



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**SISTEMÁTICA**

**“ESTUDIO FILOGENÉTICO DE LA SUBFAMILIA TYLOMYINAE  
(RODENTIA: CRICETIDAE)”**

**TESIS**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

**MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

PRESENTA:

**BIOL. ROMANO ABRAHAM VÁZQUEZ GARCÍA**

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DRA. LIVIA LEÓN PANIAGUA  
FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM

COMITÉ TUTOR: DR. JOSÉ JAIME ZUÑIGA VEGA  
FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM  
DR. JOAQUIN ARROYO CABRALES  
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS, UNAM

CIUDAD DE MÉXICO, JUNIO, 2016



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.





**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**SISTEMÁTICA**

**“ESTUDIO FILOGENÉTICO DE LA SUBFAMILIA TYLOMYINAE  
(RODENTIA: CRICETIDAE)”**

**TESIS**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

**MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

PRESENTA:

**BIOL. ROMANO ABRAHAM VÁZQUEZ GARCÍA**

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DRA. LIVIA LEÓN PANIAGUA  
FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM

COMITÉ TUTOR: DR. JOSÉ JAIME ZUÑIGA VEGA  
FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM  
DR. JOAQUIN ARROYO CABRALES  
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS, UNAM

CIUDAD DE MÉXICO, JUNIO, 2016

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS  
FACULTAD DE CIENCIAS  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

OFICIO FCIE/DEP/286/2016

ASUNTO: Oficio de Jurado

**Dr. Isidro Ávila Martínez**  
Director General de Administración Escolar, UNAM  
Presente

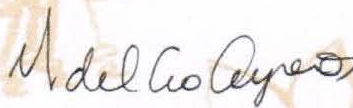
Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día **7 de marzo de 2016** se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** en el campo de conocimiento de **Sistemática** del (la) alumno (a) **VÁZQUEZ GARCÍA ROMANO ABRAHAM** con número de cuenta **300152146** con la tesis titulada "**Estudio filogenético de la subfamilia Tylomyinae (Rodentia: Cricetidae)**", realizada bajo la dirección del (la) **DRA. LIVIA SOCORRO LEÓN PANIAGUA**:

Presidente: DR. LUIS ANTONIO SÁNCHEZ GONZÁLEZ  
Vocal: DR. JUAN FRANCISCO EFRAÍN DE LUNA GARCÍA  
Secretario: DR. JOAQUÍN ARROYO CABRALES  
Suplente: DRA. ZAMIRA ANAHÍ ÁVILA VALLE  
Suplente: DR. FRANCISCO XAVIER GONZÁLEZ COZATL

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

**ATENTAMENTE**  
**"POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU"**

Ciudad Universitaria, Cd. Mx., a 20 de mayo de 2016



**DRA. MARÍA DEL CORO ARIZMENDI ARRIAGA**  
COORDINADORA DEL PROGRAMA



MCAA/MJFM/ASR/ipp

## **Agradecimientos.**

A la máxima casa de estudios de este país, la Universidad Nacional Autónoma de México.

Al Posgrado en Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Autónoma de México por recibirme y respaldar mis estudios de maestría

Este proyecto no se hubiese logrado sin el apoyo económico de la beca de Maestría del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) y el programa de becas mixtas.

A la ayuda financiera otorgada por el programa de Apoyo a proyectos de investigación e innovación tecnológica (PAPIIT) de la Universidad Nacional Autónoma de México, a través del proyecto IN-216713 “Revisión del estado sistemático y biogeográfico de los roedores peromíscinos del grupo “megalops” (*Peromyscus megalops*, *P. melanurus* y *P. melanocarpus*, y de *Osgoodomys banderanus*) a partir de los genes mitocondriales ND3 ND4 y el nuclear GHR”, a cargo de la Dra. Livia León Paniagua; de igual modo agradezco los recursos económicos brindados por el proyecto CONABIO LE002 “Apoyo a las colecciones biológicas de la Facultad de Ciencias de la UNAM: Fase I”.

A mi asesora la Dra. Livia León, a quien quiero mucho, aprecio y respeto por la diligencia, conocimiento y guía mostrados durante la realización del proyecto.

A los miembros del comité el Dr. Joaquín Arroyo y Dr. Jaime Zúñiga por sus atenciones, sugerencias y conocimiento valioso que ayudaron a enriquecer el proyecto.

A los miembros del jurado Dr. Juan Francisco Efraín de Luna García, Dra. Zamira Anahí Ávila Valle, Dr. Luis Antonio Sánchez González y Dr. Francisco Xavier González Cozatl que revisaron el escrito, por las observaciones, críticas y sugerencias que mejoraron este bonito trabajo.

Al Dr. Eduardo Espinoza Medinilla, por la información proporcionada referente a *Tylomys* y buena disposición siempre.

Fianlmente, y muy importante, a los curadores y todo el personal de cada una de las Colecciones, por abrirme sus puertas y permitirme trabajar con el valioso material que resguardan. La Colección de Mamíferos del Museo de Zoología de la Facultad de Ciencias, UNAM; Colección Nacional de Mamíferos del Instituto de Biología de la UNAM, (CNMA); Colección de Mamíferos del Colegio de la Frontera Sur, Unidad San Cristóbal (ECOSUR); Colección de mamíferos del Instituto de Historia Natural de Tuxtla Gutiérrez, Chiapas (IHNMASTO); Colección de mamíferos de la Universidad Autónoma de Yucatán, (UADY) y Colección de Mamíferos del American Museum of Natural History, Nueva York (AMNH).

## **Agradecimientos a título personal.**

El presente trabajo es testimonio de la pasión, compromiso y amor que siento por el estudio de la biología. Los mamíferos me han llevado a indagar, conocer, recordar, describir y compartir ideas que lleve a cabo en esta tesis. La cual se lleno de nombres durante el proceso. A ellos, maestros, compañeros de camino, colegas, cómplices, no me sale (seria una impostura) llamarlos por su apellido. Aprovecho este espacio para presentarlos y agradecerles.

A la Dra. Livia, por aceptarme como su alumno, brindarme su amistad y compartir sus experiencias y conocimiento sobre la ciencia. Gracias por la confianza que has depositado en mí.

Al Dr. Joaquin por ser parte importante del comité, por las sugerencias al escrito, por tomarme en cuenta para otros proyectos y por las incontables anécdotas de vida. Gracias por tu amistad.

Al Dr. Jaime por que las dudas que generabas en cada sesión ayudaron a que indagara más a fondo sobre los métodos y el grupo biológico de estudio. Gracias por tu entusiasmo y conocimiento que compartiste.

A la Dra. Sandra por auxiliarme y resolver, con gran paciencia, las dudas infinitas que surgieron en todo momento con la MG y su aplicación en la cladística. Eternas gracias amiga.

Al M. en C. Angel por la ayuda y asesoría sobre el uso de los programas computacionales que estiman tiempos de divergencia y su interpretación. Eres chévere amigo.

A la M. en C. Laura por la asesoría e instrucción en laboratorio y los programas computacionales que hacen filogenia molecular y que fueron relevantes para el estudio. Gracias amiga

A la M. en C. Cirene por apoyarme con el set de datos referente a *Ototylomys*, gracias mi estimada colega.

A mis colegas y familia del cubil Yire, Gio, Pablo, Laura, Tania, Zamira, Martin, Alfredo, Lucy por sus valiosas conversaciones y animos durante esta génesis. A quienes me acompañaron a campo, su presencia hizo que el trabajo a través de la selva fuera divertido y diligente.

Por el cariño, consejos y animos también agradezco a Chepe, Andrey, Claudia, Rosio, Tania, Luis, Toño, Gonzalo, Andres, Laura, Luis oso, Alvaro, Oscar, Saul, Maritza y Noe.

Finalmente quiero agradecer a Viole, Anita, Jorge, Samy, Coco y Chayin por ser esas personitas incondicionales, por su apoyo, determinación y amor desde siempre.

## **DEDICATORIA.**

A mi amada Viole por ser mi complice de vida y mostrarme su comprensión, fuerza y amor incondicional desde el día que nos conocimos. Te amo destino azaroso.

A mis padres Anita y Jorge por su cariño incondicional, su alegría que transmiten y por estar desde siempre. Los quiero mucho.

A mi hermano Samy, por tu particular manera de demostrarme afecto y respaldo. Gracias por las travesuras.

A mis tias Coco y Chayin por estar al pendiente siempre con la mejor actitud y su total cariño desde siempre.



