



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ  
INSTITUTO DE ESTUDOS COSTEIROS  
FACULDADE DE BIOLOGIA**

**JULIANA RIBEIRO DE OLIVEIRA**

**Inferências moleculares sugerem diversidade críptica de *Sylvilagus brasiliensis*  
(Logomorpha: Leporidae) nas Américas Central e Sul**

Este artigo será submetido como *Short Communication* ao periódico *Journal of Mammalian  
Evolution*

**BRAGANÇA  
2023**

JULIANA RIBEIRO DE OLIVEIRA

**Inferências moleculares sugerem diversidade críptica de *Sylvilagus brasiliensis*  
(Logomorpha: Leporidae) nas Américas Central e Sul.**

Trabalho de Conclusão de Curso, apresentado à Faculdade de Biologia, do Campus Universitário de Bragança, da Universidade Federal do Pará como requisito para obtenção de título de graduação em Licenciatura em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Adam Rick Bessa da Silva

**BRAGANÇA**

**2023**

JULIANA RIBEIRO DE OLIVEIRA

**Inferências moleculares sugerem diversidade críptica de *Sylvilagus brasiliensis*  
(Logomorpha: Leporidae) nas Américas Central e Sul.**

**Banca examinadora:**

---

Dr. Adam Rick Bessa da Silva(Orientador) – IECOS, UFPA

---

Dr. Rodrigo Petry Corrêa de Sousa (Titular) – PPBA, UFPA

---

Dra. Luciana Almeida Watanabe Castro (Titular) – IECOS, UFPA

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Universidade Federal do Pará, pelo suporte institucional, financeiro e científico, aqui tive condições para construir uma identidade juntamente com os sujeitos/professores que constituem a dinâmica dessa instituição.

Agradeço ao meu professor e parceiro, Adam Bessa, por todo companheirismo e construção, não somente deste trabalho, mas na síntese da Juliana em sua singularidade.

A universidade atravessa a vivência acadêmica e entrelaça relações que escrevem histórias, das quais refletem memórias afetivas únicas, principalmente com as amigas que estabelecemos e da vida que compartilhamos. A divergência marca o momento de caminhar sob novas realidades e novos saberes. Diante disso, eu quero agradecer ao Paulo e Gabi, por terem sido importantes nas decisões tomadas nessa trajetória, por me acolherem quando eu me sentir incapaz e por me ajudarem a não me perder.

Agradeço as meninas (Luana, Gisele e Hévila) que compartilhei o dia a dia nos últimos anos, por terem paciência ao meu choro, seguimos nas diferenças e deixamos marcas umas nas outras. André, que na sua timidez, chegou e trouxe sossego nos dias conturbados, sentados no silêncio observando o céu. Aos demais amigos (William, Alexandre, Jamile) que por muito tempo foram presentes no caminho. Acredito que a memória é a forma mais singela de guardar vocês.

Agradeço imensamente aos meus familiares, essencialmente aos meus pais, Seu Anselmo e Dona Edilza pelo suporte, tudo que aqui se materializa é por nós e pelo que um dia projetamos. Aos amigos (Socorro, Adriane), que estiveram durante o caminho e caminhar e me esperaram durante esses anos. Ressalto meus agradecimentos também, ao meu grande amigo e parceiro, Lucas, por contribuir com a realização desse momento, que não me desamparou e buscou tornar minha permanência estável.

A universidade me proporcionou conhecer tudo aquilo que há 10 anos pensei, além de desenvolver a personalização da identidade docente e cidadã. A Biologia, sem dúvida, tornou a Juliana um organismo vivo, dinâmico, sensível, reflexivo e com contribuições à comunidade.

## Resumo

*Sylvilagus brasiliensis*, conhecido como Tapiti, destaca-se pela sua ampla distribuição geográfica nas Américas. Este animal é encontrado em vários biomas do Brasil, gerando debates taxonômicos acerca da possível existência de espécies crípticas e do impacto de fatores ambientais na sua diferenciação. Nossas análises focaram no gene 12S rRNA e identificaram dois clados distintos dentro de *S. brasiliensis*: Clado América Central e Clado América do Sul, sem fluxo gênico entre eles. A rede de haplotipos e a significativa divergência genética (1,6% para *Da* e 2% para *p-distance*) encontrada corroboram a existência de dois haplogrupos distintos ao longo da distribuição da espécie. A descontinuidade genética apresenta uma aparente relação com os Andes como barreira, atuando como um evento vicariante para esta espécie. A função dos Andes como barreira geográfica na diversificação de espécies é particularmente importante, uma vez que as populações ancestrais de *S. brasiliensis* provavelmente se originaram na América Central, dispersando-se posteriormente para o sul e sendo separadas pelos Andes. Os resultados mostram forte impacto taxonômico para esta espécie, embora mais pesquisas, especialmente com amostragens mais abrangentes, sejam necessárias para compreender a diversificação e conservação do *S. brasiliensis*, uma espécie em risco de extinção.

