

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA “LUIZ DE QUEIROZ”

VARIAÇÃO INTRAESPECÍFICA EM *ECHIMYS CHRYSURUS* (Zimmermann, 1780)
(Rodentia, Echimyidae)

Camila Mayume Machado Ishizaki

Orientador: Alexandre Reis Percequillo

Co-orientadora: Elisandra de Almeida Chiquito

Piracicaba

Outubro, 2023

RESUMO

Estudos acerca da variação geográfica e filogeografia são realizados no campo da biogeografia e são importantes para a compreensão da biodiversidade e do processo evolutivo. A família Echimyidae, representada pelos ratos-de-espinho, é a mais diversa dentre as famílias de roedores caviomorfos, com 28 gêneros e 89 espécies, e há muito para ser aprendido sobre sua composição e história evolutiva em todos os níveis taxonômicos. Pertencente a esta família, *Echimys chrysurus* é a espécie mais amplamente distribuída do gênero *Echimys*, havendo registros de coleta em pelo menos nove ecorregiões da Amazônia (Griffith et al., 1998) e, até o presente, não há conhecimento acerca de sua biogeografia e diversidade. Portanto, de modo a estudar a variação intraespecífica em *E. chrysurus*, tendo em vista sua distribuição geográfica com paisagens heterogêneas e a relevância da diversidade genética e fenotípica para a adaptação a diferentes ambientes, os caracteres morfológicos, morfométricos e moleculares (utilizando o citocromo b) da espécie serão estudados neste projeto. Estudos semelhantes obtiveram informações relevantes, como o reconhecimento de unidades com o mesmo padrão de variação, identificação de padrões de microevolução da espécie estudada, o que pode resultar na descrição formal de novas espécies.

Palavras-chave: Amazônia, Roedores, Diversidade, Morfologia, Molecular, Echimyidae

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

Taxonomia é a ciência de delimitar, descrever e classificar a biodiversidade baseada em características comuns (filogenéticas, morfológicas, moleculares, ecológicas, etc) e, portanto, é responsável por definir a unidade básica dos variados campos de conhecimento da biologia. Com uma abordagem integrativa, estuda os limites das espécies por meio de perspectivas múltiplas e complementares, sendo que os estudos de variação inter e intraespecífica são essenciais (Dayrat, 2005; Dalapicolla & Percequillo, 2020). Esta ciência busca constantemente simplificar o processo evolutivo, uma vez que a evolução é um processo complexo e contínuo na natureza (Dalapicolla & Percequillo, 2020). A taxonomia fundamenta um campo do conhecimento que integra as ciências biológicas com a geologia, geografia, ecologia e outras áreas do conhecimento e é responsável pela análise e explicação dos padrões de distribuição das espécies: a biogeografia (Cox et al., 2016). Logo, estudos acerca da variação geográfica e filogeografia são realizados no campo da biogeografia e são importantes para a compreensão da biodiversidade e do processo evolutivo (Da Silva et al., 1993; Cox et al., 2016).

A origem e a história biogeográfica dos roedores caviomorfos sul-americanos é uma questão muito debatida dentro da evolução dos mamíferos. A hipótese mais aceita é de que esses roedores possuem origem africana, com dispersão transatlântica durante o Eoceno (Antoine et al., 2011; Rowe et al., 2010). A família Echimyidae, representada pelos ratos-de-espinho, ocupa uma ampla gama de habitats na região Neotropical e apresenta distribuição por toda a América do Sul e nas ilhas do Caribe, destacando-se como a mais diversa dentre as famílias de roedores caviomorfos, somando 28 gêneros e 89 espécies (Emmons et al., 2015; Fabre et al., 2017). Sua história evolutiva mostra uma alta taxa de especiação e homoplasia morfológica, dificultando a resolução das relações filogenéticas e favorecendo uma instabilidade histórica em sua taxonomia, que embora seja alvo de diversos estudos que

auxiliaram na resolução filogenética da família, há muito para ser aprendido sobre sua composição e história evolutiva em todos os níveis taxonômicos (Fabre et al., 2012; Emmons et al., 2015).

