

## Evolución de los filotinos (Rodentia, Muridae) en los Andes del Sur

### Evolution of phyllotines (Rodentia, Muridae) in the southern Andes

ANGEL E. SPOTORNO<sup>1</sup>, LAURA I. WALKER, SERGIO V. FLORES, MARCO YEVENES,  
JUAN C. MARÍN & CARLOS ZULETA<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Citogenética Evolutiva, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Casilla 70061, Santiago 7, Chile, e-mail: aspotorn@machi.med.uchile.cl

<sup>2</sup>Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de La Serena, La Serena, Chile

#### RESUMEN

La tribu Phyllotini es un grupo avanzado de 46 especies endémicas entre los Muridae de América del Sur que, estando adaptado a sus ambientes xéricos, parece haber tenido el Altiplano Sur como área de diferenciación original (Reig 1986). Esta hipótesis es puesta a prueba examinando la distribución geográfica y los datos citogenéticos de 35 especies, incluyendo la descripción de bandas G de *Andinomys edax* y *Euneomys chinchilloides* y su comparación con *Phyllotis*, bandas AgNOR y FISH para ADNr en siete especies, así como datos de electroforesis de proteínas (118 electroalelos en 12 especies) y de secuencias del gen para citocromo b en el ADNmt (407 pb en 14 especies). Todos los cariotipos resultaron cromosómicamente distintos, excepto dos en los que no se contó con bandas G. Se encontró una asociación general entre distribución altiplánica de las especies con estados de caracteres ancestrales (cromosomas telocéntricos, 2n altos, posiciones basales en las filogenias basadas en proteínas y secuencias de citocromo b), así como entre distribución no altiplánica y estados derivados. Se documentan aquí distintas combinaciones de brazos cromosómicos tipo *Andinomys* que se fusionarían para formar cromosomas metacéntricos en *Euneomys* y *Phyllotis*, y también una disminución del número de NORes estructurales en *Auliscomys* respecto de *Loxodontomys*, rasgos derivados que demuestran una diversificación hacia el sur y otra hacia el norte respectivamente, desde un centro en el Altiplano Sur.

**Palabras clave:** cromosomas, filogenia, electroforesis de proteínas, citocromo b, Altiplano.

#### ABSTRACT

The tribe Phyllotini is an advanced group of 46 endemic species among the Muridae of South America, that being adapted to its xeric environments, seems to have the Southern Altiplano as its original differentiation area (Reig 1986). This hypothesis is tested by examining the geographic distributions and cytogenetic data from 35 species, including the *Andinomys edax* and *Euneomys chinchilloides* G band descriptions, its comparison with *Phyllotis*, AgNOR bands and rDNA FISH in seven species, as well as protein electrophoresis data (118 electro-alleles in 12 species) and cytochrome b gene sequences in the mtDNA (407 bp in 14 species). All karyotypes were chromosomically different, except in two cases with unknown G bands. A general association between altiplanic distribution of species with ancestral character states (telocentric chromosomes, high 2n, basal positions in phylogenies based on protein and cytochrome b gene sequences) was found, as well as between non-altiplanic distribution with derived states. Different combinations of *Andinomys*-like chromosomal arms that would have suffered centric fusions to form the metacentric chromosomes of *Euneomys* and *Phyllotis*, respectively, are documented here, and also a reduction of the number of structural NOR in *Auliscomys* compared to *Loxodontomys*, all derived features showing a diversification to the south and another to the north respectively, from a center in the southern Altiplano.

**Key words:** chromosomes, phylogeny, protein electrophoresis, cytochrome b, Altiplano.

#### INTRODUCCIÓN

Los roedores filotinos (Muridae: Sigmodontinae: tribu Phyllotini) son un componente significativo de la fauna de mamíferos sudamericanos, con 46 especies (listadas en Reig 1986) y 14 géneros (5,6 % y 5,09 % del total, respectivamente). Se les considera como uno de los grupos más avanzados entre los Muridae de Sudamérica (subfamilia Sigmodontinae, Reig 1986) por sus molares de

corona alta y superficie oclusal plana asociados a la herbivoría, y por sus adaptaciones progresivas (i.e., capacidad de concentrar orina, Mares 1977, Spotorno et al. 1998) a los nuevos biomas abiertos y xéricos (pastorales según Hershkovitz 1962), originados a partir del levantamiento sucesivo de los Andes desde tiempos miocénicos.

Aunque tres revisiones taxonómicas mayores, basadas en caracteres morfológicos (Hershkovitz 1962, Braun 1993, Stepan 1995), y otros estu-

dios comparados de cariólogía (Pearson & Patton 1976), proteínas (Spotorno 1986), secuencias de ADNmt (Hillyard et al. 1997, Steppan 1998, Smith & Patton 1999), y zoogeografía (Reig 1986, Anderson 1997) han propuesto múltiples relaciones filogenéticas entre grupos de especies, el conocimiento sobre la evolución de los filotinos aún permanece incompleto. Tal vez la propuesta más incluyente identificó al Altiplano sur como el área de diferenciación original de todo el grupo filotino (Reig 1986), basándose en su predominancia local (44,7 % de las especies de roedores del Altiplano son filotinos) y en su grado de endemismo (tres géneros de la tribu son exclusivos para el Altiplano sur).

Durante las últimas décadas, nuestro grupo ha recolectado numeroso material chileno (i.e., Spotorno et al. 1998a), y ha analizado diversos aspectos filogenéticos en algunos géneros polítipicos como *Phyllotis* (Spotorno & Walker 1979, Walker et al. 1979, 1984), *Auliscomys* (Walker & Spotorno 1992), *Loxodontomys* (Spotorno et al. 1998b) y *Eligmodontia* (Spotorno et al. 1994). El conjunto de datos cariotípicos existentes para la tribu filotina, basados en análisis cromosómico grueso, se presenta ordenado en un cariógrafo (Fig. 1). En el presente trabajo, presentaremos nuevos datos citogenéticos y moleculares de varias especies del grupo, integrándolos en un panorama general de la evolución de los roedores filotinos.

Los caracteres citogenéticos y moleculares que utilizaremos, siendo abundantes y de naturaleza genética conocida, han resultado particularmente robustos como indicadores de ancestro común, y constituyen herramientas valiosas en la generación y contrastación de hipótesis filogenéticas. Si, como propone Reig (1986) el área de diferenciación original de los filotinos fue el Altiplano sur (las tierras altas del sur de Perú, Bolivia, norte de Chile y Argentina, entre las cordilleras Occidental y Central), entonces podemos predecir que: (a) las especies que allí viven actualmente tenderán a presentar más caracteres en estados ancestrales (i.e., compartidos con otros géneros), y (b) las especies filotinas que viven fuera de esa área tenderán a exhibir estados de caracteres derivados (i.e., exclusivos o propios de esa línea filética). Estas predicciones se han aplicado al cariógrafo (Fig. 1) por medio de flechas que señalan las direcciones hipotéticas de cambio cariotípico dentro de varios géneros filotinos. Con el objeto de contrastar estas relaciones hipotéticas y detectar otras, examinaremos: (i) la homología de bandas G y de Regiones Organizadoras del Nucléolo (NOR) en estos cariotipos, (ii) la similitud de alelos detectados por electroforesis

de proteínas, y (iii) la homología de las secuencias del gen que codifica para citocromo b en el ADNmt de los roedores filotinos.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### *Especímenes*

Los animales estudiados se recolectaron en el campo o fueron sus descendientes obtenidos en el laboratorio; los datos de identificación y colecta aparecen en el Anexo 1. Pielés, cráneos, y tejidos (congelados en nitrógeno líquido y a -60° C para proteínas, o en alcohol 70° para ADN) fueron preparados según técnicas estandarizadas para mamíferos; estos materiales están depositados en la colección del Laboratorio de Citogenética Evolutiva, Facultad de Medicina, Universidad de Chile (acrónimo LCM). Los taxa se designan en figuras, tablas y en el Anexo 1 (listado de especímenes) con una abreviatura simple de tres letras: la primera corresponde a la primera letra del género (en mayúscula) y las otras dos a las primeras letras del nombre de la especie (en minúsculas).

### *Análisis cromosómico*

Los cromosomas metafásicos fueron obtenidos a partir de médula ósea de huesos largos usando la técnica convencional (Lee & Elder 1980), con inyección previa de colchicina 0,01 % (1 ml por 100 g de peso del animal), seguida por hipotonía con KCl 0,07 M, fijación con metanol:ácido acético 3:1 y goteo sobre portaobjetos limpios. Las células fueron teñidas con solución Giemsa al 2 %, previo tratamiento con tripsina para obtención de bandas G (Chiarelli et al. 1972), y fotografiadas en un fotomicroscopio. Cromosomas de metafases bandeadas G de buena calidad de cada taxon fueron recortados de microfotografías, ordenados según forma y tamaño, y comparados a través de tablas de correspondencias de patrones de bandas (Walker et al. 1979).

