



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

Instituto de Ecología

ESTRUCTURA GENÉTICA Y FILOGEOGRAFÍA DE
Ototylomys phyllotis

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

**MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
(BIOLOGÍA AMBIENTAL)**

P R E S E N T A

TANIA ANAID GUTIÉRREZ GARCÍA

DIRECTORA DE TESIS: DRA. ELLA GLORIA VÁZQUEZ DOMÍNGUEZ

MÉXICO, D.F.

ENERO, 2008



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

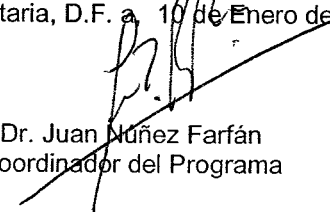
Ing. Leopoldo Silva Gutiérrez
Director General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 26 de Noviembre de 2007, se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS (BIOLOGÍA AMBIENTAL)** de la alumna **GUTIÉRREZ GARCÍA TANIA ANAID** con número de cuenta **506021367** con la tesis titulada **“Estructura genética y filogeografía de *Otodylomys phyllotis*”**, realizada bajo la dirección de la **DRA. ELLA GLORIA VÁZQUEZ DOMÍNGUEZ**:

Presidente: DR. DANIEL IGNACIO PIÑERO DALMAU
Vocal: DR. DAVID VALENZUELA GALVÁN
Secretario: DRA. ELLA GLORIA VÁZQUEZ DOMÍNGUEZ
Suplente: DR. HÉCTOR TAKESHI ARIYA WATANABE
Suplente: DR. ENRIQUE MARTÍNEZ MEYER

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

Atentamente
“POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU”
Cd. Universitaria, D.F. a 10 de Enero de 2008.



Dr. Juan Núñez Farfán
Coordinador del Programa

c.c.p. Expediente del (la) interesado (a).

DEDICADO A...

Mi familia, que es mi fuerza y alegría, pequeña, pero que nunca estará rota.

Adrián, que siempre está conmigo.

La Galleta.

Kary, Adriancito, Edgar, Sandra, Yaya, Mateo, Vale...y a todos los niños.

Agradecimientos

A mi tutora, la Dra. Ella Vázquez, por confiar en mí, guiar y corregir mis pasos. Por hacer todo lo necesario para que mi maestría fuera interesante, agradable y provechosa. Por ser abierta a mis opiniones, por darme mi lugar. Por animarme. Por sus consejos académicos y de vida. Porque siempre está ahí, conmigo. Gracias Ella.

A la Universidad Nacional Autónoma de México.

Al personal del Posgrado en Ciencias Biológicas, por el apoyo para mi obtención de grado en el tiempo requerido y que por medio del PAEP me otorgó el financiamiento para una estancia durante la maestría.

A CONACYT por el financiamiento para la realización de la Maestría y por su apoyo al proyecto de investigación

Al comité tutorial, Dr. Daniel Piñero y Dr. Enrique Meyer por su paciencia y consejos. Por aceptar, preguntar y hacer de cada "tutoral" y asesoría durante la maestría un momento agradable, aunque no hubiera ratones.

A los revisores de tesis, el Dr. Héctor Arita y el Dr. David Valenzuela, por aceptar inspeccionar el trabajo en tan poco tiempo y amablemente darme los consejos que les fueron posibles.

Al Biól. Gerardo Rodríguez Tapia, compañero y amigo. Quien siempre sabe, entre otras cosas, qué tecla resuelve el problema y porqué no imprime la impresora. Por estar siempre dispuesto a ayudarme. Gracias.

A los profesores y compañeros de clase que colaboraron en mi aprendizaje.

A los estudiantes del Laboratorio de Macroecología: Tania, Irma, Susette, Aliet, Fabricio, Paulina, Lorena, David, Rebeca, Daya, Gaby, Rodrigo y Andrés, por su ayuda y por hacer del laboratorio un lugar pacífico, agradable y amistoso.

A Meli y Mariana por permitir el uso de las instalaciones y equipo del Laboratorio de Dinámica de Poblaciones y Evolución de Historias de Vida, por tener paciencia para atenderme y aclarar mis dudas. Porque gracias a ellas todo permanece en orden y paz. A sus alumnos, que hicieron de las largas jornadas de trabajo un rato ameno y productivo.

Al Dr. Jorge Salazar Bravo, por su recibimiento y asesoría sincera en Texas Tech University.

Agradecimientos personales ★

A él, al que le hablo desde niña, al que me trajo hasta aquí tan completa, tan feliz.

A mi madre, Olga Margarita, mi ejemplo de amor, orden, perseverancia y fe. A mi padre, Juan Manuel, que me enseñó a utilizar el sentido común en la escuela y en la vida. A Juan Carlos y a Viviana, mis hermanos, ejemplos de inteligencia y valentía, porque siempre están ahí demostrándome que sí puedo, haciendo la vida genial. Familia, los quiero, los llevo conmigo.

A Miguel, cómplice, amigo y compañero intelectual. Por tu cariño sincero y motivación, por caminar a mi lado, por descubrirme, por estar ahí. Miguel, gracias.

A mis amigas a través del tiempo: Carmen, Isabel, Yaye, Pato, Cecilia (Cachorro), Kiki, Tania, Nicté, Alba, Cristina, Gaby, Angélica, Ana, Andriana, Sicilene, Harumi, Priscila, Yenisey. Por los buenos años y los que faltan.

A mis amigos geniales: Jorge Rojas, Rafael Lara, Erick García, Lázaro Guevara, Juan Pablo Carrera, José Cárdenas, Amiel, Gerardo Cerón, Aníbal, José Javier, Rogelio Villarreal, Alberto Carbajal, David Preza, Carlos Fernando y Héctor Molina.

A Nora (la licenciada), Coco (la geógrafa) y Aura (el vago), amigas, compañeras, que cada una a su manera me regresaba al mundo cada vez que me poseían las letras o el laboratorio. Por acompañarme, por desvelarse conmigo, por horas de risa, por aguantar deslices, gracias.

A la Tocaya por tantas horas de trabajo y diversión juntas. Por tu amistad sincera. A la familia Garrido-Garduño, por recibirme cariñosamente, por su apoyo. Y a gran la banda de la Tocaya, porque me animan y apoyan sinceramente aunque todo apenas comienza.

A Ale, que me recuerda de dónde vengo.

A Gaby de La Paz y su familia de Abys y Betos.

A mis amigos de la International Community: Raquel, Hugo Mantilla, Sergio Solari y Faisal.

A mis tíos Martín y Liz, por sus consejos, por darme ánimo, por su ejemplo amoroso.

A mi tía Rosa, que abrió las puertas de su casa y estuvo ahí para ayudarme.

A la tía más bonita, Bety, a la tía desde siempre, Estela.

A mi F. M. G. V. por su ejemplo, dónde quiera que esté tío, gracias.

A la gran familia, tíos, primos, abuelos presentes y a quienes ya eternamente descansan.

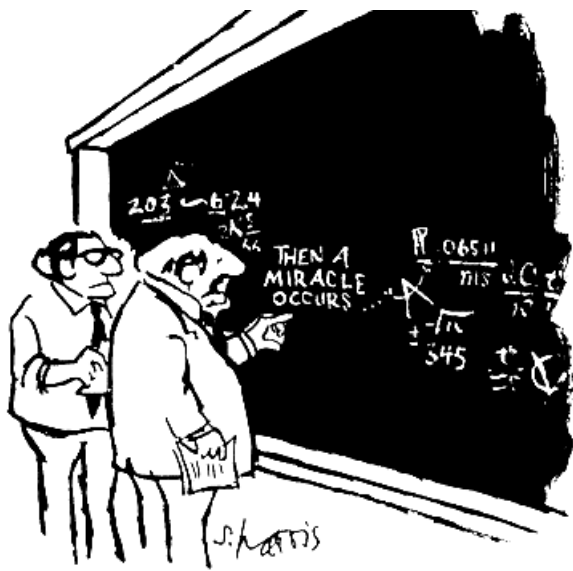
A Memo, Belinda, Ana y María, por introducirme a la investigación y al sistema.

A Angélica y su familia, por ayudarme a emprender el viaje.

A quienes ayudaron a llegar a este momento tan plenamente y que no están en esta lista pero están aquí, en mi memoria.

Al amigo que vive dentro de mí, que me permitió vivir sana para concluir este trabajo y ¡Los que faltan!

A quienes saben lo que para mí significan las estrellas...



"I THINK YOU SHOULD BE MORE EXPLICIT HERE IN STEP TWO."

ÍNDICE

Resumen.....	<i>i</i>
Abstract.....	<i>ii</i>
1. Introducción.....	1
2. Objetivos.....	11
3. Hipótesis.....	11
4. Genetic diversity and phylogeography of the only 12 extant species of the genus <i>Otodylomys</i> , the big-eared climbing rat <i>Otodylomys phyllotis</i> , in southern Mexico.....	12
5. Discusión.....	44
6. Bibliografía.....	52

Resumen

La filogeografía es el estudio de las genealogías de genes a través del tiempo. Su objetivo es la comprensión de la historia evolutiva y cómo los procesos ecológicos, genéticos y evolutivos influyeron en la distribución actual de los individuos y sus poblaciones. El sureste de México es una región conformada por biota Neártica y Neotropical; la fisiografía e historia geológica de esta región, aunado a los cambios climáticos globales, generaron diferentes patrones de distribución de flora y fauna. En particular, la península de Yucatán ha sido considerada una provincia biótica en la que existen regionalizaciones internas; una de éstas es la provincia biótica denominada Regiones Tropicales del Sur. La rata orejona *Otodylomys phyllotis* es la única especie dentro del género *Otodylomys*; se distribuye en Tabasco y Chiapas hasta Costa Rica, – incluyendo la península de Yucatán– y así la provincia RTS. En este trabajo analicé la estructura y diversidad genética de *O. phyllotis* a lo largo de la RTS, Tabasco y Honduras, utilizando 778 pb del citocromo b de 37 muestras frescas y ocho de museo para un total de 15 localidades. Se observaron valores altos de diversidad nucleotídica y haplotípica ($h = 0.956 \pm 0.018$ and $\pi = 0.018 \pm 0.003$). Demográficamente se encontró una señal de expansión poblacional (Índice F_s), así como una distribución bimodal (análisis mismatch), lo que indica subdivisión geográfica histórica de las poblaciones. Los diversos análisis realizados coincidieron en mostrar una estructuración significativa de las poblaciones: los análisis de SAMOVA, AMOVA, valores de distancia genética y divergencia, la red mínima de haplotipos y reconstrucciones filogenéticas (MP, MV y Bayesiano), mostraron la separación en cinco clados filogenéticos o grupos de haplotipos: Honduras, Chiapas, Tabasco, la punta de la península de Yucatán (Lázaro Cárdenas), y el resto de las localidades, así como subclados dentro de éste último (Loltún y Chichen Itzá). Así, es evidente una diferenciación genética dentro de la RTS: la distribución de *O. phyllotis* y la estructura y diversidad genética encontradas coinciden con la separación de la especie por barreras geográficas como la conjunción de las placas tectónicas y formación de ríos (e.g. Honduras, Chiapas, Tabasco) y diferencias ecológicas y climáticas (Loltún, Chichen Itzá, Mahahual). Los eventos de migración y dispersión de la biota, dada la conformación de la península y la RTS –en especial la formación del puente de Panamá y el Gran Intercambio Biótico– y los procesos geológicos y climáticos asociados, determinaron cambios demográficos y genéticos de las especies y que reflejan patrones filogeográficos particulares, como los encontrados en este estudio.

Palabras clave: citocromo b, estructura genética, diversidad genética, *Otodylomys phyllotis*, provincia biótica, Regiones Tropicales del Sur

Abstract

Phylogeography is the study of gene genealogies through time. Its aim is understanding both the evolutionary history and how ecological, genetic and historical processes have influenced the actual distributional range of individuals and populations. Southern of Mexico is a region formed by Neotropical and Nearctic biota; the physiography and geologic history of this region, together with global climatic changes, originated diverse distributional patterns of the biota. Particularly, the Yucatan peninsula has been considered as a biotic province with a particular regionalization; one of these provinces is the biotic province called Tropical Regions of the South (RTS). The big-eared climbing rat *Otodylomys phyllotis* is the only member of the *Otodylomys* genus; its distribution range goes from Tabasco and Chiapas to Costa Rica –including the Yucatan peninsula-, i.e. the RTS province. In this work I analyzed the genetic diversity and structure of *O. phyllotis* along the RTS, Tabasco and Honduras using 778 bp of cytochrome *b* from 37 fresh and eight samples from museum collections, encompassing a total of 15 localities. High values of nucleotide and haplotypic diversity ($h = 0.956 \pm 0.018$ and $\pi = 0.018 \pm 0.003$) were observed. Demographically, a population expansion signal was found (Fs index), as well as a bimodal distribution (mismatch analysis), indicating a historical geographic subdivision of populations. The diverse analyses done are in agreement with a significant structure of populations: SAMOVA and AMOVA analyses, divergence and genetic distance values, minimum spanning network and phylogenetic reconstructions (MP, ML, Bayesian), all showed a partition into five phylogenetic clades (or haplotype groups): Honduras, Chiapas, Tabasco, the northeast tip of Yucatan (Lázaro Cárdenas), and the remainder localities within subclades (Loltún y Chichen Itzá). A marked genetic differentiation is observed within the RTS: *O. phyllotis* distribution and genetic structure and diversity are consistent with a division resulting from geographic barriers, like the conjunction of tectonical plates and origination of rivers (i.e. Honduras, Chiapas, Tabasco), as well as ecological and climatic differences (i.e. Loltún, Chichen Itzá, Mahahual). The biota's migration and dispersion events, given the peninsula and RTS conformation –specially the Panama bridge consolidation and the Great American Biotic Interchange– and the associated ecological and climatic processes, influenced demographic and genetic changes on populations and species, resulting in particular phylogeographic patterns as those found in this study.

Keywords: cytochrome *b*, genetic structure, genetic diversity, *Otodylomys phyllotis*, biotic province, Tropical Regions of the South

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Filogeografía

El término “filogeografía” fue utilizado por vez primera en 1987 como una forma de integración de varias disciplinas dedicadas al estudio de la micro y macroevolución. La filogeografía tiene como finalidad establecer los patrones históricos de distribución de especies mediante la información genética obtenida por medio de marcadores moleculares. Actualmente esta subdisciplina (que se encuentra dentro de la biogeografía y la ecología molecular) es utilizada para estudiar el lugar de origen y dispersión de especies, su forma de especiación, el grado de estructuración poblacional a través de la genealogía de especies y su correlación con aspectos geográficos y/o ecológicos, así como la variación genética y el reconocimiento de aquellas especies o poblaciones con valor de conservación (Avice *et al.*, 1987; Avice, 2000; Vázquez-Domínguez, 2002).

Las poblaciones naturales tienen una geografía e historia compleja, lo cual está directamente relacionado con su estructura genética. Los niveles de diversidad genética dentro de las poblaciones y el grado en que están genéticamente estructuradas (diferenciadas) a lo largo de su distribución, está determinado por procesos históricos, ecológicos y evolutivos (Magurran y May, 1999; Matocq *et al.*, 2000). Tales procesos pueden ser estudiados por la filogeografía, que examina la distribución de los linajes de genes y su estructuración dentro de ésta distribución, permitiendo así describir los patrones geográficos de la variación genética ya sea de manera intraespecífica ó interespecífica, esta última también denominada filogeografía comparada (Avice, 2000; Arbogast y Kenagy, 2001).

Dentro de la filogeografía, la explicación de los patrones de distribución de especies y/o poblaciones se realiza con base en diversos procesos, relacionados con diversas disciplinas como la biogeografía (dispersión y vicarianza), la genética de poblaciones (selección natural, mutación, deriva génica, flujo génico y otros), filogenia y ecología (capacidad de dispersión, selección de hábitat, etc.). Por lo anterior, en un estudio filogeográfico es importante definir, en la medida de lo posible, el área de estudio considerando los posibles escenarios históricos y geográficos y las especies que ahí se distribuyen, conocer las características ecológicas de las especies de estudio y, finalmente, el marcador molecular más adecuado al tipo de información que se desea obtener (Avice, 2000).

1.2 Marcadores moleculares: ADN mitocondrial (citocromo b)

Los *marcadores moleculares* son herramientas que permiten, entre otras cosas, evaluar la ecología y filogenia a diferentes niveles taxonómicos. Existen propiedades que un sistema molecular debe tener para ser utilizado como marcador, tales como: ser distintivo y estar distribuido de tal forma que permita comparaciones de homología entre diferentes organismos, ser fácil de manejar, tener una estructura genética sencilla (ausencia de secuencias repetidas, transposones, pseudogenes, e intrones), ser heredado de una forma estricta (sin recombinación o alguna forma de rearrreglo), proveer estados de carácter cualitativos (útiles para análisis bajo un criterio parsimonioso y de microevolución) y, por último, que la adquisición de un nuevo estado de carácter se presente en la frecuencia adecuada para el tipo de estudio (Avise *et al.*, 1987; Avise, 1994).