Historicamente, o gênero *Echimys* (Echimyinae: Echimyidae) abrigou táxons do grupo da espécie que hoje são atribuídos a outros gêneros, como *Makalata* Husson, 1978, *Phyllomys* Lund, 1839 e *Callistomys* Emmons & Vucetich, 1998 (Iack-Ximenes et al., 2005). A última revisão taxonômica que incluiu o gênero data de 2005 (Emmons, 2005) e foi baseada em caracteres morfológicos; no entanto, devido aos fortes indícios de uma divergência rápida e de múltiplas linhagens na família, essas características são, em sua maior parte, muito suscetíveis à homoplasia (Lara et al., 1996; Emmons, 2005; Courcelle et al., 2019). O uso das informações morfológicas combinadas com os avanços em técnicas de análise de genes resultou no fortalecimento da filogenia de Echimyidae, embora algumas relações ainda sejam conflitantes (Fabre et al., 2017; Courcelle et al., 2019). Atualmente, *Echimys* apresenta distribuição na Bacia Amazônica e Escudo das Guianas, e faz parte de um clado monofilético de ratos arborícolas com espinhos que inclui *Echimys*, *Makalata* e *Phyllomys* (Emmons, 2005; Fabre et al., 2013; Fabre et al., 2017). Em sua revisão, Emmons (2005) manteve apenas duas espécies no gênero: *E. chrysurus* (Zimmermann, 1780) e *E. saturnus* Thomas, 1928. Em 2005, estudos recentes apontaram a descoberta de uma nova espécie na região amazônica, *E. vieirai* (Iack-Ximenes et al., 2005). Atualmente, são reconhecidas três espécies de acordo com Patton et al. (2015): *Echimys saturnus*, cuja distribuição compreende os Andes orientais, Equador e norte do Peru; *Echimys vieirai*, conhecido em apenas duas localidades nos estados do Amazonas e Pará, e *Echimys chrysurus*, que ocorre no Brasil, Guiana Francesa, Guiana e Suriname.

Segundo Iack-Ximenes e colaboradores (2005), a diagnose do gênero *Echimys* é assim definida: um rato equimídeo de tamanho médio a grande com cauda longa e tricolor;

porção distal branca da cauda se estendendo por mais de um terço do comprimento da cauda; septo do forame incisivo formado apenas pelo pré-maxilar; quarto pré-molar com anterolofídeo desenvolvido e conectado ao metalofídeo de forma uniforme tanto lingual quanto labialmente; molares superiores com protolofó conectado ao protocone, sulco profundo formado por hipoflexo contínuo e metaflexo presente; mesolofó conectado ao metalofó pelo hipocone; processo pós-orbital do zigoma formado pelo osso jugal. Os crânios de *E. vieirai* e *E. chrysurus* são indistinguíveis e diferem de *E. saturnus* por possuírem um processo supraorbital formado pelo esquamosal anterior à sutura frontal-parietal, e o quarto pré-molar pentalofodonte com um grande anterofossetídeo central (Iack-Ximenes et al., 2005).

Atualmente, *E. chrysurus* compreende os ratos-da-árvore-de-cara-branca com distribuição ao leste da Bacia Amazônica, na região da Guiana do Brasil, Guiana, Suriname e Guiana Francesa, a leste do Rio Negro ao norte do Rio Solimões e a leste do Rio Xingu ao sul do Rio Solimões, apresentando os seguintes sinônimos: *Myoxus chrysurus*, *Hystrix chrysueros*, *Glis chrysurus*, *Loncheres chrysurus*, *Loncheres paleacea*, [*Loncheres*] *chrysurus*, *Echimys cristatus*, *Nelomys paleaceus*, *Nelomys cristatus*, *Loncheres cristata* e *Echimys paleacea* (Patton et al., 2015). A espécie ostenta variação individual considerável presente na cor, particularmente na extensão do branco na cabeça, partes inferiores e cauda, o que configura um caráter diagnóstico da espécie cuja variação pode estar relacionada com a idade (Iack-Ximenes et al., 2005; Patton et al., 2015; Godoy, 2016) e, até então, não foi alvo de estudos assertivos para investigar sua variação etária, sexual e geográfica e ainda sua diversidade intraespecífica.

Echimys chrysurus é a espécie mais amplamente distribuída do gênero e apresenta uma boa representatividade em coleções científicas (**Figura 1**): há registros de coleta em pelo menos nove ecorregiões da Amazônia, seguindo o trabalho de Griffith e colaboradores

(1998), distribuídas dentro da Planície Amazônica-Orinocana: o Escudo das Guianas Amazônica (depressão Boa Vista/savana do Rupununi, planícies e colinas com florestas da Guiana ou florestas úmidas da Guiana e planícies e planaltos do Amapá/Roraima); as Planícies Amazônicas e Costeiras (planícies amazônicas ou terras baixas centrais da Amazônia, várzea/Igapó, planície costeira das Guianas); as Florestas Úmidas do Escudo Brasileiro (planícies irregulares das terras altas da Amazônia) e também dentro dos Planaltos Orientais: os Planaltos das Guianas (terras altas das Guianas e tepuis, montanhas baixas do Suriname/Guiana), havendo inclusive um registro relativamente novo de um espécime coletado na Venezuela por Blanco & Ochoa (2020), que demonstra uma extensão significativa da distribuição da espécie.

