'Elia por su estímulo, sugerencias y aportes bibliográficos.

A Sabrina Riverón, Daiana Mir y Carolina Abud, que en cierta manera recorrimos un camino juntas, apoyándonos en lo académico y personal, con los altos y bajos que esto implicó, y sobre todo por su invalorable amistad.

A Ivanna H. Tomasco, Matias Feijoo, Alejandro “Passer” D’Anatro, Andrés Iriarte, Andrés Parada, Natalia Rego; mis compañeros de Laboratorio por su ayuda en la labor diaria, aportes de bibliografía y amistad.

A Graciela García, Marcelo Loureiro y Héctor “Yuyo” Romero, el tribunal, por las valiosas correcciones a este trabajo.

A todos mis amigos por su apoyo, aliento y amistad. En particular a Noelia KandrataVICIUS por su apoyo incondicional en todos los aspectos de mi vida.

A mi madre, a quien le debo todo lo que soy, por estar siempre apoyando en todo sentido mi carrera y decisiones de vida.

A Marcelo González que me da día a día el apoyo y la fuerza para lograr mis metas.

A muchos otros familiares y amigos, quienes supieron comprender mis ausencias y no dejaron de alentar mis iniciativas y festejar mis logros.

1 INTRODUCCIÓN.

Desde siempre los naturalistas se han preguntado cómo surgen las diferentes especies y por qué hay mayor diversidad biológica en las zonas tropicales; el número de especies decrece a medida que aumenta la latitud (Mayr 1963, Prance 1982, Stebbins 1974, Wallace 1852). Los biólogos intentan entender cómo llega a haber tantas especies en un solo lugar (diversidad alfa) y tanta diversidad entre hábitats (diversidad beta) y entre regiones (diversidad gamma). Varias hipótesis han surgido para explicar esto (Moritz *et al.* 2000, Lara *et al.* 2005), pero una de las que mayor interés ha generado es la Teoría de Refugios, propuesta por Jürgen Haffer (Haffer 1969).

1.1 TEORÍA DE REFUGIOS.

La Teoría de Refugios nace para dar una explicación histórica a la inmensa variedad de fauna de aves de la selva amazónica. Ésta postuló en sus orígenes que durante varios periodos climáticos secos en el Pleistoceno y post-Pleistoceno la selva amazónica fue dividida en un número de selvas pequeñas las cuales estaban aisladas unas de las otras por anchos cinturones de vegetación abierta y no selvática (sabana). Los parches de selva sirvieron como “áreas de refugio” para numerosas poblaciones de animales selváticos, los cuales divergieron entre sí durante los periodos de aislamiento geográfico. Las selvas aisladas fueron reunidas durante periodos de clima húmedo, desplazando la sabana y permitiendo que las poblaciones de los refugios expandieran su rango. Esta ruptura y reunión de la selva amazónica probablemente se repitió muchas veces durante el Cuaternario y llevó a una rápida diferenciación de la fauna de la selva amazónica en tiempos geológicos muy recientes (Haffer 1969).

La alta biodiversidad de los trópicos, comparada con la de altas latitudes, se explicaría según esta teoría por la rápida diferenciación de la selva tropical durante el Pleistoceno aludiendo al hecho de que el hábitat de los animales de selvas tropicales son pequeños y que sus densidades poblacionales son bajas comparadas a las poblaciones de animales de selvas templadas, y por la alta tasa de especiación en los trópicos debido a condiciones climáticas más estables (Haffer 1969).

Aunque originalmente esta teoría se creó pensando en la diversidad de aves del Amazonas, actualmente se aplica a toda la biodiversidad terrestre amazónica (flora y fauna) y a todas las selvas tropicales lluviosas del mundo, que albergan la mayor parte de la biodiversidad. Y también se ha extendido a regiones templadas y frías del globo, aunque ya Haffer manejaba esta posibilidad en su trabajo original (Haffer 1969).

También, la teoría original se extendió para atender evidencias crecientes que sugieren que buena parte de los eventos de especiación más recientes para diversos taxones pudieron haber ocurrido antes del Pleistoceno, por lo que Haffer (1997) y Haffer & Prance (2001) incorporaron esos eventos más antiguos al modelo.

Hay un conjunto de ideas asociadas a esta teoría, aunque varias no pertenecen a su formulación original:

- (i) La manera más probable de que se formen nuevas especies es la especiación alopátrida (especiación geográfica) (Mayr 1942), la cual implica la existencia de barreras geográficas que impide el intercambio genético entre subpoblaciones (impide el flujo génico), permitiendo la formación de mecanismos de aislamiento entre las subpoblaciones. Se postula que este tipo de especiación se desarrolla de dos maneras: (a) por vicarianza de una población ancestral ampliamente distribuida o (b) por la dispersión de parte de una población ancestral (subpoblación) a través de una barrera preexistente (especiación peripátrida) (Cracraft & Prum 1988).
- (ii) La expansión de los refugios fue acompañada por la expansión de muchas de las poblaciones que los habitaban, los cuales frecuentemente entraron en contacto con poblaciones de otros refugios. Las zonas de contacto secundario entre refugios están en áreas entre los postulados refugios. Las poblaciones que entraron en contacto alcanzaron distintos niveles de aislamiento en el proceso de especiación. Básicamente se distinguen las siguientes situaciones: (a) especiación no completada: (i) fusión uniforme si la población no divergió de forma apreciable durante del periodo de aislamiento, (ii) desarrollo de una frontera entre subespecies si las diferencias morfológicas se desarrollaron, pero no hubo desarrollo de mecanismos de aislamiento o diferencias ecológicas, (iii)

desarrollo de una zona híbrida a lo largo de la línea de contacto; (b) especiación completada: (i) parapatría, con un solapamiento mínimo o hibridación, (ii) invasión (unidireccional o mutua) y solapamiento de poblaciones previamente alopátricas (Mayr & O'Hara 1986).

El análisis de zonas de contacto secundario muestra que estas tienen dos características esperadas: (i) poblaciones en la zona híbrida tienen una variabilidad mucho mayor que las poblaciones adyacentes y contienen individuos cuyo rango fenotípico cubre el rango entre las entidades adyacentes, (ii) afuera de la zona híbrida, las dos formas son relativamente uniformes, aunque puede observarse una variación clinal (Mayr & O'Hara 1986).

- (iii) Hay dos eventos genéticos poblacionales comúnmente asociados a especies y poblaciones que habitaron los refugios: (a) episodios de cuello de botella poblacionales durante la contracción del refugio y eventual aislamiento, y (b) instancias de expansión demográfica desde los refugios (Aleixo 2004).
- (iv) Las especies animales fuertemente diferenciadas pertenecientes a un mismo género probablemente se originaron en los refugios del Pleistoceno temprano, mientras que el resto de las especies se originaron durante el Pleistoceno tardío y las semiespecies en el post-Pleistoceno (Haffer 1969)

1.2 LA PATAGONIA

En términos biogeográficos, La Patagonia es una Subregión dentro de la Región Andina. Su límite norte es el Río Colorado y desde ahí se extiende hacia el sur de la Argentina, a través de Neuquén, Río Negro, Chubut y Santa Cruz, hasta el norte de Tierra del Fuego; y alcanza Chile en las provincias de Aisén y Magallanes (Soriano 1956, Cabrera & Willink 1973, Morrone 1996, 2001a, b). Posee un largo total de casi 2.500 km y se extiende entre las latitudes 36° y 55°S (Rabassa 2008). Esta se compone de dos Provincias: Patagonia Central y Patagonia Subandina (Morrone 2002). La Provincia de la Patagonia Central comprende el sudoeste de la Argentina, desde el centro de Mendoza hasta el sur de Santa Cruz y está compuesta de terrenos semiáridos en su mayoría de tierras bajas y planas, y mesetas volcánicas de variada composición

geológica. La Provincia de la Patagonia Subandina, la cual comprende el Sudoeste de Argentina, y constituye una angosta franja a lo largo de los Andes australes, ensanchándose hacia el Sur hasta Santa Cruz (Rabassa 2008)

El paisaje patagónico se caracteriza por extensas llanuras y mesetas, apenas en el piedemonte andino el relieve comienza a presentar contrastes. La media anual de temperatura en el Norte ronda los 13°C, y en el sur baja hasta 6°C. Rara vez caen precipitaciones mayores a 300 mm en los Andes y más de 120 mm en la costa atlántica. Estepas y semi-desiertos se extienden desde el panorama arbustivo del Monte hasta Tierra del Fuego, en donde éste es suplantado por la vegetación sub-antártica.

1.3 GLACIACIONES EN LA PATAGONIA.

Los ciclos glaciares del cuaternario (2,59 Ma - presente) se caracterizaron por climas más fríos y secos, en los cuales la temperatura media del aire llegó a caer hasta 6 °C en los Máximos Glaciares más extremos. Debido a esta caída en la temperatura se originaron grandes glaciares y el nivel del mar bajó hasta 150 metros debido al agua atrapada en el hielo. Las mayores extensiones de glaciares ocurrieron en el hemisferio norte, donde se formaron dos grandes mantos de hielo en las tierras continentales de Europa y América del Norte. Por el contrario, los glaciares en el hemisferio sur fueron confinados solo a altas altitudes en altas latitudes, por lo que en la Patagonia solo la cordillera de los Andes estaba cubierta por glaciares, abarcando el sur de Chile por el lado occidental de los Andes y llegando como lenguas glaciares del lado oriental de los Andes, hoy Argentina. En el oeste de la Patagonia surgió en aquella época un paisaje impresionante de fiordos y canales, debido a que el nivel de mar se hallaba a mayor profundidad; y quedó expuesta buena parte de la plataforma continental oriental (Brown & Lomolino 1998).

Los numerosos avances y retrocesos glaciales durante el Pleistoceno son bien conocidos (Rabassa 2008). Por ejemplo, la Gran Glaciación Patagónica (*GPG* por sus siglas en inglés) ocurrió entre 1 – 1,2 Ma y el Último Máximo Glacial (*LGM* por sus siglas en inglés) ocurrió hace 20 – 18 Ka. Estos difirieron en extensión y duración, y por lo tanto probablemente también en su impacto en la abundancia y distribución de la biota local. Es bien sabido que la extensión en la capa de hielo durante el *GPG* fue

significativamente mayor que durante la *LGM* y las varias últimas glaciaciones (McCulloch *et al.* 2000, Rabassa 2008).

En las regiones templadas y frías del planeta ocurrió una reducción del hábitat (zonas habitables) debido al enfriamiento global durante estas repetidas glaciaciones. En general, estas zonas habitables se desplazaron hacia latitudes más bajas; y algunas se habrían visto restringidas a parches aislados unos de los otros por el avance de glaciares y zonas extremadamente áridas, formando así “áreas de refugio”. Durante los periodos de glaciación las especies típicas de climas más templados sobrevivieron en diferentes refugios, formándose poblaciones aisladas geográficamente entre sí, lo cual llevó a que estas poblaciones divergieran entre sí. Luego, durante los periodos de clima más benigno para estas especies (interglaciares) las áreas habitables se habrían ampliado, permitiendo que las poblaciones de los refugios expandieran su rango. Esta ruptura y reunión de hábitats durante las sucesivas épocas glaciares e interglaciares llevó a una diferenciación de la fauna en tiempos geológicos recientes.

En el hemisferio norte existe amplia y creciente evidencia del efecto de los ciclos glaciares en la historia y estructura actual de la biota (e.g., Hewitt 2000, 2004a, 2004b, Arbogast & Slowinski 1998). Centrándonos en Norteamérica, se encontraron evidencias de expansión postglaciar en especies de mamíferos del oeste de Norteamérica tan diversas como los osos negros, las musarañas y diferentes roedores (e.g. Conroy & Cook 2000; Lessa *et al.* 2003). También se encontraron evidencias de refugios para la flora Ártica (Abbott *et al.* 2000). En las aves se encontró fuerte evidencia de la importancia del Pleistoceno en la especiación (e.g., Johnson & Cicero 2004, Mila *et al.* 2000).

Aunque los ciclos climáticos del Pleistoceno tuvieron un impacto moderado en Sudamérica (e.g., Moreno 1997, Moreno *et al.* 1999, Rabassa *et al.* 2000, 2005; Schaefer *et al.* 2006); se ha demostrado que el estudio filogeográfico de la flora y fauna de la región da indicios de la historia biogeográfica de la Patagonia. Más precisamente se ha documentado que para tiempos geológicos recientes (10 mil años) los ensambles de pequeños mamíferos pueden responder a estos cambios moderados (e.g. Pearson 1987, Pardiñas 1999) y contribuir a revelar la historia de los ambientes a los que se encuentran asociados. Teniendo esto en mente planteamos que al estudiar los ensambles

de pequeños mamíferos también podemos dilucidar la historia de los ambientes a los que se encuentran asociados, aun para escalas de tiempo mayores como las que manejamos en este estudio (Pardiñas *et al.* 2011)

Pese a que la fauna y flora patagónica ha sido poco estudiada, existen algunos estudios que revelan una historia biogeográfica de expansiones y retracciones de la biota durante el Pleistoceno. En particular la flora asociada a los bosques de la región andina austral ha sido estudiada en detalle, registrándose cambios en su estructura poblacional. (e.g., Haberle & Bennett 2004, Heusser *et al.* 2006, Villagrán *et al.* 2004). Con estudios de la flora patagónica se ha postulado la existencia de diversos refugios, con ubicaciones variables que incluyen: retracciones hacia el norte o longitudinales (e.g., Muellner *et al.* 2005, Pastorino *et al.* 2004), y hacia el sur de los rangos actuales de distribución (Premoli *et al.* 2000). Más recientemente Cosacov *et al.* (2010) estudiando a *Calceolaria polyrhiza*, una planta herbácea patagónica, encontraron una expansión hacia el noreste asociada con las fluctuaciones climáticas y llegan a hipotetizar un escenario de múltiples refugios pleistocénicos peri-glaciales.

El trabajo en reptiles, *Liolaemus bibronii* y *L. gracilis*, de Morando *et al.* (2007) evidenció una importante estructuración geográfica, la cual sugiere una historia de fragmentación que precede al periodo postglaciar. Por otra parte, Ruzzante *et al.* (2008) realizaron un estudio en peces (*Galaxias platei* y *Percichthys trucha*), e identificaron un importante papel para el último ciclo glaciar en la formación de diversidad de estas especies, pero la divergencia genética es anterior a éste.

Centrándonos en los estudios en pequeños mamíferos; Smith *et al.* (2001) realizaron un estudio filogeográfico del roedor sigmodontino *Abrothrix olivaceus* en el sur de Chile y propusieron la existencia y ubicación de un refugio en la costa de Chile central para esta especie, en un área que se cree que estuvo cubierta por bosque durante las glaciaciones (Villagrán 1995). Más recientemente Rodríguez-Serrano *et al.* (2006) realizaron un estudio con mayor detalle de la filogeografía de esta especie al occidente de los Andes, documentando una subdivisión geográfica importante hacia el sur-centro de Chile y huellas de expansión en las regiones más australes de su distribución. También este trabajo apoya la existencia de varias subespecies para *A. olivaceus*, ya propuestas en la literatura clásica.

Kim *et al.* (1998) estudiaron la variación geográfica del roedor sigmodontino *Phyllotis xanthopygus*, y hallaron dos clados, al norte y sur del Río Chubut, que reflejan eventos en el Pleistoceno que temporalmente separaron a estos ratones en dos grupos aislados geográficamente. Este aislamiento se podría haber debido a un glaciar ubicado en donde hoy está el Río Chubut, el cual afectó el flujo génico entre estos grupos. Estos autores llegan a la conclusión que cambios demográficos, episodios de dispersión y recolonización son importantes en la historia de *P. xanthopygus*. En un marco geográfico y taxonómico amplio, Stepan *et al.* (2007) documentaron la diversidad filogenética y estructura geográfica del género *Phyllotis* (trece especies) y encontraron que *P. xanthopygus* es caracterizada por divergencias profundas y una alta diversidad genética.

Más recientemente, Lessa *et al.* (2010) estudiaron 14 especies de roedores sigmodontinos a lo largo de la Patagonia y Tierra del Fuego. De estas, 9 muestran huellas genéticas de expansión demográfica, las cuales datan para antes del *LGM*. Estos autores concluyen que la inestabilidad demográfica en respuesta al cambio climático histórico ha sido generalizada en la región patagónica-fueguina, y es generalmente más pronunciada en las latitudes altas, y que la colonización desde las latitudes más bajas es un importante componente de la diversidad Patagónica - Fueguina actual.

Todos estos ejemplos muestran, en diferentes taxa, señales de expansión demográfica, en otras se ven fragmentaciones asociadas a barreras geográficas (glaciares), y hasta se llega a hipotetizar refugios en áreas precisas. Todos estos resultados concuerdan con las implicancias antes mencionadas de la Teoría de Refugios. Con estos resultados podemos concluir que la historia de la región no puede resumirse simplemente como una retracción hacia latitudes más bajas durante las fases glaciares del Pleistoceno, seguida de colonizaciones postglaciares (Moore 2000), sino que hay claras evidencias de una historia mucho más compleja implicando refugios a latitudes altas.

Siguiendo con esta idea, para poner a prueba el papel de la Teoría de Refugios en la diversidad biológica a altas latitudes de América del Sur, se eligió a *Eligmodontia* F. Cuvier; un género de roedores sigmodontinos ampliamente distribuido y abundante

del sur del continente sudamericano, con especies que habitan la Patagonia y otras que habitan al norte de esta, con distribuciones disyuntas entre ellas (Mares *et al.* 2008). Esta cobertura, rica en términos de su densidad local y amplitud geográfica, ofrece oportunidades únicas de examinar y comparar los diferentes patrones genéticos de estas especies y, poniendo a prueba algunos escenarios históricos relativamente simples, comenzar a delinear hipótesis más elaboradas sobre la historia biogeográfica de la región. Por esta vía, se espera contribuir a la comprensión de los fenómenos evolutivos implicados en el desarrollo y continuidad de la diversidad biótica en general.

1.4 EL GÉNERO *ELIGMODONTIA*

La tribu Phyllotini está compuesta por 13 géneros, de los cuales 6 son monotípicos, y alrededor de 47 especies (Musser & Carleton 2005). Los miembros de esta tribu son roedores de pequeño tamaño, y principalmente distribuidos a lo largo del paisaje árido y semiárido del Cono Sur (Anderson & Yates 2000, Braun & Mares 1995, Musser & Carleton 2005, Steppan 1995). *Eligmodontia* pertenece a esta tribu, basado en análisis morfológicos y moleculares (e.g. Braun 1993, Smith & Patton 1999, Steppan 1993, 1995, Steppan *et al.* 2004).

Las lauchas sedosas del género *Eligmodontia* F. Cuvier, son pequeños roedores que habitan regiones xerófilas de América del Sur, incluyendo las estepas arbustivas y herbáceas de la Patagonia (Osgood 1943), el desierto del Monte, el Espinal, y las praderas secas, matorrales, y la puna de los Andes (Hershkovitz 1962). Estas regiones áridas son heterogéneas y distintas entre sí y han constituido un importante escenario de la evolución de la fauna de mamíferos Sudamericanos (Osgood 1943, Patterson & Pascual 1972, Mares 1975b, Reig 1984, Ojeda *et al.* 2000, Pardiñas *et al.* 2003).

Eligmodontia presenta una amplia distribución que se extiende desde el extremo sur de Perú, el oeste de Bolivia, norte de Chile y noroeste de Argentina, hacia el sur hasta el Estrecho de Magallanes (figura 1; Hershkovitz 1962, Musser & Carleton 2005). Su rango altitudinal es amplio, desde el nivel del mar en altas latitudes a más de 4500 m en el norte.

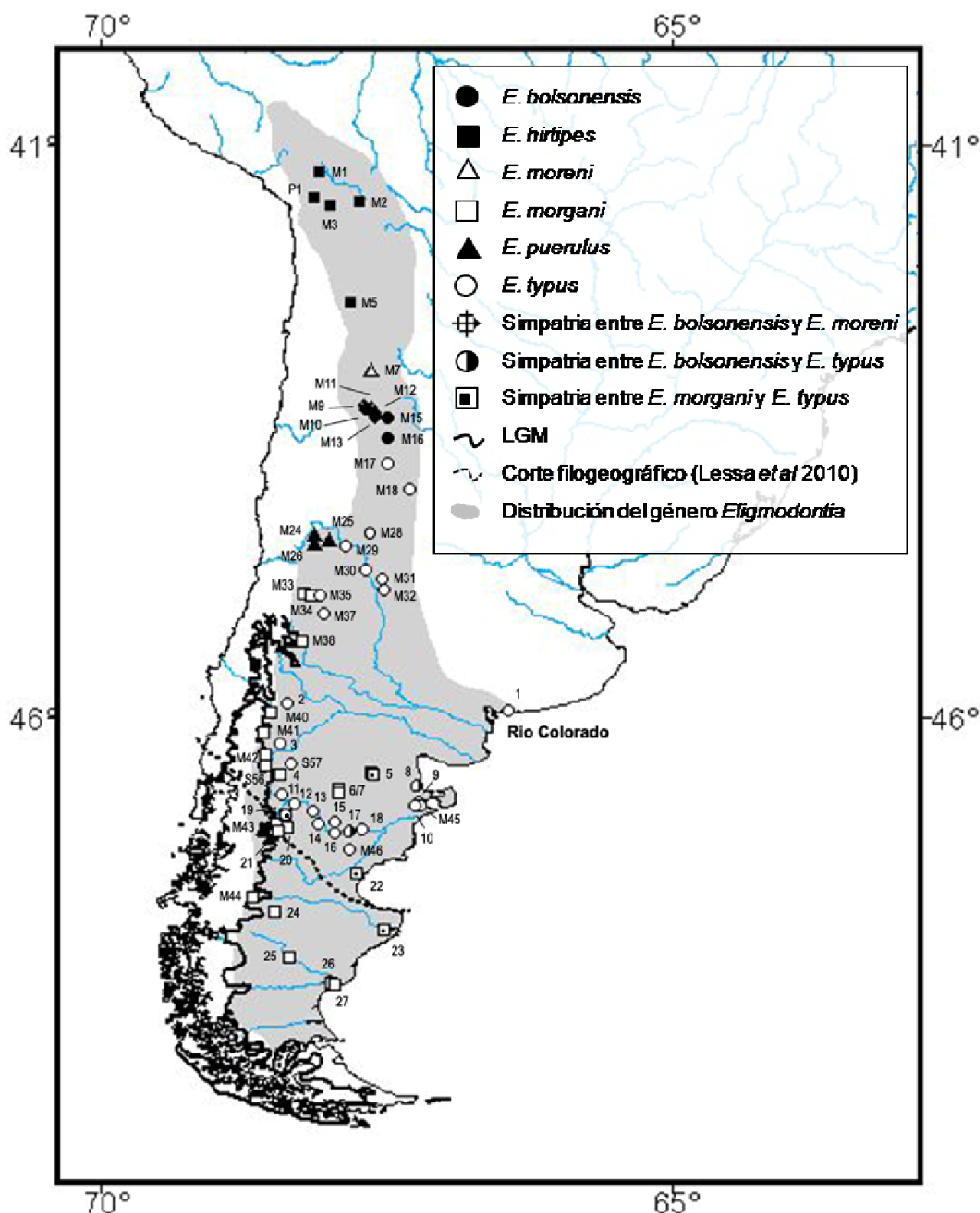


Figura 1: Mapa de las localidades de procedencia de las muestras, mostrando: la distribución del género *Eligmodontia* (UICN 2010), las localidades de colecta de los especímenes incluidos en el estudio, el límite alcanzado por el hielo durante la última glaciación según Rabassa (2008), y los cortes filogeográficos principales para roedores sigmodontinos patagónicos (según Lessa et al. 2010) para otras 4 especies de sigmodontinos.

Eligmodontia presenta varias características anatómicas y adaptaciones fisiológicas especializadas para la vida en las regiones áridas y arenosas. Entre éstas se encuentran: coloración clara, la coalescencia de las almohadillas plantales en un único cojinete, bullas timpánicas grandes, patas traseras alargadas y riñones especializados para el mantenimiento hídrico en condiciones de escasez de agua (Mares 1977, Díaz & Ojeda 1999). Debido a estas características, parece ser que *Eligmodontia* es uno de los sigmodontinos que presenta adaptaciones más evidentes a condiciones áridas en América del Sur, aunque comparado con los especialistas de desiertos fuera de América del Sur muestra adaptaciones morfológica de menor importancia a ambientes áridos (Mares 1975, 1977, 1980, 1993a, b, 2002). Según estudios de Mares (1975, 1977) *Eligmodontia* poseía uno de los más altos índices renales entre todos los roedores argentinos examinados, y es fisiológicamente bien adaptada para procesar sal y habitar en las vastas áreas xéricas con arbustos halófitas de la región. Estos caracteres morfológicos y fisiológicos apoyan, además de los datos moleculares, la monofilia del género (Braun 1993, Steppan 1995).

En la historia del conocimiento del género *Eligmodontia*, desde su descripción por Cuvier (1837), se reconoce una primera etapa donde se generaron numerosas formas nominales. El influyente trabajo de Cabrera (1961) planteó un esquema con únicamente dos especies, *E. puerulus* y *E. typus*, aunque mantuvo un complejo panorama subespecífico. En la primera revisión completa del género, Hershkovitz (1962) fue aún más lejos y basándose en la morfología sinonimizó todas las formas con *E. typus*, reservando el trinomio *E. typus puerulus* para las poblaciones norteñas de altura y *E. typus typus* para tierras bajas centrales y australes. Más recientemente, Musser & Carleton (2005) reconocen cuatro especies: *E. typus* (centro de Argentina y Chile), *E. moreni* (laderas andinas desde Salta a Neuquén), *E. morgani* (oeste de la Patagonia de la región sur de Argentina y Chile) y *E. puerulus* (sur de Perú, noreste de Chile, oeste de Bolivia y noroeste de Argentina) y sugieren una interdigitación compleja de sus rangos geográficos en los valles y montañas de la cordillera de los Andes. Luego, Lanzone *et al.* (2007) reconoce 6 especies: *E. moreni*, *E. puerulus* y *E. hirtipes* (las tres de distribución norte); y *E. typus*, *E. marica* y *E. morgani* (las tres de distribución centro y sur). Por último, Mares *et al.* (2008) en su revisión del género basándose en datos moleculares y morfológicos llega a reconocer seis especies: *E. bolsonensis*, *E. hirtipes*,

E. moreni, *E. morgani*, *E. puerulus* y *E. typus*. En la tabla 1 se muestra un resumen de las especies hoy reconocidas (Mares *et al.* 2008) con el autor que acuñó la forma nominal, localidad tipo y distribución actual.

Los datos moleculares para *Eligmodontia* son limitados taxonómica y geográficamente, mucha de la investigación molecular previa en este género se ha centrado en el examen de sus relaciones filogenéticas en el marco de la tribu Phyllotini (por ejemplo, D'Elia *et al.* 2003, Smith & Patton 1999). Hillyard *et al.* (1997), como excepción para el ámbito patagónico, tratan las cuestiones de relaciones interespecíficas entre *E. morgani* y *E. typus* destacando correspondencia entre los resultados moleculares y citogenéticos. También hay varios estudios que han contribuido a aclarar los límites entre las especies de *Eligmodontia* en la parte sur de su rango de distribución en la Patagonia (Ortells *et al.* 1989, Kelt *et al.* 1991, Zambelli *et al.* 1992, Sikes *et al.* 1997, Tiranti 1997). Los resultados de estos estudios han demostrado una alta divergencia cariotípica, molecular y morfológica entre *E. typus* y *E. morgani* (Hillyard *et al.* 1997, Sikes *et al.* 1997). En los estudios que incluyeron a más de dos taxones de *Eligmodontia* (D'Elia *et al.* 2003, Lanzone *et al.* 2007, Spotorno *et al.* 2001), *E. typus* aparece como hermana de *E. morgani* y este clado como hermano de *E. puerulus*, o un clado de *E. puerulus* y *E. hirtipes* (si este último taxón fue reconocido). Para Mares *et al.* (2008) *E. puerulus* y *E. moreni* forman un clado hermano de *E. hirtipes*, y el clado que estos forman es hermano de *E. morgani*, a su vez *E. typus* y *E. bolsonensis* forman un clado que es hermano del clado *E. puerulus* – *E. moreni* – *E. hirtipes* – *E. morgani* (estas relaciones filogenéticas están resumidas en la figura 2).

La información disponible sugiere una considerable diversidad citogenética y molecular en el género. Los estudios recientes han aclarado aspectos de la sistemática y la taxonomía de las especies en el género y proporcionan apoyo para el reconocimiento de al menos seis unidades evolutivas con rango de especie (tabla 1)

Tabla 1: Especies del género *Eligmodontia*, autor que acuñó la forma nominal, localidad tipo y distribución actual conocida.

Especie	<i>E. bolsonensis</i>	<i>E. hirtipes</i>	<i>E. moreni</i>	<i>E. morgani</i>	<i>E. puerulus</i>	<i>E. typus</i>
Descripción	Mares, MA; Braun, JK; Coyner BS; Van Der Bussche, RA 2008	(Thomas 1916)	(Thomas 1896)	Allen 1901	(Philippi 1896)	F. Cuvier 1837
Localidad tipo	Argentina: Catamarca: Pomán: Establecimiento Río Blanco, 28 km S, 13.3 km O Andalgala	Bolivia: Oruro (3750m)	Argentina: La Rioja: Chilecito (1200m)	Argentina: Santa Cruz: Arroyo Else-Cañones basálticos-50 millas SE Lago Buenos Aires.	Chile: San Pedro de Atacama (3223m)	Argentina: Buenos Aires (localidad no precisada)
Distribución	norte y oeste de la Sierra de Ambato y la Sierra de Manchao, Catamarca	tierras altas de Bolivia y norte de Argentina	desierto del Monte septentrional, laderas andinas desde Salta a Neuquén	Patagonia occidental y austral, Argentina y Chile	regiones de altura del sur de Perú, norte de Chile y noroeste de Argentina	Pampasia occidental y sector nor-occidental de Patagonia

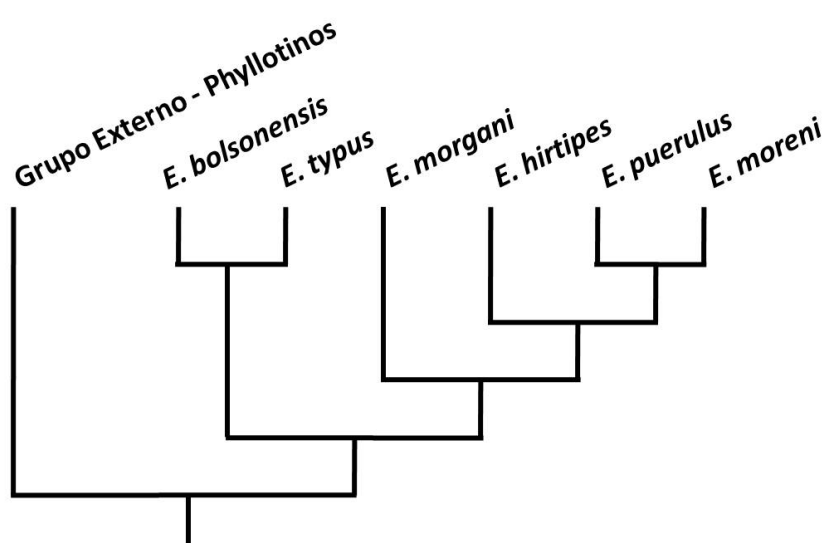


Figura 2: Relaciones filogenéticas dentro del género *Eligmodontia* según Mares *et al.* (2008). E = *Eligmodontia*.