Una de las moléculas que posee en su mayoría estas características y además ha sido ampliamente utilizada en estudios evolutivos es el genoma mitocondrial. El ADN mitocondrial (ADNmt) es una molécula de doble cadena circular, cerrada, con 15-20 kb de largo, de herencia materna y replicación unidireccional altamente asimétrica. Está integrado por genes que codifican para RNAr (2), RNAt (22) y RNAm (13), que son subunidades de proteínas importantes para el transporte de electrones durante la síntesis de ATP. En la mayoría de los organismos no contiene intrones, fragmentos repetitivos o pseudogenes, y las regiones intergénicas son muy pequeñas o se encuentran ausentes. Tiene secuencias iniciadoras para replicación y transcripción dentro de la denominada región control (que en vertebrados contiene la región D-loop). No es recombinante, posee una tasa de evolución rápida (1 a 10 veces mayor que el genoma nuclear) y alto polimorfismo intraespecífico. Interactúa con el genoma nuclear y para algunos grupos taxonómicos el contenido presenta diferentes arreglos y por lo tanto variación en tamaño (Avise *et al.*, 1987; Moritz *et al.*, 1987). Aunque el genoma mitocondrial presenta las particularidades de un buen marcador molecular, la existencia de heteroplasma, homoplasia, tasas de cambio distintas a lo largo de la molécula, variabilidad genética bajo efecto de selección (y/o neutralismo) y herencia estrictamente materna, representan limitantes que deben ser consideradas durante la interpretación de la información que ofrece (Avise *et al.*, 1987).

El tipo de sustitución de bases más frecuente del ADNmt de vertebrados son las transiciones seguidas por las transversiones, fenómeno apreciable en todas las posiciones del codón. Las sustituciones silenciosas pueden no ser neutrales y la tasa de evolución constante de algunos segmentos puede ser utilizada a manera de “reloj

molecular”, permitiendo así el cálculo del tiempo de divergencia a diferentes niveles taxonómicos (Avice, 2000).

Diferentes segmentos del ADNmt han sido utilizados para estudios biológicos, ecológicos y filogenéticos. Los mayormente requeridos para estudios intraespecíficos son el segmento del citocromo *b* y de la citocromo oxidasa III.

El citocromo *b* es la única proteína transcrita por el genoma mitocondrial. Pertenece al complejo III del sistema de fosforilación oxidativa de la mitocondria y presenta una molécula equivalente en el cloroplasto (Widger *et al.*, 1984). Los cambios en la composición de este gen han sido correlacionados con la función biológica de la proteína y el patrón evolutivo dirigido a la conservación de la energía metabólica para diferentes organismos. Funcionalmente, mutaciones de ésta han sido relacionadas con desórdenes metabólicos y neurodegenerativos. Estructuralmente, la secuencia (tanto de la proteína como del gen) ha sido utilizada para la identificación de especies y para conocer la variabilidad genética de las poblaciones.

La variabilidad genética y composición de bases dentro de la secuencia del citocromo *b* no resultan ni se distribuyen de manera azarosa. Existen grandes diferencias entre especies en la tercera posición del codón (altas tasas de sustituciones silenciosas), mientras la primera posición presenta muy pocos cambios. La tasa de transición-transversión es inconstante en cada sitio del codón. La base en la tercera posición del codón es en su mayoría guanina, en la segunda posición timina y en la primera posición hay selección diferencial entre adenina y citosina de acuerdo al grupo de estudio (Irwin *et al.*, 1991; Prusak y Grzybowski, 2004). Las regiones altamente conservadas se encuentra en las posiciones 30-40, 70-80, 120-150, 160-190 y 260-280, que corresponden a los centros de transferencia de electrones Q_0 y Q_i , además de cuatro histidinas, mientras que las más variables son dos, la que va de la posición 230-250 y la cercana a la terminal carboxilo de la proteína (Prusak y Grzybowski, 2004; Martin y Palumbi, 1993).

En mamíferos, la tasa de evolución de esta proteína no es lineal. La tasa de reemplazo de aminoácidos (y sustituciones no-sinónimas) es más alta que en otros grupos (aprox. 1.4 aminoácidos/millón de años) dada la acumulación de transversiones silenciosas. La fracción correspondiente a Q_i muestra niveles disímiles de variabilidad entre grupos pero para mamíferos es la más alta (Martin y Palumbi, 1993).

Las características anteriormente referidas han llevado a la utilización del ADNmt en estudios sobre genética, filogenia y filogeografía de una gran cantidad de taxa; de sus segmentos, el citocromo *b* ha demostrado ser adecuado para determinar el origen y los procesos que han influenciado la diferenciación genética y distribución actual de

las poblaciones de roedores en particular (Smith y Patton, 1991; Myers *et al.*, 1995; Conroy y Cook, 2000; Harris *et al.*, 2000; Salazar-Bravo *et al.*, 2001; D'Elia, 2003; Palma *et al.*, 2005).

1.3 Particularidades en la geografía e historia de América Central y sur de México

El sur de México y América Central se caracterizan biológicamente por presentar flora y fauna de dos regiones biogeográficas importantes: Neártica y Neotropical. Desde México hasta Nicaragua predominan taxa de origen en Laurasia (Neárticas), mientras que desde el sur de Centro América hasta Argentina dominan los taxa de origen en Gondwana (Neotropicales). Para las especies que se distribuyen en la zona que abarca el sur de México y América Central (incluyendo la especie de este estudio) existe diferenciación morfológica y genética a lo largo de cada conjunto montañoso (García-Moreno *et al.*, 2004).

Las regiones del sur de México y de América Central presentaron fluctuaciones climáticas y geológicas durante la historia de su formación, que comenzó durante el Cenozoico tardío. El enfriamiento climático durante el Pleistoceno o finales del Plioceno, además de cambios de clima seco a húmedo en diferentes épocas, afectaron también el sur de México. Además, previamente surgió una barrera geográfica, la Cordillera de América Central, que dividió los sistemas hídricos entre Atlántico y Pacífico (Strecker *et al.*, 2004).

Existen diversas teorías sobre los caminos geográficos que siguió la fauna luego de la apertura del puente de Panamá (Herskovitz, 1969). Las barreras geográficas que existen actualmente a lo largo de América Central tuvieron origen en diferentes momentos geológicos, lo cual se ha corroborado mediante estudios de especies de grupos distintos que comparten esta distribución. Las especies distribuidas en lados opuestos de la región (división entre Pacífico y Golfo) divergieron durante el Mioceno, ya sea por cambios climáticos o eventos vicariantes que ocurrieron al mismo tiempo que los del puente de Panamá (división norte-sur) y la Cordillera Talamanca en Costa Rica. El norte de México y la región del Océano Pacífico en la parte norte de América Central sirvieron como corredor previamente a la formación de las montañas que dividen las costas (Hasbún *et al.*, 2005).

Con la formación del puente de Panamá se dio lo que se conoce como el gran intercambio biótico americano (GABI, por sus siglas en inglés), que es notable por la alta diversificación de diversos grupos taxonómicos (e.g. mamíferos) documentada paralelo a dicho evento, ca. 2.5 ma. Sin embargo, existe controversia respecto a la

respuesta ecológica y el tipo de vegetación que persistió durante esta época (Plioceno y Pleistoceno). El último gran glacial (LGM por sus siglas en inglés) que comenzó hace 2.4 ma, causó modificaciones también en las zonas tropicales de América (fragmentación de selvas y cambio de ecosistemas), provocando así que algunas especies desaparecieran de América Central o persistieran solamente en refugios, de los que posteriormente se expandieron (Wüster *et al.*, 2005).

Respecto a la geografía actual, en el sureste de México se encuentran dos proyecciones septentrionales del sistema montañoso de América Central: el Macizo Central y la Sierra Madre de Chiapas. Mientras que en América Central (Istmo de Tehuantepec-Panamá) se presentan al norte el Núcleo Centroamericano (Chiapas, centro y sur de Guatemala, Honduras, el Salvador y norte de Nicaragua) y al sur la Sierra Talamanca (Costa Rica y Panamá). Entre ambos macizos se encuentran tierras bajas pertenecientes a la depresión nicaragüense (Figura 1-1) (Halfter, 2002).

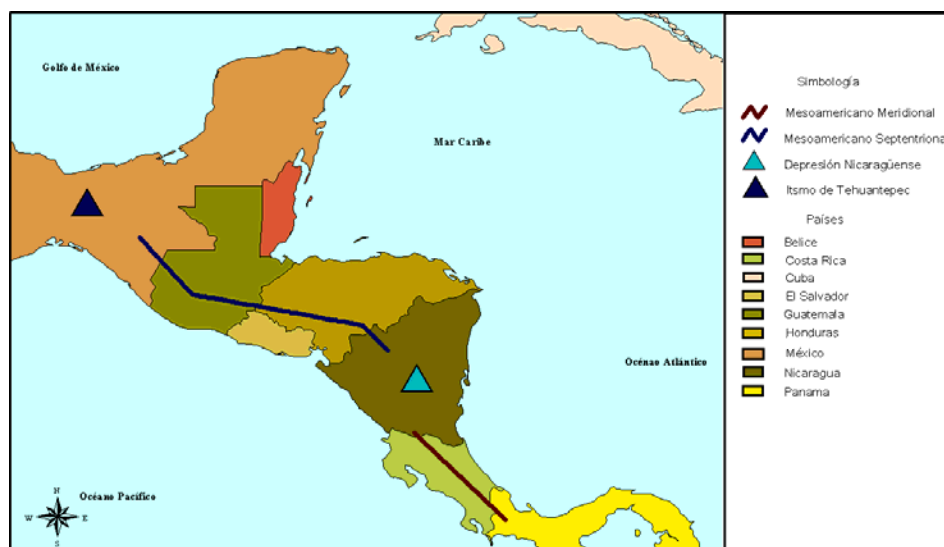
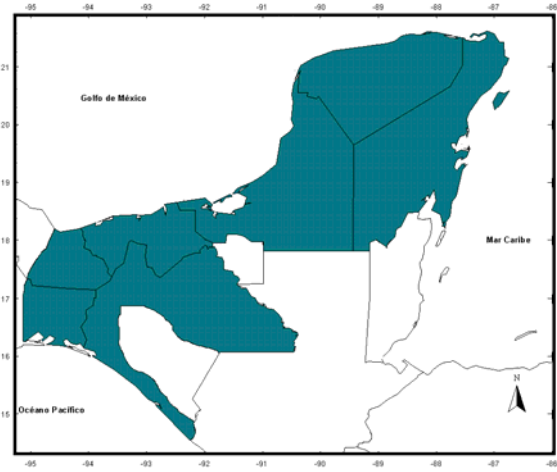


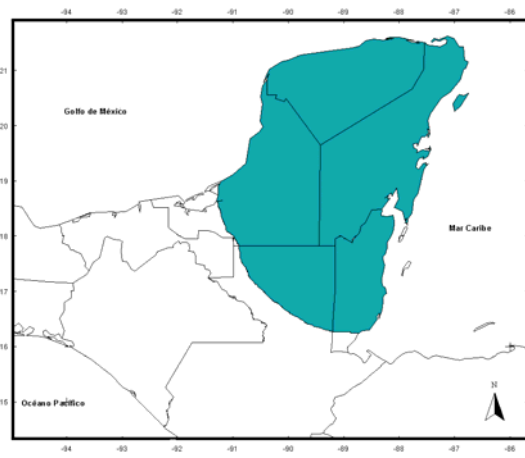
Figura 1-1. Fisiografía general de América Central: 1) Istmo de Tehuantepec, 2) Mesoamericano Septentrional, 3) Depresión Nicaragüense y 4) Mesoamericano Meridional.

La fauna de la península de Yucatán tiene afinidad con las zonas tropicales secas, pero su composición es particular, por lo que está considerada una *provincia biótica*. Ha adquirido diferentes configuraciones bióticas (Figura 2-1) mediante estudios florísticos, faunísticos, de geografía y paleontología. Una de estas configuraciones considera la península como parte de una provincia de nombre *regiones tropicales del sur* (Fa y Morales, 1993) en la cual se incluyen los estados de Yucatán, Campeche, Quintana Roo y parte de Tabasco, Chiapas, Oaxaca y Veracruz; otra, la configuración

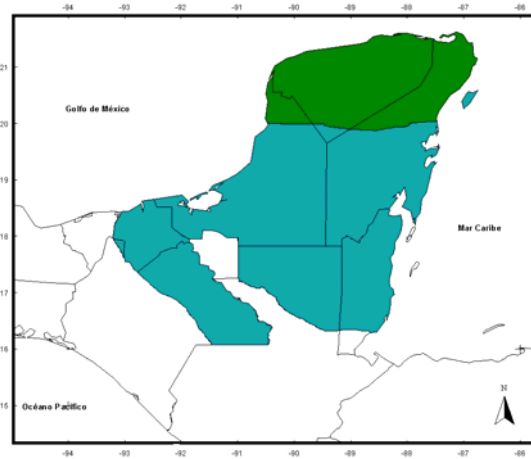
denominada *provincia morfotectónica de la plataforma de Yucatán* (Ferrusquía-Villafranca, 1993; Goldman y Moore, 1946), considera como unidad biogeográfica los estados de Campeche, Yucatán y Quintana Roo, incluyendo el norte de Guatemala y Belice; y una tercera configuración divide la península en dos provincias: *Yucateca* (punta de la península) y *Petén* (resto de la península, parte de Guatemala, Belice, Tabasco y Chiapas) (Smith, 1940). La distribución dentro de la península, tanto de especies como de endemismos, no es homogénea; ejemplo de ello es que un número menor de especies se distribuyen en la punta, fenómeno al cual se denomina *efecto península*. Dicha distribución está definida, entre otras cosas, por la capacidad de dispersión las especies, por los gradientes de temperatura y humedad, así como procesos (e.g. vicarianza) que pueden explicar el origen de la conformación de la fauna de la región y sus patrones de dispersión (Arita y Vázquez-Domínguez, 2003).



A



B



C

Figura 2-1. Configuraciones bióticas que se han propuesto para la península de Yucatán: A) Regiones Tropicales del Sur, B) Provincia morfotectónica de la plataforma de Yucatán y, C) Provincia Yucateca y Provincia Petén. Modificado de Arita y Vázquez-Domínguez (2003).

1.4 *Ototylomys phyllotis*

Dentro de la clase Mammalia, la familia Muridae es la más diversa e incluye a la subfamilia Sigmodontinae, que contiene 79 géneros de roedores (Musser y Carleton, 1993) y de la cual radiaron hace algunos millones de años las especies distribuidas hoy en día en América. Durante su existencia, la familia Muridae ha experimentado varios episodios de diferenciación rápida (radiaciones) que dieron origen a las subfamilias que actualmente encontramos; ejemplo de ello es que hace 12.6 ma, durante alguno de los episodios mencionados, la subfamilia Tylominae diverge de Sigmodontinae (Steppan *et al.*, 2004). Así, a partir de esta separación surge la tribu Tylomyini (Reeder y Bradley, 2004) o subfamilia Tylomyinae (Steppan *et al.*, 2004) que contiene los géneros *Otodylomys* y *Tylomys*, que están integrados por roedores arborícolas de cola escamosa.

Otodylomys phyllotis (Merriam 1901) (del griego: *Otus*=oreja, *tylos*=prominentes, *mus*=ratón; también llamada rata trepadora orejona), es actualmente la única especie viva perteneciente al género *Otodylomys*. Es de tamaño mediano (34-84 g), de cuerpo delgado y usualmente de dos colores, oscuro en la zona dorsal y claro en la zona ventral, aunque el tamaño y color son variables a lo largo de su distribución. Tiene cola larga, brillante, sin pelo, de color oscuro o ligeramente bicolor y está cubierta con escamas largas. Tiene ojos grandes y alargados, las orejas grandes color café pálido, desnudas y con un parche de pelaje blanco en la base. De pelaje suave, abundante en contraste con sus orejas y cola desnudas. No presenta dimorfismo sexual. Su distribución (Figura 3-1) abarca desde el sur de Tabasco, el norte de Chiapas, Guerrero y la península de Yucatán en México, hasta el centro de Costa Rica, desde el nivel del mar hasta 1900 m (Reid, 1997; Lawlor, 1982). Los ecosistemas en que se encuentra van desde bosque tropical húmedo, selvas secas deciduas y bosque nublado, hasta vegetación secundaria (Cuarón, 2000) y cafetales (Cruz-Lara *et al.*, 2004).

Es considerado nocturno, y aunque su actividad es mayor durante las primeras horas de la noche (entre las 18 y 23 hrs), presenta cambio de madriguera durante el día. Es considerado arborícola, sin embargo, también es posible encontrarlo entre las zonas bajas de enredaderas, ramales y rocas. Su preferencia a árboles, rocas o ramas, varía de acuerdo con el tipo de hábitat; por ejemplo, en bosque tropical seco se le encuentra entre 1 y 3.5 m. Se alimenta de frutos y hojas ya sea en los árboles o mediante forrajeo en el suelo. Su ámbito hogareño es mayor a los 5,000 m² y presenta poco traslape de éste entre días (Sáenz, 1999). Esta especie construye sus madrigueras entre rocas, debajo de troncos o en troncos caídos, raíces de árboles y arbustos, huecos en el suelo y cuevas. La biología reproductiva de *Otodylomys* corresponde a una de las más primitivas y mejor adaptadas al medio (Helm III, 1975).