**Palavras-chave:** *Sylvilagus brasiliensis* - Espécies crípticas - Distribuição geográfica- Neotropicos - mtDNA

## Abstract

*Sylvilagus brasiliensis*, known as Tapiti, stands out for its wide geographical distribution in the Americas. This animal is found in various biomes of Brazil, generating taxonomic debates about the possible existence of cryptic species and the impact of environmental factors on its differentiation. Our analyses focused on the 12S rRNA gene and identified two distinct clades within *S. brasiliensis*: Central America Clade and South America Clade, without gene flow between them. The haplotype network and the significant genetic divergence (1.6% for *Da* and 2% for *p-distance*) found corroborate the existence of two distinct haplogroups along the species' distribution. The genetic discontinuity shows an apparent relation with the Andes as a barrier, acting as a vicariant event for this species. The function of the Andes as a geographical barrier in species diversification is particularly important, as the ancestral populations of *S. brasiliensis* likely originated in Central America, subsequently dispersing to the south and being separated by the Andes. The results show a strong taxonomic impact for this species, although more research, especially with more comprehensive sampling, is necessary to understand the diversification and conservation of *S. brasiliensis*, a species at risk of extinction.

**Keywords:** *Sylvilagus brasiliensis* - Cryptic species - Geographical distribution – Neotropics – mtDNA

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	7
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	9
2.1 Coleta de Dados.....	9
2.2 Estratégia de Busca e Extração de Dados.....	9
2.3 Implementação do Script em Python.....	9
2.4 Análises moleculares.....	10
3. RESULTADOS.....	11
4. DISCUSSÃO.....	12
5. CONCLUSÃO.....	14
6. REFERÊNCIAS.....	15

## APRESENTAÇÃO

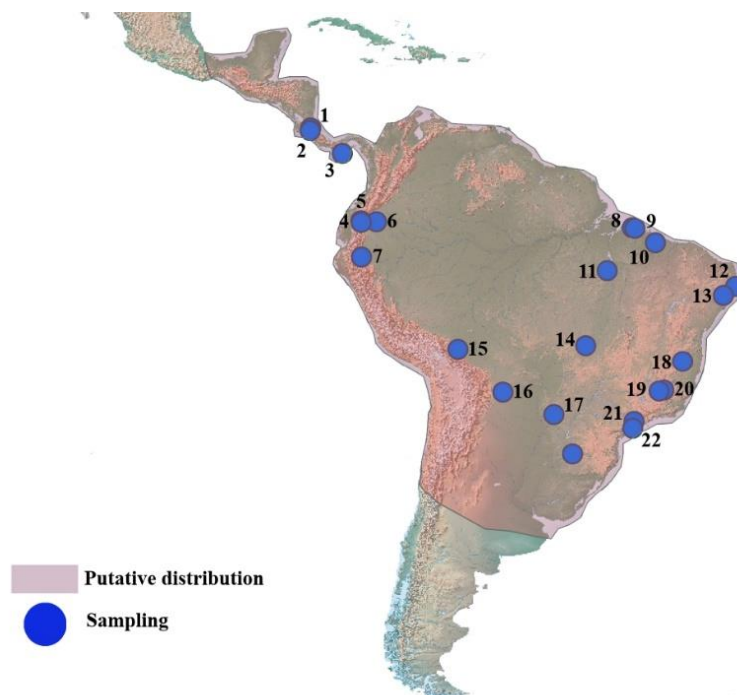
Este Trabalho de Conclusão de Curso é constituído por um artigo científico intitulado “Inferências moleculares sugerem diversidade críptica de *Sylvilagus brasiliensis* (Logomorpha: Leporidae) nas Américas Central e Sul”, foi desenvolvido com a orientação do Prof. Dr. Adam Bessa. Pretende-se submeter como *Short Communication* ao periódico *Journal of Mammalian Evolution*. A construção deste trabalho surgiu a partir de discussões em sala durante a disciplina de Evolução e Biogeografia, ministrada pelo professor Adam Bessa. O despertar para a busca em compreender a história evolutiva das espécies, bem como a suas relações filogenéticas é o norteia meu interesse no desenvolvimento da pesquisa.

O estudo com coelhos selvagens do gênero *Sylvilagus*, *S. brasiliensis* (Tapiti), a espécie alvo discutida aqui, parte das problematizações acerca da sua distribuição nas Américas Central e Sul. A partir disso, sugerimos o valor de divergência genética e que se trata de espécies crípticas, com linhagens distintas ao longo da distribuição nas Américas Central e Sul.

## 1. INTRODUÇÃO

O gênero *Sylvilagus* (Linneaus, 1768), conhecido como coelhos-americanos é atualmente composto por 22 espécies, distribuídas desde o sudoeste do Canadá até o norte da Argentina (Silva et al. 2019). Dentre essas espécies, o *Sylvilagus brasiliensis*, também referido como Tapiti, destaca-se por possuir uma das distribuições geográficas mais amplas dentro do gênero, abrangendo regiões do sul do México ao Brasil (Ruedas et al. 2017) (Fig. 1). Esses mamíferos terrestres de pequeno e médio porte são generalistas, com atividades predominantes durante o crepúsculo e a noite (Dias et al. 2019). Exibem uma pelagem densa e suave, com coloração dorsal que varia do marrom ao preto, ventre esbranquiçado e laterais mais claras. Além disso, têm orelhas mais curtas quando comparadas a outros membros da família Leporidae (Cordeiro-Estrela, 2022). São diferenciados de outras espécies do gênero pela sua menor envergadura, com uma média de 372 mm de comprimento (Diersing, 1981).