1.5 HIPÓTESIS DE TRABAJO

En el marco de la Teoría de Refugios, la diversidad biológica en altas latitudes de Sudamérica está directamente relacionada con los ciclos climáticos del Cuaternario. Es decir que la expansión y retracción de los glaciares y la expansión y retracción de zonas habitables que acompañó estos ciclos climáticos estuvieron implicados en el desarrollo y continuidad de la diversidad biótica de la región. Siguiendo esta hipótesis esperamos encontrar: a) signos de expansión en las especies y/o poblaciones que habitan altas latitudes, y b) si correspondiese, llegar a dilucidar el número y ubicación de estos refugios debido a que estas zonas serían zonas de estabilidad y estructuración genéticas.

Es posible poner a prueba esta hipótesis mediante la filogeografía, una disciplina que estudia los principios y procesos que gobiernan la distribución geográfica de los linajes, incluyendo aquellos a nivel intraespecífico (Avice 2000). Los estudios filogeográficos se basan en el análisis de la variabilidad genética. Actualmente la biología molecular permite la obtención y secuenciación de fragmentos de ADN con relativa facilidad, y los métodos para su análisis están ampliamente desarrollados (Swofford *et al.* 1996). Por lo tanto, el estudio de la variabilidad genética de las diferentes especies del género y poblaciones a lo largo del sur de Sudamérica permitiría aceptar o rechazar aspectos de la hipótesis de refugios.

1.6 OBJETIVOS

1.6.1 OBJETIVO GENERAL

Contribuir a la comprensión de la diversidad, distribución, e historia biogeográfica de los pequeños mamíferos de la Patagonia; y con esto a los procesos biogeográficos implicados en la estructura de la diversidad biótica a lo largo del gradiente latitudinal en Sudamérica. Más en general, contribuir a la comprensión de los fenómenos evolutivos implicados en el desarrollo y continuidad de la diversidad biótica.

1.6.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Estudiar la variación genética del género *Eligmodontia*, con énfasis en la región austral de su distribución.
2. Realizar estudios poblacionales en las especies del género, con el fin de comparar los diferentes patrones genéticos de las especies Patagónicas y No-Patagónicas, en el marco de la Teoría de Refugios.
3. Estimar la diversidad genética y geográfica de *E. typus* y *E. morgani*, las especies patagónicas, para así estimar el impacto de los ciclos climáticos del Cuaternario en las latitudes más australes del continente, en eventos de retracción a refugios y posterior expansión/colonización en la historia biogeográfica de estas especies.

2 MATERIALES & MÉTODOS

2.1 EJEMPLARES

En este trabajo fueron utilizados especímenes coleccionados en toda la Patagonia (Argentina y Chile), a saber: 1) muestras colectadas durante el proyecto financiado por la National Geographic Society, intitulado “***Postglacial Patagonia: evolutionary responses of small mammals to climate changes***” (responsable: E. Lessa; co-investigadores: G. D’Elía, Universidad de Concepción en Chile y U. Pardiñas, Centro Nacional Patagónico en Argentina), en un total de 27 localidades en las provincias argentinas de Neuquén, Río Negro, Chubut y Santa Cruz (38° - 51°S). Estas localidades abarcan las variantes ecológicas asociadas a las áreas correspondientes: monte, estepa costera, estepa interior, ecotono estepa bosque y bosque andino (figura 1, tabla 2); 2) muestras colectadas por Ulyses Pardiñas y colaboradores en el marco del proyecto intitulado “***Roedores sigmodontinos de Argentina: clarificación taxonómica, nomenclatural y sistemática a partir de series topotípicas***” (PIP-CONICET 6179; director: UPardiñas); 3) muestras colectadas por Richard Sage, y 4) secuencias utilizadas en artículos previamente publicados y/o disponibles en *GenBank* (Smith & Patton 1999, Mares *et al.* 2008, Lessa *et al.* 2010 y Palma *et al.* no publicado).

Se utilizaron un total de 241 ejemplares de *Eligmodontia*, de los cuales 166 fueron colectados para este estudio y 75 ejemplares fueron obtenidos de bibliografía (Mares *et al.* 2008, Smith & Patton 1999, Lessa *et al.* 2010) y de *GenBank* (Palma *et al.* no publicado): 29 pertenecientes a *E. typus*, 16 a *E. morgani*, 9 a *E. bolsonensis*, 13 a *E. moreni*, 2 a *E. puerulus*, 6 a *E. hirtipes* (Apéndice 1)-

Tabla 2: Lista de localidades de los especímenes incluidos en este trabajo. Para cada una se indica bajo el acápite localidad, primero departamento o partido, luego paraje y/o localidad específica. La primer columna indica la clave empleada en las figuras y análisis de este estudio. Arg = Argentina, Ch = Chile, Bol = Bolivia, msnm = metros sobre el nivel del mar, * = altitudes determinadas con GoogleEarth v 6.0.1.2032 beta (Google Inc. 2010), ? = no está disponible el dato.

Localidad		Provincia	País	Coordenadas		Fuente
M20	Vinchina: 12,4 km N Va. San José de Vinchina, 1681 m	LA RIOJA	Arg	?		Mares <i>et al.</i> 2008
M21	Famatina: 12,8 km N Chilecito, 1 km E Chilecito, 1087 m	LA RIOJA	Arg	?		Mares <i>et al.</i> 2008
M22	Gral. La Madrid: 14,5 km N Villa Uniln, 1253 m	LA RIOJA	Arg	?		Mares <i>et al.</i> 2008
M27	Las Heras: approx. 4 km NE Uspallata, 2010 m	MENDOZA	Arg	?		Mares <i>et al.</i> 2008
M4	Colchane: Suricayo	TARAPACÁ	Ch	?		Mares <i>et al.</i> 2008
M6	Los Andes: 26 km WSW Santa Rosa de los Pastos Grandes, 3949 m	SALTA	Arg	?		Mares <i>et al.</i> 2008
M8	Antofagasta de la Sierra: Paycuqui, 3664 m	CATAMARCA	Arg	?		Mares <i>et al.</i> 2008
M1	8.5 km Oeste de San Andres de Machaca	LA PAZ	Bol	16°59'4"S, 69°01'0"O (3886 msnm*)		Mares <i>et al.</i> 2008
M3	Estancia Agua Rica, 22 km S, 40 km E Sajama	ORURO	Bol	18°19'59.98"S, 68° 34'0.01"O (4256 msnm*)		Mares <i>et al.</i> 2008
P1	localidad Parinacota	XV Región	Ch	18° 2'1.89"S, 69° 16'2.49"O (3715 msnm*)		Palma <i>et al.</i> No Publicado
M2	37 km SO Camino de Oruro, 3.5 km NE Toledo	ORURO	Bol	18° 8'59.99"S, 67° 24'0"O (3711 msnm*)		Mares <i>et al.</i> 2008
M5	Laguna Colorada, 2 km E Ende Camp, 4280 m	POTOSI	Bol	22°16'59.98"S, 67°46'59.98"O (4280 msnm)		Mares <i>et al.</i> 2008
M7	Los Andes: Vega Cortadera, 3897 m	SALTA	Arg	25°7'12.99"S, 67°2'38.99"O (3897 msnm)		Mares <i>et al.</i> 2008
M9	Antofagasta de la Sierra: 1.5 km S El Peñón, 3485 m	CATAMARCA	Arg	26°30'16.59"S, 67°15'22.99"O (3485 msnm)		Mares <i>et al.</i> 2008
M11	Belén: Laguna Blanca, 3350 m	CATAMARCA	Arg	26°34'53.39"S, 66°56'38.59"O (3350 msnm)		Mares <i>et al.</i> 2008
M10	Antofagasta de la Sierra: Pasto Ventura, 3831 m	CATAMARCA	Arg	26°41'37.39"S, 67°10'55.59"O (3831 msnm)		Mares <i>et al.</i> 2008
M12	Belén: 17 km N Barranca Larga, 3219 m	CATAMARCA	Arg	26°51'11.59"S, 66°45'18.79"O (3219 msnm)		Mares <i>et al.</i> 2008
M15	Santa María: 21 km SW El Desmonte, 2172 m	CATAMARCA	Arg	26°59'58.99"S, 66°15'8.99"O (2172 msnm)		Mares <i>et al.</i> 2008
M13	Belén: 5.2 km S El Bolsón, 2404 m	CATAMARCA	Arg	27°2'36.6"S, 66°47'13.99"O (2404 msnm)		Mares <i>et al.</i> 2008
M16	Pomán: Establecimiento Río Blanco, 28 km S, 9.3 km O Andalgala, 680 m	CATAMARCA	Arg	27°50'2.99"S, 66°15'49.99"O (680 msnm)		Mares <i>et al.</i> 2008
M17	Capayán: Chumbicha, 0.5 km E de Ruta 38 sobre Ruta 60, 1500 ft	CATAMARCA	Arg	28°52'0"S, 66°13'59.99"O (457 msnm)		Mares <i>et al.</i> 2008

Tabla 2 (continuación).

	Localidad	Provincia	País	Coordenadas	Fuente
M18	La Paz: Químilo	CATAMARCA	Arg	29°55'0"S, 65°22'0"O (205 msnm*)	Mares <i>et al.</i> 2008
M24	Calingasta: 1 km O Observatorio	SAN JUAN	Arg	31°46'59.98"S, 69°20'38.0"O (2067	Mares <i>et al.</i> 2008
M25	Sarmiento: Pedernal, 4040 ft	SAN JUAN	Arg	31°58'59.99"S, 68°43'59.99"O (1231	Mares <i>et al.</i> 2008
M29	La Valle: Reserva Telteca, 2000 ft	MENDOZA	Arg	32°15'0"S, 68°0'0"O, (610 msnm)	Mares <i>et al.</i> 2008
M26	Las Heras: Cienegas de Yaguaray	MENDOZA	Arg	32°7'59.99"S, 69°19'0"O (2214 msnm*)	Mares <i>et al.</i> 2008
M30	La Paz: 27 km N Desaguadero,	MENDOZA	Arg	33°10'23.63"S, 67°10'59.99"O (509	Mares <i>et al.</i> 2008
M31	Capital: 15 km E Salinas del	SAN LUIS	Arg	33°31'59.99"S, 66°29'18.64"O (635	Mares <i>et al.</i> 2008
M32	Capital: 12 km N Varela (por la	SAN LUIS	Arg	34°0'30.56"S, 66°27'0"O (670 msnm)	Mares <i>et al.</i> 2008
M33	San Carlos: 2 mi E Gendarmería	MENDOZA	Arg	34°10'59.99"S, 69°40'40.0"O (2700	Mares <i>et al.</i> 2008
M35	San Carlos: 35 km S Pareditas por	MENDOZA	Arg	34°14'55.93"S, 69°2'3.2"O (1430 msnm)	Mares <i>et al.</i> 2008
M34	San Carlos: 3 km O Refugio Militar	MENDOZA	Arg	34°16'12"S, 69°21'45.29"O (2522 msnm*)	Mares <i>et al.</i> 2008
M37	San Rafael: Salinas del Diamante	MENDOZA	Arg	34°58'0.0012"S, 68°49'59.99"O (1348	Mares <i>et al.</i> 2008
M28	Ayacucho: 8 km O de La Botija,	SAN LUIS	Arg	36°12'27.00"S, 66°39'34.79"O (430	Mares <i>et al.</i> 2008
M38	Malargüe: 2.0 km N jct.ruta 40 y El	MENDOZA	Arg	36°4'59.99"S, 69°43'42.99"O (1371	Mares <i>et al.</i> 2008
1	Monte Hermoso: Laguna Sauce	BUENOS AIRES	Arg	38°56'S, 61°20'O (23 msnm*)	Este trabajo
2	Picunches: Sierra de Cuchillo Curá,	NEUQUÉN	Arg	38°36'42"S, 70°20'59"O (937 msnm)	Este trabajo
M40	Aluminé: 8.8 km S Lonco Luan,	NEUQUÉN	Arg	39°1'45.37"S, 71°1'0.012"O (1177 msnm)	Mares <i>et al.</i> 2008
M41	Huiliches: 21 km NW, 1 km N jct.	NEUQUÉN	Arg	39°47'10.54"S, 71°18'13.28"O (850	Mares <i>et al.</i> 2008
M42	Los Lagos: 11 km NW jct. Hwys 63	NEUQUÉN	Arg	40°41'23.85"S, 71°15'43.6314"O (800	Mares <i>et al.</i> 2008
3	Collón Cura: Estancia Collón Curá,	NEUQUÉN	Arg	40°14'57"S, 70°37'54"O (761 msnm)	Este trabajo
4	9 de Julio: Altiplanicie del	RIO NEGRO	Arg	41°27'155"S , 66° 53'862"O (1354 msnm)	Este trabajo

Tabla 2 (continuación).

	Localidad	Provincia	País	Coordenadas	Fuente
5	Ñorquingo, Escorial de Chenqueniyeñ, ca. 10 km S Las Bayas	RIO NEGRO	Arg	41°33'S, 70°40'O (1000 msnm)	Este trabajo
S57	Pilcaniyeu: 10 km S Comallo	RIO NEGRO	Arg	41°5'24"S, 70°12'35.99"O (100 msnm)	Smith & Patton
S56	Bariloche: Las Victorias, 4.2 km E Bariloche	RIO NEGRO	Arg	41°7'48"S, 71°15'0"O (100 msnm)	Smith & Patton
11	Cushamen: Paraje Fofocahuel, Campo de Netchovitch	CHUBUT	Arg	42°19'55"S, 70°33'15"O (455 msnm*)	Este trabajo
8	Biedma: Puerto Lobos	CHUBUT	Arg	42°00'13"S, 65°04'19"O (8 msnm)	Este trabajo
6	Telsen: Estancia Talagapa	CHUBUT	Arg	42°09'33"S, 68°15'90"O (1411 msnm)	Este trabajo
12	Languiñeo: Campo de Cretón	CHUBUT	Arg	42°42'42.0"S, 70°3'3.0"O (331 msnm)	Este trabajo
M45	Biedma: 8 km (by road) ESE Puerto Madryn, 60 ft	CHUBUT	Arg	42°47'39.23"S, 64°57'34.92"O (18 msnm)	Mares et al. 2008
7	Telsen: Sierra Talagapa	CHUBUT	Arg	42°14'05"S, 68°14'31" (1370msnm)	Este trabajo
9	Biedma: Playa Doradillo	CHUBUT	Arg	42°39'12"S, 64°59'06"O (12 msnm*)	Este trabajo
10	Biedma: Laguna La Blanca	CHUBUT	Arg	42°49'11" S, 65°07'58"O (65 msnm)	Este trabajo
13	Gastre: Gorro Frigio	CHUBUT	Arg	43°02'27"S, 69°19'55"O (352 msnm)	Este trabajo
14	Gastre: Campo de Pichiñan	CHUBUT	Arg	43°33'19"S, 69°04'05"O (327msnm)	Este trabajo
18	Mártires: Las Plumas	CHUBUT	Arg	43°43'42"S, 67°16'05"O (146 msnm)	Este trabajo
17	Paso de Indios: Establecimiento Cañadón Carbón	CHUBUT	Arg	43°50'08"S, 57°49'08"O (203 msnm)	Este trabajo
16	Paso de Indios: Los Altares	CHUBUT	Arg	43°53'18"S, 68°24'01"O (241 msnm)	Este trabajo
15	Paso de Indios: Estancia Santa Rosa	CHUBUT	Arg	43°27'S, 68°24'O (425 msnm*)	Este trabajo
M43	Languiñeo: 3 km N Tecka along Hwy 4, 2280 ft	CHUBUT	Arg	43°33'58.79"S, 70°47'59.99"O (695 msnm)	Mares et al. 2008
20	Languiñeo; Estancia Quichaura	CHUBUT	Arg	43°42'410"S , 70°20'995"O (835 msnm)	Este trabajo
19	Languiñeo: Laguna Aleusco, margen sur	CHUBUT	Arg	43°10'17"S, 70°26'20"O (591 msnm)	Este trabajo
21	Tehuelches, Sierra de Tepuel, Cañadon de la Madera	CHUBUT	Arg	43°51'55"S, 70°43'34"O (1025 msnm)	Este trabajo

Tabla 2 (continuación).

	Localidad	Provincia	País	Coordenadas	Artículo
M46	Paso de Indios: 18 km W jct. Hwys 29 and 27 along Hwy 27, 1500 ft	CHUBUT	Arg	44°36'0"S, 67° 49'36.19"O (457 msnm)	Mares <i>et al.</i> 2008
22	Escalante: Pampa de Salamanca, Estancia Los Manantiales	CHUBUT	Arg	45°30'28"S, 67°29'20"O (475 msnm)	Este trabajo
M44	Chile Chico: 2 km S & Chile Chico Aerodromo, 1 km W	GENERAL SANTA CRUZ	Ch	46°32'S, 71°44'O (330 msnm)	Mares <i>et al.</i> 2008
23	Deseado: ría del Deseado, Estancia Cerro del Paso	SANTA CRUZ	Arg	47°51'33"S, 66°26'09"O (0 msnm)	Este trabajo
24	Lago Buenos Aires: Estancia Casa de Piedra, río Ecker	SANTA CRUZ	Arg	47°07'41.17"S, 70°51'35.96"O (680 msnm)	Este trabajo
25	Río Chico: Estancia Cerro Ventana	SANTA CRUZ	Arg	48°59'23"S , 70°15'55"O (220 msnm)	Este trabajo
26	Corpen Alke: río Santa Cruz, Punta Piedrabuena	SANTA CRUZ	Arg	49°59'18.8"S, 68°33'15.7"O (12 msnm)	Este trabajo
27	Corpen Alke: río Santa Cruz, 4 km O Punta Quilla s/RP 288	SANTA CRUZ	Arg	50°06'S, 68°26'O (0 msnm*)	Este trabajo

2.2 TRABAJO DE LABORATORIO

2.2.1 OBTENCIÓN DE TEJIDOS Y EXTRACCIÓN DE ADN

Las muestras fueron tomadas de músculo o hígado de los especímenes colectados, y preservadas individualmente en alcohol 95°. La extracción de ADN total fue realizada según protocolos corrientes de tratamiento del tejido con SDS y Proteinasa K, precipitación de proteínas con Cloruro de Sodio y finalmente precipitación de ADN con Isopropanol (Miller *et al.* 1988, Maniatis *et al.* 1992).

2.2.2 AMPLIFICACIÓN Y SECUENCIACIÓN DEL CITOCROMO B

Se utilizaron todas las muestras colectadas para amplificar los primeros 801 pares de bases (pb) del gen del citocromo b (Apéndice 1, Recuadro 1). Se utilizaron los oligonucleótidos cebadores MVZ05 y MVZ16 (Smith & Patton 1993) para la reacción en cadena de la polimerasa (*PCR* del inglés: *polymerase chain reaction*). Las condiciones de ciclado fueron: desnaturalización inicial a 94°C por 3 minutos; 35 ciclos a 94°C, 46°C, 72°C por 30s cada paso (desnaturalización, asociación y extensión) y extensión final a 72°C por 5 minutos. Las concentraciones finales en cada reacción de amplificación fueron de 0,06 unidades por µl de Taq (Fermentas) en Buffer 1X, 200 µM de cada uno de los desoxiribonucleótidos (dNTPs), 200 nM de cada oligonucleótido y 4 mM de MgCl₂. Para un volumen total de reacción de 30 µl se utilizaron 15 µl de dilución de la extracción de ADN total (1:50 en agua).

Los productos de *PCR* fueron secuenciados en un ABI3730XL en MacroGen Inc. (Corea). Se secuenció la hebra directa con el oligonucleótido MVZ05. En los casos necesarios, se secuenciaron ambas hebras para resolver ambigüedades con los oligonucleótidos MVZ05 y MVZ16.

Recuadro 1.**ELECCIÓN DEL MARCADOR MOLECULAR**

Los genes mitocondriales presentan ciertas ventajas frente a los autosómicos para evaluar relaciones filogenéticas intraespecíficas, por lo que constituyen un marcador corrientemente usado en este tipo de estudios (Avice 2000). Entre otras, su herencia materna y tamaño poblacional efectivo cuatro veces menor que el ADN genómico hacen que los haplotipos mitocondriales se fijen vía deriva genética en promedio cuatro veces más rápido que un gen autosómico. Esto es crucial en el caso de la mayoría de los estudios intraespecíficos.

En este estudio se utilizó el gen mitocondrial que codifica para el citocromo b, gen para el cual estudios anteriores (e.g. Hillyard et al. 1997, Mares et al. 2008) sugieren niveles de variación suficientes para examinar la variación a nivel intraespecífico o entre especies estrechamente relacionadas. A su vez es el marcador más usado en filogeografía molecular de mamíferos (D'Elia 2003) lo cual permite adicionar datos de otros trabajos para comparar resultados y/o analizarlos en conjunto.

Aunque el árbol de los genes no siempre coincide con el de las especies, lo que representa una limitación si se trabaja con un único locus (ya sea mitocondrial o nuclear), en estudios filogenéticos, el restringir el análisis al estudio de un único locus mitocondrial constituye una primer aproximación al problema que constituirá la base para la integración futura de marcadores nucleares (por ejemplo secuencias intrónicas) en futuros estudios.

2.3 ANÁLISIS DE LAS SECUENCIAS DE ADN**2.3.1 EDICIÓN Y ALINEAMIENTO DE LAS SECUENCIAS DE ADN**

Las secuencias fueron editadas utilizando PROSEQ 3.0 (Filatov 2002), alineadas en CLUSTAL X (Thompson *et al.* 1997) usando los valores por defecto de los parámetros, y verificadas por inspección directa. Se incluyeron asimismo 49 secuencias de 1144 pb generadas por Mares *et al.* (2008), dos secuencias de 1144 pb generadas por Smith & Patton (1999), 23 secuencias de 801 pb generadas por Lessa *et al.* (2010) y una secuencia de 951 pb sin publicar de Palma *et al.*, disponibles en *GenBank* y especificadas en el Apéndice 1.

2.3.2 ANÁLISIS DEL CITOCROMO B

2.3.2.1 VARIACIÓN GENÉTICA Y DIVERSIDAD DE HAPLOTIPOS EN EL GÉNERO

ELIGMODONTIA

Para corroborar que estas secuencias siguen un patrón típico de un gen mitocondrial codificante se computaron estadísticos básicos (frecuencias nucleotídicas, sitios con transiciones y transversiones y números de sitios variables por posición de codón) usando el programa DNASP v5.0 (Librado & Rozas 2009).

Para el conjunto de secuencias del género *Eligmodontia* y para cada especie del género se determinaron los haplotipos del gen del citocromo b y se calculó la diversidad haplotípica.

2.3.2.2 RELACIONES ENTRE HAPLOTIPOS

Con los haplotipos determinados, se realizó una reconstrucción filogenética del género *Eligmodontia* con el fin de confirmar su monofilia y la de cada una de las 6 especies propuestas para éste. Primero, se utilizó el programa MODELGENERATOR v0.85 (Keane *et al.* 2006) para determinar qué modelo de sustituciones nucleotídicas se ajusta más a este conjunto de secuencias. Las relaciones filogenéticas entre los haplotipos fueron reconstruidas utilizando dos métodos diferentes: 1) por Máxima Verosimilitud utilizando el programa PHYML v3.0 (Guindon & Gascuel 2003) 2) por análisis Bayesianos utilizando el programa BEAST v1.6.0 (Drummond & Rambaut 2007). En el primer caso se comenzó la reconstrucción a partir de 5 árboles al azar, se utilizó el mejor entre el método de “intercambio del vecino más cercano” (*NNI*, siglas en ingles de *Nearest Neighbor Interchange*) y el método de “Poda y Reinjerto de Subárboles” (*SPR*, siglas en ingles de *Subtree Pruning and Regrafting*) para obtener el mejor árbol filogenético; y el apoyo de los nodos se obtuvo por medio de 100 replicas de *bootstrap*. En el segundo caso el análisis se corrió por 100 millones de generaciones, muestreando árboles y parámetros cada 10 mil generaciones; con un modelo de reloj molecular relajado (Drummond *et al.* 2006), el resto de los parámetros se mantuvieron por defecto. La convergencia de las cadenas fue evaluada por medio de el programa TRACER v1.5 (Rambaut & Drummond 2007). Se obtuvieron 10.000 árboles, de los cuales se descartaron los primeros 2.500 como *Burn-in*, y de los 7.500 restantes se

realizó un árbol de consenso con el programa TREEANNOTATOR v1.6.0 del paquete BEAST v1.6.0 (Drummond & Rambaut 2007). El apoyo de los nodos se evaluó por medio de su probabilidad posterior. Para ambos métodos de reconstrucción filogenética se utilizó el modelo de sustituciones nucleotídicas *HKY* (Hasegawa-Kishino-Yano, Hasegawa *et al.* 1985) con una proporción de sitios invariables y parámetros de distribución gamma con cuatro categorías a estimar.

Como grupo externo se tomaron cuatro representantes de la tribu Phyllotini (D'Elia 2003): *Calomys musculus*, *Phyllotis magister*, *Loxodontomys micropus*, *Graomys griseoflavus* (Números de acceso de *GenBank*: AF385604, AF484214, AF108690, AY275117 respectivamente). Las filogenias resultantes fueron visualizadas y modificadas con el programa FIGTREE v1.3.1 (Rambaut 2006).

2.3.2.3 PORCENTAJE Y TIEMPO DE DIVERGENCIA ENTRE ESPECIES

El porcentaje de divergencia dentro y entre clados representando especies de *Eligmodontia* fueron computados con una distancia corregida por *K2P* (Kimura 2 parámetros) con el programa MEGA v 4.0 (*Molecular Evolutionary Genetic Analysis Software*, Tamura *et al.* 2007). Este modelo de evolución de secuencias nucleotídicas fue elegido para permitir la comparación del porcentaje de divergencia de las secuencias entre taxas con la recomendación de Bradley & Baker (2001) y Baker & Bradley (2006) para secuencias del gen del citocromo b para evaluar genéticamente especies crípticas.

Para calcular el tiempo de divergencia entre las especies del género se calculó el porcentaje de divergencia basado en las transversiones de la 3ra posición del codón debido a que Irwin *et al.* (1991) mostró que estas tienden a acumularse de manera casi lineal con el tiempo y son menos propensos a saturarse que las transiciones. El error estándar se calculó con 500 réplicas de *bootstrap*. Estos niveles de divergencia se calcularon usando el programa MEGA v4.0 (Tamura *et al.* 2007) y fueron usados para estimar los tiempos de divergencia entre los grandes clados de la filogenia resultante, utilizando una tasa de divergencia de 2,3% por millón de años (tomada de Mares *et al.* 2008), la cual se basa en un supuesto de fechas de divergencia del registro fósil para la separación *Akodon* – *Necromys* hace 3,55 millones de años (Reig 1987).

El tiempo del ancestro común mas reciente (*TMRC*A, por sus siglas en Inglés) de cada cladogenesis y para la separación de los dos clados recuperados en *E. morgani* fue estimado utilizando el programa BEAST v1.6.0 (Drummond & Rambaut 2007). Este análisis se corrió por 100 millones de generaciones, muestreando árboles y parámetros cada 10 mil generaciones; con un modelo de reloj molecular estricto, utilizando una tasa de sustitución de 0,0329 sustituciones por millón de años (esta tasa es un promedio de las tasas reportadas para *E. typus* y *E. morgani*, Lessa *et al.* 2010). El resto de los parámetros se mantuvieron por defecto y el apoyo de los nodos se evaluó por medio de las probabilidades posteriores de los nodos. La convergencia de las cadenas fue evaluada por medio del programa TRACER v1.5 (Rambaut & Drummond 2007).

2.3.2.4 ESTRUCTURA Y VARIACIÓN POBLACIONAL

2.3.2.4.1 DEMOGRAFÍA HISTÓRICA DE LAS ESPECIES DEL GÉNERO *ELIGMODONTIA*

Para cada una de las especies del género se calculó la diversidad nucleotídica π (Nei 1978, número promedio de diferencias nucleotídica entre pares de haplotipos presentes en la muestra) y se estimó el parámetro poblacional θ_w ($\theta=2N_{ef}\mu$, donde μ es la tasa de mutación y N_{ef} es el tamaño poblacional efectivo del ADN mitocondrial, el cual corresponde al número de hembras que se reproducen) a partir del número de sitios segregantes en la muestra (θ_w , Watterson 1975) usando el programa ARLEQUIN v3.5 (Excoffier *et al.* 2010).

Con el fin de estudiar la demografía histórica de las especies del género *Eligmodontia*, se realizaron las pruebas y se calcularon los estadísticos que se detallan en los párrafos siguientes para 5 de las 6 especies del género tomadas cada una como una población. No se realizaron estos estudios en *E. puerulus* debido a que solo obtuvimos 2 secuencias del gen del citocromo b pertenecientes a esta especie.

Se realizaron las pruebas de neutralidad de Tajima (D , Tajima 1989) y de Fu (F_s , Fu 1997) en el programa ARLEQUIN v3.5 (Excoffier *et al.* 2010), para evaluar si los datos son consistentes con la ocurrencia de selección a nivel molecular o de eventos de expansión demográfica en el pasado. Se calculó la distribución observada del número de diferencias entre pares de haplotipos (en inglés *mismatch distribution*) para saber si

estas especies están en equilibrio demográfico, también con el programa ARLEQUIN v3.5 (Excoffier *et al.* 2010). Por último, se estimó el parámetro de crecimiento poblacional (μ , Kuhner 2006). Las estimaciones de este parámetro se realizaron por el método de máxima verosimilitud en el programa LAMARC v2.1.3 (del inglés, *Likelihood Analysis with Metropolis Algorithm using Random Coalescence*; Kuhner *et al.* 2005, Kuhner 2009). Se integraron los resultados de 3 réplicas; cada una consistió de 20 cadenas iniciales y 5 cadenas finales, de las cuales 2.000 y 10.000 árboles fueron muestreados, respectivamente, usando muestreos cada 20 generaciones, y utilizando el modelo mutacional Felsenstein 84 (=HKY).