Los NORes activos se detectaron mediante procedimientos de tinción con plata (Goodpasture & Bloom 1975, Sánchez-Rufas et al. 1982). Los cromosomas portadores de NOR se identificaron inequívocamente mediante un procedimiento de bandeado secuencial AgNOR-G, estandarizado en nuestro laboratorio. Para conocer el número y localización cromosómica de todos los sitios NOR activos e inactivos, se realizó hibridación in situ con una sonda para ADNr de pollo, formada por secuencias correspondientes al extremo 3' del gen para ARN 28S. La marcación de la sonda con biotina, su detección con fluoresceína, la hibrida-

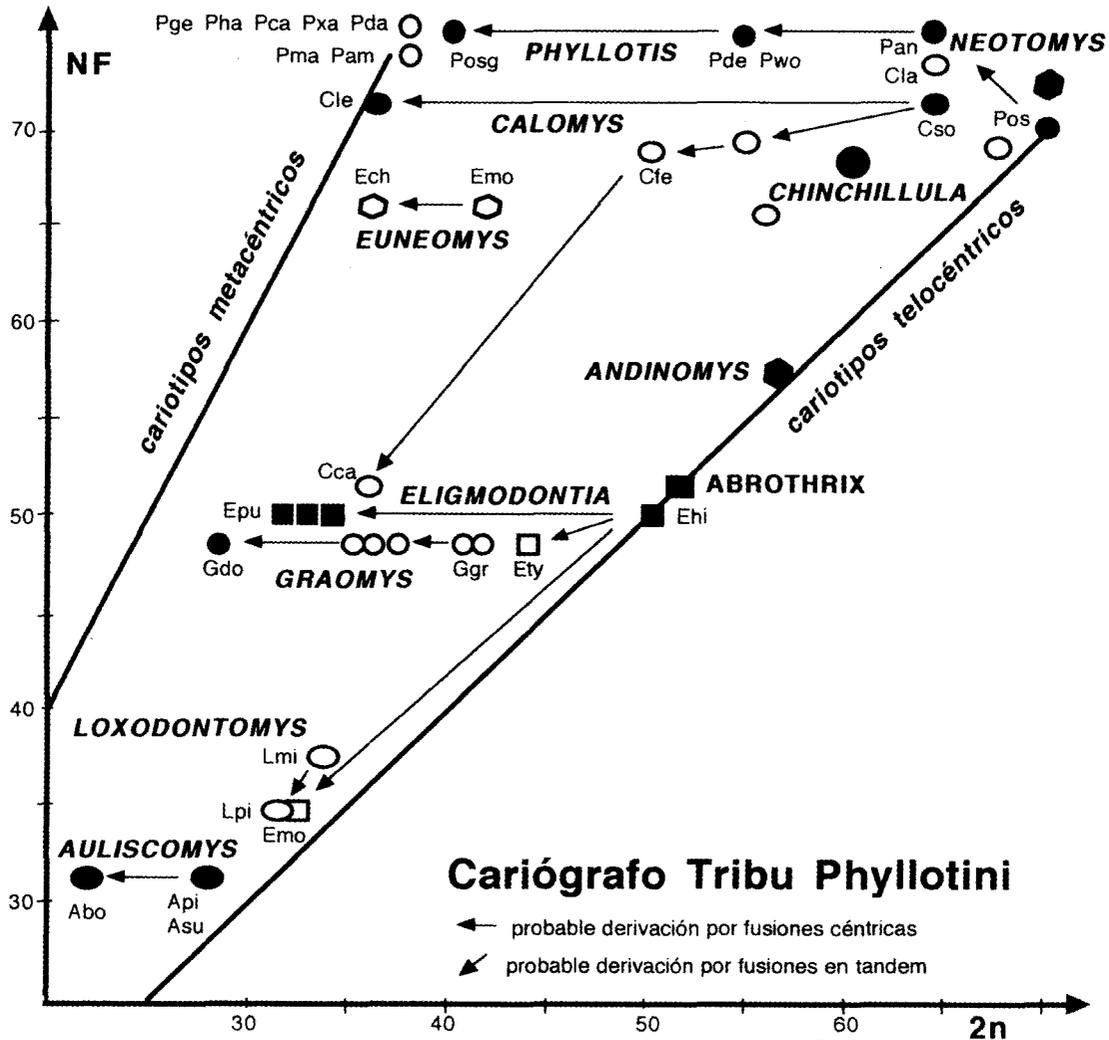


Fig. 1. Cariógrafo de la tribu Phyllotini comparando Número Fundamental (NF, número total de brazos observados en el cariotipo del macho) y número diploide (2n) de las especies. Símbolos negros = especies con actual distribución en el Altiplano Sur; símbolos blancos = especies no altioplánicas; símbolos sin nombre = citotipos o polimorfismos. Nombre completo de las especies en Anexo I. Flechas = probable derivación según hipótesis de Reig (1986). El akodontino *Abrothrix* fue incluido como grupo externo.

Karyograph of the Phyllotini tribe comparing Fundamental Number (NF, total number of visible arms observed in the male karyotype) and diploid number (2n) of species. Black symbols = species with present distribution on the southern Altiplano; white symbols = non-altiplanic species; symbols without name = cytotypes or polymorphisms. Complete name of species in Annex I. Arrows = probable derivation according to the hypothesis of Reig (1986). The akodontine *Abrothrix* was included as outgroup.

ción y la contratención de los cromosomas con propidio yodado, se realizaron de acuerdo a los procedimientos recomendados por el proveedor (ONCOR). Las metafases se observaron y fotografiaron en un microscopio de epifluorescencia.

*Electroforesis de proteínas*

Muestras de 1 cm<sup>3</sup> de hígado y riñón fueron extraídas de animales recientemente sacrificados, y

guardadas en nitrógeno líquido. Los tejidos homogeneizados en agua fueron sometidos a electroforesis en geles de almidón, siguiendo a Selander et al. (1971). Los presuntos loci, número de especímenes estudiados y sistemas proteicos empleados están listados en el Anexo 2. Los distintos sistemas ensayados fueron corridos en geles preparados con las soluciones tampones recomendadas por Harris & Hopkinson (1976). Las distancias genéticas se calcularon por medio del programa BIOSYS-1, y analizadas a través del

uso del programa MacClade (Maddison & Maddison 1992).

#### Secuencias del gen para citocromo b

El ADN genómico fué aislado y purificado a partir de muestras de hígado fijadas en alcohol 70°. El gen mitocondrial para citocromo b fue amplificado por PCR (Saiki et al. 1988), usando ADN taq polimerasa (Promega) y los partidores conservados descritos por Smith & Patton (1993). El PCR se aplicó usando un perfil térmico de denaturación de 95 °C (45 seg), renaturación a 54 °C (30 seg) y extensión a 72 °C (1 min) durante 30 ciclos de amplificación. Los productos PCR fueron purificados con Wizard PCR Preps (Promega). La secuenciación se realizó cíclicamente (Gibco-BRL) por 30 ciclos. Los productos radiomarcados fueron separados por electroforesis vertical en acrilamida y visualizados por radioautografía. Las secuencias fueron alineadas con el programa CLUSTAL IV (Thompson et al. 1994) y por inspección visual. Secuencias de comparación fueron obtenidas de GenBank. Su análisis se realizó con los programas MacClade 3.0 (Maddison & Maddison 1992) y PAUP 4.0 (Swofford 1999). Las reconstrucciones filogenéticas se realizaron usando máxima parsimonia

y máxima verosimilitud en algunos casos. Todos los caracteres se analizaron como no ordenados y se excluyeron los caracteres no informativos filogenéticamente. Los nodos también fueron evaluados por análisis heurístico de re-muestreo ("bootstrap") con 500 réplicas.

## RESULTADOS

#### Análisis cromosómico

El cariotipo de *Andinomys edax* del Altiplano resultó estar formado por un elevado número de cromosomas de morfología telocéntrica, con excepción de sólo un pequeño par de autosomas que fue metacéntrico (N° 27, Fig. 2). Los números diploide y fundamental de brazos autosómicos visibles ( $2n = 56$ ,  $NFa = 56$ ) fueron así idénticos a los descritos por Spotorno et al. (1994) y muy similares a los reportados por Pearson & Patton (1976), en base a una sola hembra de esta especie. El cariotipo del akodontino *Abrothrix longipilis* ( $2n = 52$ ,  $NFa = 52$ ), incluido en el cariógrafo (Fig. 1) para comparación, es muy similar al de *Andinomys*, presentando ambas especies 23 pares cromosómicos prácticamente iguales según bandas G y sólo tres pares con diferencias mayores (Spotorno 1986).

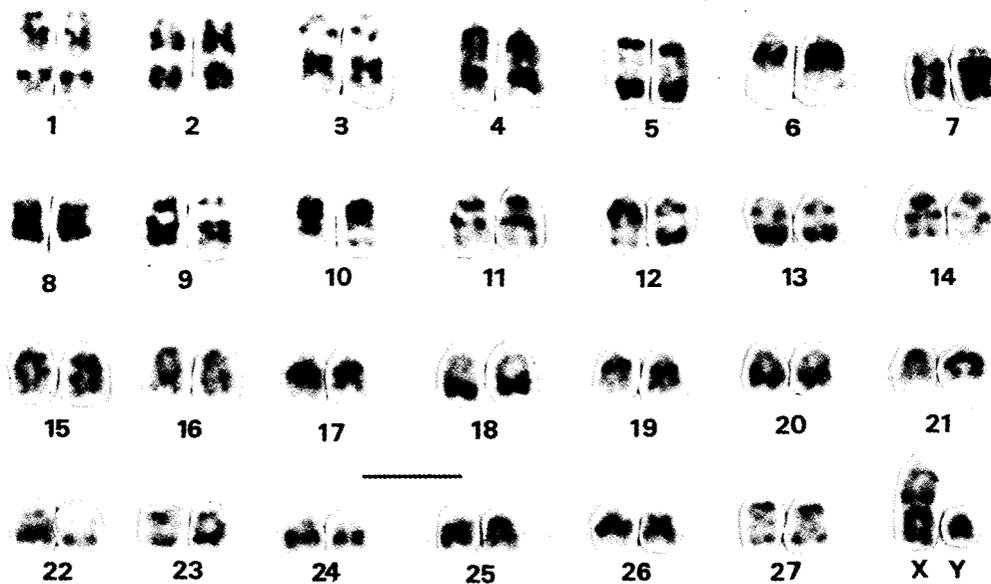


Fig. 2. Cariotipo bandeado G de *Andinomys edax* macho (LCM 678),  $2n = 56$ ,  $NFa = 56$ . Los cromosomas, ordenados y numerados según tamaño y morfología, son todos telocéntricos con excepción de un pequeño par metacéntrico (N° 27). La línea representa 5  $\mu$ m.