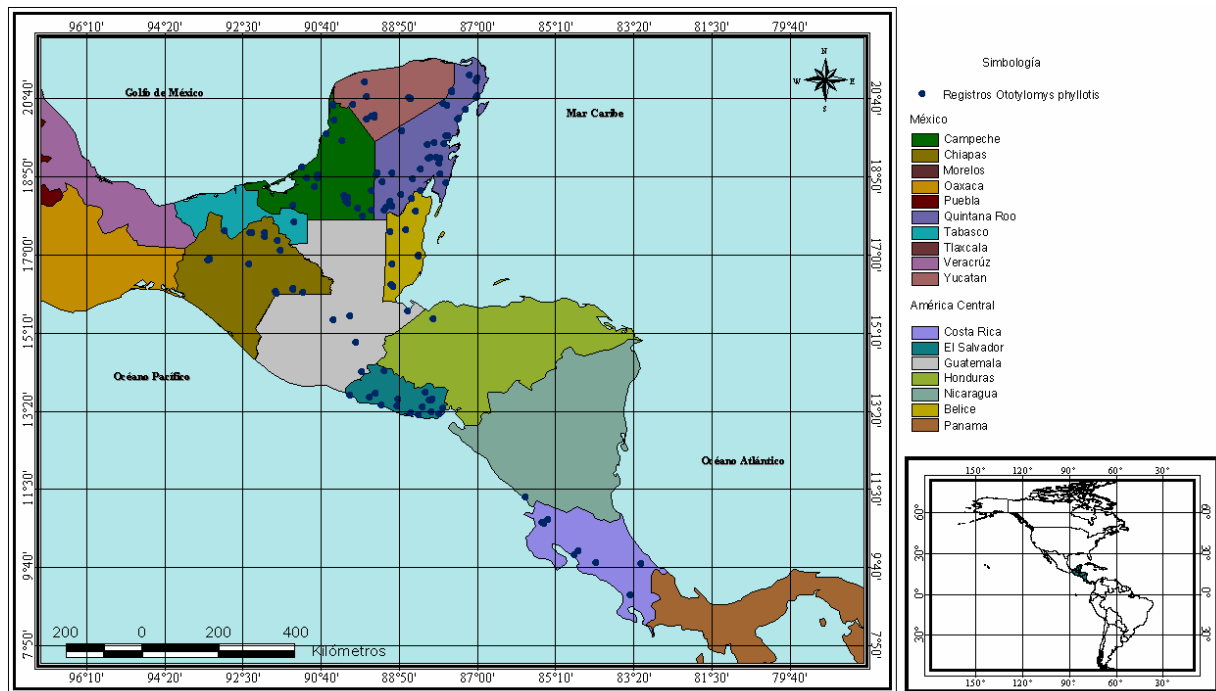


Figura 3-1. Distribución de *Ototylomys phyllotis*. Se muestran los sitios de ocurrencia documentados en colecciones científicas.

Dada la gran diferenciación morfológica e incluso cromosómica que presenta a lo largo de su distribución en diferentes hábitat y etapas de su desarrollo, la sistemática del género *Ototylomys* es variada y ha incluido diferentes especies y/o subespecies (e.g. *O. brevisrostris*, *O. connectens*, *O. affinis*, *O. fumeus* y *O. guatemalae*). En la revisión más reciente del género se distingue la especie *O. phyllotis* y tres subespecies: *O. p. australis* (parte sur de la distribución, hasta Costa Rica), *O. p. connectens* (parte norte de la distribución, incluyendo la península de Yucatán, Belice, Guatemala y límites en Tabasco, Guerrero y Chiapas) y *O. p. phyllotis* (en la región central, incluyendo Nicaragua, Honduras y El Salvador) (Lawlor, 1969; 1982).

El género *Ototylomys* ha sido utilizado en estudios sobre filogenia y divergencia de roedores, sin embargo la información respecto a su ecología y genética es muy limitada. La información molecular disponible sobre la especie incluye genes nucleares y mitocondriales, que han sido utilizados para estudio de filogenias de otros géneros (Myers *et al.* 1995; Edwards y Bradley, 2002; Stepan *et al.*, 2004; Reeder y Bradley: 2004; Jansa *et al.*, 2006).

2. OBJETIVOS

1. Determinar la diversidad genética y estructura dentro y entre las poblaciones de *O. phyllotis* en el sureste de México utilizando como marcador molecular el citocromo b.
2. Elucidar la distribución filogeográfica de la diversidad genética de la especie dentro de la provincia Regiones Tropicales del Sur.
3. Proponer los posibles eventos de diversificación de la especie, de acuerdo con los resultados obtenidos y con la historia geológica de la región de estudio.

3. HIPÓTESIS

Dado que los eventos geológicos y de formación de la península de Yucatán y Centro determinaron los procesos evolutivos (e.g. vicarianza, dispersión y aislamiento por distancia) en la distribución de la biota, entonces las poblaciones del género *O. phyllotis* en el sureste de México se encuentran genéticamente estructuradas.

Submitted to: *Genetica* - Original Paper

**Genetic diversity and phylogeography of the only extant species of
the genus *Otodylomys*, the big-eared climbing rat *Otodylomys
phyllois*, in southern Mexico**

Tania A. Gutiérrez-García and Ella Vázquez-Domínguez*

Departamento de Ecología de la Biodiversidad, Instituto de Ecología, Universidad Nacional
Autónoma de México, Apartado Postal 70-275, Ciudad Universitaria, México DF, 04510, México.

*e-mail: evazquez@ecologia.unam.mx

Correspondence:

Ella Vázquez-Domínguez
Instituto de Ecología
Universidad Nacional Autónoma de México
Apartado Postal 70-275, Ciudad Universitaria
México DF, 04510, México
Tel (52 55) 5622 9015 Fax (52 55) 5616 1976
Email: evazquez@ecologia.unam.mx

Introduction

The complexity of the biological history and geographical patterns of distribution of natural populations is directly associated with their genetic structure. Levels of genetic diversity within populations and the degree in which they are genetically differentiated (structured) along their distributions, is determined by historical, ecological and evolutionary processes (Mactoq et al. 2000; Hey and Machado 2003). Such processes can be studied through phylogeography, which evaluates both the distribution and the structuring of gene lineages, in order to describe the geographical patterns of genetic variation at the intraspecific level as well as of codistributed species (Avice 2000).

The use of molecular markers has made it possible to perform studies about population genetics and phylogeography at different scales, from local to regional, and in which extremely fine genetic diversity levels can be detected, previously unconceivable with morphological characters or proteins (Elmer et al. 2007). The gamut of possible questions analysed with molecular genetics has been immense: to study the genetic variability and describe phylogenetic relationships of populations and species, inferring their possible origin (Crozier 1997; Loxterman et al. 1998; Vázquez-Domínguez et al. 2001), to reconstruct their evolutionary, demographic and phylogeographic history (Emerson et al. 2001; Vázquez-Domínguez 2002; Zhen et al. 2003), and to establish populations and species with high conservation priority (Rissler et al. 2006; Byrne 2007), to mention a few.

Southern Mexico is an ideal area for the study of structuring patterns and genetic differentiation, mainly due to its intricate geological and biogeographical history. The gradual emergence of the Yucatan peninsula facilitated the migration and colonization of species of flora and fauna originating from both the north and south of the continent, which occurred during the Great American Biotic Interchange (GABI), with the formation of the Panamanian land bridge that led to the final closure of the Central American Seaway approximately 4-3 million years ago

(ma) (Coates and Obando 1996; Iturralde-Vinent and MacPhee 1999). Consequently, the peninsular biota is not homogeneously distributed and includes many endemic or morphologically distinctive species (Orellana et al. 2003; Strecker et al. 2004). As such, this region is considered a specific biotic province, with diverse designations depending on the characteristics used to define it, one of which is the province called Tropical Regions of the South (TRS), defined on the basis of the distribution of mammals. The TRS province is characterized as a geomorphological unit with similar climatic and edaphic patterns and a specific structure of vegetation types. This biotic province encompasses all the lowlands in southern Mexico, including the complete Yucatan, Campeche and Quintana Roo states, together with parts of Tabasco, Chiapas, Oaxaca and Veracruz states (Fa and Morales 1993). Much of the distribution of the fauna and flora of the TRS was also determined by the geological, climatic and historical processes that took place in the region (Fa and Morales 1993; Arita and Vázquez-Domínguez 2003).

Within the Class Mammalia, the Muridae is the most diverse family with 16 to 20 subfamilies. The Muridae has experienced several events of rapid differentiation (radiations), from which the extant subfamilies originated; an example is the Sigmodontinae with 79 genera of rodents. The species distributed in America today radiated from the Sigmodontinae a few million years ago (Musser and Carleton 1993). Some authors separate the Neotominae and Tylomyinae from the Sigmodontinae (Steppan et al. 2004); from the Neotominae diversified the tribe Tylomyini that includes the genera *Otodylomys* and *Tylomys* (Reeder and Bradley 2004). Despite the fact that the genus *Otodylomys* has been included in studies about the phylogeny and divergence of different rodent genera (Edwards and Bradley 2002; Reeder and Bradley 2004; Steppan et al. 2004), data about its ecology and genetics is rather limited, and no studies exist regarding its genetic diversity and structure, let alone about its phylogeography. The big-eared climbing rat *Otodylomys phyllotis*, Merriam 1901, is the only extant member of the genus *Otodylomys*. Its distribution ranges from the Isthmus of Tehuantepec, Mexico in the north, including the states of Tabasco, Chiapas, Guerrero and the Yucatan peninsula, i.e. the TRS

province, to central Costa Rica in the south; found mainly in tropical wet forest, from sea level to 1900 m.

Southern Mexico, with its intricate geological and biogeographical history as well as specific biological and climatic characteristics that define this region as a biotic province, is a remarkable system for the study of genetic structuring patterns. Accordingly, our aim was to study the relationship between genetic diversity, genetic structure and phylogeographic patterns of *O. phyllotis*, particularly: 1) to estimate the genetic diversity and structure within and between populations of *O. phyllotis* in southern Mexico, using mitochondrial DNA (cytochrome *b*), 2) to elucidate the phylogeographic patterns of the species along the RTS province and 3) to propose the possible diversification events associated with the present distribution of the species, in accordance with the genetic results and the geological history of the study area.

Materials and methods

Sampling and DNA extraction

Ototylomys phyllotis was live-trapped as part of an ongoing study on the ecology, phylogeography and conservation of the vertebrate fauna of southern Mexico (Mejía-Puente 2006; Zambrano et al. 2006; Vega et al. 2007; Vázquez-Domínguez et al. in press; Vázquez-Domínguez et al. unpublished data). We sampled a total of 37 individuals of *O. phyllotis* during different field trips between 2003 and 2004 (Fig. 1); tissue samples for molecular analyses were ethically obtained, with the corresponding collecting permits, and stored in labelled Eppendorf tubes with ethanol 97% until use (Table 1). We also included in the study six samples from museum collections (see Table 1). We isolated whole genomic DNA from fresh and museum samples using the AquaPure Genomic DNA kit (Biorad Laboratories) following the

manufacturer's protocol, quantified DNA by spectrophotometry, and confirmed and visualised its integrity with UV light in 1% agarose gels stained with 0.5 mg/ml ethidium bromide.

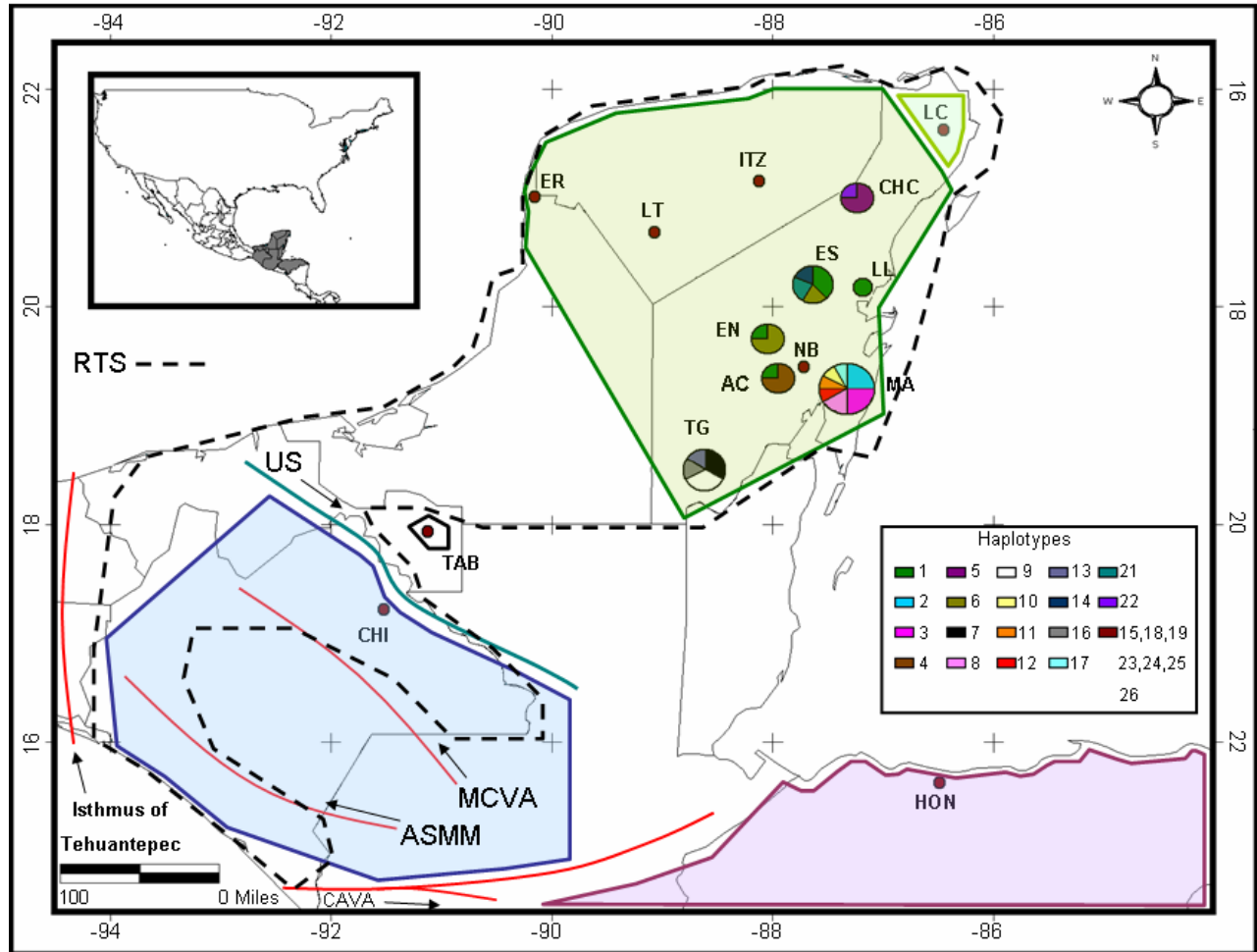


Fig. 1 Sampling localities studied in southern Mexico and Honduras for *O. phyllotis*. Names of localities are shown by their code (see Table 1 for full names). Haplotypes (inlet) are indicated by their code number and colour, and haplotype frequencies are next to each locality. The dashed line follows the limits of the biotic province Tropical Regions of the South (RTS), solid lines show some volcanic complexes (MCVA, ASMM, CAVA; see discussion) and the Usumacinta river (US) and Isthmus of Tehuantepec. Enclosed, shaded areas refer to the five genetic population groups found with SAMOVA (see material and methods and results).

Amplification and sequencing

We amplified a fragment of the mitochondrial cytochrome *b* (cyt *b*) region using eight primers specifically designed for *O. phyllotis* (Table 2). PCR reactions were performed in a 25 μ l reaction mixture containing 50-100 ng template DNA, 0.2 μ l of *Taq* DNA polymerase (Invitrogen), 2.5 μ l of each primer (10 μ M), 2.5 μ l of dNTP mix (2 mM), 1 μ l MgCl₂ (50 mM) and 2.5 μ l 10 x reaction PCR buffer (200 mM Tris-HCl pH 8.4, 500 mM KCl). Amplifications were performed on a PTC-100 Programmable Thermal Controller (MJ Research, Inc.) as follows: 90 s at 92°C, followed by 39 cycles of 15 s at 92°C, 60 s at annealing temperature of 50 °C and 70 s at 72°C. PCR-products were purified using the QIAquick PCR purification KIT (QUIAGEN Inc.) and purified samples were sequenced with a 3730xl DNA analyzer (Macrogen).

Data Analysis

We individually aligned and edited by eye the DNA sequences using the Bioedit sequence alignment editor. We included three *O. phyllotis* sequences from GenBank (accession numbers: AY009789, AY009788 and DQ179841) from Quintana Roo and Campeche, in Mexico, and one from Honduras. We tested sequences for neutrality using Fu and Li's (1993) *D*- and *F*-tests of neutrality; also, in order to measure genetic diversity, we estimated the number of segregating sites (*S*), and values of haplotype (*h*) and nucleotide diversity (π) using the DNASP v. 4.10.3 software (Rozas et al. 2003). To evaluate levels of differentiation, we estimated the net nucleotide divergence (*Da*) (Nei 1978), as well as the genetic distances (p-uncorrected) between populations, using DNASP and MEGA v. 4.0 (Tamura et al. 2007), respectively.