En los casos en que los análisis se ajustaron a un modelo de expansión poblacional, se calculó con el programa ARLEQUIN v3.5 (Excoffier *et al.* 2010), la edad de ese evento de expansión por medio del parámetro poblacional τ bajo los modelos de expansión demográfica y expansión espacial (Schneider & Excoffier 1999), utilizando una tasa de evolución de $4,107\text{E-}05$ sustituciones por sitio por millón de años (misma tasa de sustitución con la que se dataron los eventos de especiación en la filogenia resultante del género dividida por 801, el largo del locus). Los parámetros de la expansión y el intervalo de confianza para $\alpha = 0,05$ se calcula utilizando una aproximación por *bootstrap* usando 1000 permutaciones al azar (Schneider & Excoffier 1999). Ver Recuadro 2.

Para el caso de las especies que se ajustaron a un modelo de expansión poblacional se utilizó también una aproximación bayesiana para datar el evento de expansión llamada *Bayesian Skyline Plot (BSP)* (Drummond *et al.* 2005). Este método usa un procedimiento de cadenas Markovianas de Monte Carlo para muestrear la distribución de *generalized skyline plots* y así reconstruir la historia demográfica de la población, dado los datos y de acuerdo con sus probabilidades posteriores, y combina estos gráficos para generar un estimado e intervalos de credibilidad para el tamaño poblacional efectivo en cada punto hacia atrás en el tiempo hasta el ancestro común más cercano (*MRCA*, por sus siglas en inglés) de la muestra de secuencias estudiadas. Se calcularon los *BSPs* con el programa TRACER v 1.5 (Rambaut & Drummond 2007) usando el modelo de sustituciones nucleotídicas *HKY* (Hasegawa *et al.* 1985) con una proporción de sitios invariables y parámetros de distribución gamma (cuatro categorías) a estimar, ya que éste fue el modelo que mejor se ajustó a los datos, estimado con

MODELGENERATOR v0.85 (Keane *et al.* 2006). Las pruebas de cadenas Markovianas de Monte Carlo fueron corridas por 100 millones de generaciones y muestreadas cada 10 mil generaciones en el programa BEAST v 1.6 (Drummond & Rambaut 2007). El primer 25% de los árboles fueron descartados como *burn-in*. La convergencia de las cadenas fue evaluada por medio del programa TRACER v1.5 (Rambaut & Drummond 2007).

2.3.2.4.2 ESTRUCTURA POBLACIONAL EN *E. TYPUS* Y *E. MORGANI*

En las especies *E. typus* y *E. morgani* se realizaron los siguientes análisis exploratorios de la estructura geográfica: 1) por medio de un estudio de escalamiento multidimensional (*MDS*, del inglés: *multidimensional scaling*,) de distancias genéticas (Lessa *et al.* 1990), en el cual se utilizaron las distancias genéticas entre poblaciones calculadas con el índice F_{ST} ; y 2) por medio de una análisis espacial de varianza molecular (*SAMOVA*, del inglés: *spatial analysis of molecular variance*, Dupanloup *et al.* 2002). Este último se realizó con el programa SAMOVA v1.0 (Dupanloup *et al.* 2002), el cual define grupos de las poblaciones que se encuentran filogeográficamente homogéneas y máximamente diferenciadas unas de otras, a través de una definición *a priori* del número de grupos (K), y genera estadísticos F (F_{SC} , F_{ST} , y F_{CT}) mediante un análisis de varianza molecular (*AMOVA*, Excoffier *et al.* 1992). Para cada valor de K , 100 procesos de simulado fueron utilizados. Este análisis fue computado para $K = 2$ a $K = 5$ en *E. morgani* y para $K = 2$ a $K = 10$ en *E. typus*. Debido a que SAMOVA v1.0 no computa estos índices para $K = 1$, se estimaron por medio de *AMOVA* con el programa ARLEQUIN v3.5 (Excoffier *et al.* 2010). Para determinar el número óptimo de grupos de poblaciones se tomo el K que maximiza el índice F_{CT} (Dupanloup *et al.* 2002).

En estos dos análisis se tomaron como poblaciones una o varias localidades de muestreo, que se agruparon por estar a menos de 50 km de distancia o con el fin de aumentar el número de individuos por población. Para *E. typus* se utilizaron 11 poblaciones: 1) Norte: Localidades M17, M18, M28, M29 - M32, M35, M37; 2) Patagonia Norte: Localidades 1, 2, 3, S57; 3) Río Chubut 1: Localidad 11; 4) Río Chubut 2: Localidades 12 y 19; 5) Río Chubut 3: Localidad 13; 6) Río Chubut 4: Localidad 14; 7) Río Chubut 5: Localidad 16; 8) Río Chubut 6: Localidades M46, 15, 17, 18; 9) Chubut Este: Localidades 5, 8 - 10 y M45; 10) Chubut Sur: Localidad 22; 11)

Patagonia Sur: Localidad 23 (estos agrupamientos se pueden ver en la figura 3). Para *E. morgani* se utilizaron 7 poblaciones: 1) Norte: M33, M34 y M38; 2) Patagonia Norte: M40 - M42, S56 y 4; 3) Ñorquinco: Localidad 5; 4) Talagapa: Localidades 6 y 7; 5) Patagonia Centro: Localidades 22 - 24 y M44; 6) Patagonia Oeste: Localidades 19 - 21 y M43; 7) Patagonia Sur: Localidades 25 - 27 (estos agrupamientos se pueden ver en la figura 4).

2.3.2.4.3 VARIACIÓN POBLACIONAL EN *E. TYPUS* Y *E. MORGANI*

Para comparar la variación genética dentro de *E. typus* y *E. morgani* se dividieron las localidades de colecta en 3 regiones según nuestros resultados y los de Lessa *et al.* 2010: 1) No Patagonia (localidades fuera de la Patagonia), 2) Patagonia Norte (localidades al norte del corte filogeográfico reportado por el artículo antes mencionado) y 3) Patagonia Sur (localidades al sur de dicho corte filogeográfico). En *E. typus* la región “No Patagonia” está compuesta por las localidades M17, M18, M28 - M32, M35 y M37; la región “Patagonia Norte” la compone las localidades 1 - 3, 5, 8 - 19, 22, M 45, M 46 y S57; y la región “Patagonia Sur” está compuesta únicamente por la localidad 23 (estos agrupamientos se pueden ver en la figura 5). En *E. morgani* la región “No Patagonia” se compone de las localidades M33, M34 y M38; la región “Patagonia Norte” está compuesta por las localidades 4 - 7, 19 - 22, M 40 - M43 y S56; y la región “Patagonia Sur” está compuesta por las localidades 23 - 27 y M44 (estos agrupamientos se pueden ver en la figura 6).

Para cada una de estas 3 regiones se calculó la diversidad haplotípica, el número de sitios polimórficos, la diversidad nucleotídica π (Nei 1987) y se estimó el parámetro poblacional θ_w (Watterson 1975) usando el programa ARLEQUIN v3.5 (Excoffier *et al.* 2010).

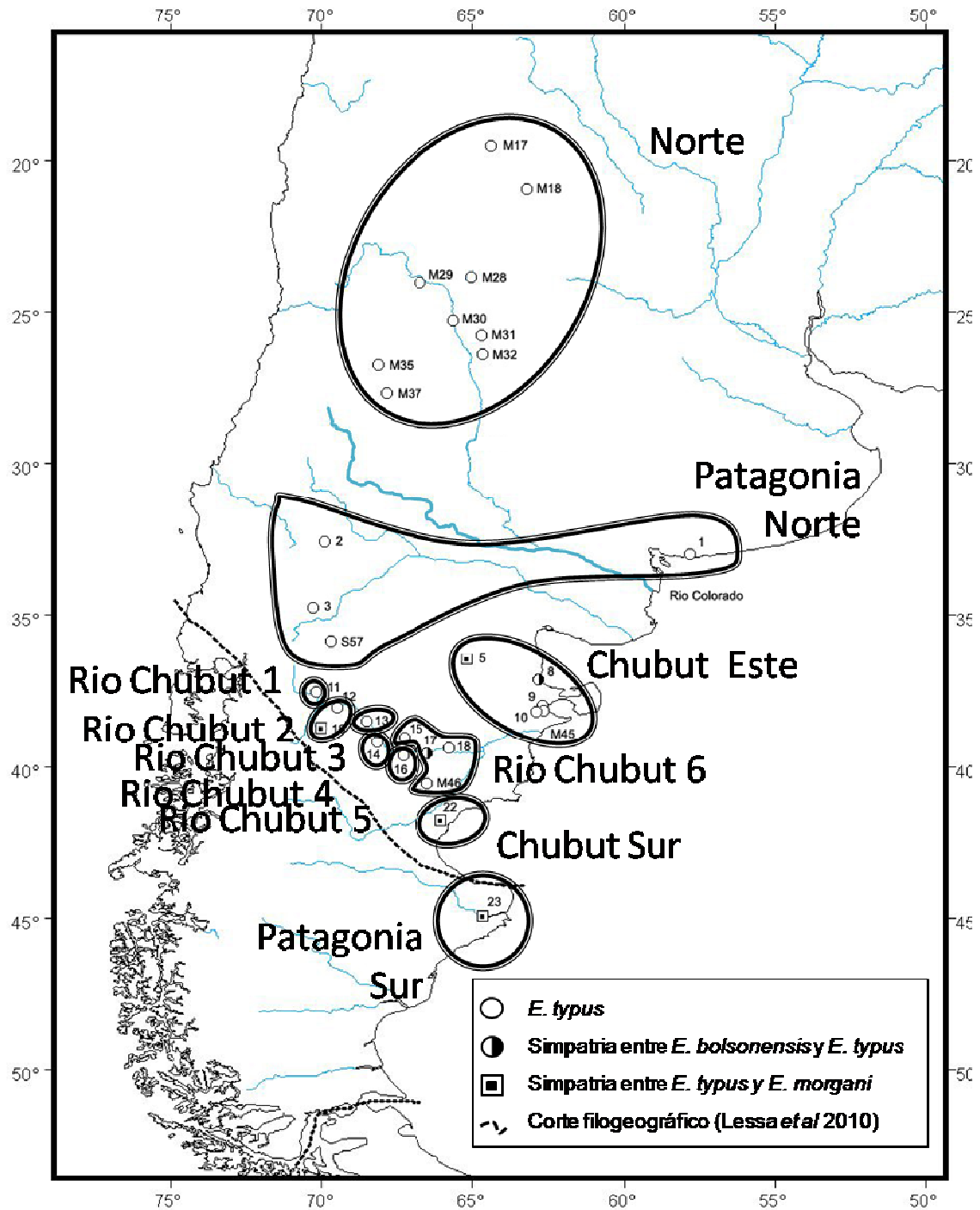


Figura 3: Mapa mostrando las poblaciones utilizadas para los análisis exploratorios de la estructura geográfica (MDS y SAMOVA) en *Eligmodontia typus*.

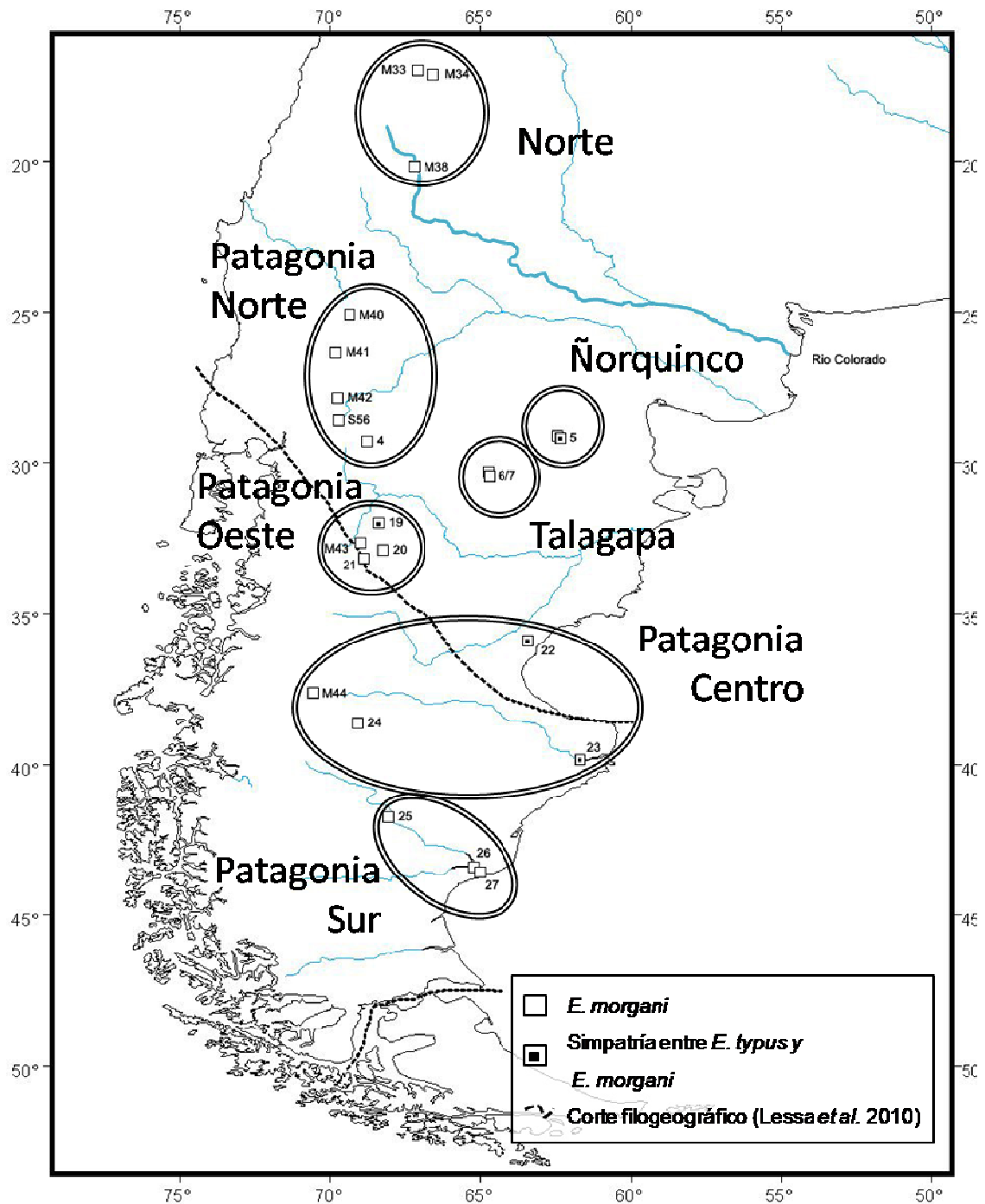


Figura 4: Mapa mostrando las poblaciones utilizadas para los análisis exploratorios de la estructura geográfica (MDS y SAMOVA) en *Eligmodontia morgani*.

Se realizó el análisis de la varianza molecular (*AMOVA*, del inglés: *analysis of molecular variance*, Excoffier *et al.* 1992) con estas 3 regiones utilizando el programa ARLEQUIN v3.5 (Excoffier *et al.* 2010) con el fin de evaluar la significación de los componentes de la varianza asociada a estos niveles de estructura poblacional y se calcularon los F_{ST} pareados entre las 3 regiones. Se realizaron las pruebas de neutralidad de Tajima (D, Tajima 1989) y de Fu (F_s , Fu 1997), se calculó la distribución observada del número de diferencias entre pares de haplotipos (en inglés *mismatch distribution*) con 1 000 replicas de *bootstrap* en el programa ARLEQUIN v3.5 (Excoffier *et al.* 2010) y se estimó el parámetro de crecimiento poblacional (G) por el método de máxima verosimilitud en el programa LAMARC v2.1.3 (Kuhner *et al.* 2005, Kuhner 2009). Para este último programa se integraron los resultados de 3 réplicas; cada una consistió de 20 cadenas iniciales y 5 cadenas finales, de las cuales 2 000 y 10 000 árboles fueron muestreados, respectivamente, usando muestreos cada 20 generaciones, utilizando el modelo mutacional Felsenstein 84 (=HKY).

En las regiones en que los análisis se ajustaron a un modelo de expansión poblacional se estimó el parámetro poblacional τ (Schneider & Excoffier 1999) con el programa ARLEQUIN v3.5 (Excoffier *et al.* 2010) con el fin de datar el evento de expansión, utilizando para *E. typus* una tasa de evolución de 3,707E-05 sustituciones por sitio por millón de años y para *E. morgani* una tasa de evolución de 4,506E-05 sustituciones por sitio por millón de años (Lessa *com. pers.*). Los intervalos de confianza para $\alpha = 0.05$ se calcularon utilizando una aproximación por 1 000 réplicas de *bootstrap* (Schneider & Excoffier 1999). Ver Recuadro 2.

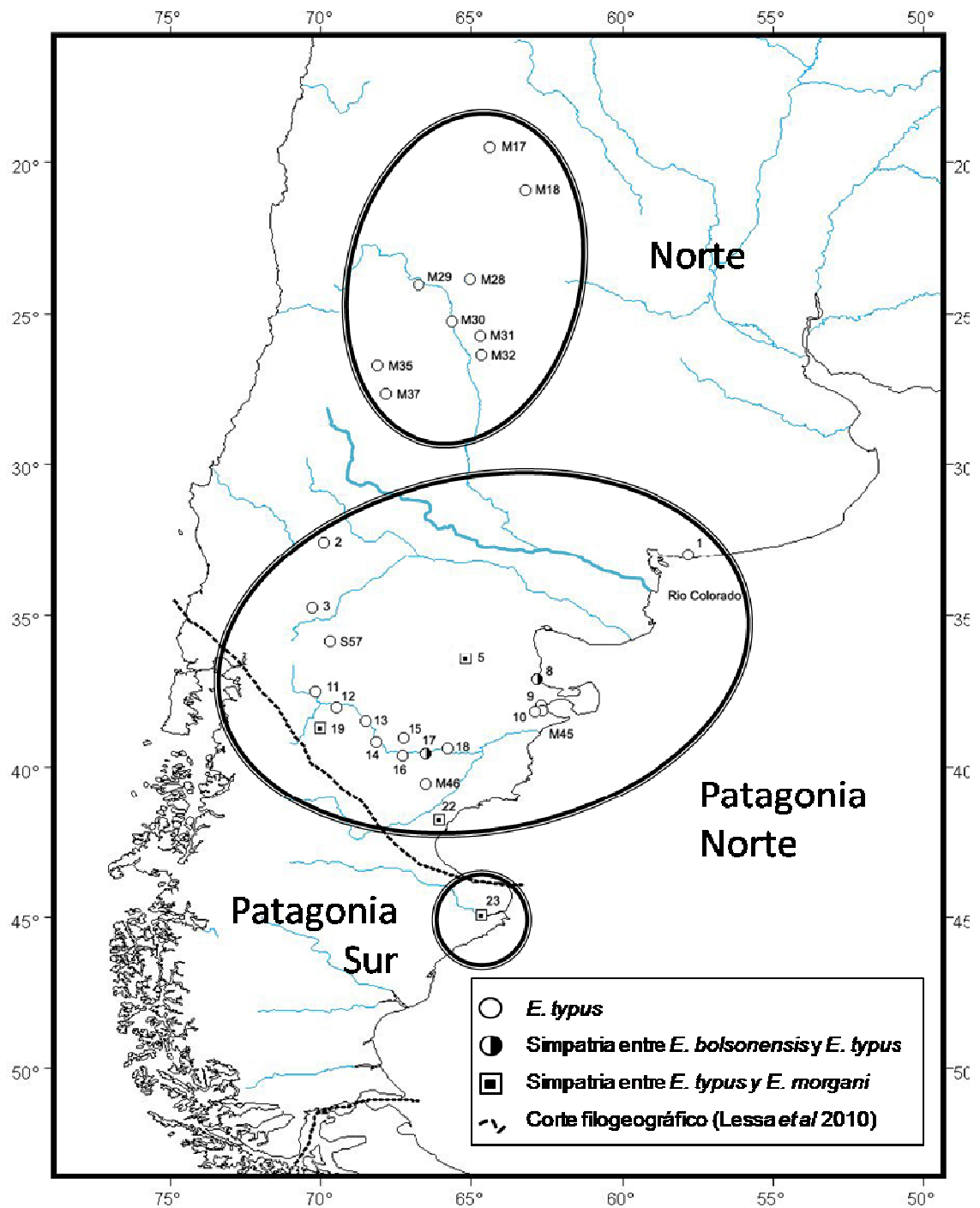


Figura 5: Mapa mostrando las 3 regiones en que se dividieron las localidades de muestreo de *Eligmodontia typus* para realizarlos análisis de variación genética.

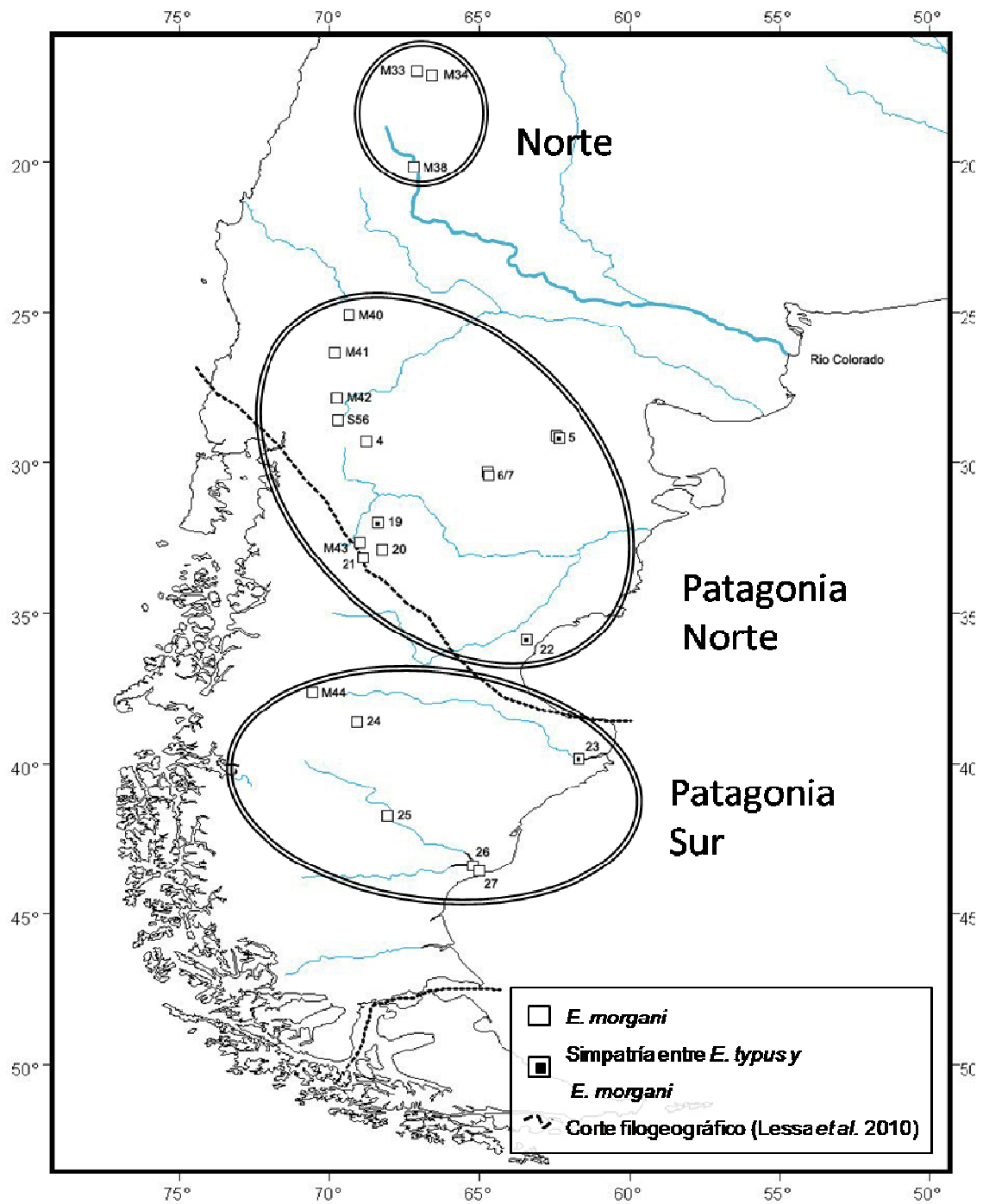


Figura 6: Mapa mostrando las 3 regiones en que se dividieron las localidades de muestreo de *Eligmodontia morgani* para realizar los análisis de variación genética.

Recuadro 2.**PRUEBAS DE NEUTRALIDAD**

Las pruebas de neutralidad permiten 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. Las dos pruebas utilizadas en este estudio se basan en la Teoría del Coalescente (Kingman 1982) y el modelo de Fisher-Wright con sitios infinitos sin recombinación. Esto significa que se asume que la población es de tamaño constante y finito, con apareamientos al azar y generaciones no solapantes, y sin selección (neutralidad) ni recombinación sobre el locus en cuestión. Además, el modelo de sitios infinitos plantea que al ser el número de sitios tan grande y la tasa de mutación tan baja (y constante en estos casos), cada mutación se produce en un sitio diferente siendo despreciable la probabilidad de mutaciones múltiples en un mismo sitio.

Cuando los datos se apartan significativamente de lo esperado según esas asunciones (es decir, la probabilidad de obtener los valores observados es improbable), se infiere que la neutralidad u otra asunción del modelo ha sido violada. El no rechazar la hipótesis puede ser evidencia de que el locus ha evolucionado bajo neutralidad, o simplemente mostrar que la prueba no es lo suficientemente poderosa como para detectar un apartamiento significativo del locus con ese tamaño muestral.

Ambas pruebas estadísticas se basan en comparaciones de diferentes estimadores del parámetro poblacional θ .

D de Tajima (Tajima 1989): compara dos estimadores de θ , uno basado en el número medio de diferencias pareadas (π) llamado θ_π y otro basado en el número de sitios segregantes (S) llamado θ_s o θ_w

$$\hat{\theta}_\pi = \pi \qquad \hat{\theta}_w = S / \sum_{i=1}^{n-1} (1/i)$$

$$D = \frac{\hat{\theta}_\pi - \hat{\theta}_w}{\sqrt{\text{Var}(\hat{\theta}_\pi - \hat{\theta}_w)}}$$

Recuadro 2 (continuación).

El primero es poco sensible a variaciones en las frecuencias alélicas mientras que el segundo es afectado en gran medida por las mismas. Cuando se cumplen las diferentes asunciones del modelo, el valor esperado del estadístico D es cero. Sin embargo, cuando no es así, por ejemplo frente a cambios en el tamaño poblacional o si el locus es sometido a selección, ambos estimadores responderán de manera diferente, y el estimador D se apartará de su valor esperado. Por ejemplo, en una población que aumenta su tamaño, el incremento de la variación ocurrirá inicialmente mediante la incorporación de los alelos de baja frecuencia, que contribuirán a S pero poco a π , por lo que θ_w crecerá más rápido θ_π y D será negativo. Cuando se llega a un nuevo equilibrio, ambos estimadores de θ se igualarán.

Fs de Fu (Fu 1997): Evalúa la probabilidad de una muestra con el número de clases alélicas igual o menor al observado dado el de diferencias pareadas, tomado como un estimador de θ . Esta probabilidad es llamada S' y es

$$S' = \Pr(K > k_{obs} \mid \hat{\theta} = \hat{\theta}_\pi) = \sum_{k \geq k_0} \frac{|S_k| \hat{\theta}_\pi^k}{S_n(\hat{\theta})}$$

donde $S_n(\hat{\theta}_\pi) = (\hat{\theta}_\pi - 1) \dots (\hat{\theta}_\pi - n + 1)$

y S_k es el coeficiente de $\hat{\theta}_\pi^k$ en S_n

$$F_s = \ln(S' / (1 - S'))$$

Para obtener los valores críticos, se obtiene una distribución empírica del estadístico a partir de simuladores de poblaciones ideales con los valores de θ estimados

Este estadístico debe considerarse como significativo al 5% si su p-valor es menor a 0,02; y no como en otros casos menor a 0,05.

3 RESULTADOS

3.1 VARIACIÓN GENÉTICA Y DIVERSIDAD DE HAPLOTIPOS EN EL GÉNERO *ELIGMODONTIA*

De las 166 muestras 126 pertenecen a *E. typus*, 38 a *E. morgani* y 2 a *E. bolsonensis*, lo cual fue determinado por medio de BLAST y corroborado con las reconstrucciones filogenéticas realizadas (Tabla 3). Se agregaron las secuencias disponibles en *GenBank*, y así se tuvo un total de 241 secuencias del género *Eligmodontia*, siendo 155 de *E. typus*, 53 de *E. morgani*, 11 de *E. bolsonensis*, 13 de *E. moreni*, 6 de *E. hirtipes* y 2 de *E. puerulus*. Las frecuencias nucleotídicas en este conjunto de secuencias fue 13,4% de Guanidina, 26,0% de Citosina, 30,7% de Timina y 29,8% de Adenina. La relación observada de transiciones / transversiones en el total de las secuencias fue de 12,323. Estos resultados son coherentes con lo encontrado en mamíferos en general (Irwin *et al.* 1991).

En todo el género se encontraron 220 sitios variables, definiendo 157 haplotipos, de los cuales 107 son de *E. typus*, 24 de *E. morgani*, 9 de *E. bolsonensis*, 10 de *E. moreni*, 5 de *E. hirtipes* y 2 de *E. puerulus*. La diversidad haplotípica (H_d) de *E. typus*, *E. morgani*, *E. bolsonensis*, *E. moreni*, *E. hirtipes* y *E. puerulus* fue de 0.9878, 0.8846, 0.9636, 0.9487, 0.9333 y 1.0000, respectivamente. Algo que cabe destacar es que la gran mayoría de los haplotipos aparecen en solo un individuo muestreado.

3.2 RELACIONES ENTRE HAPLOTIPOS

El programa MODELGENERATOR v0.85 (Keane *et al.* 2006) determinó que el modelo de sustituciones nucleotídicas se ajusta más a este conjunto de secuencias es el *HKY* (Hasegawa-Kishino-Yano, Hasegawa *et al.* 1985) con una proporción de sitios invariables y parámetros de distribución gamma con cuatro categorías a estimar. Este resultado concuerda con lo que se sabe del ADN mitocondrial (e.g. Aquadro & Greenberg 1983, Bickham *et al.* 1996, Lara *et al.* 1996), ya que este modelo permite considerar diferencias en las frecuencias nucleotídicas y la presencia de un sesgo de transiciones contra transversiones.

Tabla 3: Número de especímenes de cada especie y en total en cada localidad.