Figura 1: Amostragem e área de distribuição de *Sylvilagus brasiliensis* utilizadas para mapear a ocorrência da espécie. As localidades podem ser verificadas na Tabela 1 através dos números correspondentes no mapa.



Fonte: autora.

No Brasil, a ocorrência registrada do Tapiti se estende pelos biomas Amazônia, Mata Atlântica, Cerrado, Caatinga, Pantanal e Pampa, habitando regiões de vegetação densa e arbustiva (Cordeiro-Estrela, 2022; Dantas et al., 2016). A vasta distribuição geográfica do *S. brasiliensis* provoca um debate significativo sobre aspectos taxonômicos. Estudos anteriores, majoritariamente baseados em dados morfológicos, sugerem a presença de espécies crípticas na área de ocorrência desta espécie (Ruedas et al., 2017), indicando que variações ambientais podem ter conduzido a adaptações locais e divergências regionais (Reis; Filho e Silveira, 2011). No entanto, *S. brasiliensis* ainda é considerada como uma única espécie ao longo de toda a sua distribuição (Júnior et al., 2005; Ruedas et al., 2017).

A distribuição de *S. brasiliensis* é sobreposta à região Neotropical, uma zona reconhecida por sua alta biodiversidade. Eventos geológicos e climáticos, como a formação do Istmo do Panamá e a ascensão dos Andes, são considerados eventos históricos que impactaram a biodiversidade tanto global quanto regional (Bacon et al., 2015; Santos et al., 2009). Além disso, as flutuações climáticas do Quaternário são vistas como um motor de diversificação para a biota Neotropical, com os ciclos glaciais/interglaciais do Pleistoceno e mudanças nos níveis do mar influenciando significativamente a composição do habitat e a diversificação de organismos Neotropicais (Antonelli et al., 2010; Damasceno et al., 2014; Rull 2004; 2005; 2008; Silva et al., 2019).

Apesar do acúmulo de estudos, os mecanismos subjacentes aos padrões de diferenciação observados continuam a ser intensivamente debatidos, sendo tradicionalmente categorizados em duas hipóteses principais, embora não mutuamente exclusivas: dispersão de longa distância e vicariância (Savage 1982; Nason et al., 2002; Mayle, 2004; Yoder & Nowak, 2006). Distinguir entre esses dois modelos de diversificação permanece desafiador; no entanto, padrões filogeográficos idiosincráticos frequentemente relatados entre táxons com distribuição semelhante ou co-distribuídos sugerem que características ecológicas específicas e/ou históricos de vida podem explicar diferentes respostas às mudanças de paisagem compartilhadas (Miller et al., 2008; Antonelli et al., 2010; Smith et al., 2014). Por exemplo, estudos filogeográficos comparativos em larga escala recentes, conduzidos por Smith et al. (2014) e Silva et al. (2019), revelaram padrões espaciais e temporais altamente discordantes de diferenciação genética, sugerindo que os mecanismos evolutivos podem atuar de maneira distinta em diferentes espécies.

Adicionalmente, a intervenção humana, manifestada por alterações nas condições naturais das populações, fragmentação de habitat e redução das áreas nativas, tem exercido um impacto negativo sobre a dinâmica populacional, a taxa de reprodução, o fluxo gênico e,

consequentemente, a diversidade genética do *S. brasiliensis* (Carvalho, 2022). Essas alterações na paisagem representam uma ameaça para os tapitis, provocando o isolamento de populações, sobretudo devido à fragmentação (Cordeiro-Estrela, 2022). Conforme salientado por Mendes Pontes et al., (2016), a distribuição de *S. brasiliensis* em algumas regiões alcançou um nível abaixo do que pode ser detectado. Nesse contexto, é alarmante que, de acordo com dados divulgados pela União Internacional para a Conservação da Natureza e dos Recursos Naturais (IUCN, 2021), o *S. brasiliensis* seja categorizado como uma espécie ameaçada, sublinhando a necessidade de mais pesquisas para embasar ações de conservação direcionadas.

Assim, dado que a taxonomia de *S. brasiliensis* ainda apresenta muitas lacunas, especialmente no que se refere ao mapeamento da distribuição geográfica, a delimitação de subespécies torna-se desafiadora (Cordeiro-Estrela, 2022). A ampla ocorrência desencadeia questionamentos sobre a consistência taxonômica entre as populações da América Central e da América do Sul. Carvalho (2022), ressalta que é intrigante, do ponto de vista ecológico, que uma espécie de pequeno a médio porte se faça presente em vastas variações geográficas. Nesse cenário, a análise molecular emerge como uma ferramenta promissora para estimar a distância genética entre os grupos e esclarecer se estes podem representar linhagens distintas, e se mecanismos evolutivos como vicariância e dispersão podem estar no cerne da história evolutiva desta espécie.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Coleta de Dados**

Para o desenvolvimento deste estudo, focamos na análise de sequências de DNA do gene mitocondrial 12S ribossômico RNA (12S rRNA) da espécie *Sylvilagus brasiliensis*. Todas as sequências foram adquiridas exclusivamente do GenBank (*National Center for Biotechnology Information - NCBI*).