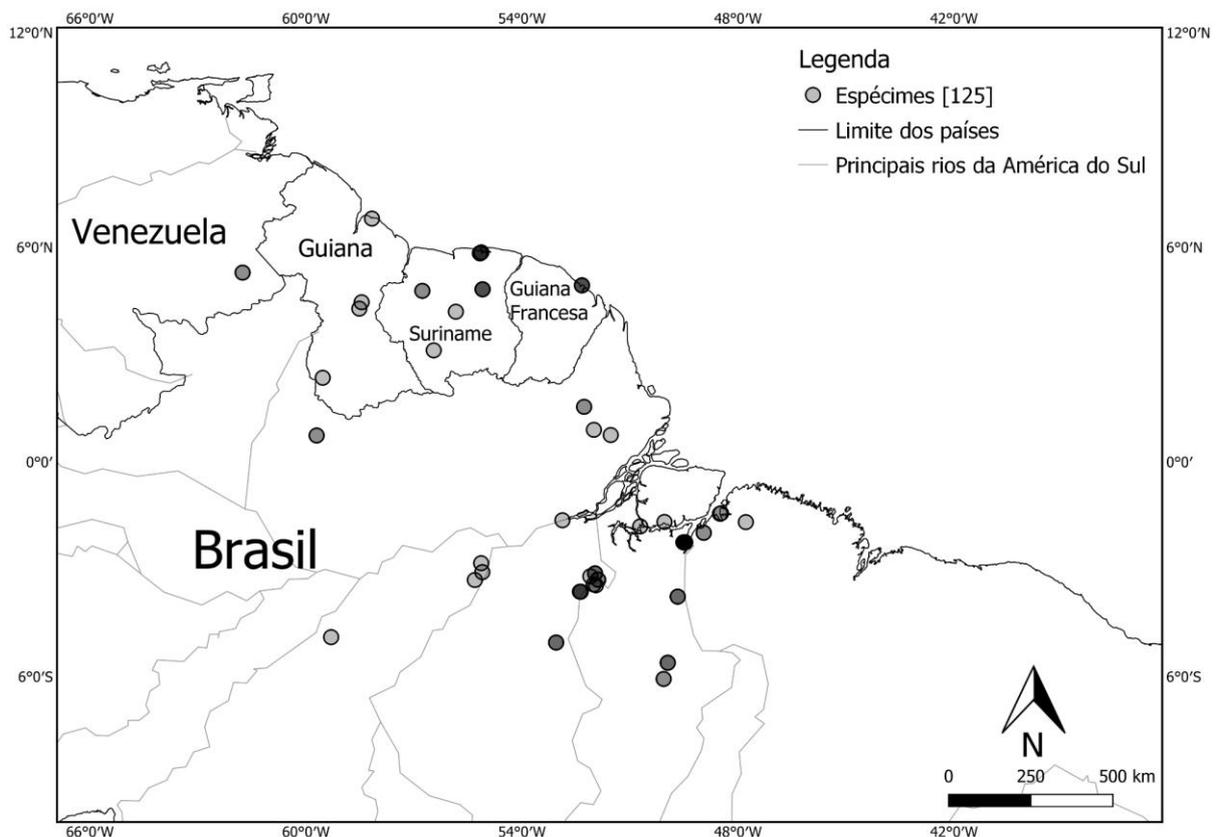


Figura 1. Mapa de registros de *E. chrysurus*. Cada ponto representa um indivíduo, e a sobreposição dos pontos (resultando em pontos mais escuros) mostra mais de um indivíduo para determinada localidade. Mapa elaborado com o software QGIS versão 3.28.11.

Dessa forma, a falta de estudos e a ampla distribuição de *E. chrysurus* (se comparada às outras espécies do gênero) em diferentes ecorregiões, cada qual com características ambientais (p. ex.: geologia, fisiografia, solo, vegetação existente e potencial, clima) que diferem entre si (Griffith et al., 1998), a tornam um interessante modelo para estudos biogeográficos. Para Vanzolini (1970), as pesquisas de biogeografia de uma espécie devem se concentrar na identificação de variações fenotípicas correspondentes à variação geográfica. Se essas variações estiverem presentes, isso pode indicar a ocorrência do processo de especiação.

As relações filogenéticas da família Echimyidae, reconhecidas com base em dados moleculares (Fabre et al, 2013; Fabre et al., 2017), mostraram que a radiação adaptativa desses roedores parece ter começado com a divergência de habitat, podendo ou não ser seguida por diferenciação de morfologia, uma vez que as radiações da ordem Rodentia, diferente da maioria das espécies de mamíferos, são frequentemente associadas a uma estreita faixa de variação morfológica, com ou sem clara divergência ecológica entre as espécies (Fabre et al, 2013; Fabre et al., 2017). Contudo, Iack-Ximenes e colaboradores (2005) utilizaram marcadores morfológicos para estudar dois indivíduos encontrados em apenas duas localidades da Amazônia brasileira e, com isso, identificaram uma espécie nova que, inclusive, compartilha a maior parte de seus caracteres com *E. chrysurus*: *E. vieirai*, evidenciando a relevância da análise morfológica.

Ademais, estudos filogeográficos baseados no gene mitocondrial do citocromo b, detectaram um alto nível de divergência para unidades geográficas dentro de um gênero, sugerindo a existência de mais de uma espécie nos táxons *Mesomys hispidus*, *Isothrix bistriata*, *Makalata didelphoides* e *Dactylomys dactylinus* (Da Silva & Patton, 1993). Embora tenha amostrado dados para *E. chrysurus*, estes foram limitados a apenas duas populações,

sendo quatro haplótipos oriundos do Rio Xingu e um do Rio Pitinga. É reconhecida pelos autores a necessidade de amostras adicionais para as vastas áreas da Amazônia, em especial para o gênero *Echimys* (Da Silva & Patton, 1993).