Table 1 Location (State/Country and geographic coordinates in decimals) of samples of *O.**phyllois*. IE = Instituto de Ecología (UNAM); ECOSUR = El Colegio de la Frontera Sur;IBUNAM = Instituto de Biología (UNAM); ^aGenBank accession number; ^bVoucher number;

un = unknown year

State/ Country	Collection	Kind of sample	Year	Sample ID	Locality (abbreviation)	Geographic location	
Quintana	IE	Fresh	2004	12	Ejido Señor (ES)	19.768883	-88.103314
Roo	IE	Fresh	2004	14	Ejido Señor	19.768883	-88.103314
	IE	Fresh	2004	20	Ejido Señor	19.768883	-88.103314
	IE	Fresh	2004	26	Ejido Señor	19.768883	-88.103314
	IE	Fresh	2004	67	Ejido Señor	19.768883	-88.103314
	IE	Fresh	2004	68	Ejido Naranja (EN)	19.352900	-88.465340
	IE	Fresh	2004	69	Ejido Naranja	19.352900	-88.465340
	IE	Fresh	2004	75	Ejido Naranja	19.352900	-88.465340
	IE	Fresh	2004	91	Ejido Naranja	19.352900	-88.465340
	IE	Fresh	2003	RSK04	Los Lirios (LL)	19.784722	-87.720556
	IE	Fresh	2003	RSK06	Los Lirios	19.784722	-87.720556
	IE	Fresh	2003	Otpyu3	Tres Garantías (TG)	18.266667	-89.043889
	IE	Fresh	2003	Otpyu4	Tres Garantías	18.266667	-89.043889
	IE	Fresh	2003	Otpyu55	Tres Garantías	18.266111	-89.049444
	IE	Fresh	2003	Otpyu56	Tres Garantías	18.266111	-89.049444
	IE	Fresh	2003	Otpyu57	Tres Garantías	18.266111	-89.049444
	IE	Fresh	2003	Otpyu58	Tres Garantías	18.266111	-89.049444
	IE	Fresh	2003	Otpyu9	Chemax Cobá (CHC)	20.551389	-87.805000
	IE	Fresh	2003	Otpyu10	Chemax Cobá	20.551389	-87.805000
	IE	Fresh	2003	Otpyu12	Chemax Cobá	20.551389	-87.805000
	IE	Fresh	2003	Otpyu15	Chemax Cobá	20.551389	-87.805000
	IE	Fresh	2003	Otpyu21	Mahahual (MA)	18.908056	-87.864722
	IE	Fresh	2003	Otpyu22	Mahahual	18.908056	-87.864722
	IE	Fresh	2003	Otpyu23	Mahahual	18.908056	-87.864722
	IE	Fresh	2003	Otpyu27	Mahahual	18.908056	-87.864722
	IE	Fresh	2003	Otpyu26	Mahahual	18.908056	-87.864722
	IE	Fresh	2003	Otpyu28	Mahahual	18.908056	-87.864722
	IE	Fresh	2003	Otpyu29	Mahahual	18.908056	-87.864722
	IE	Fresh	2003	Otpyu31	Mahahual	18.908056	-87.864722
	IE	Fresh	2003	Otpyu32	Mahahual	18.908056	-87.864722
	IE	Fresh	2003	Otpyu33	Mahahual	18.908056	-87.864722
	IE	Fresh	2003	Otpyu34	Mahahual	18.908056	-87.864722
	IE	Fresh	2003	Otpyu36	Mahahual	18.908056	-87.864722
	IE	Fresh	2003	Otpyu39	Ávila Camacho (AC)	19.022222	-88.337500
	IE	Fresh	2003	Otpyu42	Ávila Camacho	19.022222	-88.337500
	IE	Fresh	2003	Otpyu50	Ávila Camacho	19.022222	-88.337500
	IE	Fresh	2003	Otpyu54	Ávila Camacho	19.022222	-88.337500
	ECOSUR	Museum	1996	510	Lázaro Cárdenas (LC)	21.081944	-87.015833
	GenBank		un	^a AY009788	Noh bec (NB)	19.083333	-88.183333
Yucatán	IBUNAM	Museum	1982	^b 18967	Lol Tun (LT)	20.238889	-89.418333
	IBUNAM	Museum	1989	^b 30784	Chichen Itzá (ITZ)	20.680278	-88.554722
Campeche	GenBank		un	^a AY009789	El Remate (ER)	20.546944	-90.384167
Tabasco	IBUNAM	Museum	1984	^b 33076	Acalán (TAB)	17.766111	-91.281944
Chiapas	ECOSUR	Museum	1996	^b 476	Ocosingo (CHI)	17.113333	-91.622222
Honduras	GenBank		2001	^a DK179814	Atlantida Honduras (HON)	15.675428	-87.062314

Table 2 Oligonucleotide primers used to amplify and sequence the cytochrome *b* gene in *O. phyllotis* (designed by T.A.G.G.).

Name	Sequence
OTY1	5'-CAC ATT CGA AAA AAT CAC CCC CT-3'
OTY2	5'-TAG ATT CCT CGG CCT ACG TGA AGG-3'
OTY3	5'-GCT ACC TCC ACG CCA ATG GAG C-3'
OTY4	5'-GGT GGA CTA GGA CAA GGG CTG TA-3'
OTY5	5'-CTG TGT AGA CAA AGC GAC CTT-3'
OTY6	5'-GTG TTK AGT GGA TTT GCA GGA GTA-3'
OTY7	5'-CAG ATA TTC TCG GRG ACC CGG A-3'
OTY8	5'-GCT RAT TGA AGC TAG TTG ACC GAT-3'

For phylogeographic analyses we used different methods, including phylogenetic tree reconstructions: (1) Maximum Parsimony (MP) was done based on a heuristic search with 100 random additions and implementing tree bisection-reconnection (TBR) branch-swapping. Bootstrap values were based on 1,000 replicates and a 50% majority-rule consensus tree was estimated; (2) Maximum Likelihood (ML), with parameters based on the best-fit model of evolution estimated with the Akaike information criterion (AIC) as implemented in MODELTEST v. 3.7 (Posada and Crandall 1998) and with 500 bootstrap replicates; MP and ML were done with PAUP v. 4.0b10 (Swofford 2003); and (3) Bayesian analysis, conducted with MrBayes v 3.0 (Huelsenbeck and Ronquist 2001) with four simultaneous Monte Carlo Markov Chains ran for 1,000,000 generations, sampling every 200 generations. A total of 1,750 trees were discarded as 'burnin' and clade support was assessed using posterior clade probabilities.

We evaluated the phylogeographic relationships among haplotypes by constructing a minimum spanning network using the program TCS v. 2.1 (Clement et al. 2000), which follows

the statistical parsimony algorithm described in Templeton et al. (1995) and links the haplotypes by the smallest number of mutational steps with a 95% confidence. To analyse population genetic structure, we used the spatial analysis of molecular variance implemented in the SAMOVA software (Dupanloup et al. 2002), which defines groups of local populations that are geographically homogenous and maximally differentiated from each other. The method is based on a simulated annealing procedure that aims to maximize the proportion of total genetic variance due to differences between groups of populations, measured by Φ_{CT} coefficient of the AMOVA Φ -statistics (Excoffier et al. 1992), and finds a structure based solely on genetic data and the geographical location of populations (geographical distance). This approach requires the a priori definition of the number (K) of groups, for which we ran SAMOVA successively on our data set with different K , ranging from 2 to 10, with 100 simulated annealing processes in each run. The identification of the most probable number of groups was based on the pattern of changes in values of Φ -statistics parameters with K . We also examined the spatial distribution of genetic variation using analysis of molecular variance (AMOVA; Excoffier et al. 1992), which characterises patterns of genetic variation at different hierarchical levels and does not incorporate geographical information; significance levels was set at $\alpha = 0.05$ and 10,000 random permutations as implemented in ARLEQUIN v. 3.0 (Schneider et al. 2000). Two approaches were considered: (a) the genetic differentiation among the complete set of sequences according to their geographical location (Φ_{ST}), and (b) hierarchically by considering the groups recovered with SAMOVA, in which genetic structuring among groups (Φ_{CT}), among populations within groups (Φ_{SC}) and within populations (Φ_{ST}), were calculated based on Φ -Statistics, which take into account the molecular distance between haplotypes (number of pairwise differences).

In order to explore the demographic history of the recently sampled populations (our 37 fresh samples; Table 1), we performed Fu's F_s test of neutrality (Fu 1997). Significant negative values suggest a signature of population expansion (Ray et al. 2003). Additionally, we explored a mismatch distribution of the number of pairwise differences (Rogers and Harpending 1992;

Harpending 1994) to test for demographic signatures of population expansion by comparing the observed distribution with that expected under the assumption of an expansion model. The goodness-of-fit of the observed data to a simulated model of expansion was tested with the sum-of-squared deviations (Ssd) and Harpending's raggedness index (R) (Harpending 1994). Fu's index and mismatch analyses were performed as implemented in ARLEQUIN, and significance levels were based on 10,000 simulations.

Results

Genetic diversity and phylogenetic analyses

We sequenced 778 base pairs of Cyt *b* of our 42 fresh and museum samples from 15 localities; 106 bp were variable (polymorphic) sites and 44 were parsimony informative. No significant deviations from neutrality were recorded when only fresh samples were analysed ($D = -0.267$, $P > 0.10$; $F = -0.612$, $P > 0.10$); when all samples were considered, significant deviations were observed ($D = -2.686$, $P < 0.05$; $F = -2.956$, $P < 0.05$). We identified a total of 26 haplotypes (including the three sequences from GenBank). Highest number of haplotypes was found in three localities, ES (4) and MA and TG (7) (Table 3). Unique haplotypes were deposited in GenBank: accession numbers XX-XX. Haplotype (h) and nucleotide diversity (π) estimates were high ($h = 0.956 \pm 0.018$ and $\pi = 0.018 \pm 0.003$), with highest ($h = 0.900$; $\pi = 0.007$) and lowest values ($h = 0.0$; $\pi = 0.0$) in ES and LL, respectively (Table 3). The General Time Reversible model of DNA substitution was selected as the most appropriate for our data: base frequencies A = 0.2881, C = 0.2882, G = 0.1311, T = 0.2926; proportion of invariant sites I = 0.7247; gamma distribution with equal rates for all sites. Substitution rates were: A-C = 1.0000, A-G = 9.2457, A-T = 0.5525, C-G = 0.5525, C-T = 5.2282 and G-T = 1.0000.

Table 3 Locality (see table 1 for complete name), sample size (N), number of haplotypes and of segregating sites (S), haplotype diversity (h) and nucleotide diversity (π) for *O. phyllotis* from 15 localities studied.

Locality	N	# of haplotypes	Haplotype code	S	h (\pm s.d.)	π (\pm s.d.)
ES	5	4	1, 6, 14, 21	11	0.900 (0.161)	0.007 (0.001)
EN	4	2	1, 6	7	0.500 (0.265)	0.004 (0.002)
LL	2	1	1	0	0	0
TG	6	4	7, 9, 13, 16	14	0.867 (0.129)	0.009 (0.002)
CHC	4	2	5, 22	10	0.500 (0.265)	0.006 (0.003)
MA	12	7	2, 3, 8, 10, 11 12, 17	6	0.894 (0.063)	0.002 (0.000)
AC	4	2	1, 4	7	0.500 (0.265)	0.004 (0.002)
LAZ	1	1	22	0	0	0
NB	1	1	18	0	0	0
LT	1	1	23	0	0	0
ITZ	1	1	15	0	0	0
ER	1	1	19	0	0	0
TAB	1	1	20	0	0	0
CHI	1	1	25	0	0	0
HON	1	1	26	0	0	0
Total	45	26		134	0.956 (0.018)	0.018 (0.004)

All phylogenetic reconstruction methods (MP, MV, Bayesian) recovered the same topology with only minor topological differences within lineages. Maximum parsimony analysis resulted in 17 trees equally parsimonious (L: 193; CI: 0.751; RI: 0.767). The following results are described based on the topology recovered with the Bayesian analysis (Fig. 2): one major phylogenetic clade grouped most haplotypes, which itself contained some subclades formed by both unique (LT, ITZ, NB, ER) and shared haplotypes, together with other four clades corresponding to unique haplotypes from HON, CHI, TAB and LC. Moreover, the 95% parsimony minimum-spanning network approach that is considered to reflect intraspecific phylogenetic relationships better than phylogenetic trees (Clement et al. 2000), also showed a subdivision of haplotypes where TAB, LC, LT, NB and ER separate with a high number of mutational steps from the major phylogenetic clade. Haplotypes in the major clade were also joined in the network, revealing relationships among haplotypes in more detail (Fig. 3): samples from MA, ER and NB, together with the majority of samples from TG (3 haplotypes) and AC (3) formed one group of connected clades (Fig. 3). A second clade grouped haplotypes from five localities CHC (2), AC (1), ES (3), EN (2) and LL (1), including the haplotype with highest frequency (haplotype 1; Table 3), as well as another two clades with the remaining haplotypes from some of those localities: TG (1), ES (2) and EN (1) formed one group, and ES (1) and ITZ (1) the other. Not surprisingly, haplotypes from HON and CHI were not connected in the 95% parsimony network, unless the connection limit was fixed at > 40 mutational steps, given the extremely high divergence shown between these haplotypes (Fig. 2 and results below).

Population structure and phylogeography

Regarding divergence of populations, values of net nucleotide divergence (D_a) were highest (7.2-9.2%) between the sample from HON with all the other localities (Table 4), followed by CHI (6.2-8.5%) and LT and LC (2.3-4.0%), while the lowest values were among MA, ES, EN, LL,

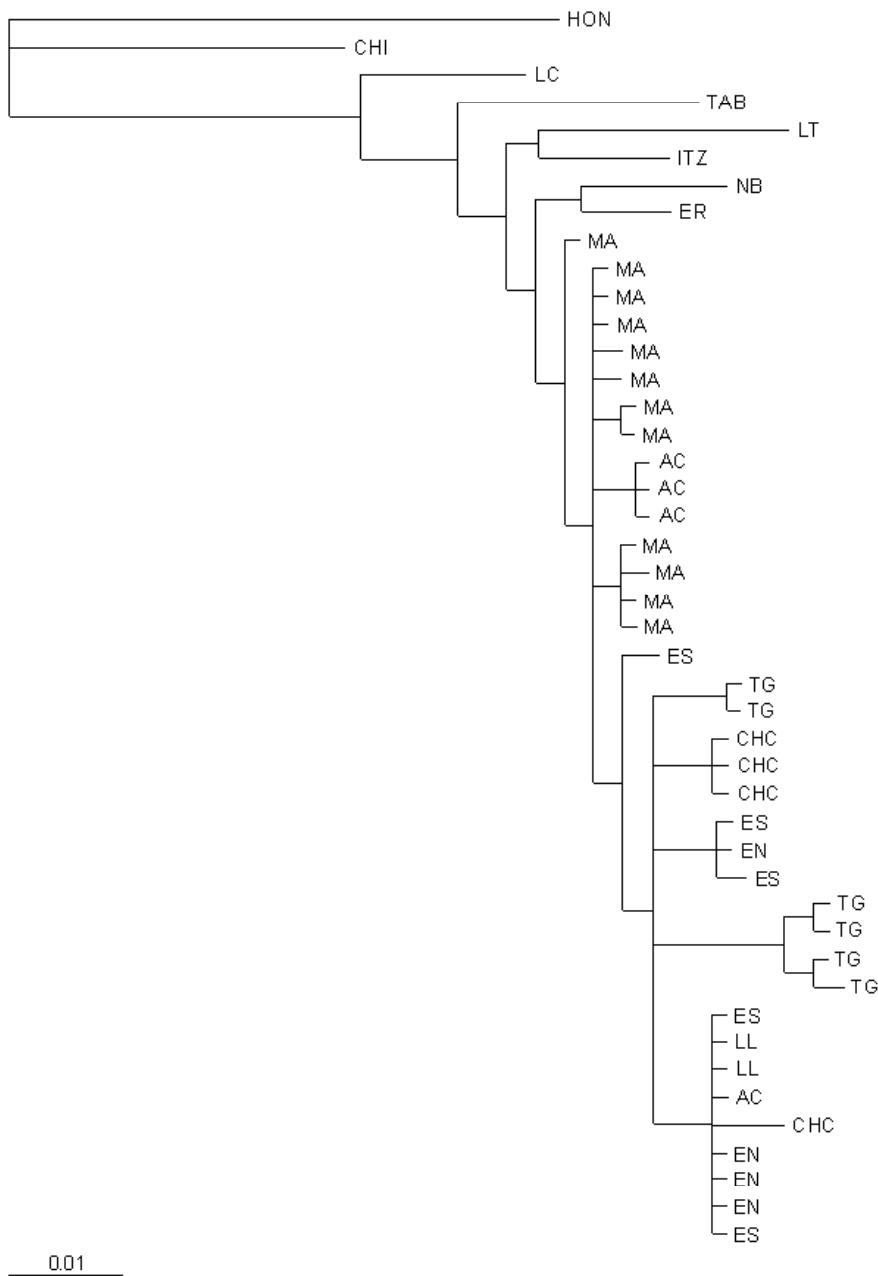


Fig. 2 Phylogenetic tree resulting from the Maximum Likelihood phylogenetic analysis. Bootstrap values and posterior probabilities are indicated above branches (MP/ML/Bayesian; only support > 50% is shown).