Localidad	<i>E.</i>	<i>E.</i>	<i>E.</i>	Total	Localidad	<i>E.</i>	<i>E.</i>	<i>E.</i>	Total
1	1			1	15	1			1
2	1			1	16	16			16
3	1			1	17	7		1	8
4	1	5		6	18	3			3
5		1		1	19	1	1		2
6		4		4	20		3		3
7		2		2	21		2		2
8	22		1	23	22	14	4		18
9	1			1	23	17	2		19
10	1			1	24		1		1
11	15			15	25		14		14
12	11			11	26		2		2
13	13			13	27		2		2
14	15			15	TOTAL	126	38	2	166

Las topologías de los árboles mostrando las relaciones filogenéticas entre haplotipos se presentan en las figuras 7 y 8, junto con los valores de *bootstrap* que apoyan los nodos en más del 50% de las réplicas, en el caso de la reconstrucción por Maxima Verosimilitud, o sus probabilidades posteriores en el caso de la reconstrucción bayesiana. Como puede observarse, estas dos reconstrucciones filogenéticas coinciden con los grandes clados correspondientes a especies, así como aquellos principales dentro de las especies.

En estas reconstrucciones filogenéticas se confirma la monofilia del género *Eligmodontia*, y se observa que *E. puerulus* es hermano de *E. moreni*. A su vez el clado que estos forman es hermano de *E. hirtipes*, y el clado que estas tres especies forman es hermano de *E. morgani*. Por otro lado *E. typus* es parafilético con respecto a *E. bolsonensis*, y el clado que estas dos especies forman es hermano del formado por *E. morgani*, *E. hirtipes*, *E. moreni* y *E. puerulus* (esquema en Figura 11).

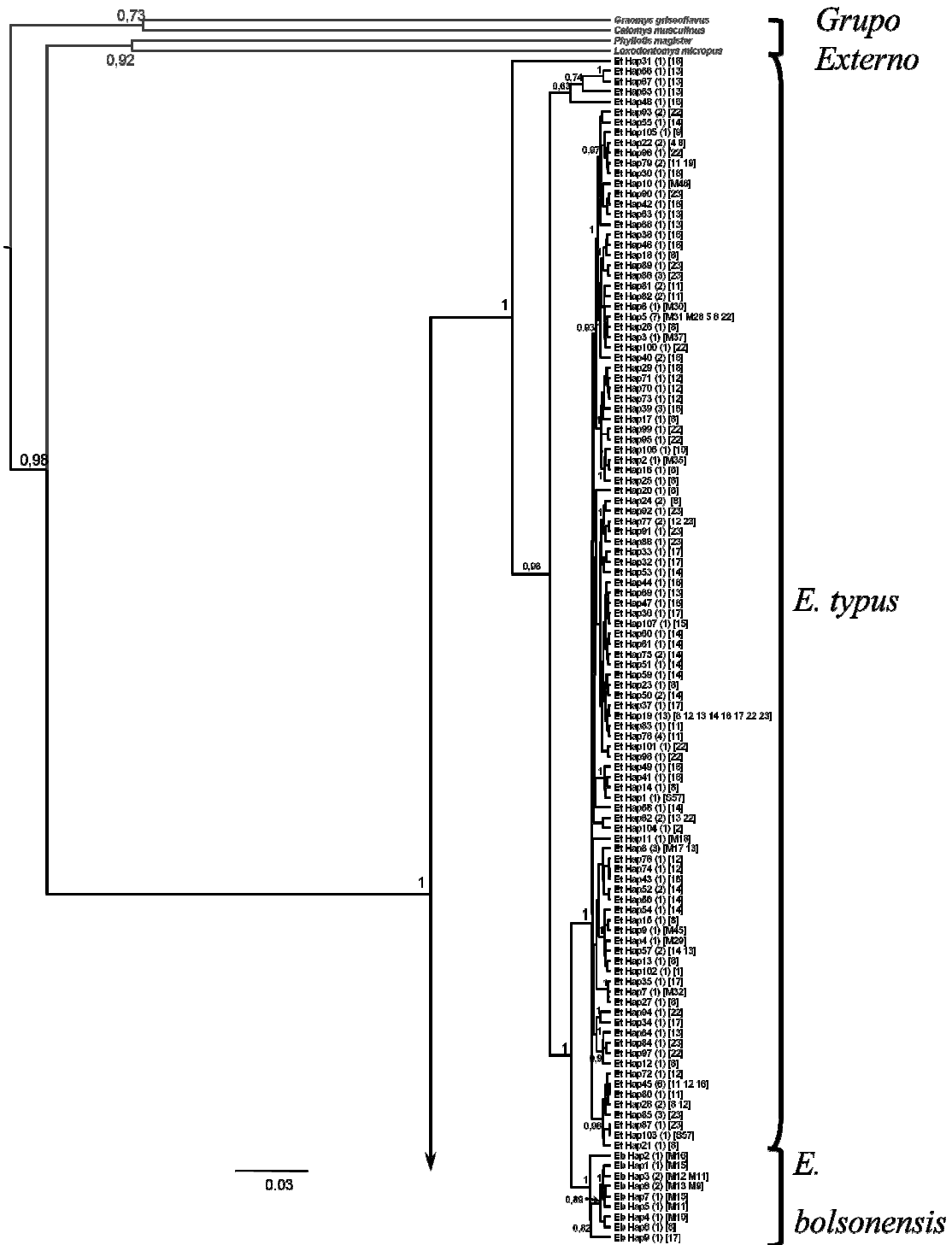


Figura 7: Reconstrucción filogenética del género *Eligmodontia* mediante el método bayesiano. Este es el árbol consenso. Los números en los nodos indican la probabilidad posterior del nodo. Solo se muestran las probabilidades posteriores mayores a 0,60. Eb = *Eligmodontia bolsonensis*, Eh = *Eligmodontia hirtipes*, Eme = *Eligmodontia moreni*, Em = *Eligmodontia morgani*, Ep = *Eligmodontia puerulus*, Et= *Eligmodontia typus*. Números entre paréntesis curvos representan la cantidad de individuos con ese haplotipo, números entre paréntesis rectos son las localidades en las que se encontró ese haplotipo.

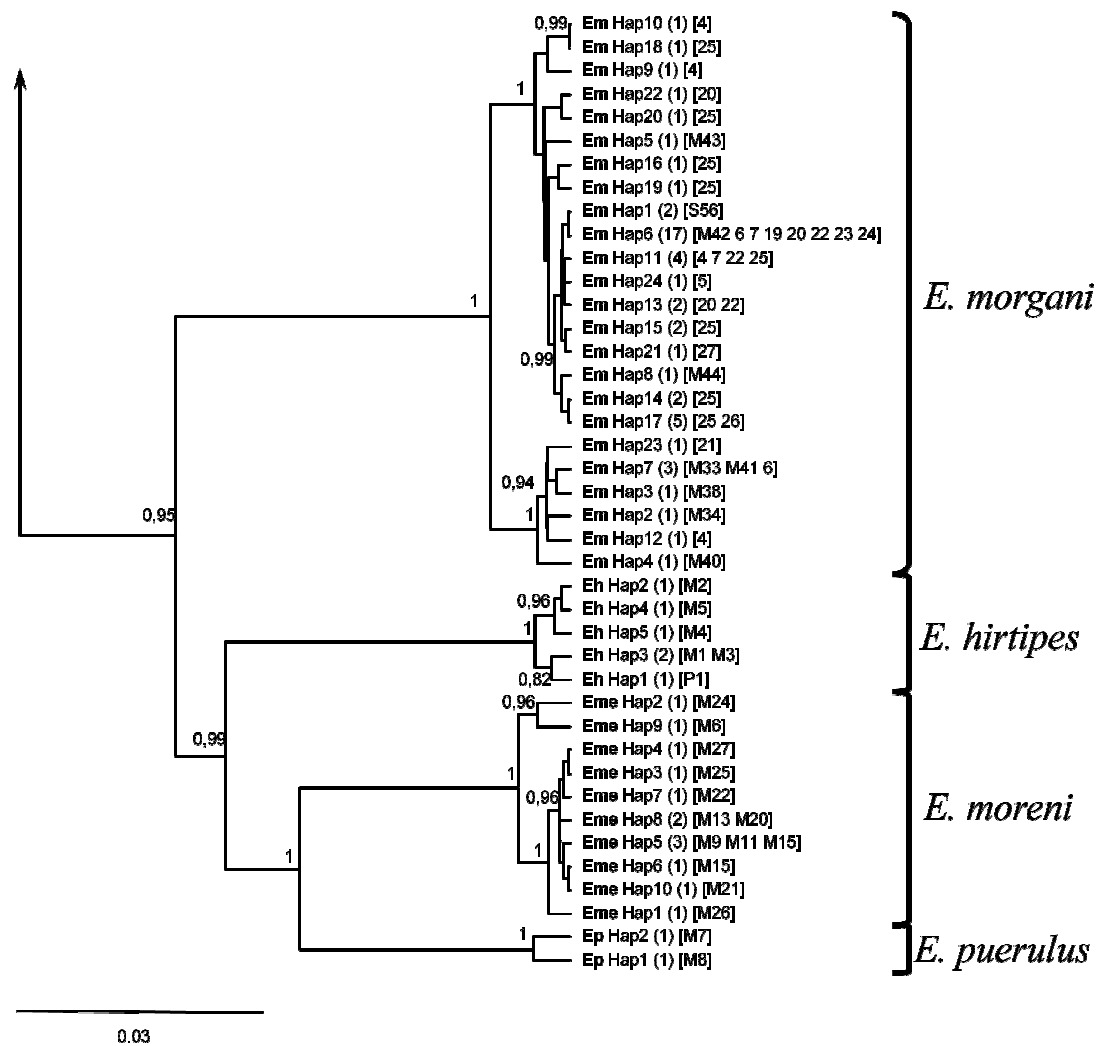


Figura 7 (Continuación): Reconstrucción filogenética del género *Eligmodontia* mediante el método bayesiano. Este es el árbol consenso. Los números en los nodos indican la probabilidad posterior del nodo. Solo se muestran las probabilidades posteriores mayores a 0,60. Eb = *Eligmodontia bolsonensis*, Eh = *Eligmodontia hirtipes*, Eme = *Eligmodontia moreni*, Em = *Eligmodontia morgani*, Ep = *Eligmodontia puerulus*, Et = *Eligmodontia typus*. Números entre paréntesis curvos representan la cantidad de individuos con ese haplotipo, números entre paréntesis rectos son las localidades en las que se encontró ese haplotipo.

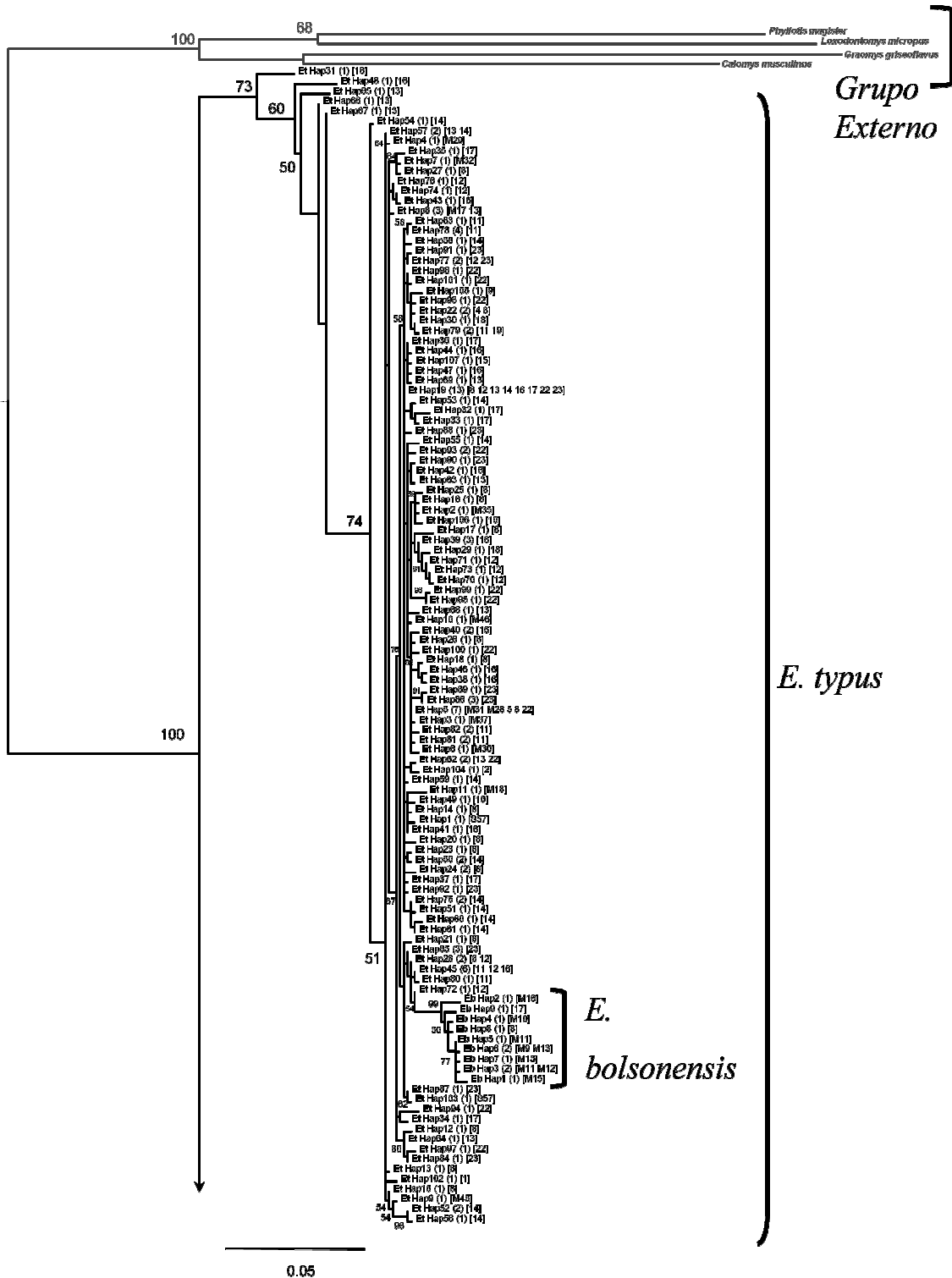


Figura 8: Reconstrucción filogenética del género *Eligmodontia* mediante Máxima Verosimilitud. Este es el árbol de máxima verosimilitud encontrado. Los números en los nodos indican su apoyo por *bootstrap*. Solo se muestran los apoyos mayores al 50%. Eb = *Eligmodontia bolsonensis*, Eh = *Eligmodontia hirtipes*, Eme = *Eligmodontia moreni*, Em = *Eligmodontia morgani*, Ep = *Eligmodontia puerulus*, Et = *Eligmodontia typus*. Números entre paréntesis curvos representan la cantidad de individuos con ese haplotipo, números entre paréntesis rectos son las localidades en las que se encontró ese haplotipo.

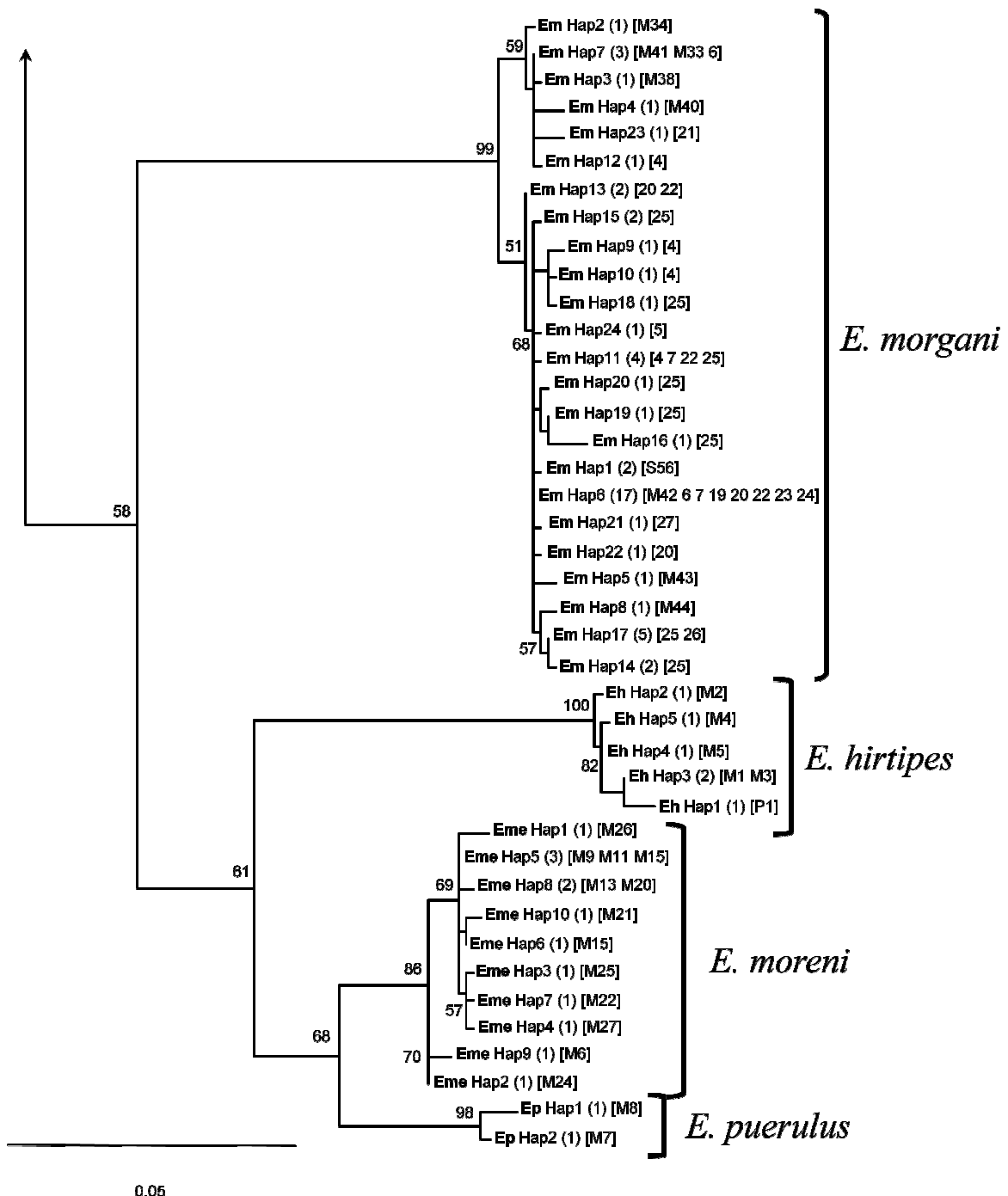


Figura 8 (continuación): Reconstrucción filogenética del género *Eligmodontia* mediante Máxima Verosimilitud. Este es el árbol de máxima verosimilitud encontrado. Los números en los nodos indican su apoyo por *bootstrap*. Solo se muestran los apoyos mayores al 50%. Eb = *Eligmodontia bolsonensis*, Eh = *Eligmodontia hirtipes*, Eme = *Eligmodontia moreni*, Em = *Eligmodontia morgani*, Ep = *Eligmodontia puerulus*, Et = *Eligmodontia typus*. Números entre paréntesis curvos representan la cantidad de individuos con ese haplotipo, números entre paréntesis rectos son las localidades en las que se encontró ese haplotipo.

Estas reconstrucciones recuperan una filogenia tipo estrella para *E. typus*, y para *E. morgani* en uno de los dos clados recuperados. Se puede observar que no hay una estructura geográfica detectable a simple vista en *E. typus* ni en *E. morgani*. El haplotipo más antiguo de *E. typus*, en ambas reconstrucciones filogenéticas, es el EtHap31 el cual se encontró en un individuo muestreado en la localidad 18, y de *E. morgani* en uno de los clados es EmHap2 (localidad M34) para la reconstrucción por Máxima Verosimilitud y EmHap4 (localidad M40) para la reconstrucción por el método bayesiano y en el otro clado es EmHap13 (Localidades 20 y 22) para la reconstrucción por Máxima Verosimilitud y los haplotipos EmHap9, EmHap10 y EmHap18 (Localidades 4 y 25) para la reconstrucción por el método bayesiano

3.3 DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DE LAS ESPECIES DEL GÉNERO *ELIGMODONTIA*

Encontramos haplotipos característicos de *E. bolsonensis* en dos nuevas localidades: Localidad 8 y 17, ambas en la provincia de Chubut. La distancia entre la localidad M16, localidad más al sureste del rango de distribución original de la especie, y la localidad 8 es de 1578 km, y la localidad 17 es de 1931 km. Por tanto, reportamos simpatría entre *E. typus* y *E. bolsonensis* en estas dos localidades (Tabla 3 y Figura 9).

Encontramos a *E. morgani* en cuatro nuevas localidades: Localidad 22 y 23 en la provincia de Chubut, Localidad 26 y 27 en la provincia de Santa Cruz. Estas localidades expanden el rango de distribución de esta especie según el estudio de distribución de *UICN* (Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza, IUCN 2010) hacia la costa atlántica de la Patagonia. En esta especie reportamos simpatría con *E. typus* en otras cuatro localidades: Localidad 5, 19 y 22 en la provincia de Chubut y Localidad 23 en la provincia de Santa Cruz (Tabla 3 y Figura 10).

Para el resto de las especies no encontramos localidades que no estuvieran comprendidas en el rango de distribución ya reportados.

3.4 PORCENTAJE Y TIEMPO DE DIVERGENCIA ENTRE ESPECIES DEL GÉNERO

ELIGMODONTIA

Al calcular los porcentajes de divergencia dentro y entre clados representando especies de *Eligmodontia* (Tabla 4), encontramos dentro de clados, porcentajes de divergencia que van desde 0,395% en *E. hirtipes* a 0,812% en *E. morgani*. Los porcentajes de divergencia comparando especies van desde 1,672% entre *E. bolsonensis* y *E. typus* a 11,828% entre *E. hirtipes* y *E. morgani*, siendo la divergencia promedio entre especies del 8,887%.

Los tiempos de divergencia basados en los porcentajes de divergencia de las transversiones en la tercera posición del codón (Tabla 5) son consistentes con la bibliografía (Mares *et al.* 2008). El tiempo estimado de divergencia para el género *Eligmodontia* es de 9,1 millones de años. La divergencia entre la mayoría de los linajes es relativamente joven, siendo la separación de *E. typus* y *E. bolsonensis* entre 41 600 años y 104 800 años la más reciente.

Los tiempos del ancestro común más reciente (*TMRCA*) de cada especie (Tabla 6) también son consistentes con la bibliografía (Mares *et al.* 2008). Los *TMRCA* más recientes son el de *E. bolsonensis* estimado entre 95 000 años y 264 000 años y el de *E. moreni-E. puerulus* estimado entre 457 000 años y 887 000 años. El tiempo de divergencia entre los dos clados de *E. morgani* es entre 169 200 años y 402 200 años, cifra comparable al del origen de la especie más joven del género (Figura 11).

Las dos estimaciones de tiempos de divergencia entre clados en general concuerdan. Las diferencias radican en los clados mas jóvenes (separación *E. typus-E. bolsonensis* y *E. moreni-E. puerulus*), en donde la estimación basados en las transversiones de la 3er posición del codón estiman tiempos menores y sus intervalos de confianza no se solapan con los tiempos estimados por medio del *TMRCA*.

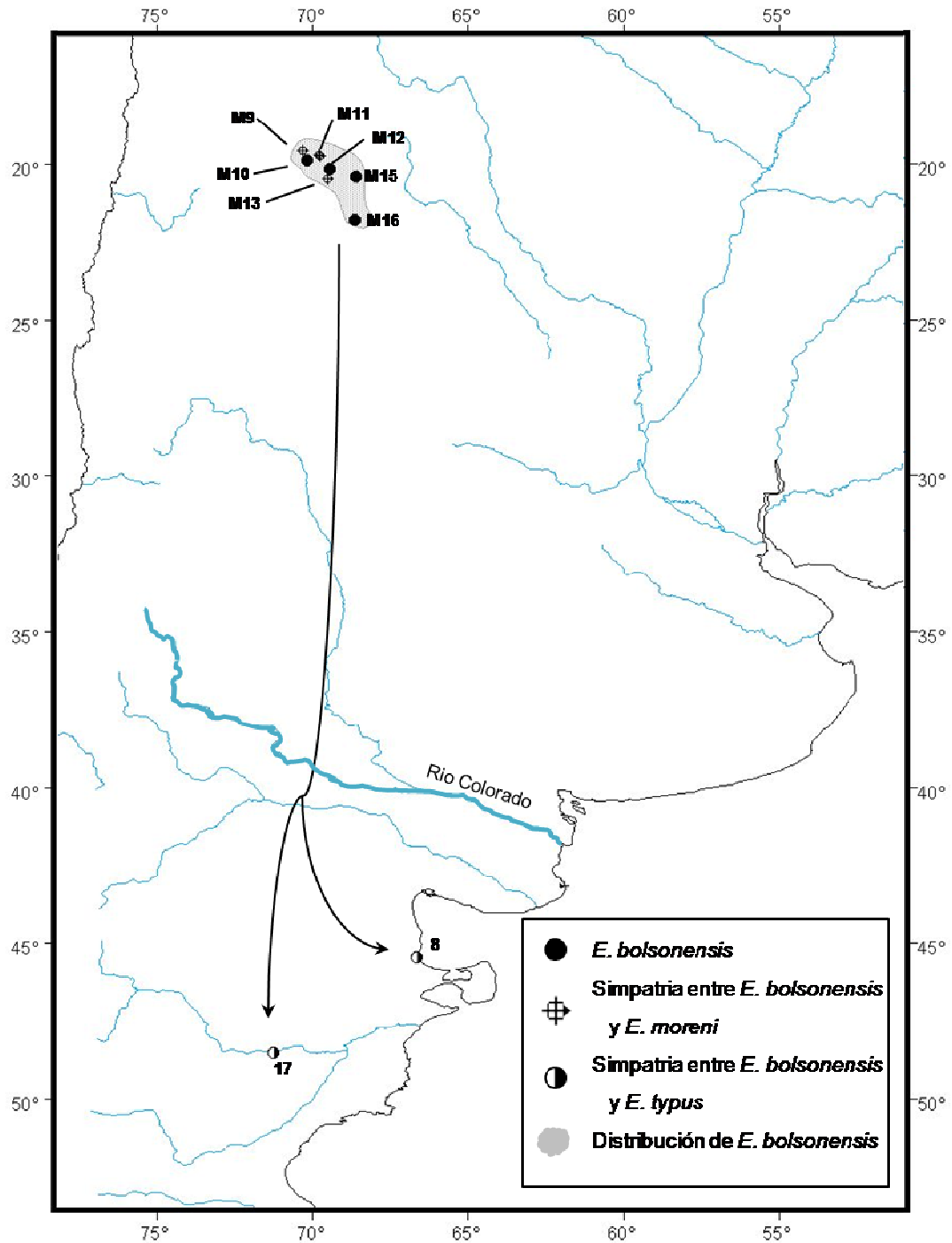


Figura 9: Mapa mostrando la distribución original de *E. bolsonensis* (Mares *et al.* 2008) y las nuevas localidades reportadas en este trabajo.

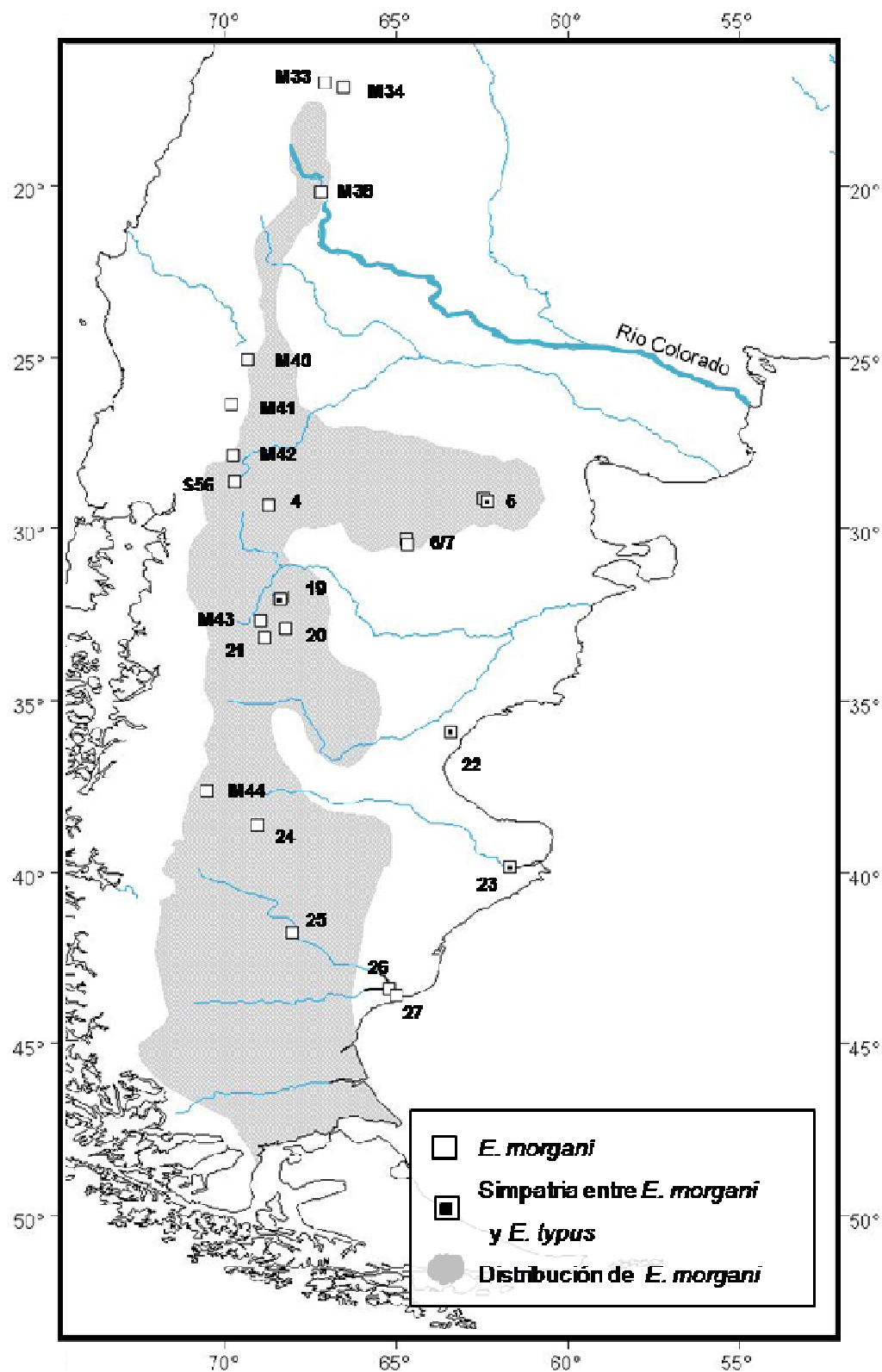


Figura 10: Mapa mostrando la distribución de *E. morgani* tomada de UICN y las nuevas localidades reportadas en este trabajo.