## Índice de contenido.

---

Índice de figuras	VI
Índice de cuadros	VIII
Introducción	1
Objetivo	12
Objetivo particular	12
Hipótesis	12
Métodos	13
Resultados	20
Discusiones	46
El caso de <i>Nyctomys</i> y el nuevo clado	63
Conclusiones	65
Literatura citada	67
ANEXO I. Determinación de edades	82
ANEXO II. Ubicación de las marcas en las vistas del cráneo y dentario	86
ANEXO III. Análisis de variables canónicas	88
ANEXO IV. Lista de ejemplares	104
ANEXO V. Protocolo de extracción y distancias genéticas	110

---

## Índice de figuras.

	Página
Figura 1. Superfamilia Muroidea, árbol de genes nucleares y mitocondriales, se resalta la subfamilia Tylomyinae, dentro de Cricetidae. Modificado de Laurent y Montgelard (2012).	2
Figura 2. En rojo, distribución de la subfamilia Tylomyinae.	3
Figura 3. Integrantes de la subfamilia Tylomyinae. A) <i>Otonyctomys hatti</i> ; B) <i>Nyctomys sumichrasti</i> ; C) <i>Tylomys nudicaudus</i> ; D) <i>Ototylomys phyllotis</i> .	5
Figura 4. Amplificación del gen <i>Cit b</i> (1143pb), se representa con la barra, las flechas indican la dirección de los oligonucleótidos utilizados para secuenciar cada fragmento	14
Figura 5. Propuesta de la ubicación de marcas en las vistas del cráneo y dentario.	16
Figura 6. Árbol de consenso de mayoría por Parsimonia (IC= 0.45 IR=0.81) los soportes de los clados están indicados por los valores de Bootstrap. En amarillo <i>Tylomys</i> ; rojo <i>Ototylomys</i> ; azu <i>Otonyctomys</i> ; verde “ <b>Nyctomys</b> ”	24
Figura 7. Árbol obtenido del análisis de inferencia bayesiana, los soportes en los clados están indicados por las probabilidades posteriores. En amarillo <i>Tylomys</i> ; rojo <i>Ototylomys</i> ; azu <i>Otonyctomys</i> ; verde “ <b>Nyctomys</b> ”	25
Figura 8. Análisis de Componentes Principales para la vista dorsal, en rosa: <i>O. hatti</i> ; negro: <i>Nyctomys</i> ; azul: <i>O. phyllotis</i> ; amarillo: <i>T. nudicaudus</i> ; violeta: <i>T. tumbalensis</i> ; verde: <i>T. mirae</i> ; rojo: <i>T. watsoni</i>	26
Figura 9. Arriba, ubicación de los grupos en un eje de coordenadas bajo un Análisis de Variables Canónicas para la vista dorsal. Abajo rejillas de deformación para los grupos de la subfamilia Tylomyin. A=azul: <i>O. hatti</i> ; B=rosa: <i>Nyctomys</i> ; C=amarillo: <i>Tylomys</i> ; D= verde: <i>Ototylomys</i>	28
Figura 10. Arriba, ubicación de los grupos en un eje de coordenadas bajo un Análisis de Variables Canónicas para la vista dorsal. Abajo rejillas de deformación para los grupos del genero <i>Tylomys</i> . A=rojo: <i>T. mirae</i> ; B=rosa: <i>T. watsoni</i> ; C=negro: <i>T. nudicaudus</i> ; D= azul: <i>T. tumbalensis</i>	30
Figura 11. Arriba, ubicación de los grupos en un eje de coordenadas bajo un Análisis de Variables Canónicas para la vista dorsal. Abajo rejillas de deformación para los grupos del genero <i>Ototylomys</i> . A=rojo: <i>O.p. phyllotis</i> ; B=azul: <i>O.p. conectens</i> ; C=negro: <i>O.p. australis</i> .	32
Figura 12. Arriba, ubicación de los grupos en un eje de coordenadas bajo un Análisis de Variables Canónicas para la vista dorsal. Abajo rejillas de deformación para los grupos en “ <b>Nyctomys</b> ”. A=azul: <b>tierras bajas</b> ; B=negro: <b>tierras altas</b> .	34

Figura 13. Árbol bajo criterio de Parsimonia, para la configuración en vista dorsal, formada por 12 marcas. Abajo a la izquierda, marcas que describen la configuración. Soporte de los clados está dado por valores de Jacknife.	35
Figura 14. Árbol bajo criterio de Parsimonia, para todas las configuraciones del cráneo y dentario. El soporte de los clados está dado por valores de Jacknife	36
Figura 15. Árbol de Parsimonia (IC=0.74 IR=0.22) se visualizan las formas promedio de la vista dorsal. Los soportes de los clados están indicados por valores de Jacknife. Arriba a la derecha, marcas que describen la vista dorsal del cráneo	39
Figura 16. Árbol de Parsimonia (IC= 0.79 IR= 0.26) se visualizan las formas promedio de la vista lateral. Los soportes de los clados están indicados por valores de Jacknife. Arriba a la derecha marcas que describen la vista lateral del cráneo	40
Figura 17. Árbol de Parsimonia (IC= 0.72 IR=0.20) se visualizan las formas promedio de la vista ventral. Los soportes de los clados están indicados por valores de Jacknife. Arriba a la derecha marcas que describen la vista ventral del cráneo.	41
Figura 18. Árbol de Parsimonia (IC= 0.86 IR=0.34) se visualizan las formas promedio de la vista lateral del dentario. Los soportes de los clados están indicados por valores de Jacknife. Arriba a la derecha marcas que describen la vista lateral del dentario	42
Figura 19. Árbol de Parsimonia (IC= 0.55 IR=0.14) se visualizan las formas promedio de la vista lateral del dentario. Los soportes de los clados están indicados por valores de Jacknife. Arriba a la derecha marcas que describen la vista lateral del dentario	43
Figura 20. Topología propuesta de la Subfamilia Tylomyinae bajo reloj molecular relajado con el gen <i>Cit. b</i> , la escala es en millones de años. Los valores sobre los nodos equivalen al tiempo de divergencia y las barras en azul al error. En amarillo <i>Tylomys</i> ; rojo <i>Ototylomys</i> ; azul <i>Otonyctomys</i> ; <b>verde</b> " <i>Nyctomys</i> "	44
Figura 21. Nuevo arreglo y distribución, en azul <i>O. hatti</i> , en amarillo y naranja <i>Nyctomys</i> de tierras bajas y en rojo el nuevo clado de tierras elevadas.	49
Figura 22. Tiempos de divergencia con el gen <i>Cit. b</i> , la escala es en millones de años. Las barras paralelas en azul corresponden a eventos glaciales. En amarillo <i>Tylomys</i> ; rojo <i>Ototylomys</i> ; azul <i>Otonyctomys</i> ; <b>verde</b> " <i>Nyctomys</i> "	59

## Índice de cuadros

---

Cuadro 1. Oligonucleótidos utilizados para amplificar el gen <i>Cit-b</i> en los roedores de la subfamilia Tylomiynae	14
Cuadro 2. Parámetros empleados para la amplificación del gen <i>Cit-b</i>	15
Cuadro 3. Total de ejemplares evaluados morfológica y molecularmente. Para la parte morfológica del estudio: VD= vista dorsal, VL=vista lateral, VV=vista ventral, PA=parte anterior del dentario, PP=parte posterior del dentario	20
Cuadro 4. Promedio en porcentaje (%) de distancias genéticas para el grupo <i>Nyctomys</i> (1135 pb).	22
Cuadro 5. Promedio en porcentaje (%) de distancias genéticas intergenericas (1135 pb).	22
Cuadro 6. Promedio en porcentaje (%) de distancias genéticas de <i>Tylomys</i> y <i>Ototylomys</i> (1135 pb).	23
Cuadro 7. Porcentaje de varianza del componente principal 1 (PC1) y componente principal 2 (PC2) para las cinco vistas del cráneo y dentario	27
Cuadro 8. Resultados del Análisis de Variables Canónicas en los integrantes de la subfamilia para las cinco vistas donde GI = grados de libertad, P= probabilidad	29
Cuadro 9. Resultados del Análisis de Variables Canónicas en los integrantes del genero <i>Tylomys</i> para las cinco vistas donde GI = grados de libertad, P= probabilidad	31
Cuadro 10. Resultados del Análisis de Variables Canónicas en los integrantes del genero <i>Ototylomys</i> para las cinco vistas donde GI = grados de libertad, P= probabilidad.	33
Cuadro 11. Resultados del Análisis de Variables Canónicas en los integrantes de <i>Nyctomys</i> de tierras bajas y el nuevo clado de tierras elevadas, para las cinco vistas donde GI = grados de libertad, P= probabilidad.	33

---

## Resumen

Los estudios de pequeños mamíferos arborícolas son escasos por la dificultad que presenta su captura en el dosel de la selva. Tal es el caso de los integrantes de la subfamilia Tylomyinae, ratas y ratones arborícolas representados por cuatro géneros *Nyctomys*, *Otonyctomys*, *Otodylomys* y *Tylomys*, de quienes sus relaciones filogenéticas no están del todo resueltas y su estatus taxonómico ha generado dudas desde su descripción original. Por lo que nuestro objetivo fue conocer la relación taxonómica de los integrantes de la subfamilia mediante una propuesta filogenética empleando datos de secuencias de ADN mitocondrial (*Cit-b*) y morfometría geométrica. El análisis molecular se realizó con 35 secuencias, obtenidas en laboratorio y Genbank, incluyendo los grupos externos (*Sigmodon* y *Neotoma*). Las muestras fueron evaluadas con las distancias genéticas y bajo los criterios filogenéticos de Parsimonia e Inferencia Bayesiana. Adicionalmente se realizó una propuesta de tiempos de divergencia bajo un modelo de reloj molecular relajado.

Para la parte morfométrica se evaluaron 480 ejemplares, incluyendo los grupos externos. Solo se utilizaron los adultos y se fotografiaron los cráneos y dentarios para generar cinco caracteres o configuraciones con las siguientes marcas 12 para las vistas dorsales, 13 para las vistas ventrales, 10 para las vistas laterales, 7 para la parte anterior del dentario y 7 para la parte posterior del dentario. Las configuraciones fueron sometidas a análisis multivariados, exploratorios, discriminantes y filogenéticos. También a un análisis filogenético concatenado con datos moleculares.