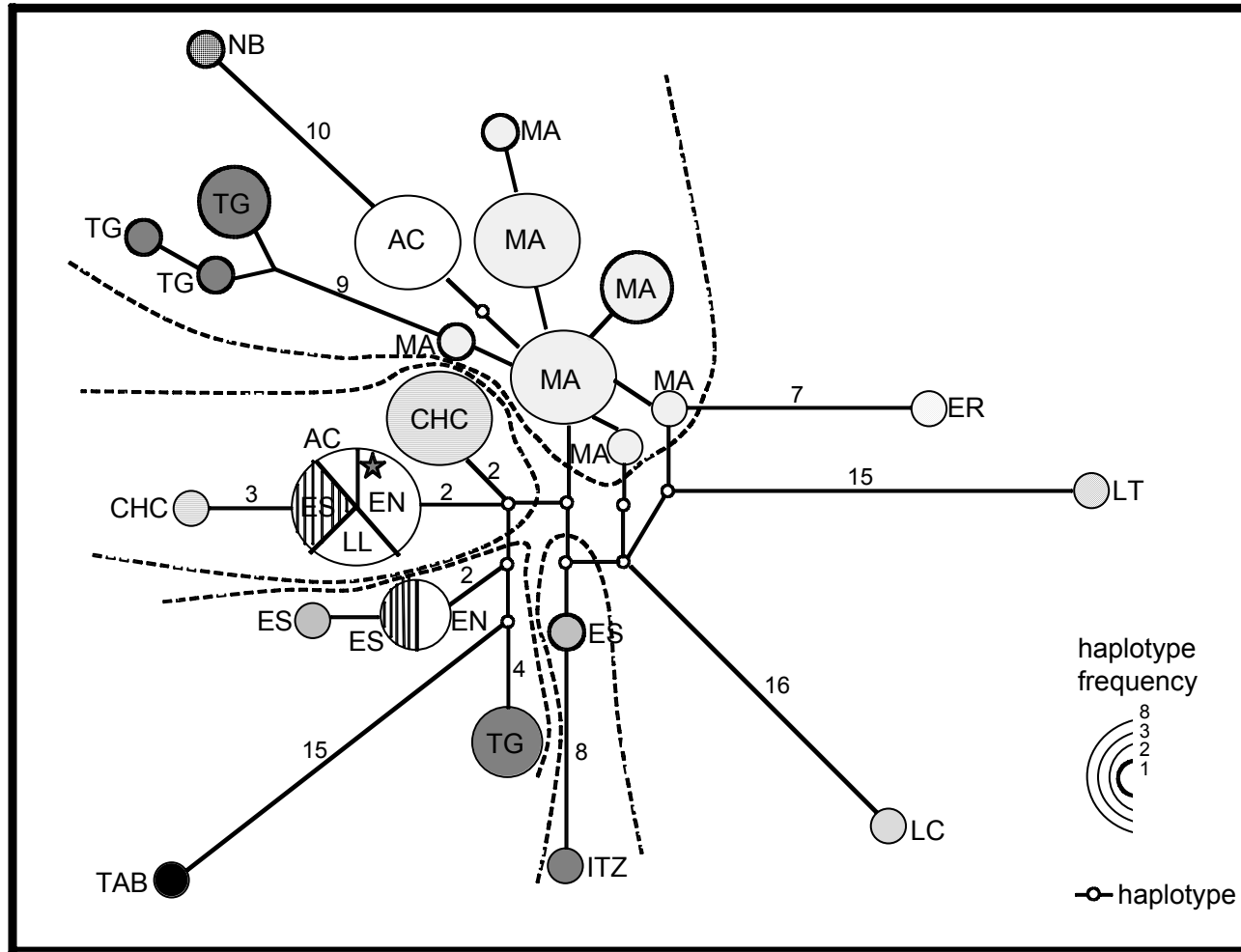


Fig. 3 Minimum spanning network for haplotypes from the sampling localities for *O. phyllotis* (Chiapas and Honduras are not shown because > 40 missing haplotypes were needed to connect them to the network). Names of localities are shown by their code (see Table 1 for full names) and numbers along lines are missing haplotypes. Circles are proportional to haplotype frequency, the star identifies the most frequent haplotype and dashed lines indicate groups of closer connected haplotypes.

Table 4 Net nucleotide divergence ($D_a \pm SD$; above diagonal) and p-uncorrected distance (below diagonal) between samples of *O. phyllotis*

from 15 localities studied (see Table 1 for complete name of localities).

	LC	CHC	ITZ	LL	ES	EN	NB	MA	AC	TG	LT	ER	TAB	CHI	HON
LC	-	0.023 ±0.011	0.034 ±0.000	0.027 ±0.013	0.024 ±0.011	0.025 ±0.012	0.038 ±0.000	0.026 ±0.007	0.026 ±0.01	0.028 ±0.012	0.040 ±0.000	0.032 ±0.000	0.039 ±0.000	0.062 ±0.000	0.087 ±0.000
CHC	0.023 ±0.005	-	0.017 ±0.009	0.003 ±0.003	0.002 ±0.003	0.002 ±0.003	0.021 ±0.010	0.004 ±0.002	0.004 ±0.003	0.007 ±0.004	0.025 ±0.012	0.016 ±0.008	0.025 ±0.012	0.068 ±0.030	0.079 ±0.035
ITZ	0.033 ±0.006	0.017 ±0.004	-	0.019 ±0.009	0.015 ±0.007	0.017 ±0.008	0.027 ±0.000	0.015 ±0.004	0.016 ±0.008	0.018 ±0.08	0.030 ±0.000	0.030 ±0.000	0.031 ±0.000	0.072 ±0.000	0.079 ±0.000
LL	0.027 ±0.006	0.004 ±0.002	0.019 ±0.005	-	0.001 ±0.003	0.0 ±0.000	0.023 ±0.011	0.006 ±0.001	0.004 ±0.004	0.009 ±0.005	0.028 ±0.014	0.018 ±0.009	0.027 ±0.013	0.065 ±0.032	0.075 ±0.037
ES	0.024 ±0.005	0.002 ±0.001	0.015 ±0.004	0.002 ±0.001	-	0.0 ±0.000	0.020 ±0.009	0.003 ±0.001	0.002 ±0.003	0.005 ±0.003	0.023 ±0.011	0.014 ±0.007	0.023 ±0.010	0.062 ±0.026	0.075 ±0.031
EN	0.025 ±0.005	0.002 ±0.001	0.017 ±0.004	0.0 ±0.000	-	0.000 ±0.000	0.021 ±0.010	0.004 ±0.001	0.003 ±0.003	0.006 ±0.004	0.026 ±0.012	0.016 ±0.008	0.024 ±0.011	0.063 ±0.028	0.074 ±0.033
NB	0.037 ±0.006	0.021 ±0.005	0.027 ±0.006	0.023 ±0.005	0.020 ±0.005	0.021 ±0.005	-	0.016 ±0.004	0.014 ±0.007	0.025 ±0.011	0.036 ±0.000	0.018 ±0.000	0.038 ±0.000	0.078 ±0.000	0.078 ±0.000
MA	0.026 ±0.005	0.005 ±0.002	0.015 ±0.004	0.007 ±0.003	0.003 ±0.002	0.005 ±0.002	0.017 ±0.005	-	0.001 ±0.001	0.008 ±0.002	0.024 ±0.007	0.011 ±0.003	0.026 ±0.007	0.069 ±0.019	0.079 ±0.022
AC	0.004 ±0.005	0.004 ±0.002	0.016 ±0.004	0.004 ±0.002	0.002 ±0.001	0.003 ±0.001	0.014 ±0.004	0.001 ±0.001	-	0.008 ±0.004	0.025 ±0.012	0.013 ±0.006	0.026 ±0.012	0.066 ±0.029	0.076 ±0.034
TG	0.028 ±0.005	0.007 ±0.002	0.018 ±0.004	0.009 ±0.003	0.006 ±0.002	0.007 ±0.002	0.025 ±0.005	0.008 ±0.003	0.008 ±0.002	-	0.035 ±0.013	0.024 ±0.009	0.030 ±0.011	0.068 ±0.025	0.081 ±0.030
LT	0.040 ±0.006	0.025 ±0.005	0.030 ±0.006	0.028 ±0.006	0.023 ±0.005	0.026 ±0.005	0.036 ±0.007	0.024 ±0.005	0.025 ±0.005	0.030 ±0.006	-	0.031 ±0.000	0.042 ±0.000	0.085 ±0.000	0.087 ±0.000
ER	0.032 ±0.006	0.016 ±0.004	0.022 ±0.005	0.018 ±0.005	0.015 ±0.004	0.016 ±0.004	0.018 ±0.005	0.011 ±0.003	0.013 ±0.004	0.020 ±0.004	0.031 ±0.006	-	0.014 ±0.007	0.072 ±0.000	0.081 ±0.000
TAB	0.039 ±0.007	0.025 ±0.005	0.031 ±0.006	0.027 ±0.006	0.023 ±0.005	0.024 ±0.005	0.037 ±0.007	0.026 ±0.006	0.026 ±0.006	0.026 ±0.005	0.041 ±0.007	0.030 ±0.006	-	0.078 ±0.000	0.092 ±0.000
CHI	0.060 ±0.009	0.065 ±0.009	0.069 ±0.009	0.063 ±0.009	0.060 ±0.008	0.060 ±0.008	0.075 ±0.010	0.067 ±0.009	0.064 ±0.009	0.061 ±0.008	0.081 ±0.010	0.069 ±0.009	0.075 ±0.009	-	0.072 ±0.000
HON	0.082 ±0.010	0.075 ±0.009	0.076 ±0.010	0.072 ±0.010	0.071 ±0.009	0.071 ±0.009	0.075 ±0.010	0.075 ±0.010	0.073 ±0.009	0.073 ±0.009	0.082 ±0.010	0.077 ±0.010	0.087 ±0.010	0.069 ±0.009	-

CHC, TG and AC (0-0.9%), all from peninsular localities (see Fig. 1; Table 4). Genetic distances showed the same pattern, with highest values between HON and CHI and the rest (0.060-0.087) and the lowest within the peninsular group of localities (0-0.026) (Table 4).

The results of the spatial analysis of molecular variance (SAMOVA) indicated significant population genetic structure for each assumed number of groups, from 4 to 10 ($P < 0.01-0.0001$). The highest increase in Φ_{CT} value started at $K = 3$, whereas all parameters of Φ -statistics stabilized beginning from $K = 5$ (sensu Pilot et al. 2006), thus five was considered as the most probable number of groups. Some haplotype groups were not geographically homogenous, as some single localities were placed within the area of other groups (Fig. 1). The general pattern observed with the phylogenetic and network analyses is also found with SAMOVA: HON, CHI, TAB, LC and Yucatan peninsula formed separate groups.

AMOVA analyses indicated that genetic variability was significantly distributed among populations (24%), when considering the total sample ($\Phi_{ST} = 0.244$, $P < 0.001$). When the hierarchical analysis was based on the five groups inferred by the SAMOVA analysis, results indicated significant genetic structuring at the three levels: among groups ($\Phi_{CT} = 0.761$, $P = 0.001$), among populations within groups ($\Phi_{SC} = 0.603$, $P < 0.001$) and within populations ($\Phi_{ST} = 0.905$, $P < 0.001$). Variation within populations accounted for 74% of the total genetic variation, while among populations within groups was 24%.

Demography

Demographic analyses showed evidence of range expansion in the Quintana Roo localities; F_u 's test of neutrality was significant, albeit marginally ($F_s = -4.331$, $P = 0.056$). Accordingly, the pairwise mismatch distribution showed significant population expansion with both the sum of square deviations and the raggedness index ($Ssd = 0.018$, $P = 0.300$ and $R = 0.029$, $P = 0.324$), as well as a bimodal

distribution (Fig. 4). This bimodal pattern is expected when populations are geographically subdivided.

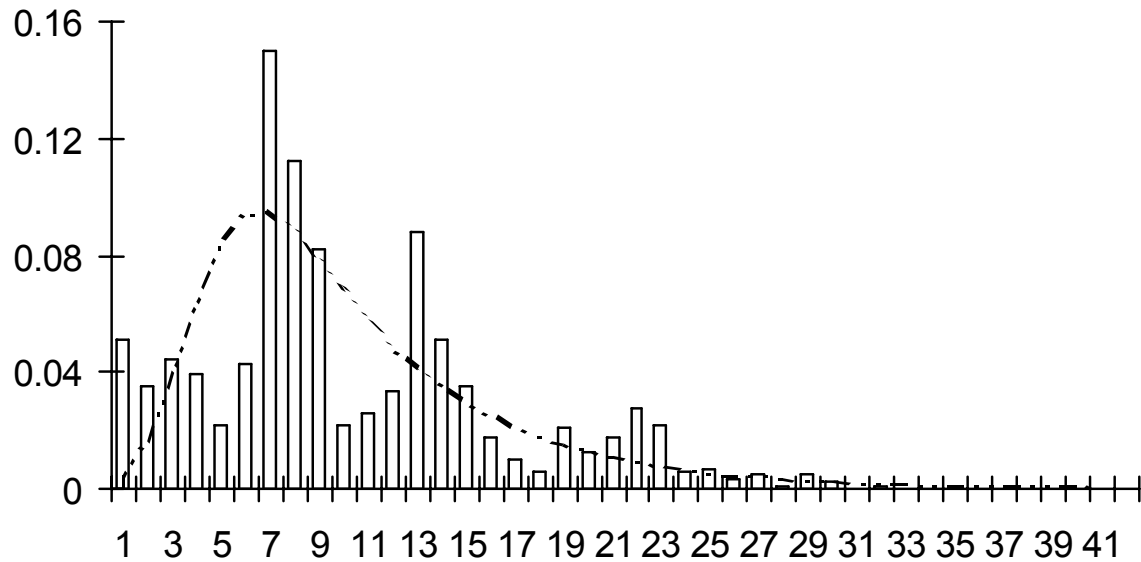


Fig. 4 Mismatch distribution of *O. phyllotis* from the localities within the Yucatan peninsula.

Discussion

Phylogeography can identify significant historical processes that have had major influences on the biota and provides a historical context to understand current species distributions (Avice 2000). Accordingly, patterns of genetic variation among *O. phyllotis* populations within the TRS biotic province and northern Central America, suggest an evolutionary history that has been shaped primarily by the geological history of the region.

The present geographic barriers along Central America had their origin through several geological events, among which stands out the formation of the Panamanian land bridge (Isthmus of Panama), indicative of the end of an extended geologic history that involved the formation of the Central

American Volcanic Arc. The closure of the isthmus (3.1-2.8 ma) resulted in a large-scale dispersal of terrestrial faunal elements, beginning approximately 2.5 ma, a phenomenon known as the Great American Biotic Interchange (GABI; Marshall et al. 1982; Webb and Rancy 1996; Wüster et al. 2005); this was followed by an extraordinary diversification, particularly striking in mammals. On the other hand, during the early Pliocene, a separation occurred between Mexico (because of the formation of the Isthmus of Tehuantepec), El Salvador and Honduras (after their connection with Guatemala) and south of Nicaragua and Costa Rica. Based on the above processes, it has been suggested that a corridor allowed the dispersion of the biota during the Pliocene-Pleistocene, previously to the extreme Pleistocene climatic changes that caused fragmentation and expansion of species (Novick et al. 2003, Hasbún et al. 2005).

These geological patterns and the history of diversification of the Neotominae have served as the basis for the hypothesis that *Ototylomys* diverged and migrated from the south (South America) toward the north (Mexico) (Lawlor 1982; Stepan et al. 2004), and our results support it: the phylogenetic analyses performed showed that the haplotypes from the south (Honduras, Chiapas and Tabasco) are basal in the phylogenetic tree and separated from those from the peninsula; also, markedly high genetic distance and divergence values were observed between Honduras, Chiapas and Tabasco, and between them and the rest of localities. In addition, much more recent divergence events are also suggested for the lineages from the peninsula. The minimum haplotype network and the groups found with SAMOVA agree in distinguishing these populations as genetically different groups.

Two volcanic complexes exist in Chiapas: the Modern Chiapas Volcanic Arc (MCVA), inland and along the northeast of the state, that was formed 9 to 3 ma as a result of the movement of the Cocos plate, and the Miocene Sierra Madre Arc (MSMA), parallel to the coast (Damon and Montesinos 1978). After several geological events that culminated in the formation of the Central American Volcanic Arc (CAVA) in Guatemala, and the Tuxtla Volcanic Front (TVF) in Chiapas (Manea and Manea 2005, García-Palomo et al. 2006), southern Mexico and north Central America acquired a

rather distinctive geomorphology, with different volcanic and mountain barriers delimiting different regions within and between Guatemala, Honduras, Chiapas, Tabasco and the Yucatan peninsula (Fig. 1). The distribution of *O. phyllotis* is limited to the north by the MCVA, from where it could have later colonized the Chiapas highlands. The Usumacinta river is also a barrier separating Tabasco and Chiapas (Fig. 1); our results show a genetic divergence between these localities of 7.8%, significantly high in comparison with the divergence found within the populations from the Yucatan peninsula (0-2.5%). These results are in agreement with Lawlor (1969), who documented morphological differences (e.g. ventral coloration and maximum size of teeth) in *O. phyllotis* individuals located between south-western Campeche and east of Chiapas. Also, Vázquez-Domínguez et al. (in press), in a study with the rodent *Oryzomys couesi* in the Yucatan peninsula and using the same mitochondrial gene, report a significant divergence between Chiapas and Campeche populations, and even genetic differentiation within Chiapas itself, directly associated with its mountain formations (MCVA and MSMA). In the present case, when we included the Chiapas sample in the network analysis (data not shown), 46 mutational steps were needed to connect this haplotype with the network.

Biotic province Tropical Regions of the South

The biotic radiation in southern Mexico has been associated with a 'paleogeographic factor', considering the timing of the emergence of the Yucatan peninsula that coincided with the configuration of active volcanoes and mountain chains in the north of Chiapas, and the formation of the Isthmus of Tehuantepec; and also with an 'ecological factor', determined by climatic changes that caused variation of vegetation types (Espinosa-Medinilla et al. 2006). Accordingly, the peninsula has two geomorphological subregions from different geological epochs: the north has levelled surfaces from the Quaternary (ca. 5.3-4.5 ma) and the south, significantly older than the north, has tectonic uplifts from the Miocene (23-5 ma) (Arita and Vázquez-Domínguez 2003; Bautista-Zúñiga et al. 2003). At

present, the highest elevation in the peninsula is the Sierrita Ticul (Duch 1991), and marked vegetation differences are found between the north and centre-south (Rzedowski 1978, Navarro and Robinson 1990).

Our genetic differentiation and structuring results, as well as the phylogenetic reconstructions, all agree in distinguishing the haplotypes from the peninsula as a group or clade highly divergent from the rest of the localities studied, which suggest, among other things and considering that no geographic barriers exist among them, that there is some genetic flow. However, there is also genetic structuring within this group, particularly between the populations located along the south-western region (MA, TG, NB, AC; see Fig. 1), and those more to the north and northeast (ITZ, CHC and LT), and these in turn differentiated from the localities at the northern extreme of the peninsula (ER and LC), a pattern that could be associated with the geomorphological and climatic differences between the north and south of the peninsula. For instance, in a study with jaguars Eizirik et al. (2001) found significant genetic differences when they compared populations in the north in contrast to the rest of populations in the peninsula. Another distinct locality is LT, which is located nearby a geological fault at the base of Sierrita Ticul, the only elevation in the peninsula, and which has been identified as a barrier for diverse taxa. Interestingly, considering the recently sampled populations, MA, TG and CHC all had unique haplotypes (i.e. not shared with any other population), which would suggest that they are comparatively older and have lost ancestral haplotypes, in contrast with ES, EN, LL and AC all of which had the most common haplotype (i.e. they conserve an ancestral haplotype; Clement et al. 2000). Such patterns are further supported by the signal of significant population expansion and that populations are geographically subdivided showed by the demographic results.