Tabla 4: Porcentaje de divergencia dentro y entre clados. Los porcentajes de divergencias dentro y entre clados, computados con una distancia corregida por K2P. En la diagonal de la matriz se muestran los porcentajes dentro de clados. Entre paréntesis rectos se muestran los errores estándar.

	<i>E. morgani</i>	<i>E. typus</i>	<i>E. hirtipes</i>	<i>E. moreni</i>	<i>E. bolsonensis</i>	<i>E. puerulus</i>	Grupo Externo
<i>E. morgani</i>	0,812						
<i>E. typus</i>	[0,164] 11,282 [1,408]	0,789 [0,137]					
<i>E. hirtipes</i>	11,828 [1,453]	10,823 [1,332]	0,395 [0,173]				
<i>E. moreni</i>	9,428 [1,286]	9,035 [1,256]	6,811 [1,005]	0,732 [0,190]			
<i>E. bolsonensis</i>	11,487 [1,433]	1,672 [0,438]	11,316 [1,400]	9,947 [1,341]	0,398 [0,131]		
<i>E. puerulus</i>	10,270 [1,415]	9,415 [1,309]	6,656 [1,062]	4,078 [0,744]	9,256 [1,274]	0,539 [0,301]	
Grupo Externo	19,737 [1,525]	18,872 [1,490]	18,785 [1,492]	18,950 [1,511]	18,880 [1,491]	19,179 [1,557]	19,704 [1,446]

Tabla 5: Tiempos de divergencia estimados para los clados de *Eligmodontia* basados en las transversiones de la 3er posición del codón. Se muestran los porcentajes de divergencia entre las especies y con el grupo externo del género *Eligmodontia* y las estimaciones de tiempo de divergencia con una tasa de divergencia de 2,3% por millón de años (Reig 1987). Los tiempos de divergencia están representados en millón de años. Entre paréntesis rectos se muestran los errores estándar.

Clado	3er posición (%)	2,3%/millón de años
<i>Eligmodontia</i> vs. Grupo Externo	20,924 [2,875]	9,098 [1,250]
<i>E. typus</i> vs. <i>E. bolsonensis</i>	0,168 [0,073]	0,073 [0,032]
<i>E. typus</i> , <i>E. bolsonensis</i> vs. <i>E. morgani</i> , <i>E. hirtipes</i> , <i>E. puerulus</i> , <i>E. moreni</i>	4,651 [1,449]	2,022 [0,629]
<i>E. morgani</i> vs. <i>E. hirtipes</i> , <i>E. puerulus</i> , <i>E. moreni</i>	3,923 [1,214]	1,706 [0,528]
<i>E. hirtipes</i> vs. <i>E. puerulus</i> , <i>E. moreni</i>	4,611 [1,622]	2,005 [0,705]
<i>E. puerulus</i> vs. <i>E. moreni</i>	0,541 [0,055]	0,235 [0,024]

Tabla 6: Tiempo del Ancestro Común más Reciente (TMRCA) para cada clado. La media, el límite superior e inferior del intervalo de confianza del 95% (IC 95%) de la estimación se muestran en millones de años.

Clado	TMRCA		
	media	superior	inferior
<i>Eligmodontia</i>	7,009	8,647	5,690
<i>E. bolsonensis</i>	0,175	0,264	0,095
<i>E. morgani</i> + <i>E. hirtipes</i> + <i>E. moreni</i> + <i>E. puerulus</i>	1,704	2,070	1,371
<i>E. hirtipes</i> + <i>E. moreni</i> + <i>E. puerulus</i>	1,123	1,429	0,832
<i>E. moreni</i> + <i>E. puerulus</i>	0,665	0,887	0,457

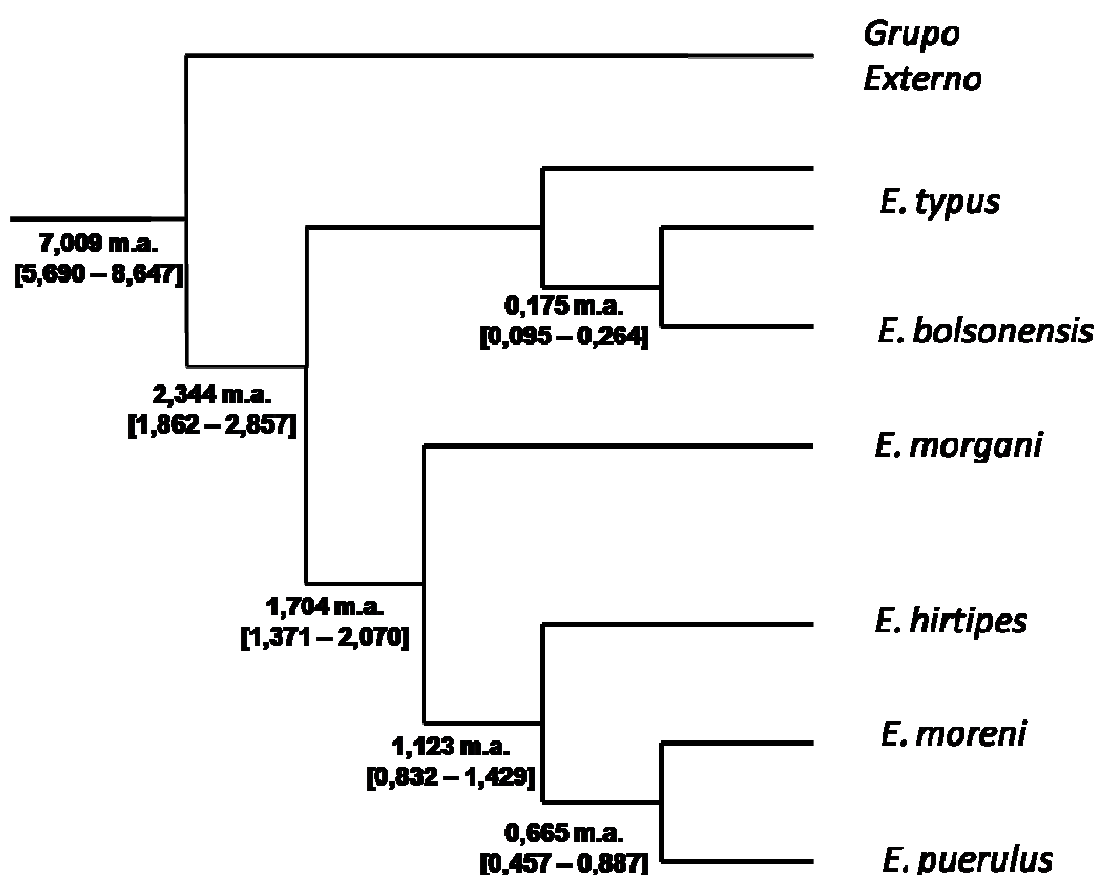


Figura 11: Esquema de las relaciones filogenéticas entre las especies del genero *Eligmodontia*. En los nodos se indica el TMRCA en millón de años.

3.5 DEMOGRAFÍA HISTÓRICA DE LAS ESPECIES DEL GÉNERO *ELIGMODONTIA*

En la tabla 7 se presentan los valores calculados de la diversidad nucleotídica π , el parámetro poblacional θ_w , el número de haplotipos y la diversidad haplotípica (H_d) para cada una de las especies. *E. hirtipes* mostró los π y θ_w más bajos de 4,133 y 4,379 respectivamente y *E. typus* presentó los π y θ_w más altos de 7,584 y 24,388 respectivamente. La especie que mostró el menor número de haplotipos es *E. puerulus*, siendo esto lógico ya que esta especie está representada en este estudio por solo dos individuos. La especie que mostró el mayor número de haplotipos es *E. typus* con 107 haplotipos, y también el H_d mayor, sin contar a *E. puerulus*.

Los resultados de las pruebas de neutralidad y el parámetro de crecimiento poblacional (G) con sus respectivos valores de probabilidad para cada una de las especies se muestran en la tabla 8. Únicamente *E. typus* y *E. morgani* mostraron resultados negativos y significativos para las pruebas de Fu y de Tajima. El parámetro G resultó positivo y significativo en *E. moreni*, *E. morgani* y *E. typus*. Estos resultados sugerirían expansión poblacional o posible señal de selección positiva en estas especies. Aunque la distribución de *mismatch* fue unimodal sólo para *E. typus*, lo que implica que sólo esta especie se ajustó a lo esperado bajo un evento de expansión poblacional (Figura 12). El valor calculado de τ para el evento de expansión de *E. typus* bajo el modelo de expansión demográfica fue de 5,121 unidades mutacionales (IC 3,379 – 9,836), mientras que el valor de τ bajo el modelo de expansión espacial fue de 4,715 unidades mutacionales (CI 3,118 – 7,790). Los tiempos estimados de la expansión a partir de estos τ fueron de 69 061, 07 años (IC 45 446,53 años – 132 643,73 años) con el modelo de expansión demográfica y de 63 581,86 años (IC 42 050,59 años – 105 056,47 años) con el modelo de expansión espacial. Ver Tabla 9.

Los resultados de la reconstrucción de la historia demográfica por medio del *Bayesian Skyline Plot (BSP)* para *E. typus* y *E. morgani* se muestran en la figura 13. Esta reconstrucción encontró que *E. typus* sufrió una expansión poblacional que comenzó hace unos 100 000 años, lo cual concuerda con los tiempos estimados a partir de τ . Los resultados de *BSP* no muestran una expansión poblacional en *E. morgani*.

Tabla 7: Diversidad nucleotídica π , parámetro poblacional θ_w , número de haplotipos y diversidad haplotípica (Hd) para las 6 especies del género *Eligmodontia*.

	π	θ_w	número de haplotipos	Hd
<i>E. bolsonensis</i>	4,473	6,487	9	0,964
<i>E. hirtipes</i>	4,133	4,379	5	0,933
<i>E. moreni</i>	4,667	6,123	10	0,949
<i>E. morgani</i>	4,640	9,035	24	0,885
<i>E. puerulus</i>	6,000	6,000	2	1
<i>E. typus</i>	7,584	24,388	107	0,988

Tabla 8: Resultados de las pruebas de neutralidad y el parámetro de crecimiento poblacional para cada una de las especies. Entre parentesis rectos se muestran los p – valores en los casos de F_s de Fu y D de Tajima, y los intervalos de confianza del 99% para G. Los asteriscos indican valores con significancia menor a 0,05 en los casos de F_s y D, e intervalos de confianza significativos para G

	F_s	D	G
<i>E. bolsonensis</i>	-3,154 [0,035]	-1,402 [0,052]	761,48 [-108,73; 3260,47]
<i>E. hirtipes</i>	-0,687 [0,267]	-0,338 [0,339]	948,35 [-611,82; 7187,50]
<i>E. moreni</i>	-3,264 [0,039]	-1,013 [0,134]	1018,21 * [9,78; 4619,78]
<i>E. morgani</i>	-9,760 * [0,002]	-1,650 * [0,017]	515,52 * [79,88; 1491,72]
<i>E. typus</i>	-24,650 * [0,0001]	-2,200 * [0,001]	342,50 * [200,98; 581,07]

Tabla 9: Parámetro poblacional τ y tiempos estimados de expansión para *E. typus*. Los τ estimados bajo los modelos de expansión demográfica y de expansión espacial para *E. typus* y los tiempos estimados a partir de τ , expresados en años. Entre paréntesis rectos se muestra el intervalo de confianza del 99%.

	Modelo de Expansión Demográfica		Modelo de Expansión Espacial	
	τ	tiempo estimado	τ	tiempo estimado
<i>E. typus</i>	5,121 [3,379 - 9,836]	69.061 [45.447 - 132.644]	4,715 [3,118 - 7,790]	63.582 [42.051 - 105.056]

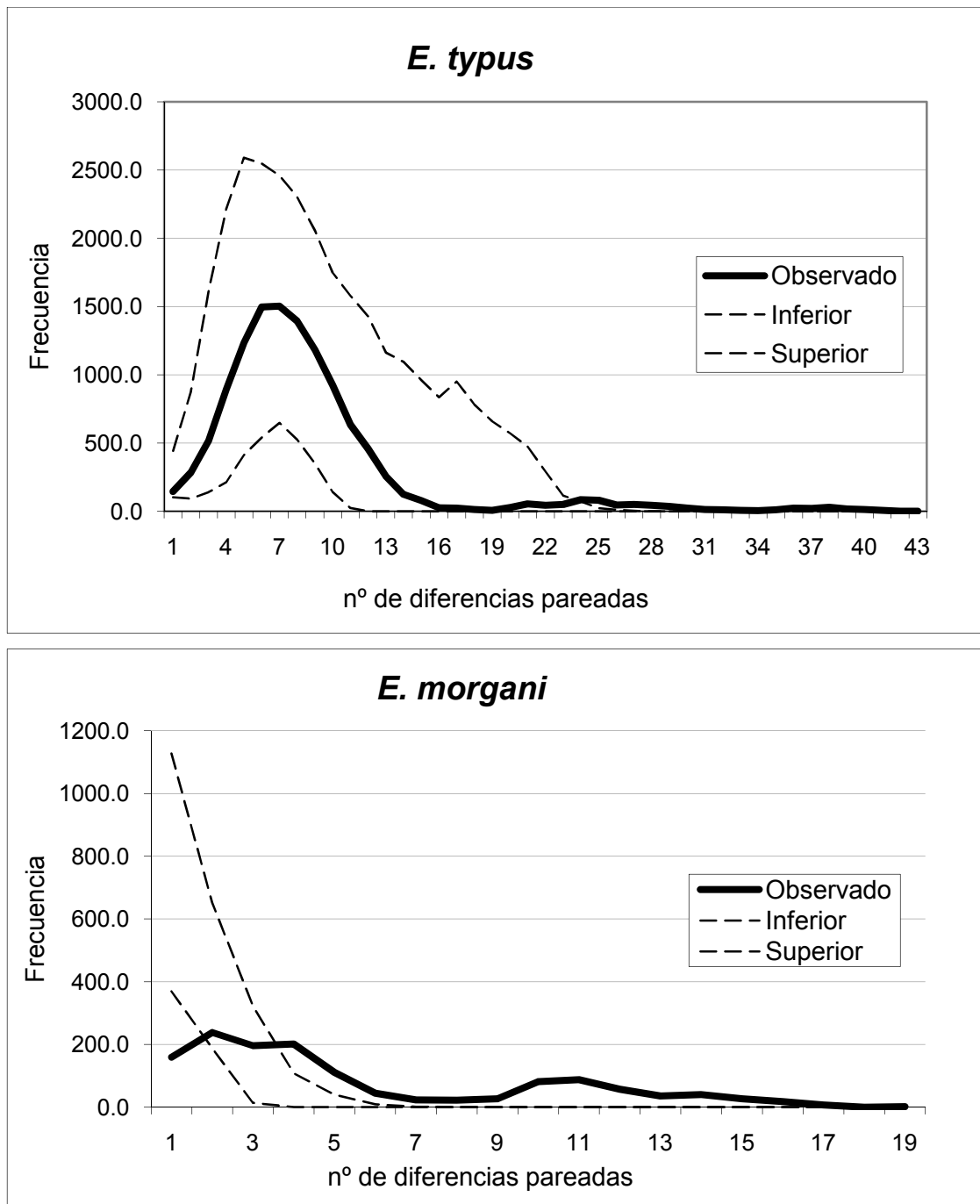


Figura 12: Distribución de diferencias pareadas e intervalo de confianza del 99% bajo el modelo de expansión demográfica para *E. typus* y *E. morgani*.

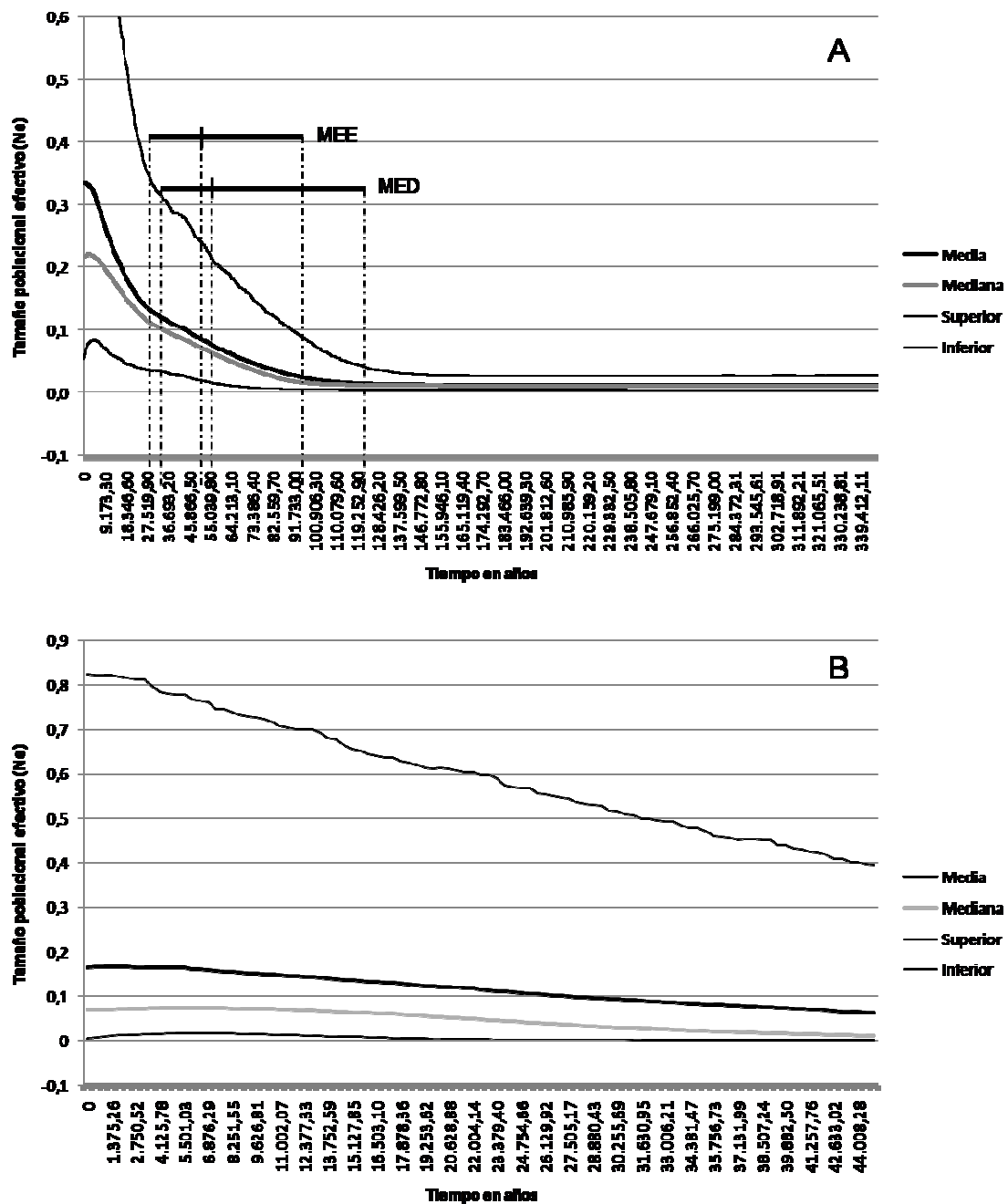


Figura 13: Graficas mostrando los resultados de *BSP* para *E. typus* (A) y *E. morgani* (B) junto con los tiempos de expansión estimados por τ para *E. typus*. MED: Modelo de Expansión Demográfica, MEE: Modelo de Expansión Espacial.

3.6 ESTRUCTURA POBLACIONAL EN *E. typus* Y *E. MORGANI*

Los análisis de escalamiento multidimensional (MDS) para *E. typus* y *E. morgani* se muestran en las figuras 14 y 15 respectivamente. En *E. typus* no se ve un patrón geográfico claro, mientras que en *E. morgani* el patrón geográfico es un poco más claro, donde la región “No Patagonia” se encuentra bien separada del resto de las regiones, y a la región “Patagonia Sur” se encuentra un poco apartada del resto.

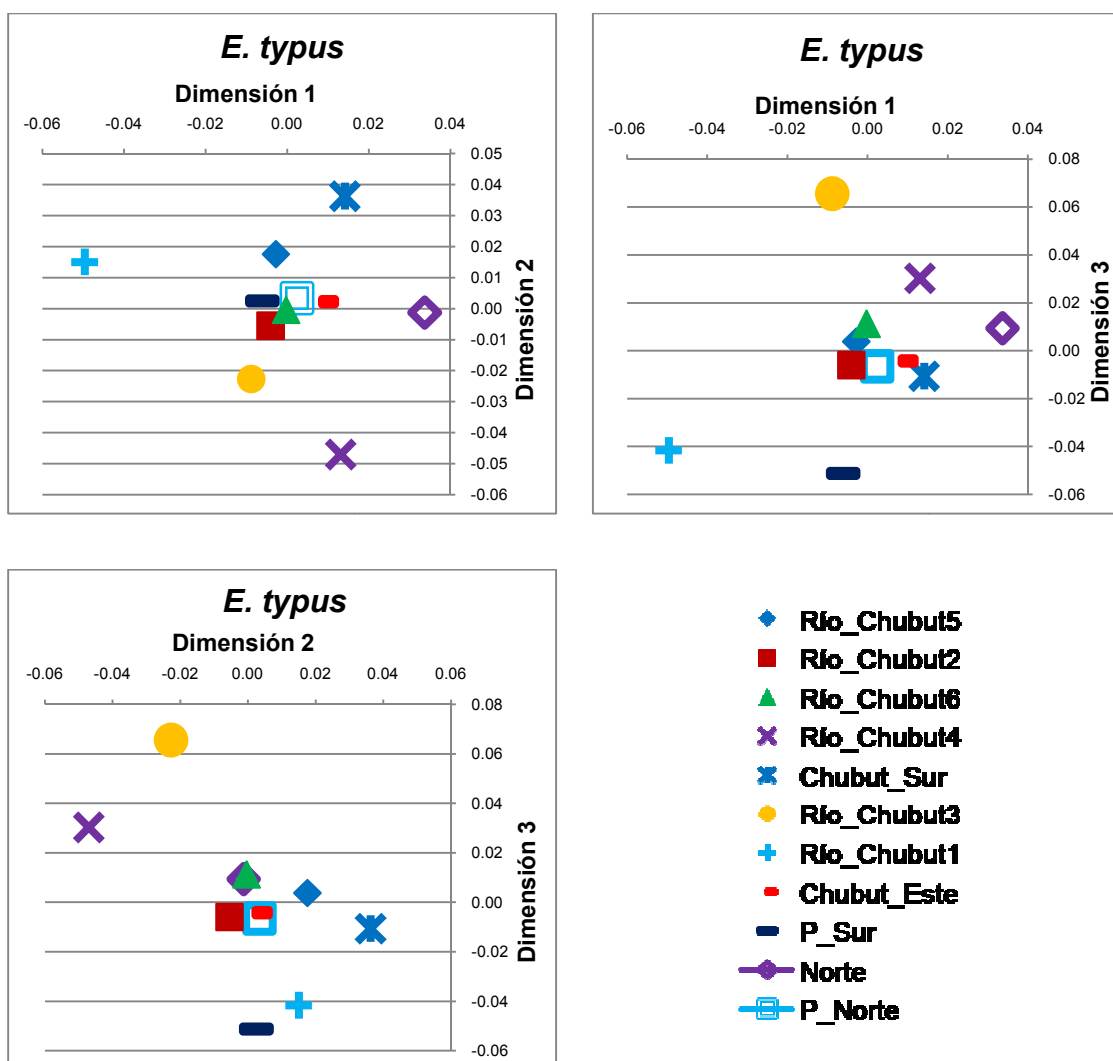


Figura 14: Graficas de los análisis de escalamiento multidimensional (MDS) en tres dimensiones de *E. typus*.

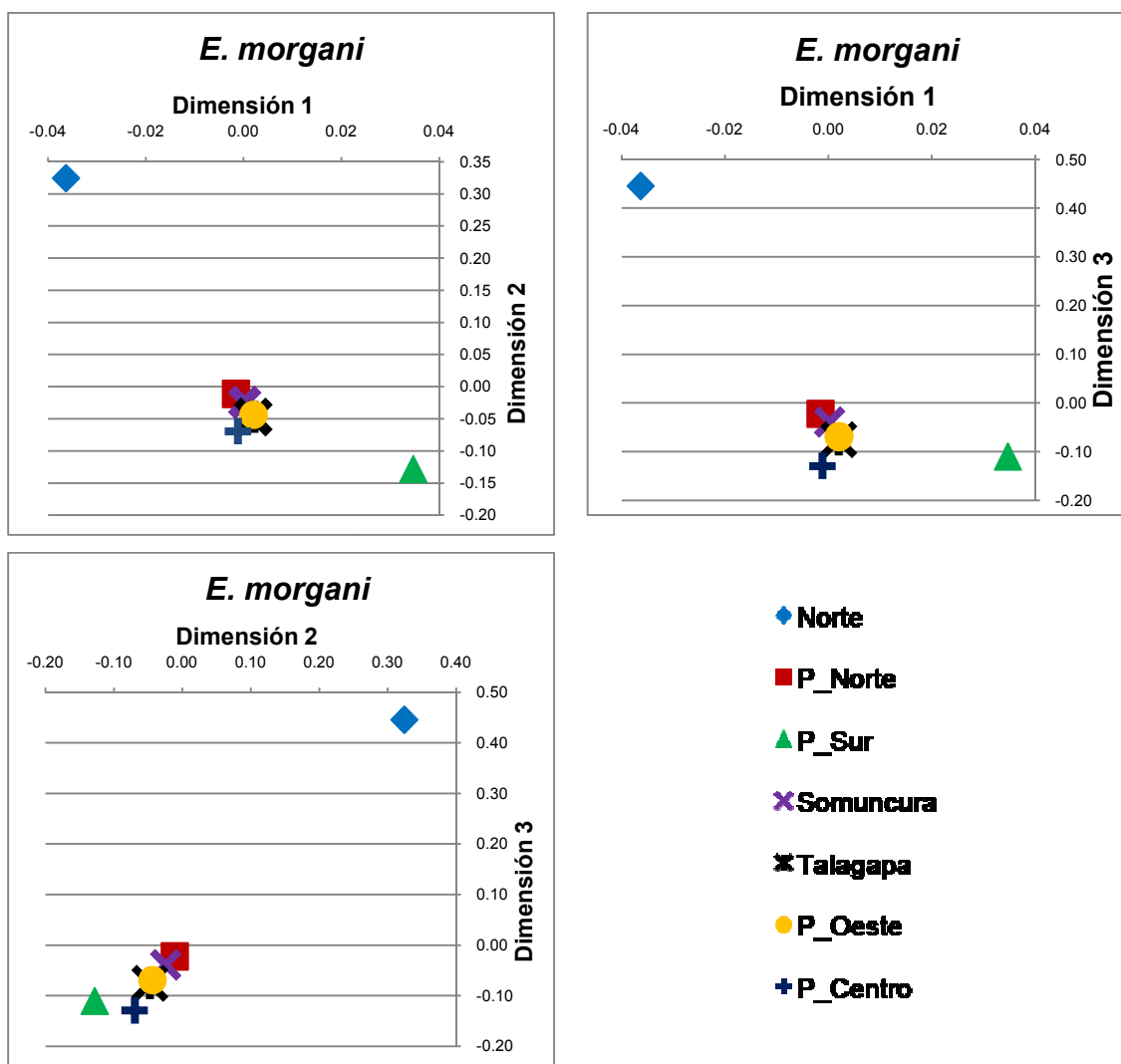


Figura 15: Graficas de los análisis de escalamiento multidimensional (MDS) en tres dimensiones de *E. morgani*.

En la figura 16 se muestran los índices F_{CT} para los diferentes K computados con SAMOVA y AMOVA para *E. typus* y *E. morgani*, en la cual se ve que en el caso de *E. typus* el agrupamiento que tienen el mayor F_{CT} es $K=2$, sin apoyo para esta diferencia, en el que un grupo es la localidad 13 en la provincia de Chubut y el otro grupo está formado por el resto de las localidades, y en el caso de *E. morgani* el agrupamientos que tienen el mayor F_{CT} es también $K=2$ en el que uno de los grupos está compuesto por las localidades ubicadas fuera de la Patagonia (M33, M34 y M38) y el otro grupo está formado por las localidades patagónicas.

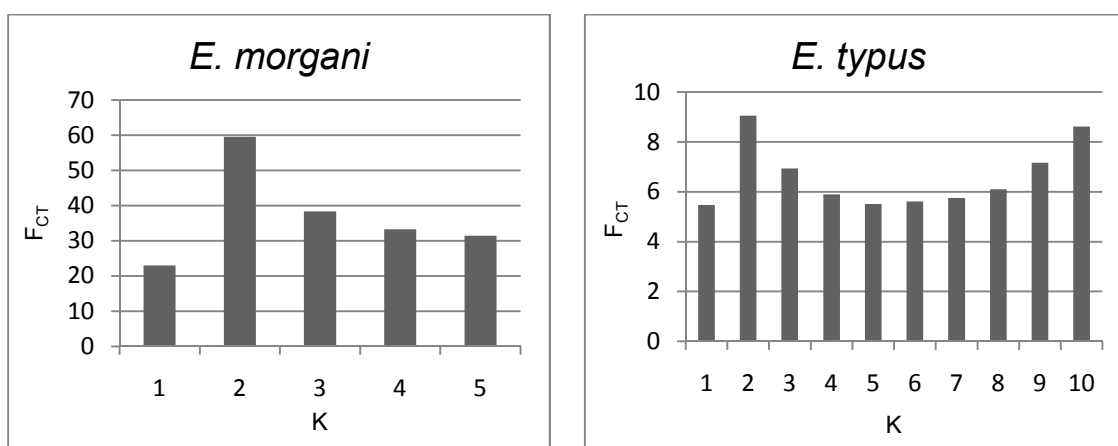


Figura 16: Graficas mostrando los índices F_{CT} para los diferentes K computados por SAMOVA y AMOVA en *E. typus* y *E. morgani*

3.7 VARIACIÓN POBLACIONAL EN *E. TYPUS* Y *E. MORGANI*

Los valores calculados de la diversidad nucleotídica π , el parámetro poblacional θ_w , el número de haplotipos y la diversidad haplotípica (Hd) para cada una de las regiones en las que se dividieron a *E. typus* y *E. morgani* se presentan en la tabla 10. La región “No Patagonia” mostró los π y θ_w más bajos y la región “Patagonia Norte” mostró los π y θ_w más altos en *E. morgani*. En *E. typus* la región “Patagonia Sur” fue la que mostro el π más bajo y la región “Patagonia Norte” el π más alto, mientras que la región “Patagonia Norte” mostró el θ_w más bajo y la región “No Patagonia” el θ_w más alto. La región que mostró mayor diversidad haplotípica (Hd) en *E. morgani* fue “Patagonia Sur”, y en *E. typus* “Patagonia Norte”.