Las estimaciones filogenéticas de sus integrantes con datos moleculares, morfométricos y concatenados, convergieron en topologías esencialmente idénticas. Tylomyinae se muestra monofilético, *Tylomys* y *Otodylomys* se mantienen como especies hermanas, formando la tribu Tylomyini. El género *Otonyctomys* se mantuvo monofilético, en tanto que *Nyctomys* resulto ser un grupo artificial, sus representantes forman un clado parafilético, en el que los linajes de Oaxaca-Chiapas de tierras elevadas son diferentes de los representantes de *Nyctomys* de tierras bajas. Por lo que la tribu Nyctomyini estaría conformada por *Otonyctomys*, *Nyctomys* de tierras bajas y el nuevo clado de tierras elevadas. Los valores de divergencia genética fueron altos en *Nyctomys* y *Tylomys nudicaudus* con costes por arriba del 5%; valores que para el gen *Cit b* exceden el promedio de especies hermanas en mamíferos y sugiere la existencia de nuevas entidades taxonómicas. La propuesta del reloj

molecular sugiere que la subfamilia se origino hace 8.45 millones de años aproximadamente durante el Mioceno tardío. Los cuatro géneros de la subfamilia divergieron durante el Plioceno y Pleistoceno.

El análisis de componentes principales indico que son los tres primeros componentes los que muestran mayor variación y el análisis de variables canónicas separó muy bien cada género y encontró dos formas significativamente distintas en *Nyctomys*. Filogenéticamente la reconstrucción de las configuraciones muestra que la forma ancestral que dio origen a la subfamilia presentaba un cráneo corto y robusto. Esta configuración origino dos tipos de forma, alargada y comprimida dorsoventralmente que presentan *Tylomys* y *Otomylomys*, y la forma corta, ancha y globosa que presentan el nuevo clado de tierras elevadas, *Nyctomys* de tierras bajas y *Otonyctomys*. La parte posterior del dentario (cóndilos mandibulares) presento los mayores cambios entre la forma ancestral y las formas actuales, situación que puede deberse a que es una estructura ósea que está sometida a grandes presiones de selección como consecuencia a la adaptación a distintos tipos de forrajeo. La parafilia de *Nyctomys* es apoyada por los valores de distancia genética, los datos moleculares, las diferencias en forma y el aislamiento geográfico. El nuevo género de roedor es endémico y se encuentra en las tierras altas de Oaxaca y Chiapas. La información molecular nos habla de la diversidad de especies, resultado de un balance entre especiación y extinción, mientras que la diferencia morfológica es consecuencia de la adaptación.

## Abstract

Studies of small arboreal mammals are limited by the difficulty of their capture in the jungle canopy. That is the case of members of the subfamily Tylomyinae, rats and mice arboreal represented by four genera *Nyctomys*, *Otonyctomys*, *Ototylomys* and *Tylomys*, from whom their phylogenetic relationships are not fully resolved and their taxonomic status has raised questions from its original description. So our objective was to determine the taxonomic relationship of the members of the subfamily by a proposal phylogenetic data using mitochondrial DNA sequences (*Cit-b*) and geometric morphometric. The molecular analysis was performed with 35 sequences obtained in the laboratory and Genbank, including external groups (*Sigmodon* and *Neotoma*). The samples were evaluated with genetic distances and phylogenetic criteria under Parsimony and Bayesian Inference. In addition, a proposal divergence times under a molding relaxed molecular clock is performed.

For morphometric part 480 specimens were evaluated, including external groups. Only adults were used and the skulls and dental photographed to generate five characters or configurations with the following landmarks 12 for views dorsal, 13 for the ventral views, 10 for the side view, 7 to the front of the jawbone and 7 for the back of the jawbone. The configurations were subjected to multivariate exploratory, discriminant analysis and phylogenetic. Phylogenetic analysis also to a concatenated with molecular data.

Phylogenetic estimates of its members with molecular data, morphometric and concatenated converged essentially identical topologies. Tylomyinae shown monophyletic, *Tylomys* and *Ototylomys* remain as sister species, forming the tribe Tylomyini. The genus *Otonyctomys* remained monophyletic, while *Nyctomys* turned out to be an artificial group; their representatives form a paraphyletic clade, in which the families of Oaxaca-Chiapas highlands are different from the representatives of lowland *Nyctomys*. So the Nyctomyini tribe would consist of *Otonyctomys*, *Nyctomys* lowland and highland new clade. Genetic divergence values were high in *Nyctomys* and *Tylomys nudicaudus* with costs above 5%; values for the gene *Cit b* exceed the average of sister species in mammals and suggests the existence of new taxa. The molecular clock shows the origin of the subfamily about 8.45

million years ago during the late Miocene. The four genera of the subfamily diverged during the Pliocene and Pleistocene.

The principal component analysis indicated that the first three components are those that show greater variation and analysis of canonical variables separated very well each genus and found two significantly different ways Nyctomys. Phylogenetically configurations reconstruction shows that the ancestral form that gave rise to the subfamily had a short and robust skull. This configuration originated two types of shape, elongated and compressed dorsoventrally having *Tylomys* and *Ototylomys*, and the short form, wide and globosa presenting the new clade highland, lowland *Nyctomys* and *Otonyctomys*. The back of the jawbone (condyles) presented the biggest changes between the ancestral form and current forms, a situation that may be because it is a bony structure that is under great selection pressures due to adaptation to different types of foraging. Paraphilia of *Nyctomys* is supported by the values of genetic distance, molecular data, differences in form and geographic isolation. The new genus is endemic rodent and is in the highlands of Oaxaca and Chiapas. The molecular information tells us about the diversity of species, the result of a balance between speciation and extinction, whereas the morphological difference is a consequence of adaptation

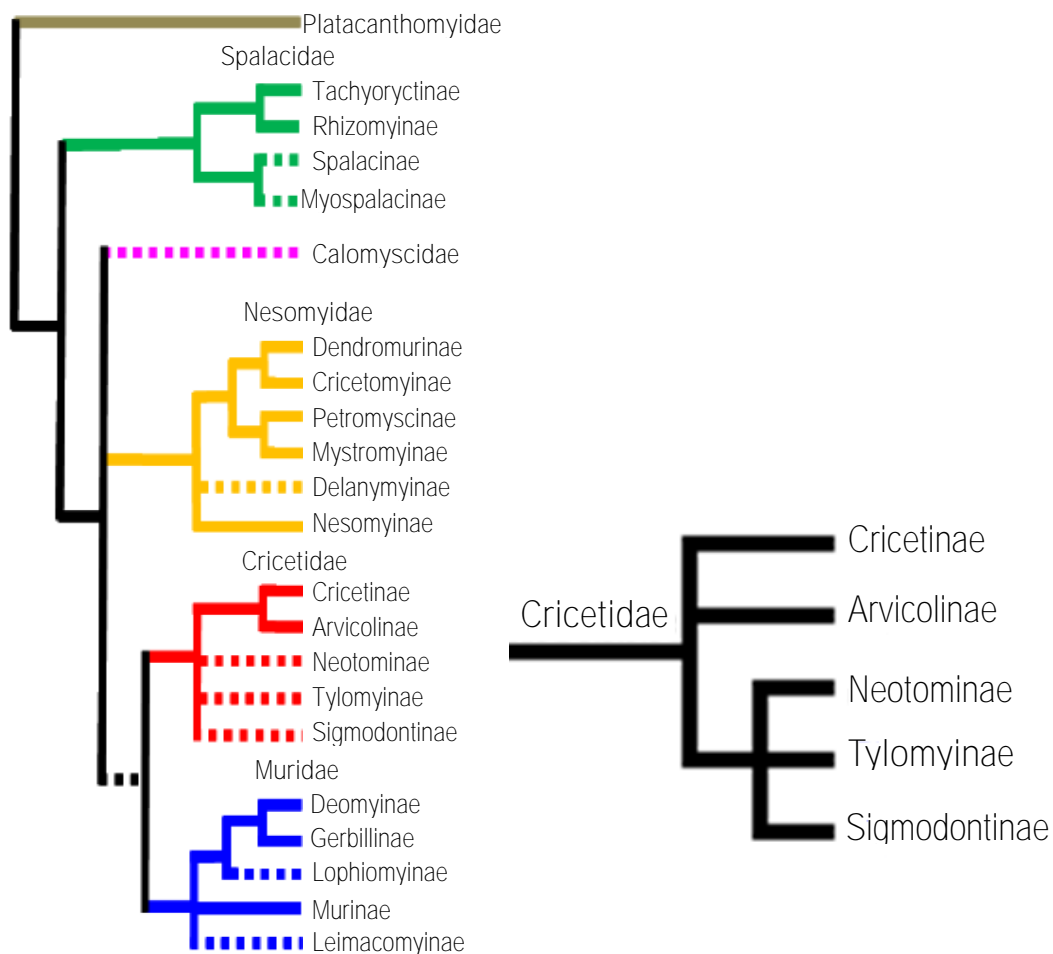


## **Introducción**

Escribir sobre mamíferos arborícolas nos lleva a pensar en primates o ardillas, tal vez porque son a quienes vemos con más frecuencia viviendo en las partes altas de los árboles en selvas y bosques. Sin embargo existe una gran diversidad de mamíferos que habitan en el dosel y de quienes sabemos muy poco, debido principalmente a que la mayoría son pequeños y de hábitos nocturnos-crepusculares, dos características que dificultan su monitoreo y captura con los métodos de trapeo convencionales (Espinoza y Martínez, 2010; Malcolm, 2004). Los roedores no están exentos de lo anterior, pese a que son un grupo ampliamente distribuido y el orden más abundante de la clase Mammalia, siendo alrededor del 45% del total de mamíferos conocidos (Adkins et al. 2001; Wilson y Reeder, 1993). Habitan desde el suelo hasta las partes altas de los árboles, y justamente los representantes arborícolas son de quienes existe escasa información disponible ya sea sobre su biología, densidades poblacionales o patrones de actividad (Domínguez-Castellanos *et al.*, 2007). Se hallan casos donde el único testimonio conocido es el publicado en la descripción original de la especie hace más de 100 años (Anthony, 1916; Merriam, 1901). Los Tilominos son un grupo de ratas y ratones con preferencias arborícolas, que muestran las características anteriormente mencionadas y el estatus taxonómico de sus integrantes es debatido, razones por las que hablaremos a continuación de ellos, enfocándonos en su situación filogenética.