Hence, the genetic differences observed and the genetic structuring between populations in the north of the peninsula, and between the two groups within the populations in Quintana Roo, are in agreement with the biotic and abiotic differences (e.g. vegetation types, climate, water availability; Orellana et al. 2003; Strecker et al. 2004) and the paleogeographical and ecological factors that have been identified for this region (Hughen et al. 1996).

Chiapas is included within the limits of the biotic province TRS (Fa and Morales 1993), alongside the Usumacinta river that separates Chiapas from the Yucatan peninsula; Tabasco, however, is not completely included, specifically the locality analysed here (see Fig. 1). Such configuration agrees to some extent with the genetic differences observed in the present study, in particular with the genetic divergence between Tabasco and the rest of the peninsula; however, the genetic evidence found shows that Chiapas is differentiated not only from Tabasco, but also from the rest of the peninsula. A different configuration that has been suggested is that from Ferrusquía-Villafranca (1993) based on geological and physiographic features, in which Tabasco and Chiapas are not included within the province, agreeing more with the results of the genetic groups found (Chiapas, Tabasco and the peninsula); it also includes the north of Guatemala and Belize, thus it will be interesting to include samples from these localities.

Phylogenetic considerations

In the last systematic revision done by Lawlor (1982), *Ototylomys* is divided in three subspecies based on morphological data and some cariotipic variation. In the present phylogeographic study we included individuals from two of them: *O. p. phyllotis* (Yucatan peninsula and Honduras) and *O. p. connectens* (Chiapas and Tabasco). Despite the continued controversy about the definition of 'species', it is known that a genetic divergence of *cyt b* in mammals about 5% is commonly associated with the recognition of different species (Baker and Bradley 2006). The samples from the peninsula and Honduras (same subspecies according to Lawlor) showed a divergence of approximately 8%, similar to that observed between Tabasco and Chiapas (7.8%), also considered as one same subspecies. This genetic data seemingly are in contrast with the *Ototylomys* morphological definition of subspecies, for which a systematic study that includes molecular analyses, with nuclear and mitochondrial genes, is needed to discern if the genetic divergence values found in this study reveal different evolutionary units and, consequently, differentiation at the species level.

Acknowledgments

We thank enormously Gerardo Rodríguez, Rodrigo Vega, Fabricio Villalobos, Angélica Hernández, Cintia Martínez and Andrés Lira for their help in the field work. Revisions and discussions with Daniel Piñero, Enrique Martínez-Meyer, Héctor Arita and David Valenzuela enriched the manuscript. We are deeply grateful to Fernando Cervantes from the Colección Nacional de Mamíferos del Instituto de Biología, UNAM and Eduardo Espinosa and Consuelo Lorenzo from Colección de Mamíferos de El Colegio de la Frontera Sur, San Cristóbal de las Casas, Chiapas, for kindly providing tissue samples. We also deeply thank Jorge Salazar-Bravo for his hospitality and great help for the work that TAGG did at his laboratory. This research received financial support from the Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (grants IN215205-2 and IX238004) to EVD and graduate scholarships from Conacyt (203129) to TAGG. Scientific collector permit to EVD: Semarnat-FAUT-0168.

References

- Arita HT, Vázquez-Domínguez E (2003) Fauna y la conformación de la provincia biótica yucateca: biogeografía y macroecología. In: Colunga-GarcíaMarín P, Larqué-Saavedra A (eds) Naturaleza y sociedad en el área maya. Academia Mexicana de Ciencias-CICY, México, pp 69-80
- Avice JC (2000) Phylogeography. The history and formation of species. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts
- Baker RJ, Bradley RD (2006) Speciation in mammals and the genetic species concept. *J Mamm* 87:643-662

- Bautista-Zúñiga F, Batllori-Sampedro E, Ortíz-Pérez MA, Palacio-Aponte G, Castillo González M (2003) Geoformas, agua y suelo en la península de Yucatán. In: Colunga-GarcíaMarín P, Larqué-Saavedra A (eds) Naturaleza y sociedad en el área maya. Academia Mexicana de Ciencias-CICY, México, pp 21-35
- Byrne M (2007) Phylogeography provides an evolutionary context for the conservation of a diverse and ancient flora. *Australian J Bot* 55:316-325
- Clement M, Posada D, Crandall KA (2000) TCS: a computer program to estimate gene genealogies. *Mol Ecol* 9:1657-1659
- Coates AG, Obando JA (1996) The geologic evolution of the Central American Isthmus. In: Jackson JBC, Budd AF, Coates AG (eds) Evolution and environment in tropical America. University of Chicago Press, Chicago, pp 21-56
- Crozier RH (1997) Preserving the information content of species: genetic diversity, phylogeny and conservation worth. *Ann Rev Ecol Syst* 28:243-268
- Damon P, Montesinos E (1978) Late Cenozoic volcanism and metallogenesis over an active Benioff Zone in Chiapas, Mexico. *Arizona Geol Soc Digest* 11:155-168
- Duch J (1991) Fisiografía del Estado de Yucatán, su relación con la agricultura. Universidad Autónoma de Chapingo, México
- Dupanloup I, Schneider S, Excoffier L (2002) A simulated annealing approach to define the genetic structure of populations. *Mol Ecol* 11:2571-2581
- Edwards CW, Bradley RD (2002) Molecular systematics of genus *Neotoma*. *Mol Phylog Evol* 25:489-500
- Elmer KR, Dávila JA, Loughheed SC (2007) Applying new inter-individual approaches to assess fine-scale population genetic diversity in a neotropical frog, *Eleutherodactylus ockendeni*. *Heredity* 99:506-515
- Emerson BC, Paradis E, Thébaud C (2001) Revealing the demographic histories of species using DNA sequences. *Trends Ecol Evol* 16:707-716

- Eizirik E, Kim J, Menotti-Raymond M, Crawshaw PG, O'Brien SJ, Johnson WE (2001) Phylogeography, population history and conservation genetics of jaguars (*Panthera onca*, Mammalia, Felidae). *Mol Ecol* 10:65-79
- Espinosa-Medinilla E, Sánchez I, Bautista MG, Monterrubio CL (2006) Análisis de la distribución de roedores de la familia Muridae en el sur de México. In: Vázquez-Domínguez E, Hafner DJ (eds) *Genética y mamíferos mexicanos: Presente y futuro*. *New Mexico Mus Nat Hist Sci Bull* 32, pp 47-54
- Excoffier L, Smouse PE, Quattro JM (1992) Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics* 131:479-491
- Fa J, Morales LM (1993) Diversity patterns of mammals from Mexico. In: Ramammorthy TP, Bye R, Lot A, Fa J (comps) *Biological diversity of Mexico: Origins and distribution*. Oxford University Press, New York, pp. 315-352
- Ferrusquía-Villafranca I (1993) Geology of Mexico: A synopsis. In: Ramammorthy TP, Bye R, Lot A, Fa J (comps) *Biological diversity of Mexico: Origins and distribution*. Oxford University Press, New York, pp 3-108
- Fu YX (1997) Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics* 147:915-925
- Fu YX, Li WH (1993) Statistical tests of neutrality mutations. *Genetics* 133:693-709
- García-Palomo A, Macías JL, Arce JL, Mora JC, Hughes S, Saucedo R, Espíndola JM, Escobar R, Layer P (2006) Geological evolution of the Tacaná Volcanic Complex, México-Guatemala. *Geol Soc Am, Special Paper* 412
- Harpending H (1994) Signature of ancient population growth in a low-resolution mitochondrial DNA mismatch distribution. *Hum Biol* 66:591-600

- Hasbún CR, Gómez A, Khöler GG, Lunt DH (2005) Mitochondrial DNA phylogeography of the Mesoamerican spiny-tailed lizards (*Ctenosaura quinquecarinata* complex): historical biogeography, species status and conservation. *Mol Ecol* 14:3095-3107
- Hey J, Machado CA (2003) The study of structured populations -new hope for a difficult and divided science. *Genetics* 4:535-543
- Huelsenbeck JP, Ronquist F (2001) MrBayes: Bayesian inference of phylogenetic trees. *Bioinformatics* 17:754-755
- Hughen KA, Overpeck JT, Peterson LC, Trumbore S (1996) Rapid climate changes in the tropical Atlantic region during the last deglaciation. *Nature* 7:51-54
- Iturralde-Vinent MA, MacPhee RDE (1999) Paleogeography of the Caribbean region: Implications for Cenozoic biogeography. *Bull Am Mus Nat Hist* 238:1-95
- Lawlor TE (1969) A systematic study of the rodent genus *Ototylomys*. *J Mamm* 50:28-42
- Lawlor TE (1982) *Ototylomys phyllotis*. *Mamm Species* 181:1-3
- Loxterman JL, Mocrief ND, Dueser RD, et al. (1998) Dispersal abilities and genetic population structure of insular and mainland *Oryzomys palustris* and *Peromyscus leucopus*. *J Mamm* 79:66-77
- Manea VC, Manea M (2005) The origin of the modern Chiapanecan volcanic arc in southern Mexico inferred from thermal models. In: *Volcanic Hazards in Central America*. The Geological Society of America, Special Paper 412, pp 27-38
- Marshall LG, Webb SD, Sepkoski JJ, Raup DM (1982) Mammalian evolution and the Great American Interchange. *Science* 215:1351-1357
- Matocq MD, Patton JL, Da Silva MN (2000) Population genetic structure of two ecologically distinct Amazonian spiny rats: separating history and current ecology. *Evolution* 54:1423-1432
- Mejía-Puente A (2007) Diversidad genética de *Oryzomys couesi* en la península de Yucatán, México. Tesis Licenciatura, Universidad de Guadalajara, México

- Musser GG, Carleton MD (1993) Family Muridae. In: Wilson DE, Reeder MD (eds) Mammal species of the world: a taxonomic and geographic reference. Smithsonian Institution Press, Washington, pp 501-755
- Navarro DL, Robinson GJ (1990) Diversidad biológica en la Reserva de la Biosfera de Sian Ka'an, Quintana Roo, México. Centro de Investigaciones de Quintana Roo, Universidad de Florida
- Nei M (1978) Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89:583-590
- Novick RR, Dick ChW, Lemes MR, Navarro C, Caccone S, Bermingham E (2003) Genetic structure of Mesoamerican population of big-leaf mahogany (*Swietenia macrophylla*) inferred from microsatellite analysis. *Mol Ecol* 12:2885-2893
- Orellana R, Islebe G, Espadas C (2003) Flora y vegetación de la península de Yucatán. In: Colunga-GarcíaMarín, Larqué-Saavedra A (eds) Naturaleza y sociedad en el área maya: Pasado, presente y futuro. Academia Mexicana de Ciencias-CICY, México, pp 37-52
- Pilot M, Jedrzejewski W, Branicki W, Sidorovich VE, Jedrzejewska B, Stachura K, Funk SM (2006) Ecological factors influence population genetic structure of European grey wolves. *Mol Ecol* 15:4533-4545
- Posada D, Crandall KA (1998) Modeltest: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics* 14:817-818
- Ray N, Currat M, Excoffier L (2003) Intra-deme molecular diversity in spatially expanding populations. *Mol Biol Evol* 20:76-86
- Reeder SA, Bradley RD (2004) Molecular systematics of Neotomine-Peromyscine rodents based on the dentin matrix protein 1 gene. *J Mamm* 85:1194-1200
- Rissler LJ, Hijmans RJ, Graham CH, Moritz C, Wake DB (2006) Phylogeographic lineages and species comparisons in conservation analyses: a case study of California herpetofauna. *Am Nat* 167:655-666

- Rogers AR, Harpending H (1992) Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences. *Mol Biol Evol* 9:552-569
- Rozas J, Sánchez-DelBarrio JC, Messeguer X, Rozas R (2003) DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods. *Bioinformatics* 19:2496-2497
- Rzedowski J (1978) *Vegetación de México*. Limusa, México
- Schneider S, Roessli D, Excoffier L (2000) Arlequin ver. 2.000: A software for populations genetics data analysis. Genetics and Biometry Laboratory, University of Geneva, Switzerland
- Steppan SJ, Adkins RM, Anderson J (2004) Phylogeny and divergence-date estimates of rapid radiations in muroid rodents based on multiple nuclear genes. *Syst Biol* 53:533-553
- Strecker U, Faúndez VH, Wilkens H (2004) Phylogeography of surface and cave *Astyanax* (Teleostei) from Central and North America based on cytochrome *b* sequence data. *Mol Phyl Evol* 33:469-481
- Swofford DL (2003) PAUP: phylogenetic analysis using parsimony, version 3.1. Illinois Natural History survey, Champaign, Illinois
- Tamura K, Dudley J, Nei M, Kumar S (2007) MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. *Mol Biol Evol* 24:1596-1599
- Templeton AR, Routman E, Phillips CA (1995) Separating population structure from population history: a cladistic analysis of the geographical distribution of mitochondrial DNA haplotypes in the Tiger salamander, *Ambystoma tigrinum*. *Genetics* 140:767-782
- Vázquez-Domínguez E (2002) Phylogeography, historical patterns and conservation of natural areas. In: Nelson G, Day JC, Sportza LM, Loucky J, Vásquez C (eds) *Protected areas and the regional planning imperative in North America*, University of Calgary Press, Calgary, Canada, pp 369-378
- Vázquez-Domínguez E, Mejía-Puente A, Vega R (in press) *Oryzomys couesi* en el sureste de México: estimaciones genéticas y filogeográficas. In: Cervantes FA, Vargas-Cuenca J, Hortelano-Moncada Y (comps) *60 años de la Colección Nacional de Mamíferos del Instituto de Biología, UNAM. Aportaciones al conocimiento y conservación de los mamíferos mexicanos*, Instituto de Biología, UNAM, México

- Vázquez-Domínguez E, Paetkau D, Tucker NJ, Hinten G, Moritz C (2001) Resolution of natural groups using iterative assignment tests: an example of two species of Australian native rats (*Rattus*). *Mol Ecol* 10:2069-2078
- Vega R, Vázquez-Domínguez E, Mejía-Puente A, Cuarón A (2007) Unexpected high levels of genetic variability and the population structure of an island endemic rodent (*Oryzomys couesi cozumelae*). *Biol Conserv* 137:210-222
- Webb SD, Rancy A (1996) Late Cenozoic evolution of the Neotropical mammal fauna. In: Jackson JBC, Budd AF, Coates AG (eds) *Evolution and environment in tropical America*. University of Chicago Press, Chicago, pp 335-358
- Wüster W, Ferguson JE, Quijada-Mascareñas JA, Pook CE, Da M, Salomao G, Thorpe RS (2005) Tracing an invasion: landbridges, refugia, and the phylogeography of the Neotropical rattlesnake (Serpentes, Viperidae: *Crotalus durissus*). *Mol Ecol* 14:1095-1108
- Zambrano L, Vázquez-Domínguez E, García-Bedoya D, Loftus WF, Trexler JC (2006) Fish community structure in freshwater karstic wetlands of the Yucatan peninsula, Mexico. *Ichthyol Explor Freshwaters* 17:193-206
- Zhen X, Arbogast BS, Kenagy J (2003) Historical demography and genetic structure of sister species: deer mice (*Peromyscus*) in the North American temperate rain forest. *Mol Ecol* 12:711-724.

Discusión

Los análisis filogeográficos intraespecíficos son la fase primaria para la evaluación de patrones de distribución y permiten, mediante características genéticas y/o morfológicas, describir eventos vicariantes o de dispersión de un área determinada. Así, un patrón filogeográfico está determinado por la divergencia entre haplotipos y la distribución geográfica de los clados de haplotipos (Avice 2000). De acuerdo con la información obtenida del citocromo b de *O. phyllotis*, existe un patrón filogeográfico en el sureste de México de cuyo origen y forma se discutirá a continuación.

Honduras, Chiapas y Tabasco

Las barreras geográficas que existen actualmente a lo largo de América Central (Fig. 1-5) tuvieron origen en diferentes momentos geológicos, lo cual se ha corroborado mediante el estudio de diferentes taxa que comparten dicha distribución. Según Halfter (2002), el puente de Panamá se formó gradualmente y se consolidó hace 5.7 millones de años (ma). Así, especies procedentes de México o de América del Sur llegaron al Núcleo Centroamericano durante el Cenozoico, se diversificaron en el área y después se dispersaron durante el GABI (Wüster *et al.*, 2005). Sin embargo, el intercambio biótico y la diferenciación comenzaron antes de haberse completado este puente terrestre, ya que se sabe que existieron puentes temporales de colonización durante el Mioceno Tardío (10-12 ma) (García-Moreno *et al.*, 2004). El núcleo montañoso de Centroamérica emergió durante el Cretácico y alcanzó su conformación actual durante el Plioceno, dividiendo esta zona longitudinalmente en una 'región' del Pacífico y una del Golfo; asimismo, la Cordillera Talamanca en Costa Rica la separó transversalmente en norte y sur. De esta manera, especies distribuidas en lados opuestos del núcleo montañoso (Pacífico y Golfo), de la cordillera y del Puente de Panamá, divergieron tanto por cambios climáticos como por eventos vicariantes asociados a estos eventos y procesos geológicos.