El análisis de AMOVA global entre todas las regiones para cada una de las especies dio como resultado que el 30,22% de la variación en *E. morgani* se explica por diferencias entre estas tres regiones ($F_{st}=0,302$ $P < 0,05$) y que solo el 2,35% de la variación en *E. typus* se explica por diferencias entre estas tres regiones ($F_{st}=0,023$ $P < 0,05$) (Tabla 11A). Todos los valores calculados de F_{st} para pares de regiones en *E. morgani* (Tabla 11B) fueron significativamente diferentes de cero, siendo el menor de los valores calculados el F_{st} entre “Patagonia Sur” y “No Patagonia” ($F_{st}=0,116$) y el mayor entre “Patagonia Norte” y “Patagonia Sur” ($F_{st}=0,741$). En *E. typus* los valores calculados de F_{st} para los pares de regiones “No Patagonia”-“Patagonia Sur” ($F_{st}=0,022$)

y “Patagonia Norte”-“Patagonia Sur” ($F_{st}=0,104$) fueron significativamente diferentes de cero (Tabla 11B).

Tabla 10: Diversidad nucleotídica π , parámetro poblacional θ_w , número de haplotipos y diversidad haplotípica (Hd) para las regiones en las que se dividieron a *E. typus* y *E. morgani*.

		π	θ_w	número de haplotipos	Hd
<i>E. morгани</i>	No Patagonia	2,000	2,000	3	1,000
	P Norte	4,754	7,338	12	0,810
	P Sur	2,909	4,389	11	0,895
<i>E. typus</i>	No Patagonia	6,444	7,777	8	0,956
	P Norte	8,012	2,381	84	0,987
	P Sur	4,441	5,620	11	0,934

Tabla 11: Resultados de AMOVA para la división en regiones de *E. typus* y *E. morgani* (A) y los F_{ST} pareados entre estas (B). Los asteriscos indican valores con significancia menor a 0,05

A	Fuente de la variación	<i>E. morgani</i>	<i>E. typus</i>
	entre grupos	30,22%	2,35%
	dentro de grupos	69,78%	97,65%
	F _{ST}	0,302 *	0,024 *

<i>B</i>	<i>E. morgani</i>			<i>E. typus</i>			
	No			No			
	Patagonia	P. Norte	P. Sur	Patagonia	P. Norte	P. Sur	
No Patagonia	0			No Patagonia	0		
P Norte	0,504 *	0		P Norte	0,018	0	
P Sur	0,116 *	0,741 *	0	P Sur	0,022 *	0,104 *	0

Los resultados de las pruebas de neutralidad y el parámetro de crecimiento poblacional (G) con sus respectivos valores de probabilidad para cada una de las especies se muestran en la tabla 12. En este caso no se hicieron estos análisis para la región “No Patagonia” de *E. morgani* debido a que solo hay 3 muestras en esta región. *E. morgani* solo mostró resultado negativo y significativo para la prueba de F_u en la región “Patagonia Sur”; *E. typus* solo mostró resultados negativos y significativos para las pruebas de F_u y de Tajima en la región “Patagonia Norte”. Estos resultados sugerirían expansión poblacional o posible señal de selección positiva en estas regiones para cada especie. Estos resultados son acompañados con el hecho de que las distribuciones de *mismatch* para estas regiones fueron unimodales (figura 17), por esta razón se calcularon los valores de τ para la región “Patagonia Sur” de *E. morgani* y “Patagonia Norte” de *E. typus*, los cuales se muestran en la tabla 13. Los valores calculado de τ para los eventos de expansión de las regiones “Patagonia Sur” de *E. morgani* y “Patagonia Norte” de *E. typus* bajo el modelo de expansión demográfica (*MED*) fueron de 2,912 unidades mutacionales (IC 0,974-4,662) y 5,107 unidades mutacionales (IC 2,543-11,701) respectivamente, mientras que los valores de τ bajo el modelo de expansión espacial (*MEE*) fueron de 2,813 unidades mutacionales (IC 0,911-4,276) y 4,698 unidades mutacionales (IC 2,879-7,648) respectivamente. Los tiempos estimados de la expansión a partir de estos τ para la región “Patagonia Sur” de *E. morgani* fueron 32 314,85 años bajo *MED* (IC 10 814,97 años – 51 734,09 años) y 31 213,05 bajo *MEE* (IC 10 108,77 años – 47 453,98 años), mientras que para la región “Patagonia Norte” de *E. typus* fueron 68 876,72 años bajo *MED* (IC 34 293,52 años – 157 797,52 años) y 63 360,83 años bajo *MEE* (IC 38 822,53 años – 103 138,15 años).

Tabla 12: Resultados de las pruebas de neutralidad y el parámetro de crecimiento poblacional para cada uno de los grupos de localidades de *E. typus* y *E. morgani*. Entre paréntesis rectos se muestran los p – valores en los casos de Fs de Fu y D de Tajima, y los intervalos de confianza del 99% para G. Los asteriscos indican valores con significancia menor a 0,05 en los casos de Fs y D, e intervalos de confianza significativos para G. P = Patagonia.

		Fs	D	G
<i>E. morgani</i>	P. Norte	-1,599 [0,263]	-1,352 [0,052]	205,08 [-265,99; 1170,56]
	P. Sur	-4,815 * [0,010]	-1,225 [0,083]	1357,65 * [227,55; 4656,55]
<i>E. typus</i>	No Patagonia	-1,197 [0,241]	-0,775 [0,185]	458,52 [-176,19; 4246,77]
	P. Norte	-24,661 * [0,0001]	-2,153 * [0,0002]	318,14 * [180,27; 610,35]
	P. Sur	-2,896 [0,072]	-0,908 [0,154]	633,09 [-166,05; 2686,23]

Tabla 13: Parámetro poblacional τ y tiempos estimados para las regiones de *E. typus* y *E. morgani* que se ajustaron a un modelo de expansión poblacional. Los τ estimados bajo los modelos de expansión demográfica y de expansión espacial para las regiones de *E. typus* y *E. morgani* y los tiempos estimados a partir de τ expresados en años. Entre paréntesis rectos se muestra el intervalo de confianza del 99%. P. = Patagonia.

	Modelo de Expansión Demográfica		Modelo de Expansión Espacial	
	τ	tiempo estimado	τ	tiempo estimado
Región P. Sur de <i>E. morgani</i>	2,912 [0,975-4,662]	32.314,85 [10.814,97-51.734,09]	2,813 [0,911-4,276]	31.213,05 [10.108,77-47.453,98]
Región P. Norte de <i>E. typus</i>	5,107 [2,543-11,701]	68.876,72 [34.293,52-157.797,52]	4,698 [2,879-7,648]	63.360,83 [38.822,53-103.138,15]

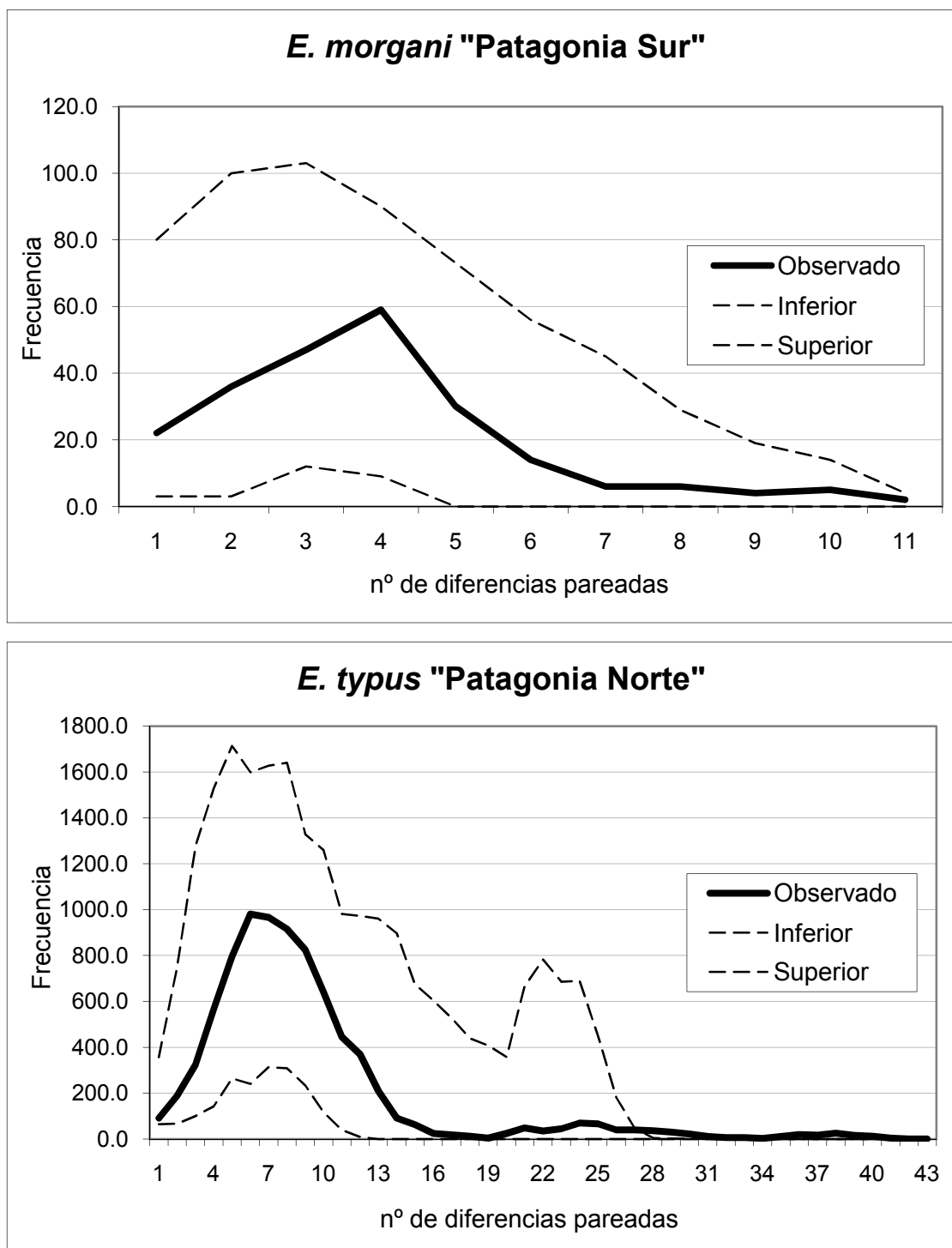


Figura 17: Distribución de diferencias pareadas e intervalo de confianza del 99% bajo el modelo de expansión demográfica para las regiones "Patagonia Sur" de *E. morgani* y "Patagonia Norte" de *E. typus*

4 DISCUSIÓN

4.1 CONSIDERACIONES PRINCIPALES

Una teoría importante para explicar el desarrollo y continuidad de la diversidad de especies es la Teoría de Refugios (Haffer, 1969). Ésta plantea que el aislamiento geográfico, provocado por la retracción de los ambientes durante las sucesivas glaciaciones que tuvieron lugar en el Cuaternario (Haffer, 1997; Haffer y Prance, 2001; y revisado en Moritz et al., 2000) es la fuente de diversidad específica e intraespecífica actual.

Está bien documentado que los ciclos climáticos del Pleistoceno, que resultaron en la formación de extensas masas glaciares en el hemisferio norte, tuvieron un gran impacto en dicha región del mundo con la formación bien documentada de refugios (e.g., Hewitt 2000, 2004, Arbogast *et al.* 1998). Sin embargo, los impactos de los ciclos glaciares en América del Sur fueron más moderados (e.g., Moreno 1997, Moreno *et al.* 1999, Rabassa *et al.* 2000, 2005, Schaefer *et al.* 2006). No obstante, los ensambles de pequeños mamíferos pueden responder a dichos cambios (e.g., Pearson 1987, Pardiñas 1999) y contribuir a revelar la historia de los ambientes a los que se encuentran asociados. Por esta razón se ha postulado la existencia de diversos refugios para Sudamérica con ubicaciones variables basados en estudios de la flora y diferentes mamíferos de la región (e.g., Premoli *et al.* 2000, Smith *et al.* 2001, Muellner *et al.* 2005, Haberle & Bennett 2004, Heusser *et al.* 2006, Rodríguez-Serrano *et al.* 2006, Stepan *et al.* 2007).

En este contexto planteamos la hipótesis de que la diversidad biológica de los organismos terrestres en altas latitudes de Sudamérica está directamente relacionada con los ciclos climáticos y cambios geológicos del Cuaternario. Siguiendo esta hipótesis esperamos encontrar: a) signos de expansión, reflejados en los test de neutralidad y en reconstrucciones filogenéticas tipo “estrella”, en las especies y/o poblaciones que habitan altas latitudes debido a la expansión poblacional que sufrieron durante los periodos interglaciares, y b) si correspondiese, llegar a dilucidar el número y ubicación

de estos refugios debido a que estas zonas serían zonas de estabilidad genética, con mayor estructuración genética.

Para realizar este trabajo se utilizaron datos de las seis especies reconocidas del género *Eligmodontia*, un roedor de la tribu Phyllotini, de la subfamilia Sigmodontinae (e.g., Braun 1993; Smith & Patton 1999; Steppan 1993, 1995; Steppan *et al.* 2004). Este género fue elegido debido a su amplia distribución geográfica, y su abundancia en las áreas muestreadas, que asegura tamaños muestrales apropiados. Se utilizaron secuencias mitocondriales del gen del citocromo b sabiendo que tiene los niveles de variación suficientes para los fines de este estudio y con el fin de integrar y complementar los trabajos previos realizados en el género. Para esto se utilizaron 201 ejemplares provenientes de 71 localidades distribuidas a lo largo del sur de Sudamérica.

Cabe destacar que la interpretación de la estructura y demografía por medio del estudio de secuencias del ADN_{mt} tiene algunos puntos a tener en cuenta debidos a las propiedades de este marcador (ver Recuadro 1). Uno de estos puntos es la selección natural ya que eventos de apartamiento de la neutralidad estricta podrían estar enmascarando los efectos de los cambios demográficos. También debe tenerse en mente que aunque el gen estudiado no esté bajo un régimen de selección, este podría estar siendo afectado por la selección debido a ligamiento con otros genes codificantes del genoma mitocondrial (en inglés: *genetic hitchhiking*, Maynard Smith & Haigh 1974).

4.2 EL GÉNERO ELIGMODONTIA

Varias hipótesis han sido propuestas para explicar la diversificación del género *Eligmodontia* (e.g. Reig 1986, Spotorno *et al.* 1994 y 2001, Mares *et al.* 2008). Reig (1986) se focalizó en la evolución de los filotinos incluyendo a *Eligmodontia* y propuso un área de diversificación para la tribu en el sur del altiplano andino o el sur de los Andes y sugirió que *Eligmodontia* se desarrolló de un ancestro parecido a *Calomys* antes del levantamiento del Plio-Pleistoceno que llevó al altiplano a su altura actual. *Eligmodontia* entonces se desarrolló en la porción norte de su rango actual y desde allí se expandió y diversificó hacia el sur en el Monte y la estepa patagónica. Spotorno *et al.* (1994, 2001) basándose principalmente en datos citogenéticos, sugirieron que una especie ancestral, tal vez del Mioceno tardío con FN = 48, con una amplia distribución

norte-sur, fue separada por la diagonal xérica durante el Plio-Pleistoceno. Factores geográficos, como las barreras de hielo generadas por las glaciaciones cíclicas dentro de los Valles de los Andes (Vuillemer 1971), fueron instrumentos en la especiación de los ancestros del norte en *E. puerulus* y secundariamente en *E. moreni*; ambas especies exhiben números fundamentales altos sugeridos como la condición ancestral. En contraste, factores citogenéticos, fusiones en tándem con consecuencias de aislamiento meiótico, habrían sido los causantes del aislamiento reproductivo en las tierras bajas del sur de Argentina llevando a la formación de *E. typus* y *E. morgani*.

Mares *et al.* (2008), basándose en datos moleculares, proponen otra hipótesis para la radiación de este género. Estos autores sugieren que *Eligmodontia* primero se habría desarrollado en las tierras bajas áridas y semiáridas del sur-centro de Suramérica en respuesta a la aridez creciente de esos tiempos. Durante el Plioceno, esta *Eligmodontia* ancestral fue separada en dos clados. El primer clado se habría dispersado a lo largo de los flancos orientales de los Andes dando lugar, por una parte a *E. morgani* en el sur y por otra parte, durante el Pleistoceno tardío – Plioceno, a las especies del norte: *E. hirtipes*, *E. puerulus* y *E. moreni*. El segundo clado dio lugar a *E. typus* que se dispersó en las tierras bajas de Argentina, y más recientemente la zona norte de su distribución divergió en *E. bolsonensis*. Esta última especie está restringida al Bolsón de Pipanaco, Campo de Belén, Campo del Arenal, el valle del Río Belén y Río Bolsón (todas estas localidades en la Provincia de Catamarca), y posiblemente el Valle Calchaquies (el cual abarca las provincias de Salta, Tucumán y Catamarca), por lo que Mares *et al.* (2008) proponen que en algún momento, hace unos 250.000 años, una barrera geográfica o ecológica estaba en la entrada del Bolsón de Pipanaco. Esta barrera habría proporcionado un mecanismo para la especiación de poblaciones ancestrales de *E. typus* en *E. bolsonensis*, y posteriormente estas poblaciones se habrían propagado hacia el norte a través de los bolsones áridos del norte del Desierto de Monte (esquema en figura 2)

Nuestro trabajo muestra una concordancia general entre las filogenias obtenidas (figura 11) con aquellas derivadas usando morfología (Braun 1993) y datos mitocondriales (407 pb por Spotorno *et al.* 2001, 698 pb por Lanzone *et al.* 2007, 1143 pb por Mares *et al.* 2008). Cabe destacar que dentro del muestreo de este trabajo se encuentran dos especímenes colectados en localidades muy importantes en la historia de

la sistemática del género, las cuales por primera vez se utilizan en un estudio molecular. El espécimen colectado en la Localidad 1 (Monte Hermoso: Laguna Sauce Grande, margen sur, Provincia de Buenos Aires) es un cuasi topotipo de la forma nominal *Eligmodontia elegans*, la cual ya se ha pasado a la sinonimia de *E. typus* (Musser & Carleton 2005), y en la reconstrucción filogenética se agrupa con especímenes de *E. typus* (figuras 7 y 8). El espécimen colectado en la Localidad 24 (Lago Buenos Aires: Estancia Casa de Piedra, Rio Ecker, Provincia de Santa Cruz) es un cuasi topotipo de la forma nominal *Eligmodontia morgani*, hoy en día considerada válida, y se agrupa en la reconstrucción filogenética con los especímenes provenientes de la Patagonia austral y occidental (figuras 7 y 8). Dado estos resultados concluimos que efectivamente *E. elegans* es sinónimo de *E. typus* y que *E. morgani* es el nombre aplicable a las poblaciones de Patagonia austral y occidental.

También con este trabajo aportamos una datación de los eventos de cladogénesis de *Eligmodontia* con una tasa de evolución calculada particularmente para el género, lo cual nos permitió dataciones más precisas, aunque no discordantes, que las de trabajos anteriores (e.g. Mares *et al.* 2008, Lanzone *et al.* 2010). Nuestras dataciones muestran la separación de *Eligmodontia* del resto de los Filotinos alrededor de 5,7 – 8,6 millones de años atrás en el Mioceno. Como el fósil más antiguo de *Eligmodontia* es del Pleistoceno inferior-medio y proviene de la región Pampeana Argentina (Pardiñas *et al.* 2002), y los sigmodontinos más antiguos de América del Sur también provienen de la región pampeana argentina (Reig, 1978; Pardiñas y Tonni, 1998) y corresponden a formas genéricas avanzadas de las tribus Phyllotini, es probable que este género, concordando con la hipótesis de Mares *et al.* 2008, primero se desarrolló en las tierras bajas áridas y semiáridas del sur-centro de Suramérica en respuesta a la aridez creciente que ocurrió en ese tiempo debido al levantamiento de la cordillera Andina Patagónica (Ortiz–Jaureguizar & Cladera 2006).

Hace unos 2,3 millones de años, ya en el Pleistoceno, el *Eligmodontia* ancestral se habría separado en dos clados, uno de estos manteniéndose en el área de origen y dispersándose al sur por las tierras bajas de la Patagonia, y el otro se habría dispersado por la ladera este de los Andes hacia el norte. Ya otros autores habían propuesto una división temprana y rápida de las poblaciones parentales del género. Hillyard *et al.* (1997) concuerda con nosotros en el tiempo de esta separación (1,7-2,7 millones de

años), mientras que Sikes *et al.* (1997) y Mares *et al.* (2008) proponen tiempos más antiguos, aunque sus límites inferiores son comparables con nuestros resultados (2,5-3,0 y 2,8 millones de años respectivamente).

El primer clado daría lugar a *E. typus*, y eventualmente (0,28 millones de años atrás) se diversificaría *E. bolsonensis* debido a una barrera geográfica o ecológica que habría surgido entre estos clados. Nuestros datos concuerdan con los de Hillyard *et al.* (1997) que encuentran la mayor diversidad haplotídica y los linajes más antiguos de *E. typus* en el noroeste de la Patagonia, lo que indicaría que esta especie se originó en esta región. En este trabajo encontramos haplotipos característicos de *E. bolsonensis* en las tierras bajas de la Patagonia, por lo que proponemos que esta especie no solo se dispersó hacia el norte de su rango original, sino que también se dispersó hacia el sur a mas de 1.500 km hasta alcanzar tierras bajas de la Patagonia en la provincia de Chubut, Argentina; entrando en simpatría con su especie hermana, *E. typus*.

Cabe profundizar en la expansión de rango de *E. bolsonensis* y su distribución disyunta reportada en este trabajo. *E. bolsonensis* hasta ahora no había sido reportada para la Patagonia, lo cual tiene varias explicaciones. Una explicación es que *E. bolsonensis* no sea una especie, es decir que no sea un clado totalmente separado de *E. typus*, por lo que se encuentran en regiones Patagónicas haplotipos de *E. typus* característicos de las regiones de los bolsones en la provincia de Catamarca. Otra explicación sería que hay una introgresión mitocondrial de *E. bolsonensis* a *E. typus*, es decir que hubo hibridación reciente entre estas especies donde haplotipos de *E. bolsonensis* introgresaron en *E. typus*. También podría explicarse simplemente por la falta de colectas exhaustivas en regiones al sur del Río Colorado, donde no se había muestreado esta especie hasta el momento de este trabajo. De todas maneras, parece extraña la distribución disyunta, de más de 1.500 km de separación, de estos especímenes. Esta distribución seguramente esté dada por el hecho de que hay un gran “hueco” en el muestreo de este género a lo largo de la Pampa. Al realizar muestreos en esta zona seguramente nos encontremos con una gran abundancia de *Eligmodontia*, y probablemente descubramos más haplotipos característicos de *E. bolsonensis*.

El segundo clado se habría diversificado en un clado norte y uno sur hace 1,7 millones de años atrás, posiblemente en relación al levantamiento de la Cordillera

Central de Argentina y Chile, la Puna y las sierras pampeanas de la Argentina (Mares *et al.* 2000, 2008). El clado sur dio lugar a *E. morgani*, la cual probablemente se originó en el noroeste de la Patagonia debido a que nosotros, en concordancia con Hillyard *et al.* (1997) y Mares *et al.* (2008), encontramos a los linajes más divergentes de esta especie en esta región. Desde aquí se habría dispersado por las estepas andinas patagónicas y hacia el sur de la Patagonia hasta la costa atlántica, ésta última una región no antes adjudicada al hábitat de *E. morgani*. Esta dispersión llevó a que *E. morgani* cohabite con *E. typus* en varias regiones de la Patagonia. Nosotros, al igual que Zambelli *et al.* (1992), Hillyard *et al.* (1997) y Sikes *et al.* (1997), encontramos simpatria entre estas especies en el noroeste patagónico (provincias de Río Negro y Chubut), región en la cual hay una inter-digitación entre las biozonas del oriente (ocupado por *E. typus*) y el occidente (ocupado por *E. morgani*) dependiendo de la elevación (Hillyard *et al.* 1997). También encontramos simpatria en el sureste patagónico (costa atlántica de las provincias de Chubut y Santa Cruz), donde la altitud no es la usual para que habite esta especie, pero probablemente las condiciones climáticas más extremas hacen de esta un área propicia para que también habite *E. morgani*.

En el clado norte, *E. hirtipes* habría divergido de un ancestro común de *E. puerulus* y *E. moreni* hace unos 1,123 millones de años, la cual es la especie que habita la región más norte del rango de distribución del género. Y finalmente hace unos 0,67 millones de años diversificaron las especies *E. moreni* y *E. puerulus*. La especiación de este clado norte probablemente esté ligada directamente con las glaciaciones del Pleistoceno ya que el *GPG* habría ocurrido hace 1 – 1,2 millones de años, fecha que concuerda con la diversificación de *E. hirtipes* del clado *E. puerulus* – *E. moreni*, y la diversificación de *E. moreni* y *E. puerulus* estaría relacionada con una de las al menos 15 glaciaciones que le siguieron al *GPG*.

Todas las cladogénesis dentro del género fueron datadas dentro del Pleistoceno, lo cual muestra que estas especies son jóvenes en términos geológicos. Aunque nuestras dataciones tienen mucha incertidumbre, y por esa razón los intervalos de confianza son muy amplios; podemos destacar que hay tres dataciones de cladogénesis (clado *E. puerulus* + *E. moreni* del clado *E. hirtipes*, clado *E. puerulus* + *E. moreni* + *E. hirtipes* del clado *E. morgani*, clado *E. puerulus* + *E. moreni* + *E. hirtipes* + *E. morgani* del clado *E. typus* + *E. bolsonensis*) cuyos intervalos de confianza se superponen. Estos

resultados estarían mostrando que *Eligmodontia*, en las regiones áridas del sur del continente, respondió rápidamente a los grandes cambios climáticos y geológicos del Pleistoceno a través de la colonización de nuevos hábitats y consecuente especiación “explosiva”.

Cabe realizar un paréntesis en este punto para retomar y profundizar en la simpatría entre *E. typus* y *E. morgani*. Las localidades de muestreo en las que se encontró esta simpatría están comprendidas por varios puntos de muestreo, distanciados entre sí por alrededor de 5 km. En estas localidades se da simpatría (ocurrencia en la misma localidad), pero no siempre sintopía (ocurrencia en el mismo hábitat). El diseño complejo de interdigitación de zonas altas (meseta) y zonas bajas en las provincias de Chubut y Santa Cruz posibilita la simpatría entre estas especies. Parece ser que *E. morgani* tiene mayor fidelidad a las zonas altas de la meseta mientras que *E. typus* posee una mayor labilidad, lo cual permite que esta especie habite ambientes heterogéneos que van desde tierras bajas, zona más comúnmente habitada por esta especie, a tierras relativamente altas de alrededor de 600 m.s.n.m., aunque aquí su presencia es escasa. Siguiendo con esta idea, observamos que la costa patagónica genera, con sus ambientes asociados, un “corredor” de valles (tierras bajas) moderadamente propicio que permite la “penetración” de *E. typus* al sur Patagónico donde el hábitat es subóptimo para su supervivencia.

4.3 ELIGMODONTIA EN LA PATAGONIA

Los análisis exploratorios que realizamos con el fin de determinar la estructura geográfica de las especies patagónicas (*E. typus* y *E. morgani*) dieron resultados muy parecidos en cada una de ellas, algo esperado dadas las topologías de las reconstrucciones filogenéticas de cada especie. En *E. typus*, concordando con Hillyard *et al.* (1997) y Lessa *et al.* (2010), no se encontró evidencia de estructura geográfica en todo su rango de distribución, llevando a tratar a toda la especie como una única población en los análisis demográficos. Esto es apoyado con los análisis de AMOVA que revelan que el 97,65 % de la variación se encuentra dentro de los grupos que formamos agrupando localidades de muestreo. Los estudios realizados con SAMOVA no mostraron apoyo para ninguna estructura geográfica.

En el caso de *E. morgani*, aunque tampoco se encontró estructura geográfica evidente, concordando con Lessa *et al.* (2010), si se encontró una leve diferenciación entre las poblaciones que se encuentran al norte del Río Colorado y las que se encuentran al sur de este. De todas maneras esta especie se debe de tomar como una única población, como plantea Hillyard *et al.* (1997) y de Sousa *et al.* (1996). Esto es apoyado con los análisis de AMOVA que revelan que el 69,79 % de la variación proviene de dentro de los grupos que formamos agrupando localidades de muestreo. La estructura geográfica que encuentra SAMOVA en esta especie podría ser producto de una barrera que hace 277 mil años habría separado a *E. morgani* en dos poblaciones aisladas entre sí por un periodo corto, sin que transcurriera el tiempo suficiente como para llegar a la monofilia recíproca. Este aislamiento podría haber sido causado por un glaciar en la zona alta del Río Colorado durante la etapa glaciar llamada OIS8 (*Oxigene Isotope Stage 8*, Lisiecki & Raymo 2005). Planteamos esta hipótesis debido a que como hay evidencia que en esta zona hubo un glaciar durante el LGM (Rabassa 2008), también podría haberlo habido durante la OIS8.

Un resultado a destacar es que las únicas especies que muestran signos de posible expansión poblacional son aquellas que habitan la Patagonia, *E. typus* y *E. morgani*. En concordancia con estos resultados, se observa en ambas especies una muy alta diversidad haplotípica, en particular en *E. typus*, y filogenias en forma de estrella. Esto ya lo habían notado Hillyard *et al.* (1997) y Mares *et al.* (2008). Esto indicaría que las especies que habitan altas latitudes se vieron más afectadas a los cambios climáticos cíclicos del Pleistoceno, concordando con la idea de Willis & Whittaker (2000) de que los refugios pleistocénicos habrían tenido una mayor influencia en la biodiversidad en altas latitudes y en climas templados que en áreas tropicales.