### **2.2 Estratégia de Busca e Extração de Dados**

Utilizamos um script em Python (<https://github.com/AdamBessa>), desenvolvido para este estudo, com o objetivo de executar uma busca detalhada e sistemática das sequências de interesse. O *script* foi desenvolvido para filtrar e extrair não apenas as sequências de DNA, mas também as informações geográficas associadas, oferecendo insights valiosos sobre a distribuição geográfica e a variabilidade genética da espécie em diferentes localidades.

### **2.3 Implementação do Script em Python**

O código foi implementado utilizando a biblioteca Biopython, uma ferramenta poderosa para a manipulação e análise de dados biológicos. O script foi otimizado para interagir com a interface de programação de aplicativos (API) do GenBank, permitindo a busca automatizada e a extração de sequências específicas do gene mitocondrial 12S rRNA de *S. brasiliensis*.

## 2.4 Análises moleculares

As sequências foram alinhadas automaticamente utilizando o software ClustalW (Thompson et al., 1994) no GENEIOUS 9.0.5 (<https://www.geneious.com>). As relações filogenéticas foram realizadas usando Inferência Bayesiana (IB) e a abordagem de Máxima Verossimilhança (ML). A abordagem IB foi executada no software \*BEAST baseado em coalescente MCMC (Método de Monte Carlo via Cadeias de Markov) Bayesian (Bouckaert et al., 2014), conforme implementado na plataforma para análise evolutiva bayesiana BEAST2 2.0.3 (Bouckaert et al., 2014). A análise \*BEAST foi realizada sob um relógio relaxado lognormal e um modelo de especiação Yule (Drummond et al., 2006). Realizamos três cadeias de  $5 \times 10^8$  passos, amostradas a cada  $5 \times 10^4$  passos, e aplicamos de 10% de *burn-in*. Avaliamos a convergência da cadeia com TRACER 1.6.0 (Bouckaert et al., 2014), garantindo que todos os parâmetros ESS excedessem 200. Resumimos todas as árvores usando a máxima credibilidade de clado em TREEANNOTATOR 1.8.0. Os modelos de substituição foram escolhidos com PARTITIONFINDER 2 (Lanfear et al., 2016), usando a seleção de modelo BIC. A análise ML foi realizada usando o modelo GTRGAMMA, e a confiança dos ramos da melhor árvore foi analisada com base na análise de 1000 réplicas de bootstrap. As árvores foram editadas usando o FigTree 1.4.3 (Rambaut, 2017).

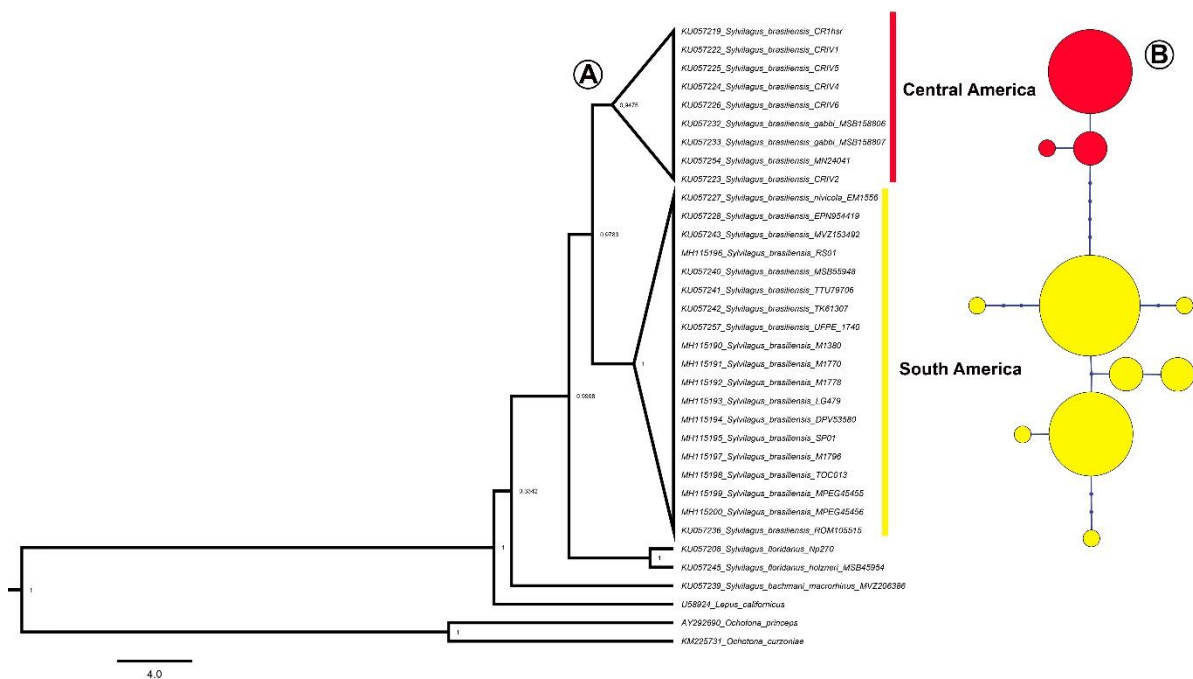
Para investigar os padrões de estrutura genética, estimamos a relação genealógica entre haplótipos usando uma abordagem filogenética para criar redes de haplótipos conforme implementado no Haploviewer (Salzburger et al., 2011). Indels foram removidos pois não reduziram significativamente o número de sítios polimórficos nem influenciaram a informação nos conjuntos de dados. A distância genética entre os grupos foi calculada como o número de substituições nucleotídicas líquidas por sítio (Da; Nei, 1987, equação 10.21) e com a distância *p-distance* no software DNAsp (Rozas et al., 2017).