## Subfamilia Tylomyinae

Los roedores de América actualmente se encuentran dentro de un gran complejo denominado superfamilia Muroidea (Fig. 1), clasificados dentro de la familia Cricetidae, representada aproximadamente por 310 géneros y 1517 especies (Musser y Carleton 2005). Contiene cinco subfamilias: Arvicolinae (lemmings, microtinos o metoritos y ratones topo); Cricetinae (hámsters); Neotominae (ratas y ratones de Norteamérica); Sigmodontinae (ratas y ratones del Nuevo Mundo, predominantemente Sudamérica); y Tylomyinae (ratas y ratones arborícolas).



**Figura 1.** Superfamilia Muroidea, árbol basado en genes nucleares y mitocondriales, se resalta la subfamilia Tylomyinae, dentro de Cricetidae. Modificado de Laurent y Montgelard (2012).

La subfamilia Tylomyinae es endémica de América, su distribución en México va desde Jalisco por la costa del Pacífico y desde el norte de Veracruz por la costa del Golfo incluyendo la península de Yucatán. Atraviesa Centro América y termina en el norte de Ecuador y Colombia en América del Sur (Figura 2). Sus representantes arborícolas son clasificados en tres géneros monotípicos: *Nyctomys*, *Otonyctomys*, *Otodylomys* y un género con siete especies: *Tylomys* (Musser y Carleton, 2005; Reig, 1984).



**Figura 2.** En rojo, distribución de la subfamilia Tylomyinae.

### *Otonyctomys*

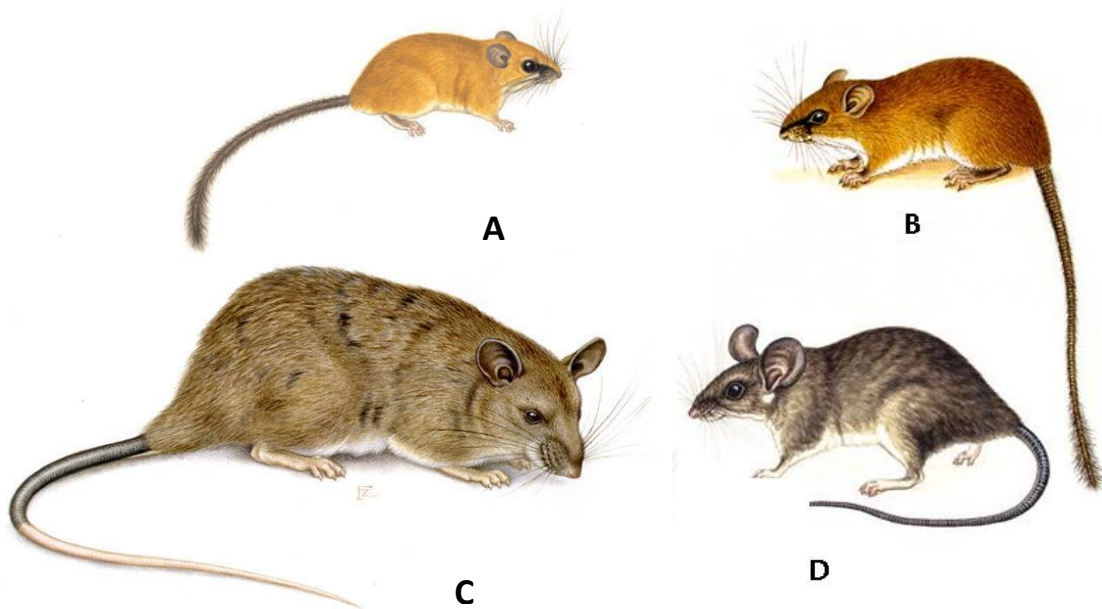
Es el género menos conocido, con un solo representante: *Otonyctomys hatti* (Figura 2.A), ha sido registrado en la península de Yucatán en México, Guatemala y Belice a elevaciones menores de 250msnm (MacSwiney *et al.*, 2009). De tamaño pequeño (34 a 84 g), este roedor posee un rostro corto, con pelo negro alrededor de los ojos a manera de antifaz. Las orejas son de tamaño mediano desnudas y cubiertas de pelo en la base. La coloración de su pelaje en la parte dorsal es uniformemente leonado-anaranjado y brillante, mientras que la

parte ventral es blanca, la cola es gruesa, peluda, de color marrón y con un mechón de pelos que sobresalen en la punta (Aranda *et al.*, 1997; MacSwiney *et al.*, 2009). La característica distintiva de este roedor son las bulas auditivas grandes que ocupan la mayor parte de la base del cráneo (Hall, 1981). Es una especie de hábitos nocturnos, registrada en selvas medianas subperennifolia, selva alta perennifolia (Aranda *et al.*, 1997) y en selvas inundables (observación personal).

### *Nyctomys*

Es un género monotípico, contiene a *Nyctomys sumichrasti* (Figura 2.B) y son reconocidas nueve subespecies (*N. s. colimensis*, *N. s. costarricensis*, *N. s. decolurus*, *N. s. florencei*, *N. s. nitellinus*, *N. s. pallidullus*, *N. s. salvini*, *N. s. sumichrasti* y *N. s. venustulus*). Los registros de su distribución van desde México a Panamá; en México se encuentra a través de la Sierra Madre del Sur hacia las tierras costeras del Pacífico desde Colima hasta Chiapas y, por la parte del Golfo desde de la Sierra Madre Oriental hacia la llanura costera del Golfo a través de Veracruz y Tabasco, pasando por Centro América hasta Panamá (Genoways y Jones, 1972; Hall, 1981; Hunt *et al.*, 2004; Ramírez-Pulido *et al.* 2014).

*N. sumichrasti* de tamaño pequeño (40 a 55 g), de cabeza grande, con vibrisas largas, orejas pequeñas, anchas y casi desnudas, los ojos son relativamente grandes y alrededor presenta una banda de pelos que van de café oscuro a negro. El pelo es suave y espeso su color varia de marrón-rojizo a naranja, los costados son del mismo color que el dorso pero más claro y la parte del vientre varia de blanco a crema. Las patas son blancas y las extremidades posteriores cortas, anchas y los dedos largos (excepto el primer dedo) mientras que el cuarto es el más largo; presenta seis almohadillas plantares muy desarrolladas, la superficie plantar es desnuda y posee garras comprimidas y curvadas como una adaptación de un estilo arbóreo. La cola es parda, peluda y termina en un mechón que asemeja un pincel; su longitud es casi del tamaño del cuerpo (Hunt *et al.*, 2004; Peña *et al.* 2005). De hábitos nocturnos, ha sido reportado en selvas altas, selvas medianas y en menor proporción en selva baja. Se encuentra desde el nivel del mar hasta los 2950 msnm (Corley *et al.*, 2011).



**Figura 3.** Integrantes de la subfamilia Tylomyinae. A) *Otonyctomys hattii*; B) *Nyctomys sumichrasti*; C) *Tylomys nudicaudus*; D) *Ototylozomys phyllotis*. Tomadas de INBio.

### *Tylomys*

*Tylomys* (Figura 2.C), es el único género de la subfamilia con más de una especie. Son reconocidas actualmente siete especies nominales: *T. bullaris* y *T. tumbalensis*, reportadas solo para la localidad tipo, Tuxtla Gutiérrez y Tumbala respectivamente, en el estado de Chiapas, México; *T. nudicaudus*, simpátrica con las especies anteriores, distribuida en México y hasta Nicaragua; *T. watsoni* registrada de Costa Rica a Panamá; *T. fulviventer* al lado este de la cordillera del Darién Panamá; *T. panamensis* en lo que se conoce como el alto Darién, Panamá; y *T. mirae* que se encuentra en el norte de Colombia y Ecuador, ubicándose entre la cordillera de los Andes y las laderas Oeste de la cordillera del Darién en Panamá (Espinoza, 2005; Espinoza *et al*, 2006; Espinoza y Martínez, 2010; Musser y Carleton, 2005).

Son ratas de tamaño grande (250-270 g.); el pelaje es suave en los adultos y su color varía de rojizo canela a gris. La cola es casi tan larga como el cuerpo, desnuda, escamosa y bicolor; los dos tercios de la base son de color oscuro y el tercio restante blanco. Las orejas

son redondas y grandes, las uñas de las patas están cubiertas con pelos blancos que sobresalen (Espinoza, 2002, 2014; Espinoza y Martínez, 2010)

De hábitos nocturnos-crepusculares, con gran actividad a la media noche (Méndez-Carvajal *et al*, 2015), vive en bosques tropicales deciduos y perennifolios y bosque de montaña. Se refugia en huecos de árboles, rocas y cuevas; ha sido capturada sobre ramas en los árboles y también a nivel de suelo (observación personal). Se le ha registrado en elevaciones que van desde el nivel del mar hasta 1600 msnm (Espinoza, 2014).