En particular en *E. typus* se observa una fuerte señal de expansión demográfica, apoyada por todos los análisis realizados, que habría ocurrido hace unos 65 mil años. Al dividir esta especie en subregiones, aunque esta subdivisión fuese algo forzada, se encontró que la expansión radica en la región que se encuentra entre el Río Colorado y el corte filogeográfico encontrado para varias especies de sigmodontinos patagónicos de Lessa *et al.* (2010). En las regiones al norte del Río Colorado y al sur del corte filogeográfico no se encontraron signos de expansión poblacional y mostraron bajos valores de estimativos de diversidad. Debido a la historia de mayor estabilidad climática

de la región al norte del Río Colorado proponemos una historia de estabilidad poblacional para la región. Lo contrario ocurrió al sur del corte filogeográfico, donde los ciclos glaciares tuvieron efectos mucho más marcados. Esta falta de señal de expansión en el sur no estaría dada por estabilidad poblacional sino por la baja variación genética debido al bajo tamaño poblacional efectivo (N_e) causado por las condiciones hostiles para la supervivencia de la especie en esta región. Este mismo patrón de expansión poblacional se encontró en *Phyllotis xanthopygus*, otro sigmodontino patagónico (Riverón *com. pers.*). Basándose en esto, la hipótesis biogeográfica más probable es que durante una de las glaciaciones del cuaternario, quizás en la glaciación más extensa de los últimos 500.000 años llamada *OIS6* (*Oxygene Isotope Stage 6*, 140–180.000 años atrás, Clapperton 1993), esta especie sufrió un cuello de botella debido a que se vio retraída a un refugio en la región al norte del Río Colorado. A partir de aquí esta repobló aéreas al sur y sufrió una rápida expansión que coincide con la etapa llamado *OIS4* (*Oxygene Isotope Stage 4*), una etapa glacial que ocurrió entre 60.000 y 70.000 años atrás (Rabassa & Clapperton 1990; Singer *et al.* 2004). Esta glaciación tiene la particularidad de que fue la más benigna de los últimos 200.000 años. Coincidiendo con una etapa de glaciación moderada e interglaciares la especie llegó a colonizar la Patagonia más austral, donde las condiciones subóptimas para su supervivencia determinaron poblaciones pequeñas donde se perdió la señal de esta gran expansión.

El caso de *E. morgani* es diferente. Aunque esta especie muestra signos de apartamiento de la neutralidad, no muestra signos claros de expansión poblacional, lo cual podría estar dado por selección en el marcador y/o en algún otro gen mitocondrial. Pero al subdividir la especie encontramos claros signos de una expansión demográfica en la región al sur del corte filogeográfico de Lessa *et al.* (2010), apoyada por todos los análisis realizados, que habría tenido lugar hace unos 32 mil años. Y a su vez encontramos estabilidad poblacional en la región al norte del corte filogeográfico. Basándonos en esto, la hipótesis biogeográfica más probable es que durante una de las glaciaciones del cuaternario esta especie sufrió un cuello de botella debido a que se vio retraída a un refugio al norte del corte filogeográfico de Lessa *et al.* (2010). A partir de aquí esta repobló aéreas al sur y sufrió una rápida expansión que coincide con la etapa más benigna de la última glaciación (*OIS2*, 15–35 000 años atrás, Rabassa & Clapperton 1990; Singer *et al.* 2004). La reconstrucción filogenética muestra una leve estructuración, lo cual lleva a pensar que esta especie se vio menos afectada por los

ciclos climáticos pleistocénicos, tal vez debido a condiciones intrínsecas de la especie, dado que esta está adaptada a vivir en climas mas áridos y fríos que *E. typus*, como lo son los de la ladera este de la cordillera de los Andes y la región más austral de la Patagonia.

Nuestros resultados son consistentes con una historia de expansión muy anterior a la finalización del *LGM* para ambas especies, con las siguientes salvedades. En primer lugar, estimaciones hechas con un solo locus lleva a amplios intervalos de confianza, por lo que es difícil determinar las fechas exactas y relacionarlas a determinados fenómenos geológicos. En segundo lugar, los modelos utilizados son relativamente simples; modelos históricos más complejos pueden ser necesarios para examinar los cambios demográficos en las poblaciones geográficamente estructuradas (*e.g.*, Jesús *et al.* 2006). Por último, los análisis asumen una neutralidad estricta, pero se reconoce desde hace mucho tiempo que determinados tipos de selección pueden resultar en patrones de variación dentro de la especie similar a la expansión demográfica (Tajima 1989). Sin embargo, el patrón no se limita a una o unas pocas especies (Lessa *et al.* 2010, Riverón *com. pers.*, Abud *com. pers.*), lo cual argumenta a favor de una explicación demográfica basada en una historia común (Lessa *et al.* 2003).

5 CONCLUSIONES

Hasta ahora los estudios en *Eligmodontia* habían sido basados en pocos especímenes y de regiones geográficas restringidas, lo cual ha conducido a interpretaciones dispares entre autores. Este estudio, gracias a un muestro más amplio, contribuye a una mejor demarcación de los límites de distribución y relaciones filogenéticas del género. Por este motivo podemos claramente afirmar la presencia de tres especies diferentes de *Eligmodontia* en la Patagonia (*E. typus*, *E. morgani* y *E. bolsonensis*). Reportamos localidades de simpatria entre *E. typus* y *E. bolsonensis*, hecho nunca antes reportado, y nuevas localidades de simpatria entre *E. typus* y *E. morgani*. Ampliamos el rango de distribución de *E. bolsonensis* a más de 1.500 km al sur, Patagonia propiamente dicha, de su distribución aceptada actualmente y el rango de distribución de *E. morgani* hasta la costa Atlántica de la Patagonia. Con este trabajo molecular se está aportando por primera vez evidencia de que en efecto *E. elegans* es sinónimo de *E. typus* y que *E. morgani* es el nombre aplicable a las poblaciones de Patagonia austral y occidental.

Nuestra hipótesis de especiación y diversidad del género *Eligmodontia* concuerda en gran medida con la hipótesis biogeográfica planteada por Mares *et al.* (2008). La misma plantea que la diversificación de este género está estrechamente relacionada a la orogenia de los Andes y a los cambios climáticos del Cuaternario. En cambio, observamos discordancias en las fechas de divergencia entre las especies y los rangos de distribución de *E. morgani* y *E. bolsonensis*. Estas discordancias se deben básicamente a nuestro muestreo mucho mayor y más amplio que nos permitió determinar una tasa de evolución más precisa y encontrar nuevas localidades para las especies de este género.

Concluimos que *E. typus* y *E. morgani* siguen un modelo de expansión demográfica, en cada caso desde una fuente única y restringida (Smith *et al.* 2001). Esta fuente sería una región en la cual estas especies se refugiaron, debido a condiciones climáticas más estables o menos severas a las sufridas en regiones más australes, en una glaciación anterior al LGM. Con nuestros datos solo podemos decir que cada una de estas especies se vio restringida en un único refugio, pero no podemos afirmar que este

único refugio fue común para ambas especies, ni lo contrario. Solo podemos hipotétizar que el o los refugios se encontrarían en el norte de la Patagonia o fuera de esta, y que más recientemente ambas especies sufrieron una expansión poblacional hacia el sur.

El patrón biogeográfico histórico de la Patagonia incluye eventos de especiación y colonización recientes, aunque pre – LGM. Esto concuerda con la idea de que especies y poblaciones en altas latitudes parecen ser más susceptibles al cambio climático, tanto en el corto plazo (Montes-Hugo *et al.* 2009.) como en asociación con los ciclos climáticos históricos del Cuaternario (Hewitt 2000, Lessa *et al.* 2003).

6 PERSPECTIVAS

Los estudios de la fauna patagónica, y en particular en *Eligmodontia*, están lejos de haber tocado un punto conclusivo. Se requieren estudios adicionales, algunos de los cuales se plantean a continuación.

Por un lado, sería necesario obtener un muestreo más amplio y exhaustivo, sobre todo en las áreas menos muestreadas, con el fin de poder determinar con exactitud la ubicación de el o los refugios y la dirección de la expansión, para refinar las fechas de los eventos de expansión demográfica, y para buscar más especímenes de *E. bolsonensis* en la zona entre la distribución original de ésta y las nuevas localidades reportadas aquí. Estas áreas serían: el sur de la Patagonia, que comprende a la Provincia Argentina de Santa Cruz, la ladera este de los Andes a la altura de las provincias de Chubut y Santa Cruz, y las provincias de Rio Negro, Neuquén y La Pampa. Y también quizás un gran esfuerzo de muestreo en Tierra del Fuego, con la finalidad de buscar poblaciones aisladas de *Eligmodontia*, ya que hay registros fósiles en la Isla Grande (Pardiñas *et al.* 2011).

Por otro lado, el estudio genético poblacional debería ser ampliado mediante la inclusión de otros marcadores genéticos no ligados con el fin de aumentar la resolución y detalle de los análisis. A pesar de las ventajas presentadas por el ADN mitocondrial para esta clase de estudios, también presentamos la desventaja de utilizar solo un marcador. Esto se debe a que la selección actúa sobre loci específicos, mientras que los procesos demográficos se reflejan en el conjunto del genoma. Esperaríamos encontrar en todos los marcadores utilizados reflejos de la historia demográfica. Además, las estimaciones de tiempos de divergencia mejorarían considerablemente y los intervalos de confianza se estrecharían. Las opciones de marcadores no ligados serían: microsatélites (secuencias de ADN genómico no codificante, altamente variable), SNPs (*Single Nucleotide Polymorphisms* – polimorfismos de nucleótido único) o intrones nucleares.

Finalmente, sería interesante ampliar este estudio a más especies, con rangos de distribución similares a *Eligmodontia typus* y *E. morgani*. De esta forma, se podrían buscar patrones filogeográficos comunes entre especies para validar o rechazar las hipótesis biogeográficas que se presentan en este estudio.

7 BIBLIOGRAFÍA

- Abbott RJ, Smith LC, Milne RI, Crawford RMM, Wolff K & J Balfour. 2000. Molecular Analysis of Plant Migration and Refugia in the Arctic. *Science* 289:1343-1346.
- Aleixo A. 2004. Historical Diversification of a Terra-Firme Forest Bird Superspecies: a Phylogeographic Perspective on the Role of Different Hypotheses of Amazonian Diversification. *Evolution* 58:1303-1317.
- Allen, J.A. 1901. New South American Muridae and a new *Metachirus*. Bulletin of the American Museum of Natural History 14: 405–412.
- Anderson, S. & T.L. Yates. 2000. A new genus and species of phyllotine rodent from Bolivia. *Journal of Mammalogy* 81, 18–36.
- Aquadro CF & BD Greenberg. 1983. Human mitochondrial DNA variation and evolution: analysis of nucleotide sequences from seven individuals. *Genetics*, 103:287-312.
- Arbogast, B.S. & J.B. Slowinski. 1998. Pleistocene speciation and mitochondrial DNA. *Science* 282:1955.
- Avise, J.C. 2000. Phylogeography. The historical and formation of species. Harvard University Press, USA.
- Baker, R.J. & R.D. Bradley. 2006. Speciation in mammals and the genetic species concept. *Journal of Mammalogy* 87:643–662.
- Bickham JW, Patton & TR Loughlin. 1996. High variability for control-region sequences in a marine mammal: implications for conservation and biogeography of steller sea lions. *Journal of Mammalogy*, 77: 95-108.
- Bradley, R.D. & R.J. Baker. 2001. A test of the genetic species concept: cytochrome-b sequences and mammals. *Journal of Mammalogy* 82:960–973.

- Braun, J. K. & M.A. Mares. 1995. A new genus and species of phyllotine rodent (Rodentia: Muridae: Sigmodontinae: Phyllotini) from South America. *Journal of Mammalogy* 76:504–521.
- Brown, J.H., & M.V. Lomolino. 1998. Biogeography. Chapter 7: Glaciation and Biogeographic Dynamics of the Pleistocene pp. 177-222. Sinauer Associates, Inc. Sunderland.
- Cabrera, A. 1961. Catálogo de los mamíferos de América del Sur. Revista del Museo Argentino de Ciencias Naturales “Bernardino Rivadavia” 4:309–732.
- Cabrera, A.L. & A. Willink. 1973. Biogeografía de América Latina. Monografía 13, Serie de Biología, OEA, Washington D.C.
- Clapperton CM. 1993. *Quaternary Geology and Geomorphology of South America*. Elsevier, Amsterdam.
- Conroy, C.J. & J.A. Cook. 2000. Phylogeography of a post-glacial colonizer: *Microtus longicaudus* (Rodentia: Muridae). *Molecular Ecology* 9:165–175
- Cosacov, A., Sérsic, A.N., Sosa, V., Johnson, L.A. & A.A. Cocucci. 2010. Multiple periglacial refugia in the Patagonian steppe and post-glacial colonization of the Andes: the phylogeography of *Calceolaria polyrhiza*. *J. Biogeogr.* 37: 1463–1477.
- Cracraft, J. & R.J. Prum. 1988. Patterns and Processes of Diversification: Speciation and Historical Congruence in some Neotropical Birds. *Evolution* 42:603-620.
- Cuvier, F. 1837. Du genre Eligmodonte et de l’Elignodonte de Buenos-Ayres. *Eligmodontia typus*. *Annales des Sciences Naturelles, Paris*, 2(7):168–171.
- D’Elia G. 2003. Phylogenetics of Sigmodontinae (Rodentia, Muroidea, Cricetidae), with special reference to the akodont group, and with additional comments on historical biogeography. *Cladistics* 19:307-323.

- D'Elia, G., González, E.M. & Pardiñas, U.F.J. 2003. Phylogenetic analysis of sigmodontine rodents (Muroidea), with special reference to the akodont genus *Deltamys*. *Mammalian Biology* 68:351–364.
- de Souza, G.B., de Rosa, N. & C.N. Gardenal. 1996. Protein polymorphism in *Eligmodontia typus*. Genetic divergence with other phyllotine cricetids. *Genetica* 97:41-53.
- Díaz, G.B. & R.A. Ojeda. 1999. Kidney structure and allometry of Argentine desert rodents. *J. Arid Env.* 41:453–461.
- Dupanloup, I., Schneider, S. & L. Excoffier. 2002. A simulated annealing approach to define the genetic structure of populations. *Molecular Ecology* 11:2571-2581.
- Drummond, A.J., Ho, S.Y.W., Phillips, M.J. & A. Rambaut. 2006. Relaxed Phylogenetics and Dating with Confidence. *PLoS Biol* 4: e88.
- Drummond, A.J. & A. Rambaut. 2007. BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC Evolutionary Biology* 7:214.
- Drummond, A.J., Rambaut, A., Shapiro, B. & O.G. Pybus. 2005. Bayesian Coalescent Inference of Past Population Dynamics from Molecular Sequences. *Mol Biol Evol* 22:1185-1192.doi: 10.1093/molbev/msi103
- Excoffier L, Smouse PE & JM Quattro. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes, application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*. 131:479-491
- Excoffier, L. & H.E. L. Lischer. 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.
- Filatov, D.A. 2002. ProSeq: A software for preparation and evolutionary analysis of DNA sequence data sets. *Molecular Ecology Notes*. 2:621-624.
- Fu, Y.X. 1997. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics* 147:915-925.

- Google Inc. 2010. Google Earth Version 6.0.1.2032 beta [Software]. Available from <http://www.google.com/intl/es/earth/index.html>
- Guindon, S. & O. Gascuel. 2003. A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood. *Systematic Biology* 52:696-704.
- Haberle, S.G. & K.D. Bennett. 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., & G.T. Prance. 2001. Climatic forcing of evolution in Amazonia during the Cenozoic: On the refuge theory of biotic differentiation. *Amazoniana* 16:579-605.
- Hasegawa M, Kishino H & T Yano. 1985. Dating of the human-ape splitting by a molecular clock of mitochondrial DNA. *Journal of Molecular Evolution* 22:160-74.
- Hershkovitz, P. 1962. Evolution of the Neotropical cricetine rodents (Muridae) with special reference to the phyllotine group. *Fieldiana, Zoology*, 46, 1-524.
- Heusser, L., Heusser, C., & N. Pisias. 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, G.M. 2000. The genetic legacy of the Quaternary ice ages. *Nature* 405:907-913.
- Hewitt, G.M. 2004a. A climate for colonization. *Heredity* 92:1-2.
- Hewitt, G.M. 2004b. Genetic consequences of climatic oscillations in the Quaternary. *Phil Trans. Royal Soc. Lond. B.* 359:183-195.

- Hillyard, J.R., Phillips, C.J., Birney, E.C., Monjeau, J.A. & Sikes R.S. 1997. Mitochondrial DNA analysis and zoogeography of two species of silky desert mice, *Eligmodontia*, in Patagonia. *Zeitschrift für Säugetierkunde* 62:281–292.
- Irwin, D.M., Kocher, T.D. & A.C. Wilson. 1991. Evolution of the cytochrome b gene of mammals. *Journal of Molecular Evolution* 32:128–144.
- UICN 2010. *IUCN Red List of Threatened Species. Version 2010.4*. <<http://www.iucnredlist.org>>. Descargado el 20 de Abril de 2010.
- Jesus FF, Wilkins JF, Solferini VN, Wakeley J. 2006. Expected coalescence times and segregating sites in a model of glacial cycles. *Genetics Molecular Research* 5:466–474.
- Johnson, N.K. & C. Cicero. 2004. New mitochondrial DNA data affirms the importance of Pleistocene speciation in North American Birds. *Evolution*, 58(5):1122–1130
- Keane, T.M., Creevey, C.J., Pentony, M.M., Naughton, T.J. & J.O. McInerney. 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-X
- Kelt, D.A., Palma, R.E., Gallardo, M.H. & Cook, J.A. 1991. Chromosomal multiformity in *Eligmodontia* (Muridae, Sigmodontinae), and verification of the status of *E. morgani*. *Zeitschrift für Säugetierkunde* 56:352–358.
- Kim, I., Phillips, C.J., Monjeau, J.A., Birney, E.C., Noack, K., Pumo, D.E., Sikes, R.S. & J.A. Dole. 1998. Habitat islands, genetic diversity, and gene flow in a Patagonian rodent. *Molecular Ecology* 7:667-78.
- Kingman JFC. 1982. On the genealogy of large populations. *Journal of Applied Probability* 19:27-43.
- Kuhner MK. 2006. LAMARC 2.0: maximum likelihood and Bayesian estimation of population parameters. *Bioinformatics*. 22:768-770.

- Kuhner MK. 2009. Coalescent genealogy samplers: windows into population history. *Trends in ecology and evolution*. 24:86-93.
- Kuhner MK, Yamato J, Beerli P, Smith LP, Rynes E, Walkup E, Li C, Sloan J, Colacurcio P & J. Felsenstein. 2005. LAMARC v 2.0. University of Washington, <http://evolution.gs.washington.edu/lamarc.html>.
- Lanzone, C., Ojeda, R.A., & M.H. Gallardo. 2007. Integrative taxonomy, systematics and distribution of the genus *Eligmodontia* (Rodentia, Cricetidae, Sigmodontinae) in the temperate Monte Desert of Argentina. *Mammalian Biology - Zeitschrift für Säugetierkunde* 72:299-312
- Lara MC, Patton JL & MN da Silva. 1996. The simultaneous diversification of South American echimyid rodents (Hystricognathi) based on complete cytochrome b sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 5:403-13.
- Lara, M.C., Geise, L. & J.C. Schneider. 2005. Diversification of Small Mammals in the Atlantic Forest of Brazil: Testing the Alternatives. Pp. 311-334 in *Mammalian Diversification: From Chromosomes to Phylogeography* (Lacey E y Myers P, eds.). University of California Publications in Zoology.
- Lessa, E.P. 1990. Multidimensional Analysis of Geographic Genetic Structure. *Systematic Zoology*, 39(3):242-252
- Lessa, E.P., Cook, J.A. & J.L Patton. 2003. Genetic footprints of demographic expansion in North America, but not Amazonia, during the Late Quaternary. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 100:10331–10334.
- Lessa, E.P., D'Elía, G. & U.F.J. Pardiñas. 2010. Genetic footprints of late Quaternary climate change in the diversity of Patagonian-Fueguian rodents. *Molecular Ecology*, 19:3031–3037.
- Librado, P. & J. Rozas. 2009. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics* 25:1451-1452.

- Lisiecki, L.E. & M.E. Raymo. 2005. A Pliocene-Pleistocene stack of 57 globally distributed benthic $\delta^{18}\text{O}$ records, *Paleoceanography*, 20, PA1003, doi:10.1029/2004PA001071.
- Maniatis, T., Frisch, E.F. & J. Sambrook. 1992. *Molecular Cloning: a laboratory manual*. Cold Spring Harbor Laboratory. Cold spring Harbor. N. Y.
- Mares, M.A. 1975. Observations of Argentine desert rodent ecology, with emphasis on water relations of *Eligmodontia typus*. In: Prakash, I. & Ghosh, P. K. (Eds). *Rodents in Desert Environments*. W. Junk, The Hague, The Netherlands, pp. 155–175.
- Mares, M.A. 1975b. South American Mammal Zoogeography: Evidence from Convergent Evolution in Desert Rodents. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 72:1702–1706.
- Mares, M. A. 1977. Water economy and salt balance in a South American desert rodent, *Eligmodontia typus*. *Comparative Biochemistry and Physiology* 56A:325–332.
- Mares, M.A. 1980. Convergent evolution among desert rodents: a global perspective. *Bulletin of Carnegie Museum*, 16:1–51.
- Mares, M.A. 1993a. Heteromyids and their ecological counterparts: a pandesertic view of rodent ecology. In: Genoways, H. H. & Brown, J. H. (Eds). *The Biology of the Family Heteromyidae*. Special Publication No. 10, American Society of Mammalogists, pp. 652–713.
- Mares, M.A. 1993b. Desert rodents, seed consumption, and convergence: the evolutionary shuffling of adaptations. *BioScience*, 43:372–379
- Mares, M.A. 2002. *A Desert Calling: Life in a Forbidding Landscape*. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts.
- Mares, M. A., Braun, J. K., Barquez, R. M. & Díaz, M. M. 2000. Two new genera and species of halophytic desert mammals from isolated salt flats in Argentina. *Occasional Papers, Museum of Texas Tech University*, 203, i+27.

- Mares, M.A., J.K. Braun, B.S. Corner, & R.A. Van Den Bussche. 2008. Phylogenetic and biogeographic relationships of gerbil mice *Eligmodontia* (Rodentia, Cricetidae) in South America, with a description of a new species. *Zootaxa* 1753:1-33.
- Maynard Smith J, Haigh J. 1974. The hitch-hiking effect of a favourable gene. *Genetic Research*. 23:23-35.
- Mayr, E. 1942. Systematics and the origin of species, Columbia University Press, New York.
- Mayr, E. 1963. Animal Species and Evolution. Cambridge MA: Belknap
- Mayr, E. & R.J. O'Hara. 1986. The biogeographic evidence supporting the Pleistocene Forest Refuge Hypothesis. *Evolution*. 40: 55-67.
- McCulloch RD, Bentley MJ, Purves RS, Hulton NRJ, Sugden DE & CM Clapperton. 2000. Climatic inferences from glacial and palaeoecological evidence at the last glacial termination, southern South America. *Journal of Quaternary Science* 15: 409–417.
- Mila, B., Girman, D.J., Kimura, M. & T.B. Smith. 2000. Genetic evidence for the effect of a postglacial population expansion on the phylogeography of a North American songbird. *Proc. R. Soc. Lond. B*. 267:1033-1040
- Miller, S.A., Dikes, D.D. & H.H. Polesky. 1988. A simple salting procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Research*, 16:215.
- Montes-Hugo M, Doney S & H. Ducklow. 2009. Recent changes in phytoplankton communities associated with rapid regional climate change along the western Antarctic Peninsula. *Science* 323:1470–1473.
- Moore, P.D. 2000. Chile refuges. *Nature* 408:532-533.
- Morando, M., Avila, L.J., Turner, C.R. & J.W. Sites Jr. 2007. Molecular evidence for a species complex in the patagonian lizard *Liolaemus bibronii* and phylogeography

of the closely related *Liolaemus gracilis* (Squamata: Liolaemini). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 43:952-973

- Moreno, P.I. 1997. Vegetation and climate near Lago Llanquihue in the Chilean Lake District between 20 200 and 9500 14C yr BP. *Journal Quaternary Science* 121:485-500.
- Moreno, P.I., Lowell, T.V., Jacobson, G.L. & G.H. Denton. 1999. Abrupt vegetation and climate changes during the last glacial maximum and last termination in the Chilean Lake District: a case study from Canal de la Puntilla (41°S). *Geografiska Annaler* 81A:285-312.
- Moritz, C., Patton, J.L., Schneider, C.J. & T.B. Smith. 2000. Diversification of Rainforest Faunas: an integrative molecular approach. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 31:533-63.
- Morrone, J.J. 1996. The biogeographical Andean subregion: A proposal exemplified by Arthropod taxa (Arachnida, Crustacea, and Hexapoda). *Neotropica* 42:103-114.
- Morrone, J.J. 2001a. Biogeografía de América Latina y el Caribe. Manuales & Tesis SEA, nro. 3, Sociedad Entomológica Aragonesa, Zaragoza (España).
- Morrone, J.J. 2001b. Review of the biogeographic provinces of the Patagonian subregion. *Rev. Soc. Entomol. Argent.* 60:1-8.
- Morrone, J.J. 2002. Presentación sintética de un nuevo esquema biogeográfico de América Latina y el Caribe. Pp. 267 – 275 en Proyecto de Red Iberoamericana de Biogeografía y Entomología Sistemática PrIBES 2002. C. COSTA, S. A. VANIN, J. M. LOBO & A. MELIC (Eds.). m3m : Monografías Tercer Milenio, Zaragoza.
- Muellner, A.N., Tremetsberger, K., Stuessy, T. & C.M. Baeza. 2005. Pleistocene refugia and recolonization routes in the southern Andes: insights from *Hypochaeris palustris* (Asteraceae, Lactuceae). *Molecular Ecology* 14:203-212.
- Musser, G. G. & M.D. Carleton. 2005. Superfamily Muroidea. In: Wilson, D. E. & Reeder, D. M. (Eds). *Mammal Species of the World: A Taxonomic and*

Geographic Reference. 3rd ed. The Johns Hopkins University Press, Baltimore, Maryland, pp. 894–1529.

- Nei M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89:583-590.
- Ojeda, R.A., Blendinger, P.G. & R. Brandl. 2000. Mammals in South American drylands: faunal similarity and trophic structure. *Global Ecology and Biogeography* 9:115-123.
- Ortells, M.O., Reig, O.A., Wainberg, R.A., Hurtado de Catalfo, G.E. & Gentile de Fronza, T.M.L. 1989. Cytogenetics and karyosystematics of phyllotine rodents (Cricetidae, Sigmodontinae) II. Chromosome multiformity and autosomal polymorphism in Eligmodontia. *Zeitschrift für Säugetierkunde* 54:129–140.
- Ortiz-Jaureguizar, E. & Cladera, G. A. 2006. Paleoenvironmental evolution of southern South America during the Cenozoic. *Journal of Arid Environments*, 66, 498–532.
- Osgood, W.H. 1943. The mammals of Chile. Field Museum of Natural History, Zoological Series. 30:1–268.
- Pardiñas, U.F.J. 1999. Fossil murids: taxonomy, paleoecology, and paleoenvironments. *Quaternary of South America and Antarctic Peninsula* 12:225-254.
- Pardiñas, U. F. J., D’Elia, G. & Ortiz, P. E. 2002. Sigmodontinos fósiles (Rodentia, Muroidea, Sigmodontinae) de América del Sur: estado actual de su conocimiento y prospectiva. *Mastozoología Neotropical*, 9, 209–252.
- Pardiñas, U. F. J., P. Teta, S. Cirignoli, and D. H. Podestá. 2003. Micromamíferos (Didelphimorphia y Rodentia) de Norpatagonia Extra Andina, Argentina: taxonomía alfa y biogeografía. *Mastozoología Neotropical* 10: 69-113.
- Pardiñas, U. F. J., P. Teta, G. D’Elia & E.P. Lessa. 2011. The evolutionary history of sigmodontine rodents in Patagonia and Tierra del Fuego. *Biological Journal of the Linnean Society* 103: 495–513.

- Pastorino, M.J., Gallo, L.A. & H.H. Hattemer. 2004. Genetic variation in natural populations of *Austrocedrus chilensis*, a cypress of the Andean-Patagonian Forest. *Biochemical Systematics and Ecology* 32:993-1008.
- Patterson, B. & Pascual, R. 1972. The fossil mammal fauna of South America. *In*: Keast, A., Erk, F. C. & Glass, B. (Eds). *Evolution, Mammals, and Southern Continents*. State University of New York Press, Albany, pp. 247–309.
- Pearson, O.P. 1987. Mice and the Postglacial history of the Traful Valley of Argentina. *Journal of Mammalogy* 68:469-478.
- Philippi, R. A. 1896. Descripción de los mamíferos traídos del viaje de exploración a Tarapacá, hecho por orden del gobierno en el verano de 1884 a 1885. *Anales del Museo Nacional de Chile*, 13a, 1–24.
- Prance, G.T., ed. 1982. *Biological Diversification in the Tropics*. New York: Columbia Univ. Press.
- Premoli, A.C., Kitzberger, T. & T.T. Veblen. 2000. Isozyme variation and recent biogeographical history of the long-lived conifer *Fitzroya cupressoides*. *Journal of Biogeography* 27:251-260.
- Rabassa, J. & C. Clapperton. 1990. Quaternary glaciations of the southern Andes. *Quaternary Science Reviews* 9:153–174.
- Rabassa, J., Coronato, A., Bujalesky, G., Salemme, M., Roig, C., Meglioli, A., Heusser, C., Gordillo, S., Roig, F., Borromei, A. & M. Quattrocchio. 2000. Quaternary of Tierra del Fuego, southernmost South America: an updated review. *Quaternary International* 68-71:217-240.
- Rabassa, J., Coronato, A.M. & M. Salemme. 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.

- Rabassa J. 2008. Late Cenozoic glaciations in Patagonia and Tierra del Fuego. The late Cenozoic of Patagonia and Tierra del Fuego (ed. by J. Rabassa), pp. 151–204. Elsevier, Oxford
- Rambaut, A., Drummond, A.J. 2007. Tracer v1.5, disponible desde: <http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer>
- Rambaut, A. 2006. FigTree v1.3.1, disponible desde: <http://beast.bio.ed.ac.uk/FigTree>
- Ray, N., & J.M. Adams. 2001. A GIS-based Vegetation Map of the World at the Last Glacial Maximum (25,000-15,000 BP). *Internet Archaeology* 11.
- Reig, O. A. 1984. Distribuição geográfica e história evolutiva dos roedores muroideos sulamericanos (Cricetidae: Sigmodontinae). *Revista Brasileira de Genética* 7:333–365.
- Reig, O.A. 1986. Diversity patterns and differentiation of high Andean rodents. In: F. Vuilleumier, F. & Monasterio, M. (Eds). *High Altitude Tropical Biogeography*. Oxford University Press, New York, pp. 404–439.
- Reig, O.A. 1987. An assessment of the systematics and evolution of the Akodontini, with the description of new fossil species of *Akodon* (Cricetidae: Sigmodontinae). In: Patterson, B. D. & Timm, R. M. (Eds). *Studies in Neotropical Mammalogy: Essays in Honor of Philip Hershkovitz*. Fieldiana, Zoology 39:347–399.
- Rodríguez-Serrano, E., Cancino, R.A. & R.A. Palma. 2006. Molecular phylogeography of *Abrothrix olivaceus* (Rodentia: Sigmodontinae) in Chile. *Journal of Mammalogy* 87(5):971–980.
- Ruzzante, D.E., Walde, S.J., Gosse, J.C. & V.E. Cussac. 2008. Climate control on ancestral population dynamics: insight from Patagonian fish phylogeography. *Molecular Ecology* 17, 2234–2244
- Schaefer, J.M., Denton, G.H., Barrell, D.J.A., Ivy-Ochs, S., Kubik, P.W., Andersen, B.G., Phillips, F.M., Lowell, T.V. & C. Schlüchter. 2006. Near-Synchronous

interhemispheric termination of the Last Glacial Maximum in mid-latitudes.
Science 312:1510-1513.