G-banded karyotype of *Andinomys edax* male (LCM 678), with  $2n = 56$ ,  $NFa = 56$ . All the chromosomes, ordered and numbered according to size and morphology, are telocentric except for a single small metacentric pair (N° 27). Bar represents 5  $\mu$ m.

Por el contrario, *Euneomys chinchilloides* de Chile central presentó cromosomas de morfología principalmente metacéntrica, siendo el cromosoma X y el autosoma más pequeño, los

únicos cromosomas telocéntricos del cariotipo (Fig. 3a, a la izquierda de cada grupo cromosómico). Los números diploide y fundamental ( $2n = 36$ ,  $NFa = 66$ ) de estos ejemplares,



Fig. 3. Comparación de los cromosomas bandeados G de *Andinomys edax*, *Euneomys chinchilloides* y *Phyllotis xanthopygus*: (a) pares cromosómicos de *E. chinchilloides* (Ech) ordenados según tamaño (izquierda, números en línea inferior) y cromosomas similares según bandas G de *A. edax* (Aed, derecha, números en línea superior); (b) cromosomas de *P. xanthopygus* (Pxa, números en línea inferior) y cromosomas similares según bandas G de *A. edax* (Aed, izquierda y derecha, números en línea superior), numerados según descripciones originales (ver Fig. 2 y Walker et al. 1984). x = fusión céntrica; i = inversión pericéntrica; - = ausencia de homeología. La línea representa 5  $\mu$ m.

Comparison of G-banded chromosomes of *Andinomys edax*, *Euneomys chinchilloides* and *Phyllotis xanthopygus*: (a) *E. chinchilloides* (Ech) chromosome pairs ordered according to size (left, numbers at bottom) and *A. edax* (Aed) similar chromosomes according to G bands (right, numbers above); (b) *P. xanthopygus* (Pxa) chromosomes (numbers at bottom) and *A. edax* (Aed) similar chromosomes according to G bands (right and left, numbers above), numbered according to original descriptions (see Fig. 2 and Walker et al. 1984). x = centric fusion; i = pericentric inversion; - = absence of homeology. Bar represents 5  $\mu$ m.

recolectados en la cordillera de la zona central de Chile, coincidieron así con los reportados por Reise & Gallardo (1990) para especímenes que habitan en la región austral de Chile (Coyhaique) y Argentina (Bariloche).

La comparación cromosoma a cromosoma de los cariotipos bandeados G de *A. edax* y *E. chinchilloides* mostró que 18 de los 26 autosomas telocéntricos de *A. edax* correspondían totalmente a brazos de cromosomas metacéntricos de *E. chinchilloides* (Tabla 1 y Fig. 3a). Así, nueve cromosomas metacéntricos de esta última especie (en achurado en Tabla 1) se explicarían por la ocurrencia de igual número de fusiones céntricas en un ancestro de cariotipo telocéntrico similar al de *A. edax*. Otros dos cromosomas de *E. chinchilloides* se habrían originado por inversiones pericéntricas ocurridas en cromosomas de *A. edax* o de su ancestro (N<sup>os</sup> 1 y 5, ver Tabla 1 y Fig. 3a).

Comparaciones similares entre *A. edax* y cuatro especies del género *Phyllotis* indicaron también correspondencias entre autosomas telocéntricos de *Andinomys* y brazos de cromosomas metacéntricos de *Phyllotis* (Tabla 1). Esto sugiere nuevamente la ocurrencia de fusiones céntricas en un ancestro de cariotipo telocéntrico similar al de *Andinomys*. Sin embargo, los cromosomas telocéntricos *Andinomys* involucrados en las fusiones céntricas conducentes a los cariotipos de las especies de *Phyllotis*, fueron siempre distintos a los que por el mismo mecanismo habrían originado el cariotipo de *Euneomys* (Tabla 1).

Por otra parte, *Andinomys* presentó un mayor grado de similitud cromosómica con el par de especies *darwini-magister* que con el par *xanthopygus-osgoodi*. Así, 16 y 14 cromosomas telocéntricos *Andinomys* estarían presentes en los ocho y siete metacéntricos de *darwini* y de *magister*, originados por fusiones céntricas, respectivamente (Tabla 1). En cambio, sólo diez cromosomas telocéntricos *Andinomys* explicarían las cinco fusiones céntricas ocurridas en la generación de los cariotipos *xanthopygus-osgoodi* (Tabla 1 y Fig. 3b). Por otra parte, dos de los telocéntricos *Andinomys* (N<sup>os</sup> 7 y 24) habrían originado un metacéntrico en *xanthopygus-osgoodi* (N<sup>o</sup> 8) que está ausente en las otras dos especies de *Phyllotis* analizadas (Tabla 1 y Fig. 3b), e indicaría, por lo tanto, la ocurrencia de una fusión céntrica propia del ancestro de este par de especies.

Cromosomas de *Andinomys* altamente conservados fueron el único autosoma metacéntrico de esta especie (N<sup>o</sup> 27), presente en todas las especies analizadas (Tabla 1), y el cromosoma X, presente sin cambio en *Euneomys* y con una inversión pericéntrica en los cariotipos de *P. darwini* y *P. xanthopygus* (Tabla 1 y Fig. 3a y 3b).

Mediante hibridación in situ con una sonda para ADN<sub>r</sub> y técnicas de tinción con Ag, analizamos y comparamos el número y la distribución cromosómica de las regiones organizadoras del nucléolo (NORes) estructurales y activas en cuatro especies del género *Phyllotis*, dos de

TABLA 1

Correspondencia de cromosomas y brazos cromosómicos según patrones de bandas G, entre *Andinomys edax* (Aed), *Euneomys chinchilloides* (Ech), *Phyllotis darwini* (Pda), *P. magister* (Pma), *P. xanthopygus* (Pxa) y *P. osgoodi* (Pos)

Correspondence of chromosomes and chromosomal arms according G band patterns, among *Andinomys edax* (Aed), *Euneomys chinchilloides* (Ech), *Phyllotis darwini* (Pda), *P. magister* (Pma), *P. xanthopygus* (Pxa) and *P. osgoodi* (Pos)

Aed	2	13	25	26	14	23	21	3	17	7	24	10	4	12	18	22	20	9	19	15	16	-	1	6	5	27	X			
Ech	2	13	25	26	14	23	21	3	17	7	24	10	-	4	12	18	22	20	9	19	15	16	-	-	1i	-	6	5i	27	X
Pda	-	13	25	26	14	-	-	3	17	-	24	10	-	12	18	22	20	-	-	19	15	16	11	1	-	6	5i	27	Xi	
Pma	-	13	25	26	14	-	-	3	17	-	24	10	-	12	18	-	-	-	-	19	15	16	11	1	-	6	5i	27	-	
Pxa	2i	13	25	-	-	23	-	21	3	17	7	24	10	-	12	-	22	20	-	-	19	-	-	11	1	-	-	-	27	Xi
Pos	2i	13	25	-	-	23	-	21	3	17	7	24	10	-	12	-	22	20	-	-	19	-	-	11	1	-	-	-	27	-

Los números son los del cariotipo de *A. edax* (ver Fig. 2); | = centrómero; i = inversión pericéntrica; - = ausencia de homeología según bandas G; en achurado se señalan las distintas fusiones céntricas que habrían ocurrido en las especies analizadas

*Loxodontomys* y dos de *Auliscomys*. En todas las especies los NORes fueron pequeños, múltiples y de localización telomérica. Además, se encontró siempre una relación unívoca entre el número y la distribución de los NORes estructurales y los activos, indicando que en las distintas especies todos los sectores que contienen genes ribosomales tienen algún grado de actividad transcripcional.

En *Phyllotis darwini*, *P. xanthopygus* y *P. osgoodi*, los NORes estructurales y activos se distribuyeron en cuatro pares cromosómicos distintos (Tabla 2 y Fig. 4a, 4b, 4c, 4d). En *P. magister*, en cambio, se localizaron sólo en tres pares cromosómicos (Tabla 2, Walker et al. 1999). La comparación de los patrones de bandas AgNOR-G entre estas cuatro especies indicó existencia de homeología entre todos los cromosomas nucleolares de *P. magister* y tres de los presentes en *P. darwini*, y también entre dos de los cuatro pares de cromosomas nucleolares de *xanthopygus* y *osgoodi* (Tabla 2). Sin embargo, ninguno de los brazos cromosómicos *darwini-magister* portadores de NOR presentó un homeólogo que porte NOR en *xanthopygus-osgoodi* (Tabla 2). Este mayor grado de similitud en la distribución cromosómica del compartimiento genómico que contiene a los genes ribosomales entre los pares de especies *darwini-*

*magister*, por una parte, y *xanthopygus-osgoodi* por otra, confirma los resultados provenientes de las comparaciones entre los patrones de bandas G de los respectivos cariotipos (Walker et al. 1979, 1984).