Portanto, de modo a avaliar a variação intraespecífica em *E. chrysurus*, tendo em vista sua distribuição geográfica com paisagens heterogêneas e a relevância da diversidade genética e fenotípica para a adaptação a diferentes ambientes (Griffith et al., 1998; Fusco & Minelli, 2010; Drury et al., 2022), os caracteres morfológicos, morfométricos e moleculares da espécie serão estudados neste projeto. Estudos de variação intraespecífica foram conduzidos usando desses dados - sendo que para as análises moleculares, destaca-se o DNA mitocondrial (Avise, 2000; Avise, 2009) - e os resultados obtidos forneceram informações relevantes, como a presença de variabilidade na população, padrões de microevolução da espécie estudada, podendo resultar inclusive na descrição formal de novas espécies, como foi o caso de *Strophitus howellsii* (Hygrophila: Planorbidae), um mexilhão extremamente raro e de distribuição restrita, caracterizado com base em estudos morfológicos e moleculares (Vendrami et al., 2020; Cruz et al., 2021; Chaiphongpachara et al., 2022; Smith et al., 2023).

O DNA mitocondrial apresenta uma importância histórica para estudos de filogeografia, muito em razão de suas características intrínsecas, como, por exemplo, ser uma herança matrilinear haplóide (Avise, 2000; Avise, 2009). Contudo, o uso de um único locus de DNA mitocondrial pode distorcer e limitar as estimativas de parâmetros demográficos, que, por sua vez, podem se tornar mais robustos com o uso de conjuntos de dados de múltiplos loci maiores (Edwards, 2009; McComack et al., 2013). O Sequenciamento de Próxima Geração (NGS) abrange a técnica Ultra Conserved Elements (UCEs), caracterizada por possuir regiões flanqueadoras progressivamente menos conservadas, o que possibilita estudos filogenéticos e filogeográficos em escalas de tempo distintas (Faircloth et al., 2012). Embora a maioria dos estudos baseados em UCEs se concentrem em filogenias profundas

(classes, ordens, famílias e gênero), estudos recentes obtiveram relações intraespecíficas e parâmetros demográficos bem fundamentados, demonstrando potencial dos UCEs em aumentar a resolução obtida com DNA mitocondrial (Smith et al. 2013; Manthey et al. 2016; Harvey et al. 2016). Dada a importância de estudos genômicos para os estudos de biogeografia e filogeografia (Faircloth et al., 2012; McComack et al., 2013) e também buscando aprender novas metodologias que agregam para minha formação, planejo solicitar uma Bolsa Estágio de Pesquisa no Exterior (BEPE) no desenvolver do projeto para Washington, DC, sede do “Smithsonian’s Center for Conservation Genomics”, com o pesquisador geneticista Dr. Jesus Maldonado, parceiro do projeto temático “Diversidade De Roedores Neotropicais (Rodentia: Sciuridae, Cricetidae, Echimyidae): Origem, Evolução e Biogeografia”, no qual meu projeto está inserido. O intuito da bolsa BEPE é realizar a análise de dados genômicos de *Echimys chrysurus* com Ultra Conserved Elements (UCEs), complementando as análises realizadas com o citocromo b e gerando novos dados para refinar o estudo de variação intraespecífica e filogeografia da espécie.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral:

Avaliar a variação intraespecífica, etária, sexual e geográfica, em *E. chrysurus* com base em informações de naturezas morfológicas e moleculares.

2.2. Objetivos específicos:

- Avaliar a variação da espécie quanto aos caracteres morfológicos e morfométricos;
- Avaliar a variação quanto aos caracteres moleculares do marcador molecular cyt b;
- Avaliar a variação dos dados genômicos da espécie utilizando UCEs (com a bolsa BEPE - FAPESP);

- Reconhecer unidades que apresentem o mesmo padrão de variação;
- Verificar se unidades reconhecidas representam unidades taxonômicas.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Tomada de dados

3.1.1. Amostragem

Serão obtidos amostras e dados de coleções científicas brasileiras, de forma que os espécimes serão analisados através de visitas técnicas, por empréstimo de material taxidermizado, esqueletos e amostras de tecidos. Inicialmente, serão acessadas as seguintes coleções:

- Laboratório de Mamíferos da ESALQ/USP, Piracicaba, SP
- Museu Nacional do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ
- Museu de Zoologia de São Paulo, São Paulo, SP
- Museu Paraense Emílio Goeldi, Belém, PA
- Coleção de Tecidos Animais da Universidade Federal do Espírito Santo, Espírito Santo, ES
- Coleção de Mamíferos da Universidade Federal do Espírito Santo, Espírito Santo, ES

Em levantamento preliminar no GBIF e consultas a algumas coleções científicas, foram registrados 125 espécimes de *E. chrysurus*, cuja distribuição se encontra na **Figura 1**.