### ***Otodylomys***

Finalmente, *Otodylomys phyllotis* (Figura 2.D) es la única especie del género, se le ha registrado en Tabasco, Chiapas, la península de Yucatán y dos registros aislados en el estado de Guerrero en México, mientras en Centroamérica llega hasta Costa Rica. Son consideradas tres subespecies: *australis* en Costa Rica, *connectens* en Guatemala-Chiapas y *phyllotis* en el resto de su distribución (Lawlor, 1982; Ramírez-Pulido *et al.* 2014).

Los adultos presentan un tamaño mediano (80 a 120 g), de cuerpo delgado, pelaje suave abundante donde el dorso fluctúa en tonalidades grises, mientras que va de crema a blanco en la zona ventral, esta variación se presenta a lo largo de su distribución. Posee ojos grandes, las orejas son café pálido y en la base presenta una mancha característica de color blanco. La cola es larga, sin pelo y cubierta con escamas. Los ecosistemas en los que se encuentra van de bosque tropical húmedo, selvas secas deciduas y bosque nublado hasta vegetación secundaria y cafetales (Arita, 2005; Gutiérrez-García y Vázquez-Domínguez, 2012; Lawlor, 1982) se le ha registrado hasta los 2000 msnm (Lawlor, 1982).

### **El problema de Tylomyinae**

Las primeras propuestas taxonómicas y filogenéticas fueron incapaces de resolver las relaciones de los integrantes de la subfamilia, reflejo de ello fue su inclusión y exclusión en dos grandes grupos de cricétidos a través de los años, es decir, estos roedores arborícolas han sido clasificados como miembros de Neotominae (Hooper, 1960; Hooper and Musser, 1964); como miembros de Sigmodontinae (Hooper, 1960; McKenna y Bell, 1998) y reconocidos como un grupo independiente: Tylomyinae (Carleton, 1980; Musser y Carleton, 2005; Reig, 1984). Hoy en día, las homologías de diversos caracteres

morfológicos y moleculares sugieren que *Tylomys* y *Otomyomys* componen la tribu Tylomyini mientras que *Nyctomys* y *Otonyctomys* la tribu Nyctomyini (Bradley *et al.*, 2004; Musser y Carleton, 2005).

*O. phyllotis* es una especie que se encuentra muy bien representado en colecciones nacionales y extranjeras, debido a ello existe amplia información sobre este grupo (Hall, 1981; Gutiérrez-Blando, 2015; Lawlor, 1982). Presenta diferenciación morfométrica, morfológica e incluso cromosómica que exhibe a lo largo de su distribución. Filogeográficamente, Gutiérrez-García, (2008, 2012) reconoce la existencia de tres haplotipos (Centroamérica, Chiapas-Guatemala y Península de Yucatán) congruentes con la distribución de las tres subespecies: *australis*, *connectens* y *phyllotis* (Musser y Carleton, 2005; Gutiérrez-Blando, 2015).

El caso de *Tylomys* ha sido motivo de controversia debido a la falta de información de las siete especies descritas y a que cuatro son endémicas de una sola localidad, 2 en México (*bullaris* y *tumbalensis*) y 2 en Panamá (*panamensis* y *fulviventer*). Los siete taxa presentan gran variación en los caracteres que se usan para identificarlas por lo que se han propuesto sinonimias y subespecies para los representantes de Centroamérica y norte de Suramérica (Cabrera, 1961; Handley, 1966). En México, Espinoza (2005) basándose en distintos rasgos morfológicos no reconoce a *T. bullaris* y *T. tumbalensis* como válidas. Del resto de las especies, salvo su descripción, no existe información científica disponible.

La situación de *Nyctomys* resulta polémica dado que la mayoría de la información taxonómica está restringida a la descripción original (Hunt *et al.*, 2004) y la evidencia molecular sugiere que la taxonomía del género debe ser revaluada (Corley *et al.*, 2011). Morfológicamente, Musser y Carleton (2005) examinaron ejemplares de museo proponen la existencia de dos grupos, basados en la variación de la carótida (completa vs derivada) y número de raíces molares (tres vs cuatro). Así el primer grupo correspondería a las poblaciones del noroeste del Istmo de Tehuantepec (*pallidulus* y *sumichrasti*) y el segundo grupo al sureste (*costarricensis*, *decolorus*, *florencei*, *nitellinus* y *venustus*). No hay comentarios concernientes a *colimensis* y *salvini*.

Finalmente *Otonyctomys hatti* es considerado una especie rara, dado que la información que se tiene de ella es aún más reducida, fue descrita en 1932 pero incluida en Tylomyinae por Reig hasta 1984. Existe un limitado número de individuos colectados y depositados en colecciones científicas nacionales y extranjeras, 18 ejemplares para ser exactos hasta el año 2010. Y solo la referencia de 10 localidades, siete de ellas en México (una en Yucatán, cuatro en Campeche y dos en Quintana Roo) dos en Belice y una en Guatemala (Aranda *et al.*, 1997; Hugh *et al.*, 2004; MacSwiney *et al.*, 2009; Panty-May *et al.*, 2014).

Un grupo tan numeroso y complejo como los roedores ha tenido continuos cambios en su clasificación. De tal forma que, el estatus específico de muchas poblaciones es dudoso y en muchos casos es debatido (Arellano *et al.* 2006; Cabrera, 1961; Espinoza y Martínez, 2010; Hall, 1981). Las técnicas utilizadas para determinar familias, géneros y especies se han ido modernizando; inicialmente las especies eran determinadas con base en rasgos morfológicos como la coloración del cuerpo, el tipo de pelo, el tamaño del animal y las principales características craneales (Arellano *et al.* 2006). Atributos con amplia variación, por lo que fue necesario llevar a cabo análisis morfométricos en donde las medidas craneales funcionaron como el principal argumento para determinar algunas especies (Espinoza y Martínez, 2010). Y al paso de los años se ha complementado con técnicas moleculares, que permiten determinar especies mediante el reconocimiento de la secuencia de algunos genes nucleares y mitocondriales (Arellano *et al.* 2006; Baker y Bradley, 2006; Bradley *et al.* 2004; Fabre *et al.*, 2012). Este trabajo emplea morfometría geométrica, la cual ha dado resultado para resolver relaciones filogenéticas en otros grupos de mamíferos (Cardini, 2003; Cardini y O'higgins, 2004; Catalano, *et al.*, 2015; Even *et al.*, 2008; Panchetti *et al.*, 2008; Scalici y Panchetti, 2011) y datos moleculares, secuencias de *Cit-b*, gen mitocondrial utilizado en estudios filogenéticos para mamíferos por su alta tasa de evolución y resolución (Bradley y Baker, 2001; Edwards y Bradley, 2002; Lottie y Bradley, 2000; Ordoñez-Garza *et al.*, 2014; Sullivan *et al.*, 1997); lo anterior para entender y explicar desde el punto de vista sistemático grupos complejos de roedores como son los integrantes de Tylomyinae.



### **Caracteres morfométricos: Morfometría geométrica.**

La morfometría geométrica, definida como la unión entre la biología y la geometría, se destaca especialmente por la facultad de analizar la variable “forma” y la variable “tamaño” de manera independiente (Zeldich *et al.*, 2004). Propone estudiar los cambios en el tamaño y la forma a partir del desplazamiento en el plano (dos dimensiones, 2D) o en el espacio (tres dimensiones, 3D) de un conjunto de puntos anatómicos registrados con coordenadas cartesianas. Las marcas se colocan en regiones cuya supuesta homología de un individuo a otro es respaldada por una sola evidencia o significación biológica, la base de esta correspondencia puede ser filogenética (puntos homólogos), estructural, de desarrollo o biomecánico (Richmeier *et al.*, 2002). La relación espacial en dos o tres dimensiones de estas marcas siempre se conserva a lo largo de todo el análisis, lo que permite reconstruir y visualizar con precisión la forma y el tamaño del objeto estudiado (Ospina, 2010; Rohlf, 1990; Vargas, 2010 Zeldich *et al.*, 2004). La forma, en morfometría geométrica, es toda la información geométrica que no sufre cambios al ser sometida a procesos de sobreposición, escalamiento y rotación (Zeldich *et al.*, 2004).

Para analizar la forma a través de la morfometría geométrica, es necesario transformar los datos del espacio geométrico a un espacio lineal, acción que se realiza mediante métodos de superposición denominado análisis generalizado de *Procrustes* (Sheets, 2004). Este es un método que realiza una corrección entre todas las configuraciones de la matriz de manera que coincidan los centroides respectivos, minimizando la suma del cuadrado de las distancias entre marcas homólogas (Zeldich *et al.*, 2004). Tras corregir estos efectos de orientación espacial los números coincidirán exactamente si su forma es idéntica y será posible estudiar la forma desde una perspectiva geométrica por métodos estadísticos convencionales.