### 3. RESULTADOS

A nossa busca no GenBank recuperou um total de 30 sequências (Tabela 1), sendo as espécies *Sylvilagus bahmani holzneri*, *Sylvilagus floridanus*, *Ochotona princeps* e *Ochotona curzoniae* utilizadas como grupos externos.

As análises moleculares utilizando o gene 12S rRNA, revelam evidências dois cladogramas bem suportado (Fig 2A) dentro de *S. brasiliensis*, sendo um grupo com ocorrência na América Central e outro com ocorrência na América do Sul. Além disso, os dados representados pela rede de haplótipos (Fig. 2B), também suportam que a existência de dois grupos distintos separados por 5 mutações, sem qualquer evidência de compartilhamento de haplótipos ou fluxo gênico.

Figura 2: A) Análise filogenética separando os grupos; B) Rede de haplótipos. Os tamanhos dos círculos são proporcionais ao número de indivíduos que compartilham os mesmos haplótipos.



Fonte: autora.

Adicionalmente, a avaliação da divergência genética calculada para as linhagens é congruente com as impressões expostas, apresentando o valor mínimo de 1,6% para *Da* (0,01623) e 2% para *p-distance* (0,02050), sustentando a hipótese da existência de dois haplogrupos ao longo da área de ocorrência das espécies, o que também foi observado pelos

elevados valores de suporte da árvore bayesiana (0,9783) (Fig 2.A), demonstrando que a separação genética é consistente. Esses valores foram similares aos de outros estudos com espécies de mamíferos, incluindo espécies do gênero *Sylvilagus*, demonstrando a eficiência do 12S na detecção de grupos com divergência incipiente (Allard & Honeycutt, 1992; Halanych & Robinson, 1997).

#### 4. DISCUSSÃO

Nossos resultados revelaram a existência de pelo menos dois grupos distintos, alinhados com as amostras coletadas da América Central e América do Sul (veja Fig 2A; B). A divergência observada entre estes grupos sugere que o nível de variação genética pode ter implicações taxonômicas significativas. Este fenômeno é um exemplo de evolução divergente, onde características biológicas com origem evolutiva comum divergem ao longo do tempo devido a diferentes pressões ambientais e seleção natural, eventualmente conduzindo à especiação (Bessa-Silva et al., 2020; Roberts et al., 2006; Guarnizo et al., 2009).

Este resultado é de grande relevância, principalmente devido às questões taxonômicas que permaneceram controversas ao longo do tempo. Por exemplo, Hoffman e Smith (2005) identificaram apenas uma espécie, *Sylvilagus brasiliensis*, com ampla distribuição na região neotropical. Em contraste, Ruedas (2017) reconheceu sete espécies do gênero *Sylvilagus* na América do Sul, a saber: *Sylvilagus brasiliensis* Linnaeus, 1758; *Sylvilagus tapetillus* Thomas, 1913; *Sylvilagus floridanus* J. A. Allen, 1890; *Sylvilagus andinus* Thomas, 1897; *Sylvilagus sanctaeritae* Hershkovitz, 1950; *Sylvilagus varynaensis* Durant & Guevara, 2001; e *Sylvilagus parentum* Ruedas, 2017. As espécies *Sylvilagus andinus*, *Sylvilagus floridanus*, *Sylvilagus sanctaemartae*, *Sylvilagus varynaensis* e *Sylvilagus parentum* são encontradas em localidades específicas, com as quatro primeiras presentes nas regiões dos Andes, enquanto *Sylvilagus parentum* é restrita à Guiana. A classificação proposta por Ruedas não foi aceita por Diersing & Wilson (2017), que classificaram *Sylvilagus sanctaeritae* como sinônimo de *Sylvilagus gabbi* J. A. Allen, 1877, da América Central, e *S. andinus* como uma subespécie de *S. brasiliensis*, nomeada *Sylvilagus brasiliensis andinus*.

Embora estes resultados sejam relevantes, suas análises foram exclusivamente baseadas em características morfológicas e variações ambientais que, teoricamente, fazem parte do arcabouço evolutivo natural das espécies. No entanto, nossos resultados, fundamentados em dados moleculares, corroboram a hipótese de duas linhagens distintas ao longo da distribuição de *S. brasiliensis* estabelecidas ao norte e ao sul dos Andes.

Esta divergência genética pode estar estreitamente relacionada à história biogeográfica das espécies, especialmente no que se refere à influência dos Andes como uma barreira geográfica. Os registros fósseis mais antigos de lagomorfos, datados do início Eoceno, são originários da Índia (Rose et al., 2008). No entanto, foi durante o Oligoceno que as espécies semelhantes aos atuais Leporidae emergiram na América do Norte (Emry & Gawne, 1986). Isso sugere que os grupos ancestrais de *S. brasiliensis* provavelmente se originaram na América Central e, posteriormente, dispersaram-se para a América do Sul.