3.1.2. Dados morfológicos

Serão levantados caracteres externos, como: padrões de coloração dos pelos ventrais, laterais e dorsais do corpo, dos pelos da cauda, das orelhas, das vibrissas, das mãos e pés, além da textura e estrutura da pelagem (Godoy, 2016), e crânio-dentárias: morfologia da caixa craniana e do rosto, tamanho dos nasais, região interorbital, desenvolvimento do jugal,

forma e extensão do forame incisivo, morfologia do septo do forame incisivo, forma e extensão da fossa mesopterigóide, processo pós-orbital do zigoma, morfologia do mastóide, presença da barra do alisfenóide, bula auditiva, posicionamento dos forames naso-lacrimal, bucinador, mastigador e oval, orientação dos incisivos, orientação da série molar superior e padrões de dobras dos molariformes inferiores e superiores (Patton, da Silva e Malcolm, 2000; Leite, 2003; Iack-Ximenes, 2005).

3.1.3. Dados morfométricos

Correspondem às variáveis craniométricas e corpóreas, sendo que as variáveis corpóreas correspondem a morfologia externa dos espécimes, contidos nas etiquetas de campo e que apresenta as seguintes informações: comprimento da cabeça e corpo (CC), comprimento da cauda (CA), comprimento do pé (CP), comprimento da orelha (CO) e peso (P).

As variáveis crânio-dentárias foram definidas com base nos trabalhos de Patton, da Silva e Malcolm (2000), Leite (2003) e Iack-Ximenes (2005), sendo elas:

Comprimento total do crânio (CTC): medido da extremidade anterior do nasal à porção posterior do occipital;

Comprimento côndilo-incisivo (CCI): medido da maior curvatura do incisivo superior à superfície articular do côndilo occipital;

Comprimento do diastema (CDI): medido da base da coroa do primeiro molar superior à face interna da base do incisivo superior no mesmo lado do crânio;

Comprimento da série molariforme superior (CSMS): medido da face anterior do pré-molar à face posterior do terceiro molar;

Comprimento do forame incisivo (CFI): maior comprimento medido da borda anterior à borda posterior do forame incisivo;

Largura do forame incisivo (LFI): maior largura interna medida nas bordas laterais do forame incisivo;

Comprimento do palato (CPA): medido da base da face interna do incisivo à porção anterior da fossa mesopterigoidea;

Comprimento do nasal (CN): medido da extremidade anterior do nasal à sutura naso-frontal;

Comprimento do rosto (CR): medido da face interna da raiz maxilar do arco zigomático à extremidade anterior do nasal;

Comprimento da fossa orbital (CFO): maior dimensão da fossa orbital entre as raízes esquamosal e maxilar do arco zigomático;

Largura do rosto (LR): medido na extremidade maior posterior do bordo superior do forame infraorbital;

Maior constrição interorbital (CIO): menor distância através dos frontais na fossa orbital;

Largura zigomática (LZ): maior distância externa dos arcos zigomáticos, próximos às raízes esquamosais;

Altura do arco zigomático (AAZ): maior altura do arco zigomático, na altura do jugal;

Largura do crânio entre os mastoides (LCM): medida entre as faces laterais dos processos mastoides;

Largura maxilar (LMA): largura através das faces labiais dos terceiros molares;

Distância entre as bulas (DEB): medida na altura da sutura do basioccipital com o basisfenoide;

Largura dos côndilos occipitais (LCO): maior largura através das faces laterais dos côndilos occipitais;

Comprimento da bula (CBU): maior distância entre as faces anterior e posterior da bula timpânica;

Altura da caixa craniana (ACC): medida da sutura esfeno-occipital à sutura fronto-parietal;

Altura do crânio acima do M1 (ACM1): medida da superfície do primeiro molar ao frontal;

Altura do rosto (AR): medida na altura da sutura entre o pré-maxilar e o maxilar.

Os espécimes serão classificados quanto à idade, seguindo a classificação proposta por Iack-Ximenes (2005) e Leite (2003), os quais definiram dez classes etárias com base na erupção dos dentes e desgaste diferencial das cristas e formação de ilhas de esmaltes, a saber:

Classe etária 1 (CE1): PM eclodido e com desgaste. M1 eclodindo sem desgaste.

Classe etária 2 (CE2): M1 com desgaste e M2 não formado.

Classe etária 3 (CE3): M2 formado, mas não eclodido.

Classe etária 4 (CE4): M2 eclodido e sem desgaste.

Classe etária 5 (CE5): M2 com desgaste e M3 ainda não formado.

Classe etária 6 (CE6): M3 formado e não eclodido.

Classe etária 7 (CE7): M3 eclodido e sem desgaste.

Classe etária 8 (CE8): M3 com desgaste.