En análisis cladísticos, este enfoque utiliza las superposiciones y configuraciones de landmarks simultáneamente, es básicamente superposición filogenética que elimina las diferencias entre configuraciones mediante la selección de las rotaciones y orientaciones óptimas que minimicen las distancias lineales (euclidianas) entre cada coordenada correspondiente a un landmark (Catalano *et al.*, 2010; Catalano y Goloboff, 2012; Goloboff y Catalano, 2011). La posición de las terminales se intercambia en el árbol hasta que la

alineación de las configuraciones y la longitud de los árboles son óptimas en términos del valor total sobre todas las marcas y todas las ramas de los árboles. Este enfoque de homología dinámica puede ser usado para mapear configuraciones bajo un árbol dado (Catalano y Goloboff, 2012). Dicha propuesta permite combinar cualquier otro tipo de datos a los estudios filogenéticos, por ejemplo las secuencias de ADN (Catalano *et al.*, 2010; Catalano y Goloboff, 2012; Goloboff y Catalano, 2011). Para realizar un estudio cladístico, los datos obtenidos a partir de la morfometría geométrica pueden analizarse de manera directa (caracteres continuos) sin codificación de las coordenadas (Catalano *et al.*, 2014; Ospina 2016; Soto-Vivas *et al.*, 2011) o utilizando las coordenadas de tal manera que sean empleadas como caracteres discretos (González-Jose *et al.*, 2008; MacLeod, 2002).

En mamíferos el uso de la morfometría geométrica ha sido de gran utilidad como herramienta taxonómica en la discriminación de especies (Vázquez-García, 2011), estudios ontogenéticos (Vargas, 2010) y ecológicos (Ospina, 2010). Sin embargo es de reciente aplicación en el estudio de la inferencia filogenética, donde se han llevado a cabo reconstrucciones usando este método, en artrópodos (Soto-Vivas *et al.*, 2011) y mamíferos (Catalano *et al.*, 2014; Nájera, 2013; Panchietti *et al.*, 2008), dando como resultado clados congruentes equivalentes a las propuestos con información molecular.

### **Marcadores moleculares: ADN mitocondrial (Citocromo b)**

Por otro lado los marcadores moleculares son herramientas que permiten, entre otras cosas, evaluar la ecología, sistemática y filogenia a diferentes niveles taxonómicos. La elección del marcador se basa en el tipo de datos (cuantitativos o cualitativos) necesarios para el estudio, tipo de herencia y tasa de evolución del marcador. Existen propiedades de los marcadores moleculares, tales como: ser distintivo y estar distribuido de tal forma que permita comparaciones de homología entre diferentes organismos, tener una estructura genética sencilla (ausencia de secuencias repetidas, transposones, pseudogenes e intrones) y ser heredado de una forma estricta (genes ortólogos). Los distintos tipos de marcadores moleculares se pueden diferenciar de acuerdo a su origen (nuclear o mitocondrial) y si codifican proteínas o no (Avice, 2004; Carranza, 2002)

El ADN mitocondrial (ADNmt) posee las características anteriormente mencionadas y ha sido ampliamente utilizado en estudios filogenéticos. Es de herencia materna, está organizado en forma de doble hélice circular, cerrada y presenta replicación unidireccional altamente asimétrica, que en vertebrados tiene un tamaño aproximado de 16000 pares de bases. En la mayoría de los organismos no presenta intrones, fragmentos repetitivos o pseudogenes. 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 (Awise, 2004; Carranza, 2002; Gutiérrez-García, 2008; Maureen et al., 1981). Aunque el genoma mitocondrial presenta las particularidades de un buen marcador molecular, la existencia de heteroplasmia, homoplasia, tasas de cambio distintas a lo largo de la molécula y herencia estrictamente materna, representa limitantes que deben ser consideradas durante la interpretación de la información que ofrece (Awise, 2004; Gutiérrez-García, 2008).

El tipo de sustitución 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 de manera de “reloj molecular”, permitiendo así el cálculo del tiempo de divergencia a distintos niveles taxonómicos (Awise, 2004).

El citocromo b es la única proteína transcrita por el genoma mitocondrial, pertenece al complejo III del sistema de fosforilación oxidativa de la mitocondria. Funcionalmente, las mutaciones de éste 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. En general, existen grandes diferencias entre especies en la tercera posición del codón (altas tasas de sustituciones silenciosas), mientras la primera y segunda posición presentan pocos cambios. La tasa de transición-transversión es inconsistente 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. Las regiones altamente conservadas se

encuentran en las posiciones 30-40, 70-80, 120-150, 160-190 y 260-280, 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 (Martin y Palumbi, 1993; Prusak y Grzbowski, 2004).

El *Cit-b* ha sido ampliamente utilizado en estudios sobre genética poblacional, filogenia y filogeografía de distintos grupos de roedores (Bradley *et al.*, 2004, 2007; Galewski *et al.*, 2006; Gutiérrez-García y Vázquez-Domínguez, 2012).

### **Objetivo.**

Conocer la relación taxonómica de los integrantes de la subfamilia Tylomyinae, usando como grupo externo a *Neotoma* y *Sigmodon*, mediante un análisis filogenético con secuencias de ADN mitocondrial y configuraciones de cinco formas del cráneo y dentario.

### **Objetivo particular.**

Evaluar la relación taxonómica de los integrantes del género *Nyctomys*.

### **Hipótesis.**

- La subfamilia Tylomyinae es monofilética
- La Tribu Tylomyini comprende a *Tylomys* y *Ototylomys*
- La Tribu Nyctomyini está formada por *Nyctomys* y *Otonyctomys*

### **Métodos.**

Para la obtención de datos y muestras de ejemplares de *Tylomys*, *Ototylomys*, *Otonyctomys* y *Nyctomys* se realizaron salidas de campo y visitas a colecciones científicas nacionales y extranjeras a lo largo del año 2013. La colecta en campo se efectuó en los estados de Campeche, Oaxaca, Quintana Roo y Yucatán, con resultados positivos en cada salida. El esfuerzo de colecta fue de 200 trampas tipo Sherman por noche, cebadas con avena y vainilla, parte de las trampas se colocaron sobre ramas y zonas altas de los árboles. Los ejemplares capturados se depositaron en la colección del MZFC, donde las muestras de tejido fueron preservadas en etanol al 96% y congeladas a -70°C. Durante la salida a la Península de Yucatán se visitó la Universidad Autónoma de Yucatán (UADY) donde se logró la donación de un par de ejemplares de *O. hatti* a la colección del MZFC, los cuales constan de piel, cráneo y tejido.

Se visitaron cinco colecciones mastozoológicas nacionales: Colección Nacional de Mamíferos, Instituto de Biología, UNAM (CNMA); Museo de Zoología de la Facultad de Ciencias UNAM (MZFC); Instituto de Historia Natural de Chiapas (IHNCH); El Colegio de la Frontera Sur, Unidad San Cristóbal (ECOSUR); Universidad Autónoma de Yucatán, Colección de Mamíferos (UADY-CM); y una colección extranjera en el American Museum of Natural History (AMNH) de Nueva York, Estados Unidos. Adicionalmente se utilizó un archivo fotográfico correspondientes a *O. phillotis* de ejemplares depositados en la colección de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas (ENCB); El Colegio de la Frontera Sur, Unidad Chetumal (ECOCHM); Instituto Nacional de Antropología e Historia; National Museum Natural History, Smithsonian Institution (NMNH); Luisiana State University Museum of Natural Science (LSU), ver anexo IV.

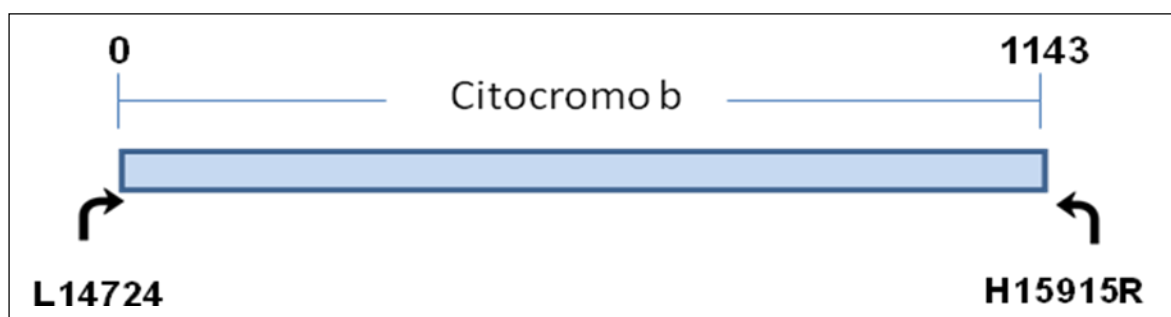
En cada acervo se revisó el material depositado correspondiente a Tylomyinae, donde se reunió información referente a medidas somáticas y craneales; localidades de colecta; fotografías de los cráneos y dentarios. Así como muestras de tejido y piel cuando la colección lo permitió, para los análisis moleculares del estudio. Lo anterior también se realizó con ejemplares de *Sigmodon* y *Neotoma* que fueron utilizados como grupos externos por ser géneros hermanos de Tylomyinae y polarizar los caracteres.

#### **Obtención de datos moleculares.**

El protocolo para la extracción de ADN fue por el método de NaCl y cloroformo: alcohol isoalimico (Anexo V). La amplificación del gen *Cit-b* se realizó mediante la técnica de reacción de la polimerasa (PCR, por sus siglas en ingles), utilizando dos oligonucleótidos, que son secuencias cortas de ADN o ARN, con cuarenta pares de bases o menos y que funcionan como cebadores para amplificar el gen (Cuadro 1).