Por otro lado, durante el Plioceno temprano hubo una separación entre México (por la formación del Istmo de Tehuantepec), El Salvador y Honduras (posterior a la conexión con Guatemala) y sur de Nicaragua y Costa Rica; por lo tanto, se sugiere que durante el Plioceno-Pleistoceno, un corredor permitió la dispersión de la fauna previo a los cambios extremos en el clima del Pleistoceno que ocasionaron fragmentación y expansión de especies (Novick *et al.*, 2003; Hasbún *et al.*, 2005). De acuerdo con estudios filogenéticos que incluyen a *O. phyllotis*, la diferenciación de la subfamilia Tylominae a partir de Sigmodontinae fue hace aproximadamente 12.6 ma (Steppan *et al.* 2004), cuando el corredor mencionado por Hasbún y colaboradores ya

existía. Aunque el origen del género *Ototylomys* se desconoce, éste deriva de Tylominae (tribu Tylomyini) y si se observa la distribución geográfica de los cuatro géneros incluidos en esta tribu, que va desde Costa Rica hasta el norte de México (Hall, 1981; Reeder and Bradley, 2004), se aprecia que el Istmo de Tehuantepec no representó una barrera importante para la migración de *Tylomys* y *Nyctomys*, pero sí para *Ototylomys*, cuya distribución norteña termina justo en el Istmo.

La fisiografía de Guatemala es resultado de la conjunción de la placa de Norteamérica, la de Cocos y la del Caribe, que aún se encuentran en movimiento ocasionando actividad volcánica, movimientos tectónicos y cambios graduales del terreno (DeMets, 2001). Además está dividida en dos bloques tectónicos: el bloque Maya y el bloque Chortís (Donnelly *et al.*, 1990). Lo anterior es importante dado que la localidad de Honduras se encuentra al sur de las cadenas montañosas y cuerpos de agua existentes en Guatemala y Belice, por lo cual el sistema montañoso derivado de la conjunción de estas placas podría asociarse a la diferenciación de estas poblaciones, funcionando como una barrera geográfica que dividiera a la especie en dos grupos genéticos bien diferenciados (Honduras del resto).

Los patrones geológicos aquí descritos sirven de base para la hipótesis de que *Ototylomys* divergió y se dispersó desde el sur (Sudamérica) hacia el norte (México) (Lawlor, 1982), y nuestros resultados lo apoyan: en los análisis filogenéticos realizados se observa que los haplotipos del sur (Honduras, Chiapas y Tabasco) se ubican en la base del árbol y separados de los de la península, aunado a los marcados valores de distancia y divergencia genéticas entre Honduras y Chiapas y entre éstas y el resto. La red mínima de haplotipos y los grupos encontrados con SAMOVA, coinciden en distinguir estas poblaciones como grupos genéticamente distintos. La topología observada, lo mismo que la red mínima de haplotipos, sugieren también eventos de divergencia más recientes en la península.

Geológicamente, en Chiapas existen dos complejos volcánicos: el Arco Volcánico Chiapaneco Moderno (por sus siglas en inglés, MCVA; Fig. 1-5), que se formó hace 3 a 9 ma como resultado de un reacomodo de la placa de Cocos, y el Arco de la Sierra Madre del Mioceno (Damon y Montesinos, 1978), paralelo a la costa. El volcán más cercano al complejo en el sur es el Tacana, que pertenece a su vez al Arco Volcánico de Centro América (CAVA) (García-Palomo *et al.*, 2004). Manea y Manea (2005) sugieren que hace 17 a 25 ma, un arco volcánico formó un bloque continuo que va desde el centro de México hasta Guatemala incluyendo Chiapas. Estos eventos, que sin duda representaron barreras geográficas para el movimiento de la biota, coinciden también con la presencia del género *Otoyolomys*, cuando el CAVA se retrae hacia el sureste, cesa la actividad volcánica cercana a la costa de Chiapas, y se

forma el Frente Volcánico de los Tuxtlas (TVF). Finalmente, hace 3 ma comienza la actividad del MCVA concluyendo con la formación del volcán Chichón (0.2 ma), que correspondería a la última limitante geográfica en Chiapas y Tabasco. *O. phyllotis*, cuyo origen podría coincidir con la cladogénesis generada durante el GABI, hace aproximadamente 3 ma, es limitado en su distribución al norte por el MCVA, de donde tiene la posibilidad de colonizar posteriormente las zonas altas de Chiapas.

Considerando a su vez que los ríos pueden fungir como barreras para la dispersión de especies, generando divergencia genética por aislamiento y cambios en la variación ya sea a lo largo de su cauce o de uno y otro lado del mismo (Da Silva y Patton, 1998), el río Usumacinta es también una barrera entre Tabasco y Chiapas, en particular de las localidades estudiadas en este trabajo. Nuestros resultados indican una divergencia genética entre estas localidades de 7.8%, significativamente alta en comparación con la que se encontró dentro de las poblaciones de la península de Yucatán (0-2.5%). Estos resultados coinciden con lo reportado por Lawlor (1969), quien mostró que existen diferencias morfológicas (e.g. coloración ventral y tamaño máximo de piezas dentales) en individuos de *O. phyllotis*, localizados entre el suroeste de Campeche y el este de Chiapas. Un estudio sobre la genética de las lagartijas define a poblaciones de la península de Yucatán como un clado aislado cuya diferenciación de las poblaciones de Chiapas y Guatemala probablemente es debida a la presencia del río Usumacinta (Smith, 2001).

Vázquez-Domínguez *et al.* (2007), en un estudio con el roedor *Oryzomys couesi* en la península de Yucatán y utilizando el mismo marcador mitocondrial, reportan una divergencia significativa entre poblaciones de Chiapas y Campeche, e incluso diferenciación genética dentro de Chiapas mismo, asociada a las formaciones montañosas de Chiapas. En nuestro caso, al incluir la muestra de Chiapas en el análisis de red mínima de haplotipos (datos no mostrados), la conexión más cercana a ésta es la localidad de la punta norte de la península (LC) con 46 pasos mutacionales. La alta diferenciación genética entre muestras de distancias geográficas cortas es indicativo de aislamiento y divergencia de las poblaciones (Mantel, 1967). En una escala local y considerando factores ecológicos, la localidad de Tabasco se encuentra ubicada a 30 msnm, mientras que de Chiapas está a casi 600 msnm, ambas en lugares ecológicamente distintos, que podría asociarse también con las diferencias genéticas observadas, aunque indudablemente se necesitaría un estudio a esta escala y con el número de individuos muestreado necesario.

Se ha sugerido que la radiación de especies en el sur de México está ligada a un *factor paleogeográfico*, ya que la península de Yucatán emergió hace 13 a 4.5 ma, momento para el cual ya existía el Istmo de Tehuantepec, además de que se estaban formando cadenas montañosas y había volcanes activos al norte de Chiapas (lo cual funcionó como barrera geográfica para la dispersión de especies; Medinilla *et al.*, 2006). Asimismo, se relaciona con un *factor ecológico* determinado por los cambios climáticos que provocaron variación en los tipos de vegetación, asociados a la actividad volcánica y cambios edáficos (Medinilla *et al.*, 2006).

La península de Yucatán posee dos subregiones geomorfológicas que datan de diferentes épocas geológicas. La parte norte tiene superficies niveladas durante el Cuaternario con transgresiones y regresiones del Pleistoceno, y al sur existen levantamientos tectónicos del Mioceno (24 ma) con relieve del Eoceno. La península, al igual que el resto del globo, ha experimentado cambios climáticos durante los últimos 2 ma; hace 100,000 años tuvo probablemente un clima seco, con vegetación de sabanas y matorrales similar a la vegetación del norte del país. Desde el inicio del Pleistoceno hasta el final del periodo frío (hace alrededor de 10,000 años) hubo sequías y temperaturas bajas, mientras que durante el Holoceno Temprano, hubo un incremento de lluvia y niveles de agua disponible, excepto en la parte norte de la península, donde la humedad comenzó hasta hace 3, 500 años. Posteriormente el clima fue seco de nuevo y se redujo la cobertura forestal, incrementándose la sabana. Los últimos 7,000 años son de ambientes extremos para esta región alternando entre seco y húmedo (Orellana *et al.*, 2003). El clima actual también determina diferencias locales: la distribución pluvial varía, con un gradiente de seco a subhúmedo en el extremo noroccidental que aumenta hacia el suroriente, por lo que la precipitación media es mayor en Quintana Roo. Existe también variación altitudinal, donde las zonas más altas están en el centro (e.g. Sierrita de Ticul) y sur (Duch, 1988; 1991). Estas variaciones se traducen en diferencias marcadas en cuanto a tipo de vegetación, sobre todo entre el norte y centro-sur de la península (Rzedowski, 1978; Navarro y Robinson, 1990).

La ocupación de áreas nuevas o la recolonización por especies como *O. phyllotis* luego de cambios climáticos como los que sucedieron en la península pudo implicar: 1) inmigración en áreas para las cuáles ya se encuentra preadaptada la especie, 2) la expansión de linajes endémicos con adaptaciones para explotar los recursos de una región más amplia (al formarse corredores o puentes para el paso de la fauna) y 3) cambio de algunas regiones a condiciones favorables para diferentes taxa (Aguirre *et al.*, 1997). Las extinciones y recolonizaciones promueven la diferenciación genética de poblaciones locales como las encontradas, y a su vez este efecto depende de cómo se forman los grupos colonizadores y la relación cuantitativa entre

colonización y migración (Wade y McCauley, 1988). La existencia de flujo génico entre poblaciones determina su potencial de diferenciación genética, por lo que la medida de la distancia genética es útil para inferir patrones como dispersión o aislamiento (Slatkin, 1985).

Los resultados de diferenciación y estructuración genética (divergencia, SAMOVA, AMOVA), así como las reconstrucciones filogenéticas, coincidieron en diferenciar los haplotipos de la península de Yucatán como un grupo o clado altamente divergente del resto de las localidades, lo cual sugiere entre otras cosas que hay flujo génico, ya que además no existen barreras geográficas significativas entre ellas. Sin embargo, dentro de este grupo existe a su vez estructuración genética, en particular entre poblaciones ubicadas en el sureste (Mahahual, Tres Garantías, Noh Bec y Ávila Camacho; ver Figs. 1-1, 3-4, 4-4), de las del noroeste (Ejido Señor, Ejido Naranja, Chemax Cobá, Los Lirios y Chichen Itzá), diferenciados éstos a su vez de localidades al extremo norte de la península (El Remate y Lázaro Cárdenas). En un estudio con jaguares se encontraron diferencias genéticas significativas al comparar poblaciones del norte respecto a las poblaciones del resto de la península (Eizirik *et al.*, 2001). Otra localidad diferenciada es Lol Tún, la cual se localiza cercana a una falla geológica en la base de la Sierrita de Ticul, única elevación en la península, que ha sido identificada como una barrera en diferentes taxa. Mahahual, Tres Garantías y Chemax Cobá son localidades que presentaron haplotipos únicos (i.e. no compartidos con ninguna otra localidad), lo que sugeriría que estas poblaciones son comparativamente más antiguas, para haber perdido haplotipos ancestrales, además de tener un menor flujo génico con el otro grupo, en el cual se observó el haplotipo más común (Ejido Señor, Ejido Naranja, Los Lirios y Ávila Camacho), lo que sugiere que estas últimas conservan un haplotipo ancestral. Así, las diferencias genéticas observadas y la estructuración entre localidades del norte de la península, y entre norte y sur de las poblaciones en Quintana Roo, van de acuerdo con las diferencias bióticas y abióticas descritas, como disponibilidad de recurso hídrico (Strecker *et al.*, 2004), asociadas asimismo a los factores paleogeográficos y ecológicos que se han identificado en la región (Hughen *et al.*, 1996; Orellana *et al.*, 2003).

Las perspectivas desde las que ha sido analizada la península de Yucatán son: afinidades de la península con otras áreas, regionalización intrapeninsular y forma de distribución de sus endemismos (Ibarra-Manríquez, 2002). Sin embargo, el estudio de su configuración biótica está basado mayormente en el análisis usando la morfología de diferentes grupos. Los estudios sobre genética de especies que habitan la península son reducidos e incluyen la evidencia de homogeneidad genética (estudio de histocompatibilidad) entre poblaciones de lagartijas (Hernández-Gallegos *et al.*, 2003) y la determinación del origen de las

poblaciones de abejas donde se mide la diversidad genética (Clarke et al., 2001), pero no permiten definir una estructura genética interna como el estudio de Gutiérrez-García y Vázquez-Domínguez.

Diversidad genética y demografía

Respecto a las medidas de diversidad genética de *O. phyllotis*, los valores observados de h (0.956 ± 0.018) y π (0.018 ± 0.003) son altos; aunque dentro de los valores observados en estudios de variación intraespecífica con mamíferos utilizando citocromo *b* hay diferentes rangos: *Marmosa murina* ($h = 0.8$, $\pi = 0.01$) (Steiner y Catzefflis, 2003); varias poblaciones de *Mustela erminia* ($h = 0.58-0.97$, $\pi = 0.0007-0.003$) (Martínková et al, 2007); y varias poblaciones de *Apodemus flavicollis* ($h = 0.952-0.988$, $\pi = 0.005-0.015$) y *Apodemus sylvaticus* ($h = 0.965-0.981$, $\pi = 0.005-0.008$) (Michaux et al., 2005). Avise (2000) señala que valores de diversidad haplotípica y nucleotídica altos son esperados para poblaciones numerosas y estables. En el caso de *O. phyllotis*, las poblaciones estudiadas no necesariamente representan poblaciones grandes. Sin embargo, como muestran los resultados del análisis mismatch, las poblaciones de la península se encuentran en expansión.

Existe evidencia fósil de la presencia de *O. phyllotis* en estratos con una antigüedad mayor a 28,000 años en las grutas de Loltún al centro de la península (muy cercanas a la localidad de Lol Tún). Hay variación en la cantidad de fósiles de varias especies en diferentes estratos correspondientes a diferentes momentos geológicos, lo cual podría indicar cambios en la demografía de las especies o eficiencia diferencial de los estratos para llevar a cabo la fosilización (Arroyo-Cabrales y Álvarez, 1990; Álvarez y Polaco, 1983). Lo anterior refleja que efectivamente la presencia de *O. phyllotis* en esta parte de la península coincide con el conjunto de cambios climáticos mencionado, y que pueden llevar a cambios demográficos dentro de sus poblaciones, más aún que los eventos geológicos que ocurrieron después de la emersión de la península. En este caso, la distribución mismatch observada es bimodal e indicativa de expansión poblacional, lo cual es acorde con el hecho de que las poblaciones de *O. phyllotis* se encuentran geográficamente subdivididas. La variación genética entre poblaciones puede ser afectada por las tasas de mutación, selección y cambios de tamaño poblacional. Se ha sugerido que en las especies tropicales la estabilidad demográfica (baja probabilidad de extinción) es el factor principal para la mantener la alta diversificación (Lessa et al., 2003). Sin embargo, la biota de la península ha experimentado cambios climáticos que generarían cambios en los tamaños de las poblaciones, por lo que se tienen patrones de variación y estructuración genética particulares, como los observados en este estudio.

La provincia RST y la genética

La península de Yucatán forma parte de la RST, es una provincia biótica que comparte características climáticas, geológicas e históricas y está definida con base en la distribución de mamíferos (Fa y Morales, 1993). En los límites de esta provincia Tabasco no está incluido pero Chiapas sí, en torno al río Usumacinta que separa estas dos regiones (CONABIO 1999). Esta configuración coincide en parte con las diferencias genéticas encontradas, en particular con la diferenciación genética entre Tabasco y el resto de la península. Sin embargo, la evidencia genética encontrada muestra que Chiapas se diferencia no sólo de Tabasco, sino también del resto de la península. Otra configuración que se ha propuesto es la de Ferrusquía-Villafranca (1993), en la cual Tabasco y Chiapas no están incluidos dentro de la provincia (ver introducción), lo cual tiene mayor coincidencia con los resultados de los grupos genéticos encontrados (Chiapas, Tabasco y península). Diferentes patrones de distribución, incluyendo éste se han observado en otros taxa, como serpientes, ranas, lagartijas, aves, mamíferos y algunas plantas (Ibarra-Manríquez *et al.* 2002).

Muestreo

El patrón filogeográfico encontrado a partir del citocromo *b* de poblaciones de esta rata semi-arborícola se basa en un total de 45 muestras. El tamaño de muestra por localidad va de 1 a 12 individuos (ver tabla 3). Dado que las inferencias biológicas son hechas a partir de las relaciones de significancia estadística, dependen en buena medida de dicho tamaño muestral (Templeton, 2002). Por ello, es necesario un análisis filogeográfico que incluya un mayor número de localidades de América Central de *O. phyllotis*, para poder hacer estimaciones sobre rutas de dispersión y posible origen de la especie, sobre todo porque existen diversas teorías sobre los caminos geográficos que siguió la fauna luego y antes de la apertura del puente de Panamá (Hershkovitz, 1969; Iturralde-Vinent y MacPhee, 1999).