Para los géneros *Loxodontomys* y *Auliscomys*, los resultados obtenidos confirman lo anteriormente descrito (Walker & Spotorno 1992), encontrándose una tendencia a la disminución de los sectores NOR activos que acompañaría a la reducción de los números diploides de las especies. Así, *Loxodontomys micropus* ( $2n = 34$ ) presentó cuatro cromosomas portadores de NOR<sup>+</sup>; *L. pikumche* ( $2n = 32$ ), tres cromosomas NOR<sup>+</sup>; *Auliscomys sublimis* ( $2n = 28$ ) y *A. boliviensis* ( $2n = 22$ ), sólo dos cromosomas con NORes activos, los que en esta última especie corresponden a los NORes estructurales detectados por FISH (Tabla 3 y Fig. 4e, f). Las comparaciones según bandas G de todos los cromosomas nucleolares de estas especies indicaron que los cuatro cromosomas NOR<sup>+</sup> de *L. micropus* tienen cromosomas o brazos cromosómicos homeólogos en las otras tres especies, los que pueden presentar o no regiones organizadoras del nucléolo activas (Tabla 3). Aunque por ahora sólo tenemos resultados de FISH para ADN<sub>r</sub> en sólo una de estas especies, los datos obtenidos sugieren que algunos sectores cromosómicos que contienen genes ribosomales se perderían durante la evolución de estas especies. Así, para *A. boliviensis*, con dos pares de cromosomas portadores de NORes activos, se detectó hibridación con la sonda para ADN<sub>r</sub> sólo en estos mismos dos pares de cromosomas (Fig. 4e, 4f).

TABLA 2

Brazos cromosómicos portadores de NORes activos en cuatro especies del género *Phyllotis*, ordenados según correspondencias de patrones de bandas G

Active NOR-bearing chromosomal arms in four <i>Phyllotis</i> species, ordered according to the correspondences of G band patterns			
Pda 2n = 38	Pma 2n = 38	Pxa 2n = 38	Pos 2n = 40
3p*	3p*	-	-
3q	3q	3q*	2q*
9p*	9p*	-	-
-	-	-	5p*
7p*	-	-	6p
-	-	6p*	-
12p*	12p*	11p	11p
10p	-	12p*	9p
15p	15p	-	14p*
-	-	16q*	15q*

Los números son los empleados en la descripción de cada cariotipo (ver Walker et al. 1979, 1984). Pda = *P. darwini*; Pma = *P. magister*; Pxa = *P. xanthopygus* y Pos = *P. osgoodi*. \* = presencia de NOR activo; p = brazo corto; q = brazo largo; - = ausencia de homeología según bandas G

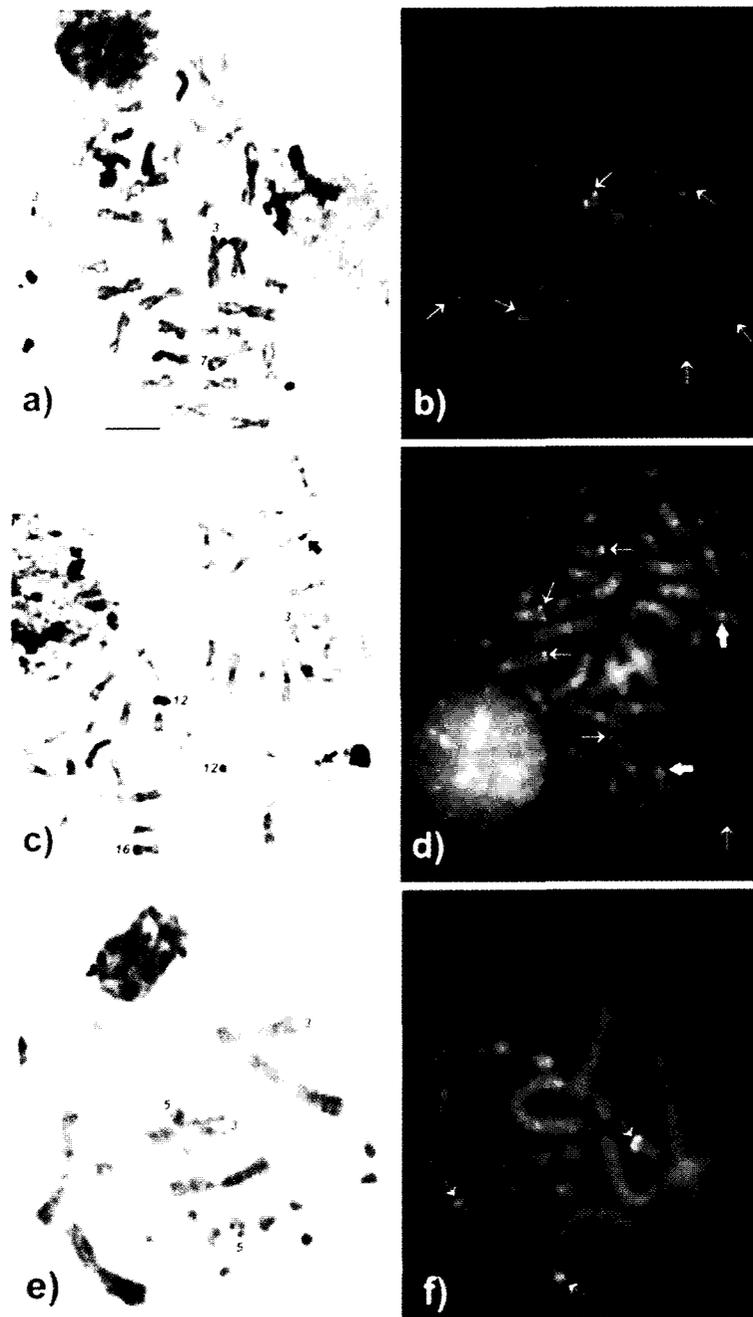
TABLA 3

Cromosomas y brazos cromosómicos portadores de NORes activos en especies de los géneros *Loxodontomys* y *Auliscomys*, ordenados según correspondencias de patrones de bandas G

Chromosomes and chromosomal arms bearing active NORs in *Loxodontomys* and *Auliscomys* species, ordered according to the correspondences of G band patterns

<i>L. micropus</i> 2n = 34	<i>L. pikumche</i> 2n = 32	<i>A. sublimis</i> 2n = 28	<i>A. boliviensis</i> 2n = 22
3*	3*	5*	3q*
6*	6*	2q	2q
9*	9	7	4
11*	10*	8*	5*

Los números son los empleados en la descripción de cada cariotipo. q = brazo largo; \* = presencia de NORes activos (modificado de Walker & Spotorno 1992)



*Fig. 4.* Regiones organizadoras del nucléolo (NORs) detectadas mediante tinción con Ag (a, c, e) e hibridación in situ (FISH) con una sonda para ADNr (b, d, f) en metafases mitóticas de especies de *Phyllotis* y *Auliscomys*. (a – b) *P. darwini*, (c – d) *P. xanthopygus*, (e – f) *A. boliviensis*. Los cromosomas con NORs activos (a, c, e) se identifican con los números de las descripciones cariotípicas originales (ver Tablas 2 y 3) y los portadores de NORs estructurales, con flechas delgadas (b, d, f). La abundante heterocromatina pericentromérica de *P. xanthopygus* (c, d) es evidenciada por ambos procedimientos (flechas gruesas). La línea representa 5 µm.

Nucleolar organizer regions (NORs) detected by silver staining (a, c, e) and fluorescent in situ hybridization (FISH) with a rDNA probe (b, d, f) in mitotic metaphases of *Phyllotis* and *Auliscomys* species. (a – b) *P. darwini*, (c – d) *P. xanthopygus*, (e – f) *A. boliviensis*. Active NOR bearing chromosomes (a, c, e) are identified with the numbers of the original karyotype descriptions (see Tables 2 and 3) and those carrying structural NOR, with thin arrows (b, d, f). The abundant pericentromeric heterochromatin of *P. xanthopygus* is evidenced through both procedures (thick arrows). Bar represents 5 µm.

*Electroforesis de proteínas*

Las proteínas analizadas electroforéticamente para 17 especies, de las cuales 12 eran filotinos, resultaron diferenciadas en 118 electro-alelos en el total de 26 sistemas utilizados (listados en Anexo 2). El árbol más corto, obtenido a partir de la matriz de caracteres con estados no ordenados (Anexo 2), presentó una longitud de 121 pasos (Fig. 5), con un alto índice de consistencia (IC = 0,74). Los grupos externos *Oryzomyini* y *Akodontini* incluidos en la comparación se ubicaron en la base de este árbol, como era lo esperado. El género monotípico *Andinomys*, endémico del Altiplano, ocupó la parte más basal de todo el grupo filotino, el que apareció como monofilético (Fig. 5). Aunque a continuación de *Andinomys* se ubicó una especie sureña, *Eligmodontia morgani*, este género posee otras especies que son de distribución altiplánica.

Las especies de *Phyllotis* incluidas en estos análisis aparecieron claramente en un mismo grupo derivado, definido por el alelo B del sistema G-6PDH (Anexo 2). El alelo B de la PepB2 separó la línea filética no altiplánica *darwini-magister* del resto de las especies del género. Las especies de *Loxodontomys* y *Auliscomys* ocuparon posiciones intermedias entre *Phyllotis* y el resto de los filotinos (Fig. 5).