Classe etária 9 (CE9): PM-M3 com médio desgaste, fusão de algumas lâminas.

Classe etária 10 (CE10): PM-M3 com desgaste evidente.

Para o desenvolvimento deste estudo, os indivíduos Jovens compreendem as classes 1 a 5 (M3 não formado); Sub-adultos estão nas classes 6 e 7 (M3 em processo de erupção); e Adultos são aqueles pertencentes às classes 8 e 10, que apresentam dentição completa, M3 alinhado e em processo de desgaste. Esta classificação tem o objetivo de evitar a comparação entre indivíduos em classes ontogenéticas diferentes.

3.1.4. Dados moleculares

O DNA genômico será extraído de alíquotas de tecido hepático ou muscular armazenadas em álcool e depositadas em coleções científicas, ou ainda fragmentos de pele de espécimes taxidermizados, via kit de extração DNeasy® Blood & Tissue, tendo como base o protocolo da fabricante QIAGEN INC. Foi selecionado para ser amplificado via Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) um fragmento de 798 pb do gene mitocondrial do Citocromo b (Da Silva & Patton, 1993; Lara et al., 1996; Lara & Patton, 2000; Avise, 2000; Almeida et al., 2007; Avise, 2009; Fabre et al., 2013), sendo que serão utilizados os primers MVZ05 e MVZ16, seguindo o programa descrito por Da Silva & Patton (1993). Posteriormente, os fragmentos amplificados serão sequenciados em sequenciador Sanger. As etapas de extração e amplificação serão realizadas no Laboratório de Mamíferos da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ/USP), ao passo que o sequenciamento será realizado em laboratório parceiro ACTGene Análises Moleculares (<https://actgene.com.br/>).

3.2. Análise dos dados

3.2.1. Análises morfológicas

Uma vez reconhecidos os caracteres informativos e seus diferentes estados, os caracteres serão avaliados com base na frequência de determinado estado de caráter. Essa avaliação será feita de forma gráfica, por meio de histogramas ou *pie charts* (Chiquito, 2014), levando em consideração a distribuição geográfica das amostras.

3.2.2. Análises morfométricas

Primeiramente, as amostras serão avaliadas quanto à normalidade dos dados, por meio do teste Kolmogorov-Smirnov, a fim de definir o uso de testes paramétricos (que seguem

uma normalidade) ou não paramétricos (não seguem uma normalidade). Contudo, partindo do princípio de que a normalidade dos dados será verificada - vide estudos anteriores (Chiquito, 2014; Chaiphongpachara et al., 2022) - em seguida será investigada a existência de dimorfismo sexual e variação etária, através dos testes *t* Student e ANOVA, respectivamente. Aplicados os testes estatísticos, saberemos se os indivíduos poderão ser avaliados como um único grupo ou não.

Para estudar a relação entre a variação dos dados morfométricos e a geografia, testes de variação geográfica com agrupamentos de populações serão realizados, com base nos trabalhos de Vanzolini (1970) e Vanzolini & Williams (1970), que usam de transectos longitudinais e latitudinais. O objetivo é identificar variações que ocorrem dentro de um caráter ou de um conjunto de caracteres de acordo com as localidades.

Será feita uma Análise de Componentes Principais (PCA) utilizando a matriz de dados logaritmizada na base 10 de forma a identificar possíveis caracteres com maior variação/poder discriminatório entre as populações ou entre as amostras de diferentes localidades. Além disso, a normalidade multivariada será verificada por meio do teste de Mardia Kurtosis (Chiquito, 2014), embora, assim como as variáveis univariadas, assumamos que obteremos uma distribuição normal dos dados.

3.2.3. Análises moleculares

As sequências de citocromo b obtidas serão alinhadas por meio de programas computacionais e submetidas à análise filogenética com o uso da rede de haplótipos, de forma a obter as relações entre indivíduos e/ou populações da espécie (Bandelt et al., 1999; Chiquito, 2014; Garcia et al., 2021).

O grupo externo será composto por espécies do gênero *Phyllomys*, grupo-irmão de *Echimys* e, do gênero *Proechimys*, que está mais distante filogeneticamente. As espécies serão selecionadas de acordo com a disponibilidade de tecido e sequências de cit b.

4. PLANO DE TRABALHO E CRONOGRAMA DE EXECUÇÃO

ATIVIDADE	Mês 1	Mês 2	Mês 3	Mês 4	Mês 5	Mês 6
Revisão bibliográfica	X	X	X	X		
Obtenção dos dados morfológicos		X	X	X		
Obtenção dos dados morfométricos		X	X	X		
Obtenção dos dados moleculares (extração de DNA, PCR e sequenciamento)	X	X	X			
Elaboração do relatório final				X	X	X
Análise dos dados			X	X	X	
Revisão						X
Apresentação do TCC						X

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANTOINE, Pierre-Olivier et al. Middle Eocene rodents from Peruvian Amazonia reveal the pattern and timing of caviomorph origins and biogeography. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, v. 279, n. 1732, p. 1319-1326, 2012
- AVISE, John C. *Phylogeography: retrospect and prospect*. *Journal of biogeography*, v. 36, n. 1, p. 3-15, 2009.
- AVISE, John C. *Phylogeography: the history and formation of species*. Harvard university press, 2000.