Este padrão de dispersão e diversificação é observado em vários grupos, influenciado pela formação da conexão terrestre pelo Istmo do Panamá. Esse fenômeno permitiu a dispersão de numerosos organismos, um evento conhecido como o Grande Intercâmbio Americano (Woodburne, 2010; Bacon et al., 2016). No entanto, muitos dos padrões de diversificação neotropical também foram posteriormente direcionados pela orogenia da Cordilheira dos Andes. Isso permitiu a diversificação por vicariância de populações ancestrais, que estavam anteriormente amplamente distribuídas ao norte e ao sul dos Andes (Bessa-Silva et al. 2020; Montoya-Valencia, 2018; Roberts et al., 2006; Guarnizo et al., 2009)

Além disso, Whiteman-Jennings (2015), sugere que a colonização bem-sucedida de espécies com origem da América do Norte é promovida pelo menor tamanho do corpo, visto que aumenta a probabilidade de dispersão. Nesse sentido, sendo *S. brasiliensis* uma espécie de pequeno à médio porte, o tamanho do corpo pode ter sido um fator com grande influência na dispersão para América do Sul.

Os Andes, uma das cadeias montanhosas mais impressionantes do mundo, têm um papel crucial na biodiversidade Neotropical, atuando como barreira geográfica e influenciando a distribuição e diversificação de várias espécies (Weir & Price, 2011; Hazzi et al., 2018). Para a família Leporidae, que inclui lebres e coelhos, os Andes podem representar uma barreira significativa para a dispersão e diversificação das espécies, embora estudos específicos sobre o impacto direto dos Andes sobre os Leporidae sejam limitados.

Este padrão foi observado no caso dos roedores Sigmodontinae, a família de mamíferos mais diversificada na região neotropical. Os Andes desempenharam um papel crucial em sua radiação evolutiva, atuando como um 'berço macroevolutivo' (Vallejos-Garrido et al., 2023). A formação dos Andes transformou drasticamente a paisagem antes homogênea, criando habitats e possibilidades ecológicas, o que impulsionou a diversificação das espécies. Este processo destaca a importância da especiação na geração de diversidade biológica (Nosil & Feder, 2012; Sedano & Bruns, 2010).

Para os Leporidae, é possível que os Andes tenham um papel semelhante, agindo tanto como uma barreira para a dispersão quanto como um motor de diversificação. As montanhas podem ter promovido a diversificação de espécies dentro da família Leporidae, criando microclimas e habitats isolados que fomentam a especiação.

## **5. CONCLUSÃO**

Portanto, nossos resultados demonstram claramente a existência de duas linhagens distintas de *S. brasiliensis*. Além das implicações evolutivas e taxonômicas, estes achados indicam a necessidade de estudos adicionais, principalmente focados em uma amostragem mais abrangente nas áreas de distribuição. Esta necessidade é ainda mais crítica para avaliar os impactos na conservação, considerando que esta espécie se encontra ameaçada de extinção.

## 6. REFERÊNCIAS

- Allard, M W, Honeycutt, R. L (1992) Nucleotide sequence variation in the mitochondrial 12S rRNA gene and the phylogeny of African mole-rats (Rodentia: Bathyergidae). *Molecular Biology and Evolution*, v. 9, n. 1, p. 27-40. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040706>
- Amei, A, Smith, B. T (2014) Robust estimates of divergence times and selection with a Poisson random field model: a case study of comparative phylogeographic data. *Genetics*, v. 196, n. 1, p. 225-233. <https://doi.org/10.1534/genetics.113.157776>
- Bacon, C. D., et al (2016) Quaternary glaciation and the Great American biotic interchange. *Geology*, 44(5), 375-378. <https://doi.org/10.1130/G37624.1>
- Bacon, C.D et al (2015) Biological evidence supports an early and complex emergence of the Isthmus of Panama. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 112, n. 19, p. 6110-6115. <https://doi.org/10.1073/pnas.1423853112>
- Bessa-Silva, A, et al (2020) The roles of vicariance and dispersal in the differentiation of two species of the *Rhinella marina* species complex. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 145, 106723. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2019.106723>
- Bouckaert R, et al (2014) BEAST 2: A Software Platform for Bayesian Evolutionary Analysis. *PLoS Comput Biol* 10(4): e1003537. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1003537>
- Carnaval, A. C; Moritz, C (2008) Historical climate modelling predicts patterns of current biodiversity in the Brazilian Atlantic forest. *Journal of Biogeography*, v. 35, n. 7, p. 1187-1201. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2007.01870.x>
- Carvalho, A. C (2022) Fatores que influenciam o uso do habitat pelo tapiti (*Sylvilagus brasiliensis*) em uma das maiores províncias minerárias do mundo. <http://hdl.handle.net/1843/50381>
- Cordeiro-Estrela, P (2022) Determinação do nome científico do tapiti (Lagomorpha: Leporidae) do Pantanal. *Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi-Ciências Naturais*, 17(3), 689-699. <https://orcid.org/0000-0003-3383-571X>
- Dantas, A. R. C, et al (2016) First record of *Sylvilagus brasiliensis* (linnaeus, 1758)(lagomorpha: leporidae) in rio Grande do Norte state, Northeast Brazil. *Check List*, 12(2), 1856-1856. <https://doi.org/10.15560/12.2.1856>
- Dias, D. D. M et al (2019) Spatiotemporal ecology of two Neotropical herbivorous mammals. *Papeis Avulsos de Zoologia*, 59. <https://doi.org/10.11606/1807-0205/2019.59.10>
- Diersing, V. E, Wilson, D. E. (2017) Systematic status of the rabbits *Sylvilagus brasiliensis* and *S. sanctaemartae* from northwestern South America with comparisons to Central American populations. *Journal of Mammalogy*, v 98 iss(6), 1641-1656. <https://doi.org/10.1093/jmammal/gyx133>