*Secuencias del gen para citocromo b*

Al comparar las secuencias de 407 pares de bases de este gen, por medio de análisis de máxima parsimonia, se obtuvo un árbol de 765 pasos (Fig. 6), con un índice de consistencia de 0,35. La mayoría de los cambios detectados afectaron las bases que ocupan la tercera posición en los codones. El número de transiciones inambiguas

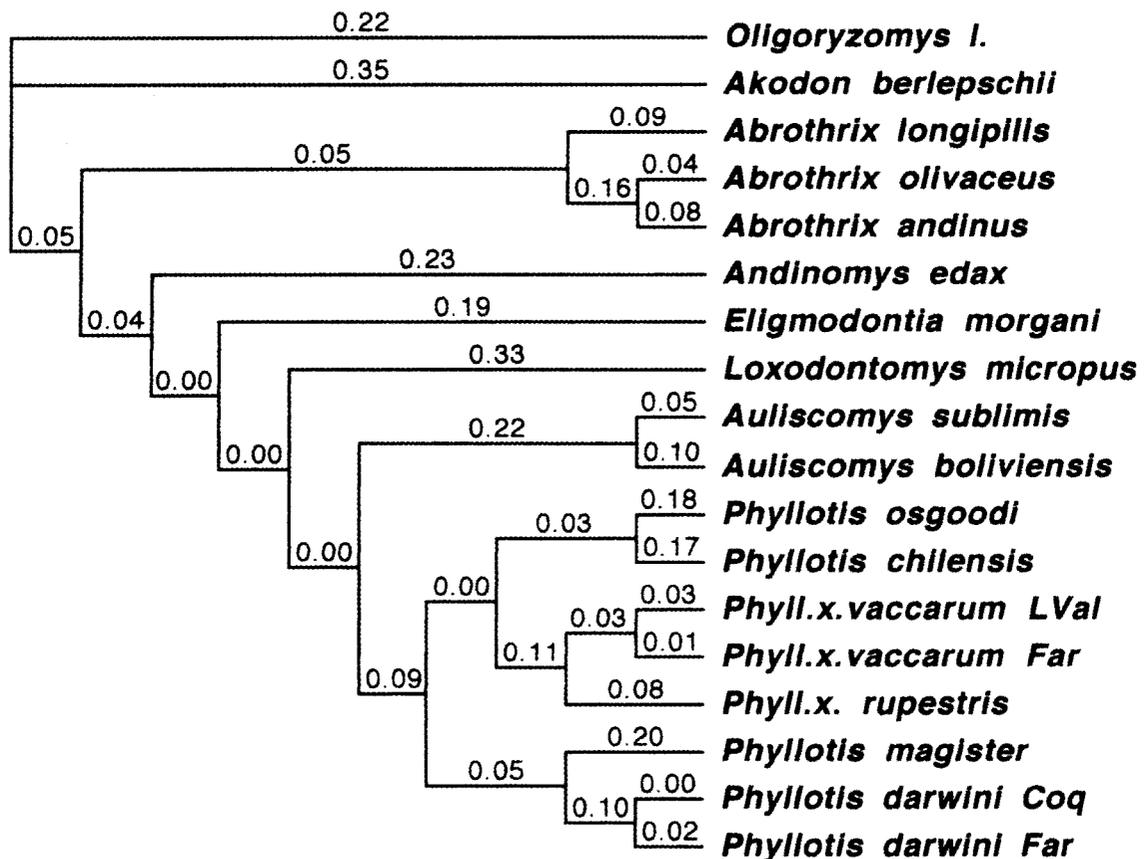


Fig. 5. Árbol filogenético más parsimonioso basado en 118 electro-alelos diferenciados por electroforesis de proteínas (sistemas, número de especímenes y matriz de caracteres en Anexo 2). IC = 0,74, 121 pasos, estados de caracteres no ordenados.

Most parsimonious phylogenetic tree based on 118 electro-alleles detected by protein electrophoresis (systems, number of specimens and character matrix in Appendix 2). CI = 0.74, 121 steps, non-ordered character states.

fué de 322 en total, y las transiciones fueron 152. La distribución de 1000 árboles generados al azar en PAUP 4.0 arrojó un promedio de 871 pasos, con un valor  $g1 = -0,48$ , lo que reveló que hay información no azarosa en esta base de datos.

Los grupos externos Oryzomini (no se muestra) y Akodontini se ubicaron efectivamente en la base de este árbol y, en general, los taxa del Altiplano ocuparon posiciones basales (Fig. 6). El grupo filotino se presentó como monofilético, definido por cinco cambios inambiguos: sitios 18 (C -> A), 110 (A ->), 116 (C -> A), 188 (T ->) y 224 (T -> C), los que aumentaron a ocho cuando se eliminaron los caracteres filogenéticamente no informativos. Los grupos filotinos basales fueron: primero *Calomys*, definido por cinco sitios (26, 35, 254, 314 y 389), que aumentaron a seis en la matriz reducida de 147 caracteres, seguido por

el grupo de cuatro especies de *Eligmodontia*, definido por los sitios 12, 93 y 200.

El grupo más derivado fue el de las especies de *Phyllotis*, caracterizado por los sitios 17, 224 y 252. Dentro de este género, se distinguieron claramente dos clados: uno nortino (*P. amicus*, *limatus* y *andium*), definido por los sitios 56, 245 y 257, y otro con el resto de las especies, definido por seis cambios en los sitios 11, 77, 92, 209, 278 y 332, que se mantienen en la matriz reducida. En este último grupo, se distinguieron también dos líneas filéticas (Fig. 6), la que contenía a *P. darwini*, definida por cambios en los sitios 200 (C -> T), 221 (T -> C) y 341 (C -> G), y la que contenía a *P. osilae*, definida por dos cambios en los sitios 74 (A -> C) y 107 (T -> C). Cada uno de estos grupos contenía dos grupos de especies, siendo el más robusto el que agrupa a *P. osilae* y

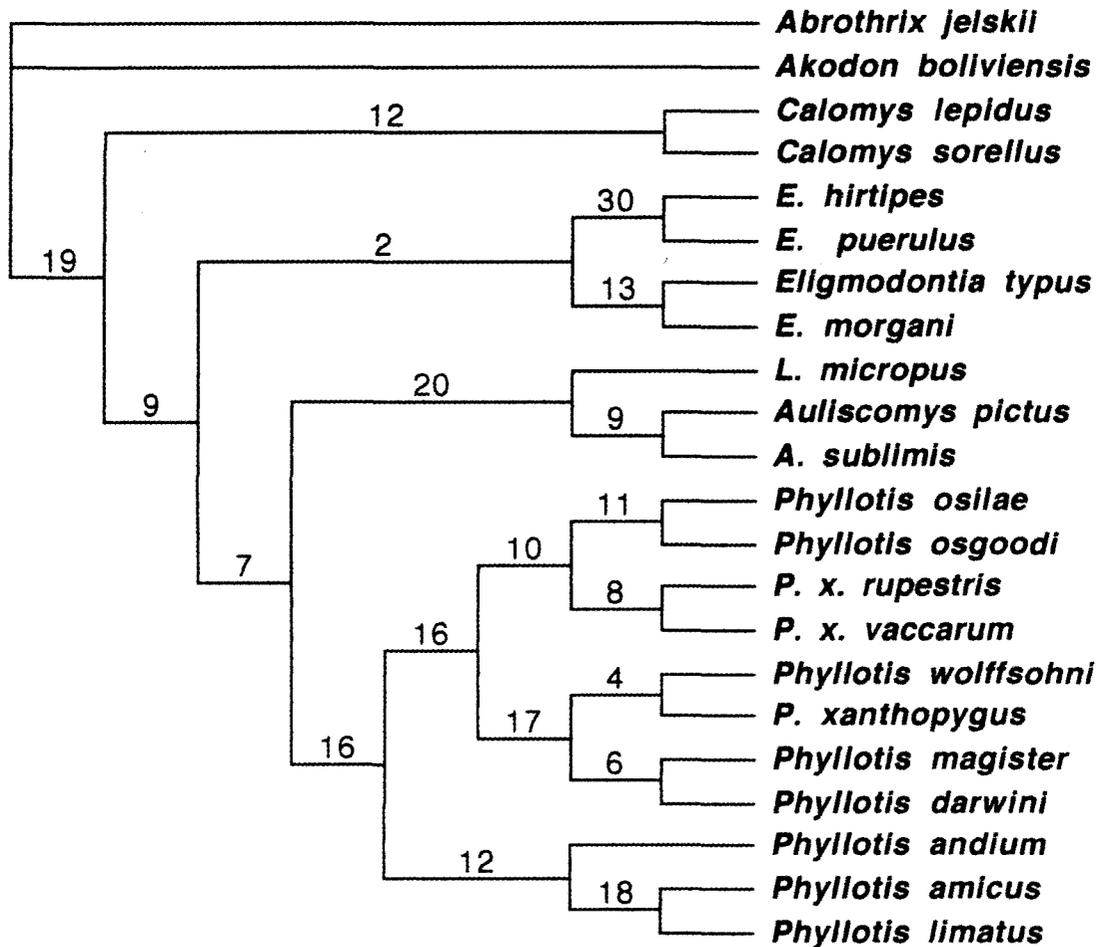


Fig. 6. Árbol filogenético más parsimonioso basado en las secuencias de bases para 407 sitios del gen para citocromo b. Longitud de las ramas indicada con números, índice de consistencia (IC) = 0,35, 145 caracteres informativos, longitud total 725 pasos, caracteres no ordenados.

More parsimonious phylogenetic tree based on base sequences for 407 sites of the gen for cytochrome b. Branch lengths indicated with numbers, consistence index (CI) = 0.35, 145 informative characters, total length 725 steps, non-ordered character states.