- BANDELDT, Hans-Jurgen; FORSTER, Peter; RÖHL, Arne. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular biology and evolution*, v. 16, n. 1, p. 37-48, 1999.
- BLANCO, Pilar A.; OCHOA, José. Primer registro para Venezuela de *Echimys chrysurus* (Zimmermann 1780)(Rodentia, Echimyidae), con una extensión significativa de su rango de distribución. *Notas sobre Mamíferos Sudamericanos*, v. 2, 2020.
- BONVICINO, C. R. et. al. Guia dos roedores do Brasil, com chaves para gêneros baseadas em caracteres externos. *Série de Manuais Técnicos*; 11, 2008.
- CHAIPHONGPACHARA, Tanawat; WELUWANARAK, Thekhawet; CHANGBUNJONG, Tanasak. Intraspecific variation in wing geometry among *Tabanus rubidus* (Diptera: Tabanidae) populations in Thailand. *Frontiers in Veterinary Science*, v. 9, p. 920755, 2022.
- COURCELLE, Maxime et al. Digging for the spiny rat and hutia phylogeny using a gene capture approach, with the description of a new mammal subfamily. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, v. 136, p. 241-253, 2019.
- COX, C. Barry; MOORE, Peter D.; LADLE, Richard J. **Biogeography: an ecological and evolutionary approach**. John Wiley & Sons, 2016.
- CRUZ, Vanessa Paes da et al. Cytogenetic and molecular characteristics of *Potamotrygon motoro* and *Potamotrygon* sp.(Chondrichthyes, Myliobatiformes, Potamotrygonidae) from the Amazon basin: Implications for the taxonomy of the genus. *Genetics and molecular biology*, v. 44, p. e20200083, 2021.
- DA SILVA, Maria Nazareth F.; PATTON, James L. Amazonian phylogeography: mtDNA sequence variation in arboreal echimyid rodents (Caviomorpha). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, v. 2, n. 3, p. 243-255, 1993.

- DALAPICOLLA, Jeronimo; PERCEQUILLO, Alexandre Reis. Species concepts and taxonomic practice in the integrative taxonomy era: an example using South American rodents. **Boletim da Sociedade Brasileira de Mastozoologia**, v. 88, p. 36-54, 2020.
- DAYRAT, Benoit. Towards integrative taxonomy. *Biological journal of the Linnean society*, v. 85, n. 3, p. 407-417, 2005.
- DE ALMEIDA CHIQUITO, Elisandra; D'ELIA, Guillermo; PERCEQUILLO, Alexandre Reis. Taxonomic review of genus *Sooretamys* Weksler, Percequillo & Voss (Rodentia: Cricetidae: Sigmodontinae): an integrative approach. **Zoological journal of the Linnean Society**, v. 171, n. 4, p. 842-877, 2014.
- DRURY, Crawford et al. Expression plasticity regulates intraspecific variation in the acclimatization potential of a reef-building coral. **Nature communications**, v. 13, n. 1, p. 4790, 2022.
- EDWARDS, Scott V. Is a new and general theory of molecular systematics emerging?. **Evolution**, v. 63, n. 1, p. 1-19, 2009.
- EMMONS, Louise H. A revision of the genera of arboreal Echimyidae. *Mammalian diversification: from chromosomes to phylogeography*, v. 133, p. 247, 2005.
- FABRE, Pierre-Henri et al. Diversification of South American spiny rats (Echimyidae): a multigene phylogenetic approach. *Zoologica Scripta*, v. 42, n. 2, p. 117-134, 2013.
- FABRE, Pierre-Henri et al. Mitogenomic phylogeny, diversification, and biogeography of South American spiny rats. *Molecular Biology and Evolution*, v. 34, n. 3, p. 613-633, 2017.
- FAIRCLOTH, Brant C. et al. Ultraconserved elements anchor thousands of genetic markers spanning multiple evolutionary timescales. **Systematic biology**, v. 61, n. 5, p. 717-726, 2012.