Schneider S & L. Excoffier. 1999. Estimation of demographic parameters from the distribution of pairwise differences when the mutation rates vary among sites: Application to human mitochondrial DNA. *Genetics*. 152:1079-1089.

Sikes, R.S., Monjeau, J.A., Birney, E.C., Phillips, C.J. & Hillyard, J.R. 1997. Morphological versus chromosomal and molecular divergence in two species of Eligmodontia. *Zeitschrift für Säugetierkunde* 62:265–280.

Singer B, Ackert RP Jr, Guillou H. 2004. $^{40}\text{Ar}/^{39}\text{Ar}$ and K — Ar chronology of Pleistocene glaciations in Patagonia. *Geological Society of America Bulletin* 116:434–450.

Smith, M.J., Kelt, D.A. & J.L. Patton. 2001. Testing models of diversification in mice in the *Abrothrix olivaceus/xanthorhinus* complex in Chile and Argentina. *Molecular Ecology* 10:397-405.

Smith, M.F. & J.L. Patton. 1993. The diversification of South American murid rodents: evidence of mitochondrial DNA sequence data for the akodontine tribe. *Biological Journal of the Linnean Society* 50:149–177.

Smith, M. F. & Patton, J. L. 1999. Phylogenetic relationships and the radiation of sigmodontine rodents in South America: evidence from cytochrome *b*. *Journal of Mammalian Evolution*, 6, 89–128.

Soriano, A. 1956. Los distritos florísticos de la provincia Patagónica. *Rev. Inv. Agríc.* 10:323-347.

Spotorno, A. E., Sufan-Catalan, J. & L. I. Walker. 1994. Cytogenetic diversity and evolution of Andean species of *Eligmodontia* (Rodentia, Muridae). *Zeitschrift für Säugetierkunde*, 59, 299–308.

Spotorno, A.E., Walker, L.I., Flores, S.V., Yevenes, M., Marín, J.C. & Zuleta, C. 2001. Evolución de los filotinos (Rodentia, Muridae) en los Andes del Sur. *Revista Chilena de Historia Natural* 74:151–166.

- Stebbins, G.L. 1974. Flowering Plants, Evolution Above the Species Level. Cambridge, MA: Harvard Univ. Press.
- Steppan, S. 1993. Phylogenetic relationships among the Phyllotine (Rodentia: Sigmodontinae) using morphological characters. *Journal of Mammalian Evolution*, 1, 187–213.
- Steppan, S. 1995. Revision of the tribe Phyllotini (Rodentia: Sigmodontinae), with a phylogenetic hypothesis for the Sigmodontinae. *Fieldiana, Zoology*, 80, 1–112.
- Steppan, S., Adkins, R. M. & J. Anderson. 2004. Phylogeny and divergence-date estimates of rapid radiations in muroid rodents based on multiple nuclear genes. *Systematic Biology*, 53, 533–553.
- Steppan, S.J., Ramirez, O., Banbury, J., Huchon, D., Pacheco, V., Walter, L. & A.O. Spotorno. 2007. A molecular reappraisal of the systematics of the leaf-eared mice *Phyllotis* and their relatives. In *Studies in contemporary mammalian biology. Papers honoring the remarkable career of Oliver P. Pearson, 1915-2003* (Kelt DA, Lessa EP, Salazar-Bravo JA y Patton JL eds.). University of California Publications in Zoology, Berkeley.
- Swofford, D., Olsen, G.J., Wadell, P.J. & D.M. Hillis. 1996. Phylogenetic Inference. En *Molecular Systematics*. DM Hillis, C. Moritz & BK Mable eds. 407-515. Second edition. Sinauer Associates, Publishers. Sunderland Massachusetts, USA.
- Tajima, F. 1989. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics* 123:585-595.
- Tamura, K., Dudley, J., Nei, M. & S. Kumar. 2007. *MEGA4*: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. *Molecular Biology and Evolution* 24:1596-1599.
- Thomas, O. 1896. On new small mammals from the Neotropical region. *Annals and Magazine of Natural History*, ser. 6, 18:301–314.

- Thomas, O. 1916. On the grouping of the South-American Muridae that have been referred to *Phyllotis*, *Euneomys*, and *Eligmodontia*. *Annals and Magazine of Natural History*, ser. 8, 17:139–143.
- Thompson JD, Gibson TJ, Plewniak F, Jeanmougin F & DG Higgins. 1997. The CLUSTAL_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research*, 25:4876-82.
- Tiranti, S. 1997. Cytogenetics of silky desert mice, *Eligmodontia* spp. (Rodentia, Sigmodontinae) in central Argentina. *Zeitschrift für Säugetierkunde* 62:37–42.
- Villagrán, C.M. 1995. Quaternary history of the Mediterranean vegetation of Chile. In: *Ecology and Biogeography of Mediterranean Ecosystems in Chile, California, and Australia* (eds Kalin Arroyo MT, Zedler PH, Fox MD), pp. 3–20. Springer Verlag, New York.
- Villagrán, C., León, A. & A.F. Roig. 2004. Paleodistribución glacial del alerce y ciprés de las guaitecas (*Fitzroya cupressoides* y *Pilgerodendron uviferum*) en Llanquihue e Isla Grande de Chiloé, región de Los Lagos, Chile. *Revista Geológica de Chile* 31:133-151.
- Vuilleumier, B. S. 1971. Pleistocene changes in the fauna and flora of South America. *Science*, 173, 771–780.
- Wallace, A.R. 1852. On the monkeys of the Amazon. *Proc. Zool. Soc. London* 20:107–10.
- Watterson GA. 1975. On the number of segregation sites. *Theoretical Population Biology*. 7:256-276.
- Willis KJ, Whittaker RJ. 2000. The refugial debate. *Science* 287:1406–1407.
- Zambelli, A., Dyzenchauz, F., Ramos, A., de Rosa, N., Wainberg, R. & Reig, O. A. 1992. Cytogenetics and karyosystematics of phyllotine rodents (Cricetidae, Sigmodontinae) III. New data on the distribution and karyomorphs of the genus *Eligmodontia*. *Zeitschrift für Säugetierkunde* 57:155–162.

APÉNDICE I

Detalle de los especímenes utilizados en este trabajo, especie determinada, localidad, artículo en el cual fue originalmente publicada la secuencia del gen del citocromo b y el número de acceso de GenBank para la secuencia correspondiente.

Espécimen	Especie	Localidad	Artículo	N° GenBank
PNG 0005	<i>Eligmodontia bolsionensis</i>	8	Este trabajo	NA
PNG 1092	<i>Eligmodontia bolsionensis</i>	17	Este trabajo	NA
OMNH 34726 / TK 85388	<i>Eligmodontia bolsionensis</i>	M10	Mares <i>et al.</i> 2008	EU377644
OMNH 34733 / TK 85393	<i>Eligmodontia bolsionensis</i>	M11	Mares <i>et al.</i> 2008	EU377645
OMNH 34732 / TK 85574	<i>Eligmodontia bolsionensis</i>	M11	Mares <i>et al.</i> 2008	EU377656
OMNH 34728 / TK 85246	<i>Eligmodontia bolsionensis</i>	M12	Mares <i>et al.</i> 2008	EU377641
OMNH 34730 / TK 85399	<i>Eligmodontia bolsionensis</i>	M13	Mares <i>et al.</i> 2008	EU377648
OMNH 34743 / TK 85003	<i>Eligmodontia bolsionensis</i>	M15	Mares <i>et al.</i> 2008	EU377637
OMNH 34810 / TK 85596	<i>Eligmodontia bolsionensis</i>	M15	Mares <i>et al.</i> 2008	EU377657
OMNH 34736 / TK 85240	<i>Eligmodontia bolsionensis</i>	M16	Mares <i>et al.</i> 2008	EU377639
OMNH 34725 / TK 85448	<i>Eligmodontia bolsionensis</i>	M9	Mares <i>et al.</i> 2008	EU377655
NK 30652	<i>Eligmodontia hirtipes</i>	M1	Mares <i>et al.</i> 2008	EU377635
NK 14506	<i>Eligmodontia hirtipes</i>	M2	Mares <i>et al.</i> 2008	EU377632
NK 14544	<i>Eligmodontia hirtipes</i>	M3	Mares <i>et al.</i> 2008	EU377633
MSB NK 96063	<i>Eligmodontia hirtipes</i>	M4	Mares <i>et al.</i> 2008	EU377636

Espécimen	Especie	Localidad	Artículo	N° GenBank
NK 14586	<i>Eligmodontia hirtipes</i>	M5	Mares <i>et al.</i> 2008	EU377634
NK 96028	<i>Eligmodontia hirtipes</i>	P1	Palma,R.E., Marquet,P.A. and Boric-Bargetto,D. UNPUBLISHED	AY341054
TK 85395	<i>Eligmodontia moreni</i>	M11	Mares <i>et al.</i> 2008	EU377646
TK 85398	<i>Eligmodontia moreni</i>	M13	Mares <i>et al.</i> 2008	EU377647
TK 85006	<i>Eligmodontia moreni</i>	M15	Mares <i>et al.</i> 2008	EU377638
TK 85242	<i>Eligmodontia moreni</i>	M15	Mares <i>et al.</i> 2008	EU377640
TK 85412	<i>Eligmodontia moreni</i>	M20	Mares <i>et al.</i> 2008	EU377649
TK 85446	<i>Eligmodontia moreni</i>	M21	Mares <i>et al.</i> 2008	EU377654
TK 85366	<i>Eligmodontia moreni</i>	M22	Mares <i>et al.</i> 2008	EU377642
OMNH 34781 / AK 13359	<i>Eligmodontia moreni</i>	M24	Mares <i>et al.</i> 2008	EU377613
OMNH 34634 AK 13471	<i>Eligmodontia moreni</i>	M25	Mares <i>et al.</i> 2008	EU377614
OMNH 34570 / AK 13341	<i>Eligmodontia moreni</i>	M26	Mares <i>et al.</i> 2008	EU377612
AK 16935	<i>Eligmodontia moreni</i>	M27	Mares <i>et al.</i> 2008	EU377630
TK 85417	<i>Eligmodontia moreni</i>	M6	Mares <i>et al.</i> 2008	EU377650
TK 85441	<i>Eligmodontia moreni</i>	M9	Mares <i>et al.</i> 2008	EU377653
PNG 0170	<i>Eligmodontia morgani</i>	4	Lessa <i>et al.</i> 2010	HM167842
PNG 0162	<i>Eligmodontia morgani</i>	4	Este trabajo	NA
PNG 0166	<i>Eligmodontia morgani</i>	4	Este trabajo	NA
PNG 0168	<i>Eligmodontia morgani</i>	4	Este trabajo	NA
PNG 0169	<i>Eligmodontia morgani</i>	4	Este trabajo	NA
RDS 17938	<i>Eligmodontia morgani</i>	5	Este trabajo	NA
PNG 0206	<i>Eligmodontia morgani</i>	6	Lessa <i>et al.</i> 2010	HM167843

Espécimen	Especie	Localidad	Artículo	N° GenBank
PNG 0217	<i>Eligmodontia morgani</i>	6	Este trabajo	NA
PNG 0227	<i>Eligmodontia morgani</i>	6	Este trabajo	NA
PNG 0228	<i>Eligmodontia morgani</i>	6	Este trabajo	NA
PT 04	<i>Eligmodontia morgani</i>	7	Este trabajo	NA
PT 05	<i>Eligmodontia morgani</i>	7	Este trabajo	NA
PPA 118	<i>Eligmodontia morgani</i>	19	Este trabajo	NA
PNG 0326	<i>Eligmodontia morgani</i>	20	Lessa <i>et al.</i> 2010	HM167844
PNG 0329	<i>Eligmodontia morgani</i>	20	Este trabajo	NA
PNG 0334	<i>Eligmodontia morgani</i>	20	Este trabajo	NA
PPA 30	<i>Eligmodontia morgani</i>	21	Este trabajo	NA
PPA 64	<i>Eligmodontia morgani</i>	21	Este trabajo	NA
PNG 1623	<i>Eligmodontia morgani</i>	22	Lessa <i>et al.</i> 2010	HM167841
PNG 1627	<i>Eligmodontia morgani</i>	22	Este trabajo	NA
PNG 1628	<i>Eligmodontia morgani</i>	22	Este trabajo	NA
PNG 1629	<i>Eligmodontia morgani</i>	22	Este trabajo	NA
PNG 1504	<i>Eligmodontia morgani</i>	23	Este trabajo	NA
PNG 1571	<i>Eligmodontia morgani</i>	23	Este trabajo	NA
LTU183	<i>Eligmodontia morgani</i>	24	Este trabajo	NA
PNG 0792	<i>Eligmodontia morgani</i>	25	Lessa <i>et al.</i> 2010	HM167845
PNG 0895	<i>Eligmodontia morgani</i>	25	Lessa <i>et al.</i> 2010	HM167846
PNG 0789	<i>Eligmodontia morgani</i>	25	Este trabajo	NA
PNG 0828	<i>Eligmodontia morgani</i>	25	Este trabajo	NA
PNG 0868	<i>Eligmodontia morgani</i>	25	Este trabajo	NA
PNG 0872	<i>Eligmodontia morgani</i>	25	Este trabajo	NA

Espécimen	Especie	Localidad	Artículo	N° GenBank
PNG 0896	<i>Eligmodontia morgani</i>	25	Este trabajo	NA
PNG 0901	<i>Eligmodontia morgani</i>	25	Este trabajo	NA
PNG 0903	<i>Eligmodontia morgani</i>	25	Este trabajo	NA
PNG 0916	<i>Eligmodontia morgani</i>	25	Este trabajo	NA
PNG 0935	<i>Eligmodontia morgani</i>	25	Este trabajo	NA
PNG 0940	<i>Eligmodontia morgani</i>	25	Este trabajo	NA
PNG 0942	<i>Eligmodontia morgani</i>	25	Este trabajo	NA
PNG 0944	<i>Eligmodontia morgani</i>	25	Este trabajo	NA
PNG 0951	<i>Eligmodontia morgani</i>	25	Este trabajo	NA
LTL 5	<i>Eligmodontia morgani</i>	26	Este trabajo	NA
LTL7	<i>Eligmodontia morgani</i>	26	Este trabajo	NA
LTU 652	<i>Eligmodontia morgani</i>	27	Este trabajo	NA
LTU 660	<i>Eligmodontia morgani</i>	27	Este trabajo	NA
MVZ 182669	<i>Eligmodontia morgani</i>	S56	Smith & Patton 1999	HM167840
MVZ 182670	<i>Eligmodontia morgani</i>	S56	Smith & Patton 1999	AF108691
OMNH 34654 / AK 15937	<i>Eligmodontia morgani</i>	M42	Mares <i>et al.</i> 2008	EU377626
OMNH 34789 / AK 15915	<i>Eligmodontia morgani</i>	M43	Mares <i>et al.</i> 2008	EU377625
FMNH 133049	<i>Eligmodontia morgani</i>	M44	Mares <i>et al.</i> 2008	EU377631
AK 16879	<i>Eligmodontia morgani</i>	M33	Mares <i>et al.</i> 2008	EU377629
OMNH 34637 / AK 13010	<i>Eligmodontia morgani</i>	M34	Mares <i>et al.</i> 2008	EU377609
OMNH 34635 / AK 15798	<i>Eligmodontia morgani</i>	M38	Mares <i>et al.</i> 2008	EU377621
OMNH 34797 / AK 15839	<i>Eligmodontia morgani</i>	M40	Mares <i>et al.</i> 2008	EU377622
OMNH 34651 / AK 16011	<i>Eligmodontia morgani</i>	M41	Mares <i>et al.</i> 2008	EU377627

Espécimen	Especie	Localidad	Artículo	N° GenBank
OMNH 34756 / TK 85435	<i>Eligmodontia puerulus</i>	M7	Mares <i>et al.</i> 2008	EU377652
TK 85428	<i>Eligmodontia puerulus</i>	M8	Mares <i>et al.</i> 2008	EU377651
PNG 0153	<i>Eligmodontia typus</i>	4	Este trabajo	NA
PNG 0003	<i>Eligmodontia typus</i>	8	Este trabajo	NA
PNG 0010	<i>Eligmodontia typus</i>	8	Este trabajo	NA
PNG 0012	<i>Eligmodontia typus</i>	8	Este trabajo	NA
PNG 0017	<i>Eligmodontia typus</i>	8	Este trabajo	NA
PNG 0019	<i>Eligmodontia typus</i>	8	Este trabajo	NA
PNG 0021	<i>Eligmodontia typus</i>	8	Este trabajo	NA
PNG 0038	<i>Eligmodontia typus</i>	8	Este trabajo	NA
PNG 0044	<i>Eligmodontia typus</i>	8	Este trabajo	NA
PNG 0051	<i>Eligmodontia typus</i>	8	Este trabajo	NA
PNG 0055	<i>Eligmodontia typus</i>	8	Este trabajo	NA
PNG 0059	<i>Eligmodontia typus</i>	8	Este trabajo	NA
PNG 0067	<i>Eligmodontia typus</i>	8	Este trabajo	NA
PNG 0073	<i>Eligmodontia typus</i>	8	Este trabajo	NA
PNG 0074	<i>Eligmodontia typus</i>	8	Este trabajo	NA
PNG 0075	<i>Eligmodontia typus</i>	8	Este trabajo	NA
PNG 0080	<i>Eligmodontia typus</i>	8	Este trabajo	NA
PNG 0082	<i>Eligmodontia typus</i>	8	Este trabajo	NA
PNG 0083	<i>Eligmodontia typus</i>	8	Este trabajo	NA
PNG 0084	<i>Eligmodontia typus</i>	8	Este trabajo	NA
PNG 0087	<i>Eligmodontia typus</i>	8	Este trabajo	NA

Espécimen	Especie	Localidad	Artículo	N° GenBank
PNG 0091	<i>Eligmodontia typus</i>	8	Este trabajo	NA
PNG 1352	<i>Eligmodontia typus</i>	11	Lessa <i>et al.</i> 2010	HM167857
PNG 1348	<i>Eligmodontia typus</i>	11	Este trabajo	NA
PNG 1349	<i>Eligmodontia typus</i>	11	Este trabajo	NA
PNG 1351	<i>Eligmodontia typus</i>	11	Este trabajo	NA
PNG 1353	<i>Eligmodontia typus</i>	11	Este trabajo	NA
PNG 1355	<i>Eligmodontia typus</i>	11	Este trabajo	NA
PNG 1356	<i>Eligmodontia typus</i>	11	Este trabajo	NA
PNG 1358	<i>Eligmodontia typus</i>	11	Este trabajo	NA
PNG 1360	<i>Eligmodontia typus</i>	11	Este trabajo	NA
PNG 1361	<i>Eligmodontia typus</i>	11	Este trabajo	NA
PNG 1363	<i>Eligmodontia typus</i>	11	Este trabajo	NA
PNG 1369	<i>Eligmodontia typus</i>	11	Este trabajo	NA
PNG 1375	<i>Eligmodontia typus</i>	11	Este trabajo	NA
PNG 1379	<i>Eligmodontia typus</i>	11	Este trabajo	NA
PNG 1380	<i>Eligmodontia typus</i>	11	Este trabajo	NA
PNG 1312	<i>Eligmodontia typus</i>	12	Lessa <i>et al.</i> 2010	HM167856
PNG 1300	<i>Eligmodontia typus</i>	12	Este trabajo	NA
PNG 1301	<i>Eligmodontia typus</i>	12	Este trabajo	NA
PNG 1303	<i>Eligmodontia typus</i>	12	Este trabajo	NA
PNG 1305	<i>Eligmodontia typus</i>	12	Este trabajo	NA
PNG 1306	<i>Eligmodontia typus</i>	12	Este trabajo	NA
PNG 1310	<i>Eligmodontia typus</i>	12	Este trabajo	NA
PNG 1326	<i>Eligmodontia typus</i>	12	Este trabajo	NA

Espécimen	Especie	Localidad	Artículo	N° GenBank
PNG 1330	<i>Eligmodontia typus</i>	12	Este trabajo	NA
PNG 1331	<i>Eligmodontia typus</i>	12	Este trabajo	NA
PNG 1333	<i>Eligmodontia typus</i>	12	Este trabajo	NA
PNG 1335	<i>Eligmodontia typus</i>	12	Este trabajo	NA
PNG 1226	<i>Eligmodontia typus</i>	13	Lessa <i>et al.</i> 2010	HM167855
PNG 1222	<i>Eligmodontia typus</i>	13	Este trabajo	NA
PNG 1227	<i>Eligmodontia typus</i>	13	Este trabajo	NA
PNG 1236	<i>Eligmodontia typus</i>	13	Este trabajo	NA
PNG 1237	<i>Eligmodontia typus</i>	13	Este trabajo	NA
PNG 1241	<i>Eligmodontia typus</i>	13	Este trabajo	NA
PNG 1250	<i>Eligmodontia typus</i>	13	Este trabajo	NA
PNG 1251	<i>Eligmodontia typus</i>	13	Este trabajo	NA
PNG 1252	<i>Eligmodontia typus</i>	13	Este trabajo	NA
PNG 1289	<i>Eligmodontia typus</i>	13	Este trabajo	NA
PNG 1297	<i>Eligmodontia typus</i>	13	Este trabajo	NA
PNG 1298	<i>Eligmodontia typus</i>	13	Este trabajo	NA
PNG 1218	<i>Eligmodontia typus</i>	14	Lessa <i>et al.</i> 2010	HM167854
PNG 1177	<i>Eligmodontia typus</i>	14	Este trabajo	NA
PNG 1178	<i>Eligmodontia typus</i>	14	Este trabajo	NA
PNG 1179	<i>Eligmodontia typus</i>	14	Este trabajo	NA
PNG 1184	<i>Eligmodontia typus</i>	14	Este trabajo	NA
PNG 1188	<i>Eligmodontia typus</i>	14	Este trabajo	NA
PNG 1193	<i>Eligmodontia typus</i>	14	Este trabajo	NA
PNG 1197	<i>Eligmodontia typus</i>	14	Este trabajo	NA

Espécimen	Especie	Localidad	Artículo	N° GenBank
PNG 1198	<i>Eligmodontia typus</i>	14	Este trabajo	NA
PNG 1199	<i>Eligmodontia typus</i>	14	Este trabajo	NA
PNG 1200	<i>Eligmodontia typus</i>	14	Este trabajo	NA
PNG 1206	<i>Eligmodontia typus</i>	14	Este trabajo	NA
PNG 1208	<i>Eligmodontia typus</i>	14	Este trabajo	NA
PNG 1210	<i>Eligmodontia typus</i>	14	Este trabajo	NA
PNG 1217	<i>Eligmodontia typus</i>	14	Este trabajo	NA
PNG 1122	<i>Eligmodontia typus</i>	16	Lessa <i>et al.</i> 2010	HM167852
PNG 1123	<i>Eligmodontia typus</i>	16	Lessa <i>et al.</i> 2010	HM167853
PNG 1102	<i>Eligmodontia typus</i>	16	Este trabajo	NA
PNG 1103	<i>Eligmodontia typus</i>	16	Este trabajo	NA
PNG 1108	<i>Eligmodontia typus</i>	16	Este trabajo	NA
PNG 1115	<i>Eligmodontia typus</i>	16	Este trabajo	NA
PNG 1116	<i>Eligmodontia typus</i>	16	Este trabajo	NA
PNG 1117	<i>Eligmodontia typus</i>	16	Este trabajo	NA
PNG 1128	<i>Eligmodontia typus</i>	16	Este trabajo	NA
PNG 1129	<i>Eligmodontia typus</i>	16	Este trabajo	NA
PNG 1130	<i>Eligmodontia typus</i>	16	Este trabajo	NA
PNG 1131	<i>Eligmodontia typus</i>	16	Este trabajo	NA
PNG 1133	<i>Eligmodontia typus</i>	16	Este trabajo	NA
PNG 1144	<i>Eligmodontia typus</i>	16	Este trabajo	NA
PNG 1148	<i>Eligmodontia typus</i>	16	Este trabajo	NA
PNG 1149	<i>Eligmodontia typus</i>	16	Este trabajo	NA
PNG 1072	<i>Eligmodontia typus</i>	17	Lessa <i>et al.</i> 2010	HM167851

Espécimen	Especie	Localidad	Artículo	N° GenBank
PNG 1061	<i>Eligmodontia typus</i>	17	Este trabajo	NA
PNG 1062	<i>Eligmodontia typus</i>	17	Este trabajo	NA
PNG 1080	<i>Eligmodontia typus</i>	17	Este trabajo	NA
PNG 1088	<i>Eligmodontia typus</i>	17	Este trabajo	NA
PNG 1089	<i>Eligmodontia typus</i>	17	Este trabajo	NA
PNG 1090	<i>Eligmodontia typus</i>	17	Este trabajo	NA
PNG 1039	<i>Eligmodontia typus</i>	18	Lessa <i>et al.</i> 2010	HM167849
PNG 1041	<i>Eligmodontia typus</i>	18	Lessa <i>et al.</i> 2010	HM167850
PNG 1031	<i>Eligmodontia typus</i>	18	Este trabajo	NA
PNG 1051	<i>Eligmodontia typus</i>	18	Este trabajo	NA
PPA 108	<i>Eligmodontia typus</i>	19	Este trabajo	NA
PNG 1616	<i>Eligmodontia typus</i>	22	Lessa <i>et al.</i> 2010	HM167859
PNG 1621	<i>Eligmodontia typus</i>	22	Lessa <i>et al.</i> 2010	HM167860
PNG 1622	<i>Eligmodontia typus</i>	22	Lessa <i>et al.</i> 2010	HM167861
PNG 1624	<i>Eligmodontia typus</i>	22	Lessa <i>et al.</i> 2010	HM167862
PNG 1625	<i>Eligmodontia typus</i>	22	Lessa <i>et al.</i> 2010	HM167863
PNG 1617	<i>Eligmodontia typus</i>	22	Este trabajo	NA
PNG 1618	<i>Eligmodontia typus</i>	22	Este trabajo	NA
PNG 1619	<i>Eligmodontia typus</i>	22	Este trabajo	NA
PNG 1634	<i>Eligmodontia typus</i>	22	Este trabajo	NA
PNG 1637	<i>Eligmodontia typus</i>	22	Este trabajo	NA
PNG 1643	<i>Eligmodontia typus</i>	22	Este trabajo	NA
PNG 1645	<i>Eligmodontia typus</i>	22	Este trabajo	NA
PNG 1646	<i>Eligmodontia typus</i>	22	Este trabajo	NA

Espécimen	Especie	Localidad	Artículo	N° GenBank
PNG 1648	<i>Eligmodontia typus</i>	22	Este trabajo	NA
PNG 1502	<i>Eligmodontia typus</i>	23	Lessa <i>et al.</i> 2010	HM167858
PNG 1503	<i>Eligmodontia typus</i>	23	Este trabajo	NA
PNG 1516	<i>Eligmodontia typus</i>	23	Este trabajo	NA
PNG 1517	<i>Eligmodontia typus</i>	23	Este trabajo	NA
PNG 1518	<i>Eligmodontia typus</i>	23	Este trabajo	NA
PNG 1519	<i>Eligmodontia typus</i>	23	Este trabajo	NA
PNG 1520	<i>Eligmodontia typus</i>	23	Este trabajo	NA
PNG 1559	<i>Eligmodontia typus</i>	23	Este trabajo	NA
PNG 1560	<i>Eligmodontia typus</i>	23	Este trabajo	NA
PNG 1566	<i>Eligmodontia typus</i>	23	Este trabajo	NA
PNG 1567	<i>Eligmodontia typus</i>	23	Este trabajo	NA
PNG 1583	<i>Eligmodontia typus</i>	23	Este trabajo	NA
PNG 1588	<i>Eligmodontia typus</i>	23	Este trabajo	NA
PNG 1597	<i>Eligmodontia typus</i>	23	Este trabajo	NA
PNG 1598	<i>Eligmodontia typus</i>	23	Este trabajo	NA
PNG 1607	<i>Eligmodontia typus</i>	23	Este trabajo	NA
PNG 1608	<i>Eligmodontia typus</i>	23	Este trabajo	NA
OMNH 34656 / AK 14620	<i>Eligmodontia typus</i>	M17	Mares <i>et al.</i> 2008	EU377619
OMNH 34658 / AK 14622	<i>Eligmodontia typus</i>	M17	Mares <i>et al.</i> 2008	EU377620
OMNH 34663 / TK 85372	<i>Eligmodontia typus</i>	M18	Mares <i>et al.</i> 2008	EU377643
OMNH 34698 / AK 16215	<i>Eligmodontia typus</i>	M28	Mares <i>et al.</i> 2008	EU377628
OMNH 34678 / AK 13476	<i>Eligmodontia typus</i>	M29	Mares <i>et al.</i> 2008	EU377615
OMNH 34827 / AK 13813	<i>Eligmodontia typus</i>	M30	Mares <i>et al.</i> 2008	EU377617

Espécimen	Especie	Localidad	Artículo	N° GenBank
OMNH 34866 / AK 13534	<i>Eligmodontia typus</i>	M31	Mares et al. 2008	EU377616
OMNH 34720 / AK 14010	<i>Eligmodontia typus</i>	M32	Mares et al. 2008	EU377618
OMNH 34684 / AK 13254	<i>Eligmodontia typus</i>	M35	Mares et al. 2008	EU377610
OMNH 34838 / AK 13271	<i>Eligmodontia typus</i>	M37	Mares et al. 2008	EU377611
OMNH 34664 / AK 15871	<i>Eligmodontia typus</i>	M45	Mares et al. 2008	EU377623
OMNH 34824 / AK 15904	<i>Eligmodontia typus</i>	M46	Mares et al. 2008	EU377624
MVZ 182681	<i>Eligmodontia typus</i>	M57	Smith & Patton 1999	AF108692
MVZ 182682	<i>Eligmodontia typus</i>	M57	Smith & Patton 1999	HM167848
LTU 631	<i>Eligmodontia typus</i>	1	Este trabajo	NA
UP 443	<i>Eligmodontia typus</i>	2	Este trabajo	NA
UP 428	<i>Eligmodontia typus</i>	3	Este trabajo	NA
UP 509	<i>Eligmodontia typus</i>	9	Este trabajo	NA
UP 854	<i>Eligmodontia typus</i>	10	Este trabajo	NA
UP 925	<i>Eligmodontia typus</i>	15	Este trabajo	NA