*P. osgoodi*, definido por cinco cambios en los sitios 38, 80, 110, 263 y 350.

#### DISCUSIÓN

La evolución de la tribu Phyllotini en Sudamérica, previamente esbozada sobre la base de sus principales características morfológicas, ecológicas y biogeográficas (Hershkovitz 1962, Reig 1986, Braun 1993, Stepan 1995, 1998) puede ser documentada ahora integrando la nueva información genética y citogenética lentamente acumulada en las últimas décadas. Discutiremos tres aspectos de la evolución de la tribu a partir de los resultados obtenidos: (i) el área de diferenciación original, (ii) la evolución del genoma filotino, y (iii) la derivación de las distintas líneas filéticas.

El área de diversificación original de los filotinos fue el Altiplano Sur, según la hipótesis de Reig (1986). Conocemos ahora información cariotípica básica de 35 del total de 46 especies filotinas reconocidas actualmente, más dos especies de *Andalgalomys*  $2n = 60$  y  $76$  (Olds et al. 1987). En el cariógrafo (Fig. 1), que representa la morfología cariotípica de un número representativo de estas especies, se puede apreciar que del total de diez géneros filotinos considerados, cinco tienen al menos una especie que simultáneamente es de distribución altiplánica y presenta un cariotipo con predominio de cromosomas telocéntricos (símbolos negros cerca de la diagonal, a la derecha de la Fig. 1), característica considerada como ancestral (Pearson & Patton 1976). Así, dos atributos independientes, ambos considerados como ancestrales, generalmente se presentan asociados aquí. Además, los números diploides altos también han sido considerados rasgos ancestrales (Pearson & Patton 1976), por lo que cariotipos de géneros monotípicos como *Neotomys* ( $2n = 70$ ), *Chinchillula* ( $2n = 60$ ) y *Andinomys* ( $2n = 56$ ) deberían ser considerados como tales, y todos ellos también son géneros endémicos del Altiplano. Por otra parte, *Andinomys* presentó cromosomas bandeados G casi idénticos a los del grupo externo akodontino (Spotorno 1986) y ocupó una posición basal en la filogenia basada en electroforesis de proteínas (Fig. 5). Por todo lo anterior, es razonable aceptar que el ancestro común de los filotinos tuvo una distribución altiplánica y poseía un cariotipo telocéntrico de número diploide alto.

Argumentos similares a los anteriores pueden ser planteados examinando dicha relación al interior de algunos géneros politípicos. Es así que *Phyllotis osilae* y *P. osgoodi* son altiplánicos y presentan cromosomas telocéntricos (Fig. 1); en

ambos casos, también se ubican en la base de sus ramas respectivas en la filogenia de secuencias para el gen del citocromo b (Fig. 6). Lo mismo ocurre con *Calomys sorellus*, *Eligmodontia hirtipes* y *Phyllotis andium*, entre las especies de sus respectivos géneros. Esto sugiere que los primeros eventos de especiación dentro de los géneros ocurrieron también en el Altiplano, y que la radiación filotina original se produjo allí en forma temprana. Los datos de divergencia genético-moleculares, con ramas intergenéricas cortas, gran cantidad de autopomorfías (Figs. 5 y 6) y asumiendo predominio de sustituciones neutras proporcionales al tiempo transcurrido (Smith & Patton 1993), son concordantes con estas últimas ideas. En efecto, usando la cuantía de transversiones en tercera posición, se ha estimado que la base de la radiación sigmodontina en Sudamérica habría ocurrido hace unos 10 millones de años (Smith & Patton 1999), con varios géneros filotinos separándose casi simultáneamente hace unos 8 millones de años.

Un alto grado de diversidad cariotípica parece haber acompañado al activo proceso de especiación de los filotinos, siendo tal vez un factor causal de éste (Reig 1986). Así, la observación del cariógrafo de la tribu (Fig. 1) muestra que los cariotipos de las distintas especies constituyen combinaciones de cromosomas que ocupan buena parte del espacio cariotípico total. De hecho, todos los cariotipos resultaron diferentes, excepto en tres casos: *Auliscomys pictus* idéntico con *A. sublimis*, *Phyllotis definitus* con *P. wolffsohni*, y el grupo de las cinco especies de *Phyllotis* que tienen 38 cromosomas metacéntricos, el que incluye a *P. darwini* y a *P. xanthopygus*. Respecto a este último par de especies, sabemos que, a pesar de su similitud cariológica gruesa, en realidad sus patrones de bandas G son muy diferentes (Walker et al. 1984); de hecho, la distribución cromosómica de sus regiones organizadoras del nucléolo (Tabla 2), sus proteínas (Fig. 5) y sus secuencias para citocromo b (Fig. 6), reafirman que ellas pertenecen a dos líneas filéticas diferentes.

Los distintos mecanismos cromosómicos que dieron origen a dicha diversidad, pueden ser inferidos a partir de los datos de la Fig. 1. Claramente habrían predominado los mecanismos robertsonianos de fusión céntrica que mantienen el número fundamental de brazos cromosómicos (NF, cinco flechas horizontales principales en la Fig. 1), y que han sido detalladamente documentados con bandas G en *Phyllotis* (Walker et al. 1979, 1984), *Auliscomys* (Walker & Spotorno 1992) y *Eligmodontia* (Spotorno et al. 1994). Por otra parte, la ocurrencia de fusiones en tandem,

que alteran el NF (cinco flechas diagonales principales en la Fig. 1) ha podido ser deducida en al menos dos casos (Walker & Spotorno 1992, Spotorno et al. 1994).

Los nuevos datos de bandas G aquí presentados permiten inferir que las fusiones céntricas habrían ocurrido de manera independiente en las distintas líneas filéticas, ya que los cromosomas metacéntricos de *Euneomys* están formados por una combinación de cromosomas telocéntricos tipo *Andinomys*, que es completamente diferente a las combinaciones observadas en los metacéntricos de *Phyllotis* (Fig. 3a y 3b, Tabla 1). Por otra parte, dentro de este último género existirían dos líneas diferentes (Tabla 1), *darwini-magister* y *xanthopygus-osgoodi*, posibles de identificar por el número de fusiones céntricas ocurridas en el cariotipo tipo *Andinomys* que las originó. Así, de las ocho o siete fusiones céntricas identificables en *darwini-magister*, sólo cuatro se habrían producido también en *xanthopygus-osgoodi*, ocurriendo en este último par de especies una quinta fusión que es exclusiva de ellas (Tabla 1, Fig. 3b). Es probable entonces, que estudios de bandas G en otras especies filotinas con cariotipos aparentemente idénticos o similares, revelen nuevas diferencias cromosómicas y proporcionen evidencias para inferir sus relaciones filogenéticas.

Las comparaciones del compartimiento genómico que contiene a los genes ribosomales entre las especies de *Phyllotis*, confirma la agrupación de las cuatro especies analizadas en dos líneas filéticas distintas. En efecto, los genes ribosomales que en *darwini-magister* se localizan en cuatro o tres cromosomas homeólogos según bandas G (Tabla 2), habrían experimentado una total redistribución en los genomas de *xanthopygus-osgoodi*. Así, a pesar de que en *xanthopygus-osgoodi* están presentes dos de los cuatro cromosomas que en *darwini-magister* llevan NORs activos, ellos no portan NOR<sup>+</sup> en estas especies, localizándose las regiones NOR activas en cuatro cromosomas o brazos cromosómicos diferentes (Tabla 2).

Por otra parte, las comparaciones de los cromosomas NOR<sup>+</sup> en las especies de los géneros *Loxodontomys* y *Auliscomys* indican que la filogenia asociada a un modelo biogeográfico de radiación secundaria en dirección sur-norte, propuesto para estas especies (Walker & Spotorno 1992), estaría acompañada no sólo de reducción de los números diploides sino que también de los sectores cromosómicos que contienen los genes ribosomales. Así, *L. micropus* (2n = 34) de distribución sur, tiene cuatro cromosomas NOR<sup>+</sup> en su cariotipo, los que se reducen a tres en *L. pikumche*

(2n = 32) con distribución en Chile central, y a dos en *A. sublimis* (2n = 28) y *A. boliviensis* (2n = 22) de distribución altiplánica (Tabla 3). Así, la serie de transformaciones cariotípicas previamente descrita, *micropus* (dos fusiones tandem) → *pikumche* (una fusión tandem) → *sublimis* (tres fusiones céntricas) → *boliviensis* (Walker & Spotorno 1992), estaría acompañada de pérdida o agrupación gradual de los genes ribosomales en los cariotipos de las especies derivadas. Una reducción evolutiva del número de NOR es también ha sido propuesta en *Eligmodontia* (Zambelli & Vidal-Rioja 1996). Estas especializaciones del genoma en un sector de evidente función celular en la síntesis de material ribosomal, posiblemente han jugado un rol en la adaptación de este grupo de especies.