- FUSCO, Giuseppe; MINELLI, Alessandro. Phenotypic plasticity in development and evolution: facts and concepts. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, v. 365, n. 1540, p. 547-556, 2010.
- GARCIA, Eric et al. Haplotype network branch diversity, a new metric combining genetic and topological diversity to compare the complexity of haplotype networks. *PloS one*, v. 16, n. 6, p. e0251878, 2021.
- GODOY, Leandro Perez. **Pequenos mamíferos não voadores (Mammalia: Didelphimorphia e Rodentia) do baixo rio Xingu**. 2016. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.
- GRIFFITH, Glenn E.; OMERNIK, James M.; AZEVEDO, Sandra H. Ecological classification of the Western Hemisphere. US Environmental Protection Agency, Corvallis, Oregon, 1998.
- GRIFFITH, Glenn E.; OMERNIK, James M.; AZEVEDO, Sandra H. Ecological classification of the Western Hemisphere. US Environmental Protection Agency, Corvallis, Oregon, 1998.
- HARVEY, Michael G. et al. Habitat association predicts genetic diversity and population divergence in Amazonian birds. *The American Naturalist*, v. 190, n. 5, p. 631-648, 2017.
- IACK-XIMENES, Gilson E.; DE VIVO, MARIO; PERCEQUILLO, ALEXANDRE R. A new genus for *Loncheres grandis* Wagner, 1845, with taxonomic comments on other arboreal echimyids (Rodentia, Echimyidae). *Arquivos do Museu Nacional, Rio de Janeiro*, v. 63, n. 1, p. 89-112, 2005.
- IACK-XIMENES, Gilson Evaristo. Revisão de *Trinomys* Thomas, 1921 (Rodentia: Echimyidae). 2005. 265 p. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

- IACK-XIMENES, Gilson Evaristo; VIVO, Mario de; PERCEQUILLO, Alexandre Reis. A new species of *Echimys* Cuvier, 1809 (Rodentia, Echimyidae) from Brazil. *Papéis Avulsos de Zoologia*, v. 45, p. 51-60, 2005.
- LARA, Marcia C.; PATTON, James L. Evolutionary diversification of spiny rats (genus *Trinomys*, Rodentia: Echimyidae) in the Atlantic Forest of Brazil. *Zoological Journal of the Linnean Society*, v. 130, n. 4, p. 661-686, 2000.
- LARA, Márcia C.; PATTON, James L.; DA SILVA, Maria Nazareth F. The simultaneous diversification of South American echimid rodents (Hystricognathi) based on complete cytochrome b sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, v. 5, n. 2, p. 403-413, 1996.
- LEITE, Yuri LR. **Evolution and systematics of the Atlantic tree rats, genus *Phyllomys* (Rodentia, Echimyidae), with description of two new species.** Univ of California Press, 2003.
- LEITE, Yuri LR; PATTON, James L. Evolution of South American spiny rats (Rodentia, Echimyidae): the star-phylogeny hypothesis revisited. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, v. 25, n. 3, p. 455-464, 2002.
- MANTHEY, Joseph D. et al. Comparison of target-capture and restriction-site associated DNA sequencing for phylogenomics: a test in cardinalid tanagers (Aves, Genus: *Piranga*). *Systematic biology*, v. 65, n. 4, p. 640-650, 2016.
- MCCORMACK, John E. et al. Applications of next-generation sequencing to phylogeography and phylogenetics. *Molecular phylogenetics and evolution*, v. 66, n. 2, p. 526-538, 2013.
- PATTON, James L.; DA SILVA, Maria Nazareth F.; MALCOLM, Jay R. Gene genealogy and differentiation among arboreal spiny rats (Rodentia: Echimyidae) of the Amazon basin: a test of the riverine barrier hypothesis. **Evolution**, v. 48, n. 4, p. 1314-1323, 1994.

SMITH, Brian Tilston et al. Target capture and massively parallel sequencing of ultraconserved elements for comparative studies at shallow evolutionary time scales. *Systematic biology*, v. 63, n. 1, p. 83-95, 2014.

SMITH, Chase H. et al. Environmental, morphological, and molecular data reveal a new species of freshwater mussel, *Strophitus howellsii*, endemic to the Edwards Plateau in Texas. **Conservation Genetics**, p. 1-19, 2023.

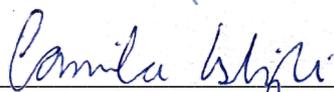
VANZOLINI, P. E., & Williams, E. E. South American anoles: the geographic differentiation and evolution of the *Anolis chrysolepis* species group (Sauria, Iguanidae). *Arquivos de Zoologia*, 19: 1-298. 1970.

VENDRAMI, Daniel Pagotto et al. Phenotypic and genetic variation of *Triatoma costalimai* (Hemiptera: Reduviidae). *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 54, 2020.

Assinaturas:

A handwritten signature in blue ink, consisting of a large, stylized initial 'A' followed by 'R' and 'P', and ending with a horizontal line.

Orientador: Alexandre Reis Percequillo

A handwritten signature in blue ink, written in a cursive style, appearing to read 'Camila Ishizaki'.

Orientado(a): Camila Mayume Machado Ishizaki



COMISSÃO DE ÉTICA AMBIENTAL NA PESQUISA - ESALQ/USP

CERTIFICAÇÃO DE DOCENTE

A Comissão de Ética Ambiental na Pesquisa (CEAP), Ad Referendum, **CERTIFICOU** o Prof. Dr. **Alexandre Reis Percequillo**, Departamento de Ciências Biológicas, pelo período de **06/10/2020 à 05/10/2023**.

Piracicaba, 06 de outubro de 2020.

Prof. Dr. Wanessa Melchert Mattos
Presidente da CEAP/ESALQ/USP