**Cuadro 1.** Oligonucleótidos utilizados para amplificar el gen *Cit-b* en los roedores de la subfamilia Tylomyinae.

Oligonucleótido	Secuencia 5' a 3'
L14724	CGAAGCTTGATATGAAAACCATCGTTG
H15915R	GGAATTCATCTCTCCGGTTTACAAGAC



**Figura 4.** Amplificación del gen *Cit-b* (1143pb), se representa con la barra, las flechas indican la dirección de los oligonucleótidos utilizados para secuenciar cada fragmento

Las condiciones y concentraciones tuvieron un volumen final de 12.5  $\mu$ L por reacción, de los cuales fueron: 7.325  $\mu$ L de H<sub>2</sub>O, 1.25  $\mu$ L de Buffer [10x], 0.825  $\mu$ L de Mix dNTP's [2mM], 0.75  $\mu$ L de MgCl<sub>2</sub> [25mM], 0.625  $\mu$ L de cada oligonucleótido [10 $\mu$ M], 0.1  $\mu$ L de polimerasa Taq [5u/ $\mu$ L] y 1  $\mu$ L de ADN; durante cada iteración de PCR se utilizó un control negativo para descartar contaminación. El programa para la amplificación de cada fragmento se observa en el cuadro 2.

**Cuadro 2.** Parámetros empleados para la amplificación del gen *Cit-b*

	<b>Temperatura</b>	<b>Tiempo</b>	<b>Ciclos</b>
<b>Desnaturalización inicial</b>	95	06:00	
<b>Desnaturalización</b>	95	00:45	
<b>Alineación</b>	48	01:00	10
<b>Extensión</b>	72	01:30	
<b>Desnaturalización</b>	95	00:45	
<b>Alineación</b>	48	01:00	30
<b>Extensión</b>	72	01:30	
<b>Extensión final</b>	72	08:00	

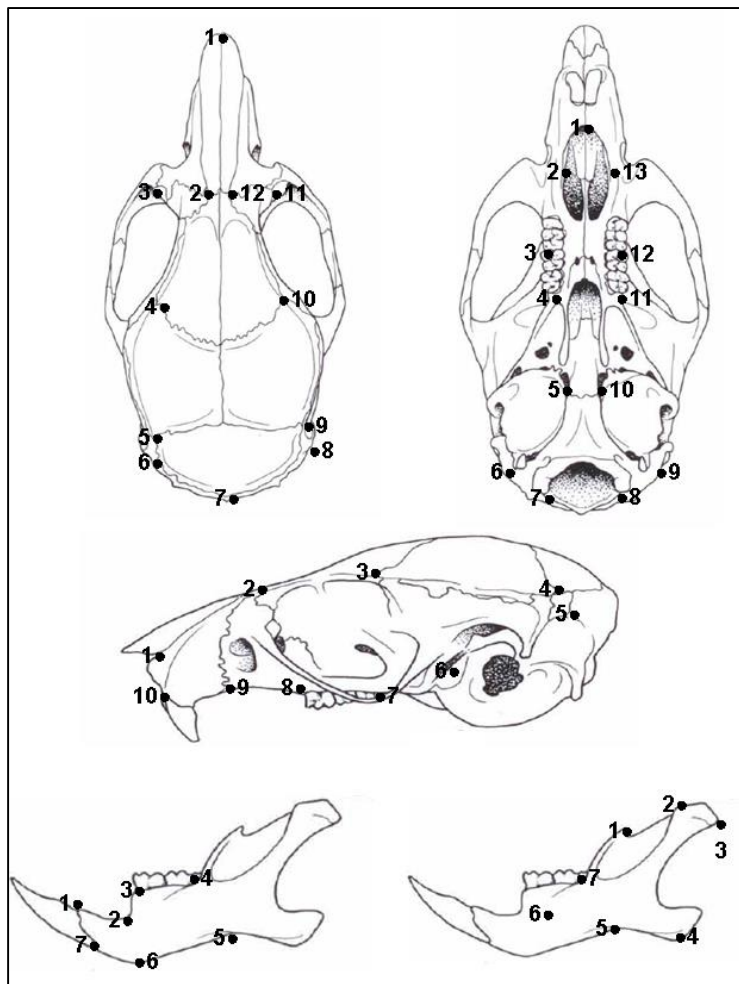
Posteriormente, se usó 1.5  $\mu$ L de la solución, producto de la PCR, para realizar la electroforesis en geles de agarosa TAE [1x] teñidos con azul de metileno y se visualizó, considerando como referencia una muestra cuyo tamaño del fragmento amplificado era conocido. Estos productos se enviaron al High-Throughput Genomics Center, Department of Genome Sciences- University of Washington, donde fueron purificados con Exo-Sap y preparados para ser leídos en un secuenciador automático ABI 3730xl. Para aumentar la muestra se buscaron y descargaron secuencias publicadas en Genbank referentes a los taxa que se estudiaron en el presente trabajo, así como también las secuencias que conformarían los grupos externos *Sigmodon* y *Neotoma* (Ver anexo IV).

### **Selección de ejemplares.**

La parte morfométrica de esta investigación solo considero ejemplares adultos, por ello con el fin de establecer un criterio para la designación de las edades, se tomaron como punto de partida los trabajos de Espinoza (2002); Genoways y Jones (1972) y Lawlor (1969). De manera general los autores antes mencionados coinciden en determinar la edad basándose en el desgaste de los molares. Nosotros, adicionalmente, consideramos el pelaje, medidas somáticas, la osificación y la forma del cráneo como elementos adicionales para delimitar las edades. De tal manera definimos cinco categorías de edad (ver anexo I) para cada grupo estudiado. Los ejemplares incluidos en las categorías de edades III, IV y V fueron considerados adultos.

### Obtención de datos morfométricos (caracteres cuantitativos continuos).

Para analizar la forma del cráneo se generaron fotografías digitales en formato jpg. La región labial del dentario fue dividida en dos módulos, el primero corresponde a la parte anterior donde se encuentran los incisivos, ramus mandibular y molares; mientras que la parte posterior corresponde a los procesos mandibulares. El resto de las vistas pertenecen a la parte dorsal, ventral y lateral del cráneo. Cada elemento óseo fue colocado junto a una escala en milímetros, siendo fotografiados con una cámara digital (Canon Power Shot A480). La cámara fue montada en un tripié para asegurar que el lente de la cámara y el plano del ejemplar estuviesen en paralelo.



**Figura 5.** Propuesta de la ubicación de marcas en las vistas del cráneo y dentario.



Para describir el espacio geométrico que explicara la forma del dentario y del cráneo en sus cinco diferentes vistas, se propusieron las siguientes marcas: 12 para la vista dorsal; 13 para la vista ventral; 10 para la vista lateral; 7 para la parte anterior del dentario (incisivos) y 7 para la parte posterior del dentario (figura 5 y anexo II). Cada configuración equivale a un carácter en el análisis filogenético. El dentario se dividió en dos módulos ya que en roedores ambas partes proporcionan información filogenética (Casanovas-Vilar y Dam, 2013; Klingenberg *et al.*, 2001)

Las marcas fueron digitalizadas mediante el método de descomposición “*Thin Plate Spline*” TPS (Rolf, 2008). En las configuraciones de las coordenadas se llevó a cabo una superposición Procrustes utilizando CoordGen (Sheets, 2004).

El análisis de superposición Procrustes permite generar un valor promedio de la forma (configuración consenso) que puede ser evaluado con análisis cladísticos, en donde las diferencias entre las configuraciones de marcas entre el ancestro y el descendiente son interpretadas como el cambio en la forma (Catalano y Goloboff, 2012).

### **Análisis filogenéticos.**

#### **Análisis de los datos moleculares.**

Una vez obtenidas las secuencias, se editaron y alinearon a través de una revisión visual de todas ellas con el uso del software Bioedit (Hall, 1999) y, posteriormente su conversión a aminoácidos para confirmar el alineamiento mediante el empleo del software MEGA 5.05 (Tamura *et al.*, 2011). Se obtuvo una matriz de distancias genéticas a nivel intraespecífico e interespecífico, incluyendo la matriz completa comparando cada uno de los individuos (Anexo V, cuadro a). Los resultados son producto del análisis pareado, basado en el modelo de dos parámetros de Kimura (Kimura, 1980).

Las relaciones filogenéticas fueron analizadas bajo el criterio de Maxima parsimonia (MP) e Inferencia Bayesiana (IB). El análisis con MP se realizó utilizando el software TNT (Goloboff *et al.*, 2003) mediante un procedimiento heurístico con el reordenamiento de ramas TBR (Tree Bisection and Reconnection) de 1000 replicas; a partir de los árboles más parsimoniosos se construyó un árbol consenso de mayoría, donde el soporte de los clados se consiguió mediante 1000 réplicas Bootstrap (Felsenstein, 1985).

La IB requiere un modelo de sustitución nucleotídica que mejor se ajuste a la evolución de las secuencias, este se obtuvo en el software jModelTest 0.1.1 (Posada, 2008). Considerando el modelo evolutivo y sus parámetros asociados, efectuamos la hipótesis por IB en el software MrBayes 3.2 (Ronquist et al, 2012) empleando el algoritmo de Cadenas de Markov Monte Carlo (MCMC) con dos cadenas calientes y una fría, en dos corridas simultáneas e independientes de 8,000,000 de generaciones muestreando datos cada 1000 generaciones; las corridas fueron analizadas por separado y acopladas para visualizar la convergencia de las cadenas usando el programa TRACERv1.5 (Drummond y Rambaut, 2007). La topología final se alcanzó con 5066 árboles que contienen el 99% de credibilidad, el porcentaje de muestreo recuperado para cada clado particular fue asumido como la probabilidad posterior del clado; finalmente el árbol consenso se visualizó en el programa FigTreev1.3.1 (Rambaut, 2009).