Diersing, V. E. (1981). Systematic status of *Sylvilagus brasiliensis* and *S. insonus* from North America. *Journal of Mammalogy*, 62(3), 539-556. <https://doi.org/10.2307/138040>

Drummond, A. J, et al. (2006) Modelo de especiação Yule. Relaxed phylogenetics and dating with confidence. *PLoS Biol* 4(5):e88.<https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0040088>

Emry, R. J, Gawne, C. E (1986) A primitive, early Oligocene species of *Palaeolagus* (Mammalia, Lagomorpha) from the Flagstaff Rim area of Wyoming. *Journal of Vertebrate Paleontology* 6(3): 271-280. <https://doi.org/10.1080/02724634.1986.10011622>

GENEIOUS 9.0.5: Geneious 3.2 (<https://www.geneious.com>).

Guarnizo, C, E.; Amézquita, A.; Bermingham, E (2009) The relative roles of vicariance versus elevational gradients in the genetic differentiation of the high Andean tree frog, *Dendropsophus labialis*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, v. 50, n. 1, p. 84-92. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2008.10.005>

Halanych, K. M.; Robinson, T. J (1997) Phylogenetic relationships of cottontails (*Sylvilagus*, Lagomorpha): congruence of 12S rDNA and cytogenetic data. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, v. 7, n. 3, p. 294-302. <https://doi.org/10.1006/mpev.1996.0403>

Hazzi, N. A., et al (2018) Biogeographic regions and events of isolation and diversification of the endemic biota of the tropical Andes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 115(31), 7985-7990. <https://doi.org/10.1073/pnas.180390811>

Hoffmann, R. S, Smith, A. T. (2005) Order Lagomorpha. In E. Wilson & D. E. Reeder (Eds.), *Mammal species of the world, a taxonomic and geographic reference*. Johns Hopkins University Press 1, 3, p. 185-211. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2009.02200.x>

Júnior, J. S. E. S et al (2005) Update on the geographical distribution and habitat of the tapiti (*Sylvilagus brasiliensis*: Lagomorpha, Leporidae) in the Brazilian Amazon.

Lavinia, P. D. et al (2015) Continental-scale analysis reveals deep diversification within the polytypic Red-crowned Ant Tanager (*Habia rubica*, Cardinalidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, v. 89, p. 182-193. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2015.04.018>

Mendes Pontes, et al (2016) Mass extinction and the disappearance of unknown mammal species: scenario and perspectives of a biodiversity hotspot's hotspot. *PLoS One*, v 11 iss 5, e0150887. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0150887>

Montoya Valencia, P (2018). Why did some animals participate in the great american biotic interchange and others did not? the influence of dispersal ability and niche breadth. *Uniandes*.

Nei, M. (1987) Chapter 9: Genetic Distance Between Populations. In *Molecular Evolutionary Genetics* New York Chichester, West Sussex: Columbia University Press.

Nei, M. (1987) *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press, New York. <https://doi.org/10.7312/nei-92038-016>

Nosil, P., and Feder, J. L. (2012). Genomic divergence during speciation: causes and consequences. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 367(1587), 332-342.

O'DEA, Aaron et al (2016) Formation of the Isthmus of Panama. *Science advances*, v. 2, n. 8, p. e1600883. DOI: [10.1126/sciadv.1600883](https://doi.org/10.1126/sciadv.1600883)

Ornelas, J. F et al (2013) Comparative phylogeographic analyses illustrate the complex evolutionary history of threatened cloud forests of northern Mesoamerica. *PloS one*, v. 8, n. 2, p. e56283. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0056283>

PARTITIONFINDER 2 (Lanfear et al., 2016): Lanfear R, Frandsen PB, Wright AM, Senfeld T, Calcott B. PartitionFinder 2: New Methods for Selecting Partitioned Models of Evolution for Molecular and Morphological Phylogenetic Analyses. *Mol Biol Evol*. 2017.

REIS, N.R.; FILHO, H.O. & SILVEIRA, G. (2011). Ordem Lagomorpha. In: Reis, N.R.; Peracchi, A.L.; Pedro, W.A. & Lima, I.P. (Eds.). *Mamíferos do Brasil*. Londrina, 2ªed, p. 151-154.

Roberts, J. L. et al (2006) Genetic divergence and speciation in lowland and montane Peruvian poison frogs. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, v. 41, n. 1, p. 149-164. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2006.05.005>

Rose, K. D et al (2008) Early Eocene lagomorph (Mammalia) from western India and the early diversification of Lagomorpha. *Proceedings Royal Society of London B* 275(1639): 1203-1208. <https://doi.org/10.1098/rspb.2007.1661>

Rozas, J. et al. (2017) DnaSP 6: DNA sequence polymorphism analysis of large data sets. *Molecular biology and evolution*, v. 34, n. 12, p. 3299-3302. <https://doi.org/10.1093/molbev/msx248>

RUEDAS L.A. et al.(2017). A prolegomenon to the systematics of South American cottontail rabbits (Mammalia, Lagomorpha, Leporidae: Sylvilagus): designation of a neotype for *S. brasiliensis* (Linnaeus, 1758), and restoration of *S. Andinus* (Thomas, 1897) and *S. tapetillus* Thomas, 1913. *Misc Pub Mus Zool Univ Mich*. 205, p. 1-67.