El complemento lógico de la asociación entre distribución altiplánica de las especies y predominio de caracteres ancestrales, es la correlación esperable entre distribución no altiplánica y caracteres derivados. El linaje de *Phyllotis amicus* (y por extensión de *P. gerbillus* y *P. haggardi*), con distribución en las costas de Perú y Ecuador, debería ser entonces separado del linaje *P. darwini* por sus posiciones en los árboles filogenéticos moleculares (Figs. 5 y 6), aunque todas estas especies tengan 38 cromosomas metacéntricos (Pearson 1972). Sus cariotipos con bandas G y NOR deberían ser comparados en el futuro, para averiguar si la información citogenética detallada (i.e., brazos cromosómicos en distintas combinaciones) confirma sus posiciones filogenéticas basadas en datos moleculares. Por otra parte, *Euneomys chinchilloides* y *Loxodontomys pikumche*, habitantes de Chile central que tienen cariotipos derivados, y *P. x. xanthopygus*, de distribución austral que posee un cromosoma X derivado (Walker et al. 1991), deberían también ser consideradas como especies derivadas que atestiguan los extremos divergentes de sus respectivas líneas filéticas. Los datos moleculares aquí presentados son consistentes con estas derivaciones geográficas separadas hacia el norte y hacia el sur respectivamente, desde un centro de diversificación en el Altiplano Sur.

#### AGRADECIMIENTOS

Los trabajos de terreno y laboratorio fueron financiados por los Proyectos del Fondo Nacional de Ciencia y Tecnología, Chile, FONDECYT 198 0711 (a L.W.) y FONDECYT 196-0382 (a C.Z.). Agradecemos a la Dra. Mary Delany (Universidad de California, Davis, USA) por proporcionarnos la sonda para ADNr; al Servicio Agrícola y

Ganadero por otorgarnos los permisos correspondientes de captura; a Corporación Nacional Forestal por los permisos para trabajar en áreas del Servicio Nacional de Áreas Silvestres Protegidas del Estado; a los Sres. José Yáñez y Juan Carlos Torres (Museo Nacional de Historia Natural) por permitirnos examinar material de colecciones a su cargo; igualmente, agradecemos al Sr. Juan Oyarce, por su ayuda en la recolecta y mantención de los animales.

## LITERATURA CITADA

- ANDERSON S (1997) Mammals of Bolivia, taxonomy and distribution. Bulletin of the American Museum of Natural History 231: 1-652.
- BRAUN JK (1993) Systematic relationships of the Tribe Phyllotini (Muridae: Sigmodontinae) of South America. Special Publication, Oklahoma Museum of Natural History. 50 pp.
- CHIARELLI BA, M SARTI-CHIARELLI & DA SHAFER (1972) Chromosome banding with trypsin. Mammalian Chromosome Newsletter 13: 44-45.
- GOODPASTURE C & SE BLOOM (1975) Visualization of nucleolar organizer regions in mammalian chromosomes using silver stain. Chromosoma (Berlin) 53: 37-50.
- HARRIS H & DA HOPKINSON (1976) Handbook of enzyme electrophoresis in human genetics. American Elsevier, New York, New York.
- HERSHKOVITZ P (1962) Evolution of neotropical cricetine rodents (Muridae) with special reference to the phyllotine group. Fieldiana (Zoology) 46: 1-524.
- HILLYARD JR, CJ PHILLIPS, EC BIRNEY, JA MONJEAU & RS SIKES (1997) Mitochondrial DNA analysis and zoogeography of two species of silky desert mice, *Eligmodontia*, in Patagonia. Zeitschrift für Säugetierkunde-International Journal of Mammalian Biology 62: 281-292.
- LEE MR & FFB ELDER (1980) Yeast stimulation of bone marrow mitoses for cytogenetic investigations. Cytogenetics and Cell Genetics 26: 36-40.
- MADDISON WP & D MADDISON (1992) MacClade: analysis of phylogeny and character evolution, Version 3.0. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts. 398 pp.
- MARES MA (1977) Water economy and salt balance in a South American desert rodent, *Eligmodontia typus*. Comparative Biochemistry and Physiology 56A: 325-332.
- MUSSER GG & MD CARLETON (1993) Family Muridae. In: Wilson DE & Reeder DM (eds) Mammal species of the world: 501-756. Smithsonian Institution Press, Washington, District of Columbia.
- OLDS N, S ANDERSON & TL YATES (1987) Notes on Bolivian mammals 3: a revised diagnosis of *Andalgalomys* (Rodentia, Muridae) and the description of a new subspecies. American Museum Novitates 2890: 1-17.
- PEARSON OP (1972) New information on ranges and relationships within the rodent genus *Phyllotis* in Peru and Ecuador. Journal of Mammalogy 53: 677-688.
- PEARSON OP & JL PATTON (1976) Relationships among South American phyllotine rodents based on chromosome analysis. Journal of Mammalogy 57: 339-350.
- REIG OA (1986) Diversity pattern and differentiation of high Andean rodents. In: Vuilleumier F & M Monasterio (eds) High altitude tropical biogeography: 404-439. Oxford University Press, New York, New York.
- REISE D & M GALLARDO (1990) A taxonomic study of the South American genus *Euneomys* (Cricetidae, Rodentia). Revista Chilena de Historia Natural 63: 73-82.
- SAIKIR, S SCHARF, F FALOONA, K MULLIS, G HORN, H ERLICH & N ARNHEIM (1985) Enzymatic amplification of beta globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. Science 230: 1350-1354.
- SÁNCHEZ-RUFAS JS, P ITURRA, W DE SOUZA & P ESPONDA (1982) Simple silver staining procedures for the location of nucleolus and nucleolar organizer under light and electron microscopy. Archives de Biologie (Bruxelles) 93: 267-274.
- SELANDER JA, MH SMITH, SY YANG, WE JOHNSON & JB GENTRY (1971) Biochemical polymorphism and systematics in the genus *Peromyscus*. Variation in the old-field *Peromyscus polionotus*. Studies in Genetics VI, University of Texas Publications 7103: 49-90.
- SMITH MF & JL PATTON (1993) The diversification of South American murid rodents: evidence from mitochondrial DNA sequence data for the akodontine tribe. Biological Journal of the Linnean Society 50: 149-177.
- SMITH MF & JL PATTON (1999) Phylogenetic relationships and the radiation of sigmodontine rodents in South America: evidence from cytochrome *b*. Journal of Mammalian Evolution 6: 89-128.
- SPOTORNO AE (1986) Systematics and evolutionary relationships of Andean phyllotine and akodontine rodents. Unpublished PhD dissertation, University of California, Berkeley, California. 219 pp.
- SPOTORNO AE & LI WALKER (1979) Analysis of chromosomal similarity according G-banding patterns in four Chilean species of *Phyllotis* (Rodentia, Cricetidae). Archivos de Biología y Medicina Experimentales (Chile) 12: 83-90.
- SPOTORNO AE, J SUFÁN-CATALÁN & LI WALKER (1994) Cytogenetic diversity and evolution of Andean *Eligmodontia* species (Rodentia, Muridae). Zeitschrift für Säugetierkunde-International Journal of Mammalian Biology 59: 299-308.
- SPOTORNO AE, C ZULETA, A GANTZ, F SAÍZ, J RAU, M ROSENEMANN, A CORTÉS, G RUÍZ, L YATES, E COUVE & JC MARÍN (1998a) Sistemática y adaptación de mamíferos, aves e insectos fitófagos de la Región de Antofagasta, Chile. Revista Chilena de Historia Natural 71: 501-526.

- SPOTORNO AE, H COFRÉ, GM MANRÍQUEZ, Y VILINA, P MARQUET & LI WALKER (1998b) Nueva especie de mamífero filotino *Loxodontomys* en Chile Central. *Revista Chilena de Historia Natural* 71: 359-374.
- STEPPAN SJ (1995) Revision of the Tribe Phyllotini (Rodentia: Sigmodontinae), with a phylogenetic hypothesis for the Sigmodontinae. *Fieldiana (Zoology)* 80: 1-112.
- STEPPAN SJ (1998) Phylogenetic relationships and species limits within *Phyllotis* (Rodentia: Sigmodontinae): concordance between mtDNA sequence and morphology. *Journal of Mammalogy* 79: 573-593.
- SWOFFORD DL (1998) PAUP\*: Phylogenetic analysis using parsimony (\*and other methods), Version 4. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts. 128 pp.
- THOMPSON JD, DG HIGGINS & TJ GIBSON (1994) CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position specific, gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research* 22: 4673-4680.
- WALKER LI & AE SPOTORNO (1992) Tandem and centric fusions in the chromosomal evolution of the South American phyllotines of the genus *Auliscomys* (Rodentia, Cricetidae). *Cytogenetics and Cell Genetics* 61: 135-140.
- WALKER LI, AE SPOTORNO & R FERNÁNDEZ-DONOSO (1979) Conservation of whole arms during chromosomal divergence of phyllotine rodents. *Cytogenetics and Cell Genetics* 24: 209-216.
- WALKER LI, AE SPOTORNO & J ARRAU (1984) Cytogenetic and reproductive studies of two nominal subspecies of *Phyllotis darwini* and their experimental hybrids. *Journal of Mammalogy* 65: 220-230.
- WALKER LI, AE SPOTORNO & J SANS (1991) Genome size variation and its phenotypic consequences in *Phyllotis* rodents. *Hereditas* 115: 99-107.
- WALKER LI, M ROJAS, S FLORES, AE SPOTORNO & G MANRÍQUEZ (1999) Genomic compatibility between two phyllotine rodent species evaluated through their hybrids. *Hereditas* 131: 227-238.
- ZAMBELLI A & L VIDAL-RIOJA (1996) Loss of nucleolar organizer regions during chromosomal evolution in the South American cricetid *Graomys griseoflavus*. *Genetica* 98: 53-57.