Consideraciones filogenéticas

En la última revisión sistemática del género (Lawlor, 1969), se divide a la especie en tres subespecies con base en datos morfológicos e incluso mediante cierta variación cariotípica. En ese estudio, *Otodylomys phyllotis* presenta una ligera diferenciación morfológica incluso dentro de la península aunque Lawlor sugiere que podría deberse a la edad que tenían los ejemplares de museo revisados al momento de la colecta. En el trabajo realizado por Gutiérrez-García y Vázquez-Domínguez se incluyen dos de las tres subespecies: *O. p. phyllotis* (península de

Yucatán y Honduras) y *O. p. connectens* (Tabasco y Chiapas). Los autores encontraron que las poblaciones de *O. phyllotis* entre Honduras, Chiapas y el resto de la península presentan diferencias genéticas mayores a las encontradas entre especies de mamíferos con el mismo marcador. Las muestras de la península y Honduras (misma subespecie según Lawlor) tienen una divergencia de aproximadamente el 8%, lo mismo que la muestra de Tabasco y Chiapas. Se sabe que en mamíferos un valor de divergencia genética del citocromo *b* mayor al 5% está comúnmente asociada al reconocimiento de especies diferentes (Baker y Bradley, 2006). Aunque aún existe controversia sobre las diferentes definiciones de “especie”, “especie genética” refiere a un grupo de poblaciones naturales genéticamente compatibles que pueden entrecruzarse pero que se encuentran genéticamente aislados del resto (Baker y Bradley, 2006). Por lo que el citocromo *b* no solo presentó la resolución suficiente para detectar la variación intraespecífica en este roedor y permitió definir su estructura genética dentro de la península, sino que sugiere que podría tratarse de dos especies genéticas distintas. Un análisis sistemático del grupo que incluya mayor información molecular podría establecer si los valores de distancia genética normales dentro del género corresponden a valores como los encontrados en este estudio, o si existe diferenciación a nivel de especie. Para realizar análisis más precisos de especiación y efecto de procesos como extinción en filogenias es necesaria una cantidad de muestras que incluyan varias especies de un grupo (Barraclough y Nee, 2001).

Bibliografía

- Aguirre, E., E.A. Vangengeim, J. Morales, M.V. Sotnikova y V.S. Zazhigin. 1997. Pliocene–Pleistocene mammal faunas: an overview. En: Van Couvering, J.A. 1997. The Pleistocene boundary and the beginning of the Quaternary. Cambridge University Press. United Kingdom.
- Alvarez, T. y O.J. Polanco. 1983. Restos de moluscos y mamíferos cuaternarios procedentes de Loltún, Yucatán. Cuaderno de Trabajo. Departamento de Prehistoria. Instituto Nacional de Antropología e Historia. México.
- Arbogast, B.S. y G.J. Kenagy. 2001. Comparative phylogeography as an integrative approach to historical biogeography. *Journal of Biogeography* 28: 819-825.
- Arita, H.T. y E. Vázquez-Domínguez. 2003. Fauna y la conformación de la provincia biótica yucateca: Biogeografía y Macroecología. En: Colunga-GarcíaMarín, P. y A.L. Saavedra. Naturaleza y sociedad en el área Maya: Pasado, presente y futuro. *Academia Mexicana de Ciencias*.
- Arroyo-Cabral, J. y T. Alvarez. 1990. Restos óseos de murciélagos procedentes de las excavaciones en las grutas de Loltún Serie Prehistoria 194. Instituto Nacional de Antropología e Historia. México.
- Avise, J.C. 1994. Molecular markers, natural history and evolution. Chapman & Hall. USA.
- Avise, J.C. 2000. Phylogeography: The history and formation of species. Harvard University Press. USA.
- Avise, J.C., J. Arnold, R.M. Ball, E. Bermingham, T. Lamb, J.E. Neigel, C.A. Reeb y N.C. Saunders. 1987. Intraspecific Phylogeography: The mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Annual Reviews of Ecology and Systematics* 18:489-522.
- Baker, R.J. y R.D. Bradley. 2006. Speciation in mammals and the genetic species concept. *Journal of Mammalogy* 87(4):643-662.
- CONABIO. 1990. Regiones y Provincias Mastogeográficas. Ramírez-Pulido, J. y A. Castro-Campillo. Atlas Nacional de México. Vol. III. Escala 1:4 000 000. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad.
- Conroy, C.J. y J.A. Cook. 2000. Phylogeography of a post-glacial colonizer: *Microtus longicaudus* (Rodentia: Muridae). *Molecular Ecology* 9:165-175.
- Cuarón, A.D. 2000. Effects of land-cover changes on mammals in a Neotropical Region: a modeling approach. *Conservation Biology* 14(4):1676-1692.

- Cruz-Lara, L.E. 2004. Diversidad de mamíferos en cafetales y selva mediana de las cañadas de la Selva Lacandona, Chiapas, México. *Acta Zoológica Mexicana (n.s.)* 20(1):63-81.
- D'Elia, G. 2003. Phylogenetics of Sigmodontinae (Rodentia, Muroidea, Cricetidae), with special reference to the akodont group, and with additional comments on historical biogeography. *Cladistics* 19:307-323.
- Da Silva, M.N.F. y J.L. Patton. 1998. Molecular phylogeography and the evolution and conservation of Amazonian mammals. *Molecular Ecology* 7:475-486.
- Damon, P. y E. Montesinos. 1978. Late Cenozoic volcanism and metallogenesis over an active Benioff Zone in Chiapas, Mexico. *Arizona Geological Society Digest* 11:155-168.
- DeMets, CH. 2001. A new estimate for present-day Cocos-Caribbean plate motion: Implications for slip along the Central American volcanic arc. *Geophysical research letters* 0 (0):1-4.
- Donnelly, T.W., G.S. Horne, R.C. Finch y E. López-Ramos. 1990. Northern Central America: The Maya and Chortis blocks. En: G. Dengo y J.E. Case (eds.). The Geology of North America, Vol. H, The Caribbean Region. *Geological Society of America*.
- Duch, J. 1988. La conformación territorial del Estado de Yucatán. Universidad Autónoma de Chapingo. México.
- Duch, J. 1991. Fisiografía del Estado de Yucatán, su relación con la agricultura. Universidad Autónoma de Chapingo. México.
- Edwards, C.W. y R.D. Bradley. 2002. Molecular systematics of genus *Neotoma*. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 25:489-500.
- Eizirik, E., J. Kim, M. Menotti-Raymond, P.G. Crawshaw, S.J. O'brien y W.E. Johnson. 2001. Phylogeography, population history and conservation genetics of jaguars (*Panthera onca*, Mammalia, Felidae). *Molecular Ecology* 10:65-79.
- Fa, J.E. y L.M. Morales. 1993. Patterns of mammalian diversity in Mexico. En: Ramamoorthy, T.P., R. Bye, A. Lot y J. Fa (eds). Biological diversity of Mexico: origins and distribution. Oxford University Press. Nueva York.
- Ferrusquía-Villafranca, I. 1993. Geology of Mexico: A synopsis. En: Biological Diversity of Mexico: Origins and Distribution. Ramammorthy, T.P, R. Bye., A. Lot., J. Fa (eds). Oxford University Press. New York, Oxford.
- García-Moreno, J., A.G. Navarro-Sigüenza, A.T. Peterson y L.A. Sánchez-González. 2004. Genetic variation coincides with geographic structure in the common bush-tanager (*Chlorospingus ophthalmicus*) complex from Mexico. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 33:186-196.

- García-Palomo, A., J.L. Macías, J.L. Arce, J.C. Mora, S. Hughes, R. Saucedo, J.M. Espíndola, R. Escobar y P. Layer. 2006. Geological evolution of the Tacaná Volcanic Complex, México-Guatemala. *Geological Society of America*. Special Paper 412.
- Goldman, E.A., and R.T. Moore. 1946. The biotic provinces of Mexico. *Journal of Mammalogy* 26:4:347-361.
- Halfter, G. 2002. Biogeografía de la entomofauna de montaña de México y América Central. En Morrone, J. J. y J. Ll. Bousquets. 2003. Una perspectiva Latinoamericana de la Biogeografía. La Prensa de Ciencias, UNAM. Pp:87-97.
- Hall, E.R. 1981. The Mammals of North America. John Wiley & Sons, Inc. New York.
- Harris, D., D.S. Rogers y J. Sullivan. 2000. Phylogeography of *Peromyscus furvus* (Rodentia; Muridae) based on cytochrome *b* sequence data. *Molecular Ecology* 9:2129-2135.
- Hasbún, C.R., A. Gómez, G.G. Khöler y D.H. Lunt. 2005. Mitochondrial DNA phylogeography of the Mesoamerican spiny-tailed lizards (*Ctenosaura quinquecarinata* complex): historical biogeography, species status and conservation. *Molecular Ecology* 14:3095-3107.
- Helm III, J. D. 1975. Reproductive biology of *Otodylomys* (Cricetidae). *Journal of Mammalogy* 56(3):575-590.
- Hershkovitz, P. 1969. The evolution of mammals on southern continents: IV. The recent mammals of the Neotropical region: a zoogeographic and ecological review. *The Quarterly Review of Biology* 44(1):1-70.
- Hughen, K.A., J.T. Overpeck, L.C. Peterson y S. Trumbore. 1996. Rapid climate changes in the tropical Atlantic region during the last deglaciation. *Nature*, Mar 7(380):51-54.
- Ibarra-Manríquez, G., J.L. Villaseñor, R. Durán y J. Meave. 2002. Biogeographical análisis of the tree flora of the Yucatán Peninsula. *Journal of Biogeography* 29:17-29.
- Irwin, D.M., T.D. Kocher y A.C. Wilson. 1991. Evolution of the cytochrome *b* gene of mammals. *Journal of Molecular Evolution* 32:128-144.
- Iturralde-Vinent, M.A. y R.D.E. MacPhee. 1999. Paleogeography of the Caribbean region: Implications for cenozoic biogeography. *Bulletin of the American Museum of Natural History* 238:1-95.
- Jansa, S.A., F.K. Barker y L.R. Heaney. 2006. The pattern and timing of diversification of Philippine endemic rodents: evidence from mitochondrial and nuclear genes sequences. *Systematic Biology* 55(1):73-88.
- Lawlor, T.E. 1969. A systematic study of the rodent genus *Otodylomys*. *Journal of Mammalogy* 50(1):28-42.
- Lawlor, T.E. 1982. *Otodylomys phyllotis*. *Mammalian Species* 181: 1-3.

- Lessa, E., J.A. Cook y J.L. Patton. 2003. Genetic footprints of demographic expansion in North America, but not Amazonia, during the Late Quaternary. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 100(18):10331-10334.
- Magurran A.E. y R.M. May. 1999. Evolution of biological diversity. Oxford University Press, Oxford.
- Manea, V.C. y M. Manea 2005. The origin of modern Chiapanecan volcanic arc in southern Mexico inferred from thermal models. Accepted: GSA Special Paper. *Natural Hazards in Central America*.
- Mantel, N. 1967. The detection of disease clustering and a generalizad regresión approach. *Cancer Research* 27: 209-220.
- Martin, A.P. y S.R. Palumbi. 1993. Protein evolution in different cellular environments: Cytochrome *b* in sharks and Mammals. *Molecular and Biological Evolution* 10(4):873-891.
- Martínková, N., R.A. McDonald y J.B. Searle. 2007. Soats (*Mustela erminea*) provide evidence of natural overland colonization of Ireland. *Proceedings of The Royal Society B* 274:1387-1393.
- Matocq, M.D., J.L. Patton y M.N. Da Silva. 2000. Population genetic structure of two ecologically distinct amazonian spiny rats: separating history and current ecology. *Evolution* 54: 1423-1432.
- Medinilla, E.E., I. Sánchez, M.G. Bautista y C.L. Monterrubio. 2006. Análisis de la distribución de roedores de la familia Muridae en el sur de México. En: Vázquez-Domínguez, E. y D.J. Hafner. Genética y Mamíferos Mexicanos: Presente y Futuro. *New Mexico Museum of Natural History & Science Bulletin* 32: 47-54.
- Michaux, J.R., R. Libois y M-G. Filippucci. 2005. So close and so different: comparative phylogeography of two small mammal species, the Yellow-necked fieldmouse (*Apodemus flavicollis*) and the Woodmouse (*Apodemus sylvaticus*) in the Western Palearctic region. *Heredity* 94:52-63.
- Moritz, C., T.E. Dowling y W.M. Brown. 1987. Evolution of animal mitochondrial DNA: relevance for population biology and systematics. *Annual Reviews of Ecology and Systematics* 18:269-292.
- Musser, G.G. y M.D. Carleton. 1993. Family Muridae. Pp. 501-755, en Mammal species of the world: a taxonomic and geographic reference (D.E. Wilson, M.D. Reeder, eds.). Smithsonian Institution Press, Washington.

- Myers, P., B. Lundrigan y P.K. Tucker. 1995. Molecular phylogenetics of Oryzomyine rodents: the genus *Oligoryzomys*. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 4(4):372-382.
- Navarro, D.L. y G.J. Robinson. 1990. Diversidad biológica en la Reserva de la Biosfera de Sian Kaan, Quintana Roo, México. Centro de Investigaciones de Quintana Roo. Universidad de Florida.
- Novick, R.R., Ch.W. Dick, M.R. Lemes, C. Navarro, S. Caccone y E. Bermingham. 2003. Genetic structure of Mesoamerican population of big-leaf mahogany (*Swietenia macrophylla*) inferred from microsatellite analysis. *Molecular Ecology* 12:2885-2893.
- Orellana, R., G. Islebe y C. Espadas. 2003. Flora y Vegetación de la Península de Yucatán. En: Colunga-GarcíaMarín, P. y A. L. Saavedra. Naturaleza y sociedad en el área Maya: Pasado, presente y futuro. Academia Mexicana de Ciencias. Pp:37-52.
- Prusak, B. y T. Grzybowski. 2004. Non-random base composition in codons of mitochondrial cytochrome *b* gene in vertebrates. *Acta Biochimica Polonica* 51 (4):897-905.
- Palma, E.R., E. Rivera-Milla, J. Salazar-Bravo, F. Torres- Pérez, U.F.J. Pardiñas, P.A. Marquet, A.E. Spotorno, A.P. Meynard, y T.L. Yates. 2005. Phylogeography of *Oligoryzomys longicaudatus* (Rodentia: Sigmodontinae) in temperate South America. *Journal of Mammalogy* 86(1):191-200.
- Reeder, S.A. y R.D. Bradley. 2004. Molecular systematics of Neotomine-Peromyscine rodents based on the dentin matrix protein 1 gene. *Journal of Mammalogy* 85(6):1194-1200.
- Reid, F.A. 1997. Guide of the mammals of Central America and Southeast Mexico. Oxford University Press. USA.
- Rzedowski, J. 1978. Vegetación de México. Limusa. México.
- Sáenz, J.C. 1999. Movimientos y selección de micro-hábitat de una rata arborícola *Ototylomys phyllotis* (Rodentia: Muridae) en un bosque seco tropical. *Brenesia* 52:61-64.
- Salazar-Bravo, J., J.W. Dragoo. D.S. Tinnin y T.L. Yates. 2001. Phylogeny and evolution of the neotropical rodent genus *Calomys*: Inferences from mitochondrial DNA sequence data. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 20 (2):173-184.
- Slatkin, M. 1985. Rare alleles as indicators of gene flow. *Evolution* 39(1):53-65.
- Smith, E.N. 2001. Species boundaries and evolutionary patterns of speciation among the malachite lizards (Formosus group) of the genus *Sceloporus* (Squamata: Phrynosomatidae). Doctor of Philosophy Dissertation. University of Arlington.
- Smith, H.M. 1940. An analysis of the biotic provinces of Mexico, as indicated by the distribution of the lizards of the genus *Sceloporus*. *Anales de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional* 2:95-110.

- Smith, M.F. y J.L. Patton. 1991. Variation in mitochondrial cytochrome *b* sequence in natural population of South American Akodontine rodents (Muridae: Sigmodontinae). *Molecular and Biological Evolution* 8(1):85-103.
- Steiner, C. y F.M. Catzeflis. 2003. Mitochondrial diversity and morphological variation of *Marmosa murina* (Didelphidae) in French Guiana. *Journal of Mammalogy* 84(3):822-831.
- Steppan, S.J., R.M. Adkins y J. Anderson. 2004. Phylogeny and divergence-date estimates of rapid radiations in muroid rodents based on multiple nuclear genes. *Systematic Biology* 53(4):533
- Strecker, U., V.H. Faúndez y H. Wilkens. 2004. Phylogeography of surface and cave *Astyanax* (Teleostei) from Central and North America based on cytochrome *b* sequence data. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 33: 469-481.
- Templeton, A.R. 2002. Out of Africa again and Again. *Nature* 416:45-51.
- Vázquez-Domínguez, E. 2002. Phylogeography, historical patterns and conservation of natural areas. En: Protected areas and the regional planning imperative in North America (G. Nelson, J.C. Day, L.M. Sportza, J. Loucky and C. Vázquez, eds.). Pp. 369-378. University of Calgary Press, Canada.
- Vázquez-Domínguez, E., A. Mejía-Puente y R. Vega. 2007. *Oryzomys couesi* en el sureste de México: estimaciones genéticas y filogeográficas. En: *60 años de la Colección Nacional de Mamíferos del Instituto de Biología, UNAM. Aportaciones al conocimiento y conservación de los mamíferos mexicanos*. (F.A. Cervantes, J. Vargas-Cuenca y Y. Hortelano-Moncada, compiladores). Instituto de Biología, UNAM, México (en prensa).
- Wade, M.J. y D.E. McCauley. 1988. Extinction and recolonization: their effects on the genetic differentiation of local populations. *Evolution* 42(5):995-1005.
- Widger, W.R., W.A. Cramer, R.G. Herrmann y A. Trebst. 1984. Sequence homology and structural similarity between cytochrome *b* of mitochondrial complex III and the chloroplast *b₆-f* complex: position of the cytochrome *b* hemes in the membrane. *Proc. Natl. Academic Sciences USA* 81:674-678.
- Wüster, W., J.E. Ferguson, J.A. Quijada-Mascareñas, C. E. Pook, M. Da G. Salomao, R. S. Thorpe. 2005. Tracing an invasion: landbridges, refugia, and the phylogeography of the Neotropical rattlesnake (Serpentes, Viperidae: *Crotalus durissus*). *Molecular Ecology* 14:1095-1108.