Rull, V.; Montoya, E (2014) *Mauritia flexuosa* palm swamp communities: natural or human-made? A palynological study of the Gran Sabana region (northern South America) within a neotropical context. *Quaternary Science Reviews*, v. 99, p. 17-33. <https://doi.org/10.1016/j.quascirev.2014.06.007>

Salzburger W, Ewing GB, von Heaseler A. (2011) The performance of phylogenetic algorithms in estimating haplotype genealogies with migrations. *Molecular Ecology*, v 20 iss(11), p. 1952-1963. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2011.05066.x>

Sedano, R. E, Burns, K. J (2010) Are the Northern Andes a species pump for Neotropical birds? Phylogenetics and biogeography of a clade of Neotropical tanagers (Aves: Thraupini). *Journal of Biogeography*, v. 37, n. 2, p. 325-343.

Silva, S. M. et al (2019) A dynamic continental moisture gradient drove Amazonian bird diversification. *Science Advances*, 5(7), eaat5752. DOI: [10.1126/sciadv.aat5752](https://doi.org/10.1126/sciadv.aat5752)

Silva, S. M. et al. (2019) Illuminating the obscured phylogenetic radiation of South American *Sylvilagus* Gray, 1867 (Lagomorpha: Leporidae). *Journal of Mammalogy*, 100(1), 31-44. <https://doi.org/10.1093/jmammal/gyy186>

Smith, B. T, et al (2014). The drivers of tropical speciation. *Nature*, 515(7527), 406-409. <https://www.nature.com/articles/nature13687>

Thompson J.D, Higgins D.G, Gibson T.J (1994) CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res*, v 22, iss22, p.4673-80. <https://doi.org/10.1093/nar/22.22.4673>

TRACER 1.6.0: Rambaut A, Drummond AJ, Xie D, Baele G, Suchard MA. (2018) Posterior summarisation in Bayesian phylogenetics using Tracer 1.7. *Systematic Biology*. syy032.

Vallejos-Garrido, P et al (2023) The importance of the Andes in the evolutionary radiation of Sigmodontinae (Rodentia, Cricetidae), the most diverse group of mammals in the Neotropics. *Scientific Reports*, v. 13, n. 1, p. 2207. <https://www.nature.com/articles/s41598-023-28497-0>

Weir, J. T.; Price, M (2011) Andean uplift promotes lowland speciation through vicariance and dispersal in *Dendrocincla* woodcreepers. *Molecular Ecology*, v. 20, n. 21, p. 4550-4563. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2011.05294.x>

Whiteman-Jennings, W (2015). *Into the tropics: a quantitative study of mammals in the great american biotic interchange*. University of New Mexico.

Woodburne, M. O. (2010) The Great American Biotic Interchange: dispersals, tectonics, climate, sea level and holding pens. *Journal of mammalian evolution*, 17, 245-264.

YODER, A.D, NOWAK, M. D (2006) Has vicariance or dispersal been the predominant biogeographic force in Madagascar? Only time will tell. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.*, v. 37, p. 405-431.

Tabela 1: Referências geográficas da amostragem e número de acesso das sequências de *Sylvilagus brasiliensis* no Genbank.

<i>Localidade</i>	<i>Região</i>	<i>Gene</i>	<i>Voucher Genbank</i>
Costa Rica	América Central	12S	KU057219
Costa Rica	América Central	12S	KU057222
Costa Rica	América Central	12S	KU057223
Costa Rica	América Central	12S	KU057224
Costa Rica	América Central	12S	KU057225
Costa Rica	América Central	12S	KU057226
Costa Rica	América Central	12S	KU057256
Costa Rica	América Central	12S	KU057251
Panamá	América Central	12S	KU057232
Panamá	América Central	12S	KU057233
Brasil/Pará	América do Sul	12S	MH115200
Brasil/Pará	América do Sul	12S	MH115199
Brasil/Pará	América do Sul	12S	MH115197
Brasil/Maranhão	América do Sul	12S	MH115198
Brasil/Rio Grande do Sul	América do Sul	12S	MH115196
Brasil/Rio Grande do Sul	América do Sul	12S	MH115195
Brasil/São Paulo	América do Sul	12S	MH115194
Brasil/Minas Gerais	América do Sul	12S	MH115192
Brasil/Pernambuco	América do Sul	12S	MH115257
Brasil/Pernambuco	América do Sul	12S	MH115254
Brasil/Bahia	América do Sul	12S	MH115193
Brasil/Minas Gerais	América do Sul	12S	MH1152191
Brasil/Mato Grosso	América do Sul	12S	MH1152190
Equador	América do Sul	12S	KU057227
Equador	América do Sul	12S	KU057236
Equador	América do Sul	12S	KU057228
Peru	América do Sul	12S	KU057243
Bolívia	América do Sul	12S	KU057240
Paraguai	América do Sul	12S	KU057241
Paraguai	América do Sul	12S	KU057241