*Editores Invitados: R. Godoy-Herrera y G. Gajardo*

*Recibido el 5 de abril de 2000; aceptado el 18 de septiembre de 2000*

## ANEXO I

Los especímenes analizados (con los números de colección entre paréntesis) corresponden a los siguientes taxa (con abreviatura de tres letras utilizada en el texto), cuyos nombres siguen a Musser & Carleton (1993). Se indica si los ejemplares fueron utilizados para análisis de cromosomas (cro), electroforesis de proteínas (elec) o secuenciación del gen para citocromo b (citb)

The analysed specimens (with collection numbers between brackets) correspond to the following taxa (with three letter abbreviations used in the text), whose names follow Musser & Carleton (1993). It is stated whether specimens were used for chromosome analysis (cro), protein electrophoresis (elec) or cytochrome b gene sequencing (citb)

- Andinomys edax* (Aed): CHILE: I Región: Putre, 1 macho (LCM 677, cro, elec) y 1 hembra (LCM 678, cro, elec).
- Auliscomys boliviensis* (Abo): CHILE: I Región: Parinacota, 3 machos (LCM 617, cro, 644, elec; 2035, elec); Las Cuevas, 1 macho (LCM 1294, cro).
- Auliscomys sublimis* (Asu): CHILE: I Región: Parinacota, 1 macho (LCM 613, cro, elec); Choquelimpie, 1 hembra (LCM 1194, cro). GenBank number U86816 (citb).
- Eligmodontia hirtipes* (Ehi): CHILE: I Región: Parinacota, 110 km NE Arica, 1 macho (LCM 650); Choquelimpie, 114 km NE Arica, 1 macho (LCM 1193) y 3 hembras (LCM 1283, citb, 1438, 1439); II Región: Quebrada Talarin, Iquique, 1 hembra (LCM 1748).
- Eligmodontia puerulus* (Epu): CHILE: II Región: Tumbre, 40 km SE Toconao, 5 machos (LCM 1927, 1929, 1932, 1991, citb, cro; 1993) y 4 hembras (LCM 1926, 1928, 1992 y 1869); 10 km dentro del Salar de Atacama, 19 km SE Toconao, 1 macho (LCM 1933).
- Eligmodontia moreni*: (Emo), ARGENTINA: Caucharí, Provincia de Salta, 3 machos (LCM 1702, 1703, y 1704).
- Eligmodontia morgani* (Emo): GenBank number AF108691, citb.
- Eligmodontia typus* (Ety): GenBank number AF108692, citb.
- Euneomys chinchilloides*: (Ech): CHILE: Región Metropolitana: Farellones, 2 machos (LCM 631, 771, cro) y 6 hembras (LCM 334, 341, 772, 773, 774, 788, cro).
- Loxodontomys micropus*: (Lmi): CHILE: X Región: Valdivia, 1 macho (LCM 414, cro) y 1 hembra (LCM 425, cro). GenBank number AF108690 (citb).
- Loxodontomys pikumche*: (Lpi): CHILE: VI Región, San Fernando, 1 macho (LCM 1296, cro) y 1 hembra (LCM 1297, cro).
- Phyllotis amicus* (Pam): GenBank number U86817 (citb).
- Phyllotis andium* (Pan): GenBank number U86818.1 (citb).
- Phyllotis darwini* (Pda): CHILE: IV Región: Fray Jorge, 1 macho (LCM 1955, cro, elec) y 1 hembra (LCM 1680, cro); Aucó, 1 macho (LCM 755, cro) y 2 hembras (LCM 723, 729, cro); Talinay, 1 macho (LCM 995, cro); Totoralillo, 1 hembra (LCM 1745, cro, elec); Las Tacas; 4 machos (LCM 234, 667, 694, elec, cro; 740, elec) y 3 hembras (LCM 222, 262, 667, cro); Región Metropolitana: Los Dominicos, 1 macho (LCM 637, cro, elec). GenBank number U86818.1 (citb).
- Phyllotis limatus* (Pli): GenBank number U86821.1 (citb).
- Phyllotis magister* (Pma): CHILE: I Región: Desembocadura Río Loa, 9 machos (LCM 1693, 1728, 1713, 1730, 1736, 1739, MHN 449, D3, D5, cro) y 5 hembras (LCM 1691, 2054, 1741, MHN 498, D4, cro); Putre, 1 macho (LCM 196, cro) y 1 hembra (LCM 251, cro); II Región: Ojo Opache, 7 machos (LCM 1804, 1805, 1806, 1813, 1817, 1914, 2000, cro) y 2 hembras (LCM 1848, 1894, cro).
- Phyllotis osgoodi* (Posg): CHILE: I Región: Putre, 1 hembra (LCM 251, cro); Parinacota, 1 macho (LCM 241, cro) y 1 hembra (LCM 638, cro, citb).
- Phyllotis osilae* (Pos): GenBank number U86829.1 (citb).
- Phyllotis wolffsohni* (Pwo): GenBank number U86834.1 (citb).
- Phyllotis xanthopygus rupestris* (Pxr): CHILE: II Región: San Pedro de Atacama, 3 machos (LCM 1766, 1780, 1792, cro); Quebrada de Jerez, Toconao, 1 hembra (LCM 2044, cro).
- Phyllotis xanthopygus vaccarum* (Pxv): CHILE: Región Metropolitana: Farellones, 5 machos (LCM 730, elec; 745, 746, 747b, cro, elec; LCM 1798, cro, elec) y 1 hembra (LCM 1913, cro, elec); Baños Morales, 1 hembra (LCM 587, cro, elec).
- Phyllotis xanthopygus xanthopygus* (Pxx): CHILE: XI Región, Chile Chico, 3 machos (LCM 1684, 1308, 1160, cro). GenBank number AF108693.1 (citb).

ANEXO 2

Alelos analizados en electroforesis de proteínas en varias especies y poblaciones de filotinos, designados con letras mayúsculas. Taxa designados con abreviaturas (ver Materiales y Métodos y Anexo I). Sistemas analizados y designados según Harris & Hopkins (1976); números se refieren a movilidad desde el origen (en mm) y a características (S = slow, F = fast, M = median, mi = mitocondrial). Como grupos externos se agregan *Oligoryzomys* (Olo), *Akodon* (Abe) y *Abrothrix* (Alo, Aol, Aan)

Alleles observed and analyzed in the protein electrophoresis of some phyllotine species and populations, nominated with upper letters. Taxa names are abbreviated (see Material and Methods, and Annex I). Systems studied and designated following Harris & Hopkins (1976); numbers refers to mobility from the origin (in mm) and characteristics (S = slow, F = fast, M = median, mi = mitochondrial). As external groups *Oligoryzomys* (Olo), *Akodon* (Abe) y *Abrothrix* (Alo, Aol, Aan) are added

n (número de individuos)	Olo	Alo	Aan	Emo	Asu	Pos	Pma	PdaF	PxvF	Pxru								
	1	Abe 2	Aol 4	Aed 2	Lmi 1	Abo 2	Pch 2	PdaC 4	PxvLV 4									
Proteína																		
1. PepB1 47a 50b	C	D	A	A	A&D	A&B	A	A	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A
2. PepB2 24a19b 23c	E	G	A	A	F	A	A	D	C	C	C	A	B	B	B	A	A	A
3. PepC1 47a 43b	E	A	D	D	A	A	A	B	A	A	A	A	B	A	A	C	C	C
4. PepC2 22a 21b 20c	D	D	A	A	A	E	A	C	B	B	B	A	B	A	A	A	A	A
5. PepD 49a51b45c47	E	E	A	A	A	B	E	C	D	D	B	B	A	B	B	A	A	A
6. GPIs -12a mi	A	B	A	A&B	B	D	A	A	A	A	A	A	C	A	A	A	A	A
7. GPI S24a 40b 38c	E	F	D&E	E	E	F	A	B	C	C	A	A	A	A	A	A	A	A
8. ACON F 6a 3b	A	A	A	A	A	A	A	B	A	B	A	C	D	A	A	D	A	A
9. ADA F56a46b52c68d	A	A	A	E	E	D	A	D	D	E	C	B	B	B	B	C	C	C
10. MDH M34a 36c	B	C	C	C	C	C	C	C	B	B	B	A	B	A&B	A	B	B	A
11. MDH M-12 mi	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	D	D	A	A	A	A	A&D
12. ADH S7a Fb S6cF4d	F	F	A&B	B	B	B	B	D	E	E	C	C	C	B&C	B	A	A	A
13. GOT mit	B	B	A	C	C	D	A	A	A	A	A	A	A	A	A	C	C	C
14. ME 3	A	E	A	B	B	A	A	A	A	A	A	D	A	C	C	A	A	D
15. ME -1 mi	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	B	A	A	A	A	A	A	A
16. ICD S19a 22bM3c	B	B	A&B	A	A	A	A	C	B	B	A	A	B	B	B	A	A	A
17. ICD M3a ICD1c	A	D	A	A	A	A	A	A	A	A	B	A	A	A	A	A	A	A&C
18. ICD -1 mi	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
19. LDH 1 Ma Sb	A	C	C	C	C	A	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
20. LDH1 Sa Mb	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
21. EAP 1a 2b	A	C	A	C	C	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
22. G-6PDH Ma Sb M1c	A	C	C	C	C	D	C	C	C	C	A&B	B	B	B	B	B	B	B
23. 6PGD S12aF10bS9c	A	E	E	A	A	A	C	C	D	C	B	B	F	F	F	A	A	A
24. ALDmit Ma Fb 3c	D	A	A	B	B	E	B	B	C	C	A	A	A	A	A	A	A	A
25. GAPDH Ma M1b M2c	A	E	A	A	A	A	D	B	C	C	A	A	A	A	A	A	A	E
26. aGPD Ma M2b	B	D	B	B	C	A	A	A	B	B	A	A	A	A	A	A	A	A