Realizamos un análisis de reloj molecular con el programa BEASTv1.7.4 (Drummond y Rambaut, 2007), calibrado con la evidencia del registro fósil y puntos secundarios. Utilizamos fechas de fósiles pertenecientes a *Neotoma* y *Sigmodon* del Plioceno (PDB, The Paleobiology Database, 2011; Schenk et al., 2013), en tanto que los puntos secundarios proporcionaron fechas para *Ototylomys* y *Nyctomys* (Gutiérrez-García y Vázquez-Domínguez, 2012; Corley *et al.* 2011).

Empleando el modelo de sustitución nucleotídica GTR y un reloj molecular relajado con tasas de distribución lognormales para fósiles y distribuciones normales para los puntos secundarios, se realizaron dos corridas independientes de MCMC de 15,000,000 de generaciones con submuestreos cada 1500 generaciones. Las corridas fueron analizadas por separado y acopladas para visualizar la convergencia de las cadenas usando el programa TRACERv1.5 (Drummond y Rambaut, 2007); posteriormente concertamos el número de árboles en LogCombiner1.7.4 (Drummond y Rambaut, 2007) para un total de 30,002 árboles retenidos, después realizamos un burning con TreeAnnotatorv1.7.4 (Drummond y Rambaut, 2007) donde se eliminaron la mitad de los árboles (15,002) con los valores más bajos. Finalmente el árbol con los mejores valores se visualizó en el programa FigTreev1.3.1 (Rambaut, 2009).

### **Análisis de los datos morfométricos.**

Las coordenadas *Procrustes* (x,y) obtenidas de las cinco configuraciones fueron sometidas a un análisis de componentes principales (PCA por sus siglas en inglés) PCAGen de la serie IMP (Sheets, 2004), con la idea de conocer su posición (ordenación) en un espacio de coordenadas y estimar la varianza en la forma entre los linajes bajo estudio. Las cinco vistas generaron nubes de puntos (especies) separadas por la forma (ver anexo). Realizamos un análisis de variables canónicas (CVA por sus siglas en inglés) para simplificar la descripción de las diferencias entre grupos con base en las formas propuestas (ver anexo III). Posteriormente obtuvimos los promedios de cada forma utilizando CoordGen (Sheets, 2004), de esta forma obtuvimos los cinco caracteres para los análisis filogenéticos, con los que se construyó una matriz y se analizó en el programa TNT bajo criterios de parsimonia; el soporte de los clados se evaluó con 1,000 réplicas del índice de Jackknife, método de remuestreo que utiliza subconjuntos de datos, con el propósito de ver si excluyendo determinados caracteres se afecta la forma del árbol (Felsenstein, 1985).

### **Análisis de los datos combinados.**

Finalmente realizamos una matriz concatenada con los promedios de las cinco configuraciones y los 1141 caracteres moleculares. Que se analizó en el programa TNT (Goloboff et al., 2003) bajo los criterios de parsimonia (Catalano et al, 2010, Goloboff y Catalano, 2011; Catalano y Goloboff, 2012). TNT reconoce un orden en el acomodo de los caracteres dentro de la matriz, de tal manera que los caracteres de las configuraciones (coordenada x,y) deben ir al inicio de la matriz, seguidos por las secuencias moleculares; una vez hecho lo anterior se puede comenzar el análisis. El soporte de los clados se evaluó con el índice de Jackknife, bajo 1,000 réplicas (Felsenstein, 1985).

## Resultados

### Obtención de ejemplares

La salida a campo de 21 días, a la península de Yucatán, dió como resultado un ejemplar macho de *Ototylomys phyllotis* en la selva del campamento Yaaxche, perteneciente a la reserva de la Biosfera Calakmul, Campeche; una hembra y un macho de *O. phyllotis* en la reserva de la biosfera de Sian Kaan, Quintana Roo y una hembra de *Otonyctomys hatti* en la reserva privada El Edén, Quintana Roo. Los *O. phyllotis* fueron colectados en trampas puestas sobre ramas de árboles, en tanto que el ejemplar de *O. hatti*, fue capturado en una trampa puesta sobre el techo de la casa donde se encuentran las habitaciones para los visitantes. La colecta al estado de Oaxaca de 10 días, arrojó un ejemplar juvenil hembra de *Tylomys nudicaudus* en las afueras de Putla Villa de Guerrero, el ejemplar se capturo en una trampa puesta a nivel de suelo.

**Cuadro 3.** Total de ejemplares evaluados morfométrica y molecularmente. Para la parte morfométrica del estudio: VD= vista dorsal, VL=vista lateral, VV=vista ventral, PA=parte anterior del dentario, PP=parte posterior del dentario

Taxon	Total	VD	VL	VV	PA	PP	GenBank	Laboratorio
<i>Sigmodon</i>	20	20	20	20	20	20	2	-
<i>Neotoma</i>	20	20	20	20	20	20	2	-
<i>Tylomys mirae</i>	6	3	3	2	3	3	-	-
<i>T. nudicaudus</i>	65	33	33	34	34	35	2	2
<i>T. tumbalensis</i>	4	4	4	3	4	4	-	-
<i>T. watsoni</i>	3	2	2	2	2	2	-	-
<i>Ototylomys phyllotis</i>	125	82	82	77	77	76	3	4
<i>Nyctomys sumichrasti</i>	193	108	113	104	111	111	7	8
<i>Otonyctomys hatti</i>	24	7	8	8	9	9	1	4
<b>TOTAL</b>	<b>460</b>	<b>279</b>	<b>285</b>	<b>270</b>	<b>280</b>	<b>280</b>	<b>35 secuencias</b>	

La revisión de ejemplares arrojó un total de 460 individuos incluyendo 40 ejemplares adultos de *Neotoma* y *Sigmodon* que serán el grupo externo (cuadro 3), a los cuales se les aplicó el procedimiento explicado en el método para conseguir los datos de la parte morfométrica. Para la parte molecular del proyecto se lograron obtener 13 secuencias de los integrantes de Tylomyinae en la base de datos de GenBank, más cuatro secuencias que pertenecen a los grupos externos, que se añadieron a 18 secuencias generadas en el laboratorio, dando un total de 35 secuencias con 1136 pares de bases (cuadro 3).

### **Distancias genéticas**

Obtuvimos los porcentajes de divergencia genética bajo el modelo de sustitución de nucleótidos del parámetro 2 de Kimura (Kimura, 1980) para todos los tylominidos, por ser comparable con estimaciones de otros mamíferos. Los valores de divergencia del gen *Cit b* son altos dentro del grupo *Nyctomys* (cuadro 4) y altos en *T. nudicaudus* (cuadro 6); son bajos en *O. hatti* (1.7) y de 5.1 en *O. phyllotis*. Valores en el gen *Cit b* por arriba de 5% son altos y sugiere la existencia de nuevas entidades taxonómicas (Baker y Bradley, 2006; Bradley y Baker, 2001).

Los valores altos en las distancias genéticas presentados por *Nyctomys* conllevo a dividirlo en dos grupos: Oaxaca-Chiapas, tierras elevadas y *Nyctomys* tierras bajas. Las distancias genéticas entre ambos grupos (cuadro 5), fueron de 19.3%.

**Cuadro 4.** Promedio en porcentaje (%) de distancias genéticas para el grupo *Nyctomys* (1135 pb).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
<b>1</b> <i>N.s. decolurus</i>															
<b>2</b> <i>N.s. sumichrasti</i>	19														
<b>3</b> <i>N.s. colimensis</i>	14	19													
<b>4</b> <i>N.s. salvini</i>	18	10	19												
<b>5</b> <i>N.s. florencei</i>	8	18	13	18											
<b>6</b> <i>N.s. florencei</i>	8	18	13	18	0.3										
<b>7</b> <i>N.s. decolurus</i>	10	20	15	20	2	2									
<b>8</b> <i>N.s. salvini</i>	13	19	12	20	12	12	13								
<b>9</b> <i>N.s. salvini</i>	13	19	11	20	12	12	14	1							
<b>10</b> <i>N.s. salvini</i>	13	19	12	19	12	12	14	1	0.5						
<b>11</b> <i>N.s. salvini</i>	14	19	12	20	12	12	14	1	0.1	0.6					
<b>12</b> <i>N.s. pallidulus</i>	19	11	19	10	18	18	20	18	18	18	18				
<b>13</b> <i>N.s. pallidulus</i>	19	12	19	10	18	18	20	19	19	19	19	0.5			
<b>14</b> <i>N.s. pallidulus</i>	19	11	19	10	18	18	20	18	19	18	18	0.3	0.3		
<b>15</b> <i>N.s. pallidulus</i>	19	12	19	10	18	18	20	19	19	18	19	0.6	0.6	0.4	

**Cuadro 5.** Promedio en porcentaje (%) de distancias genéticas intergenericas (1135 pb).

	1	2	3	4	5	6	7
<b>1</b> <i>Sigmodon</i>	12.5						
<b>2</b> <i>Neotoma</i>	26.7	2.6					
<b>3</b> Tierras bajas	26.2	25.9	9.7				
<b>4</b> Tierras elevadas	26.6	23.7	19.3	6.7			
<b>5</b> <i>Otonyctomys</i>	28.8	27.3	19.1	18.8	1.7		
<b>6</b> <i>Tylomys</i>	27.1	26.2	25.6	23.2	26.1	8.9	
<b>7</b> <i>Ototylomys</i>	25.4	25.3	26.5	25	24.8	19.7	5.1

**Cuadro 6.** Promedio en porcentaje (%) de distancias genéticas de *Tylomys* y *Ototylomys* (1135 pb).

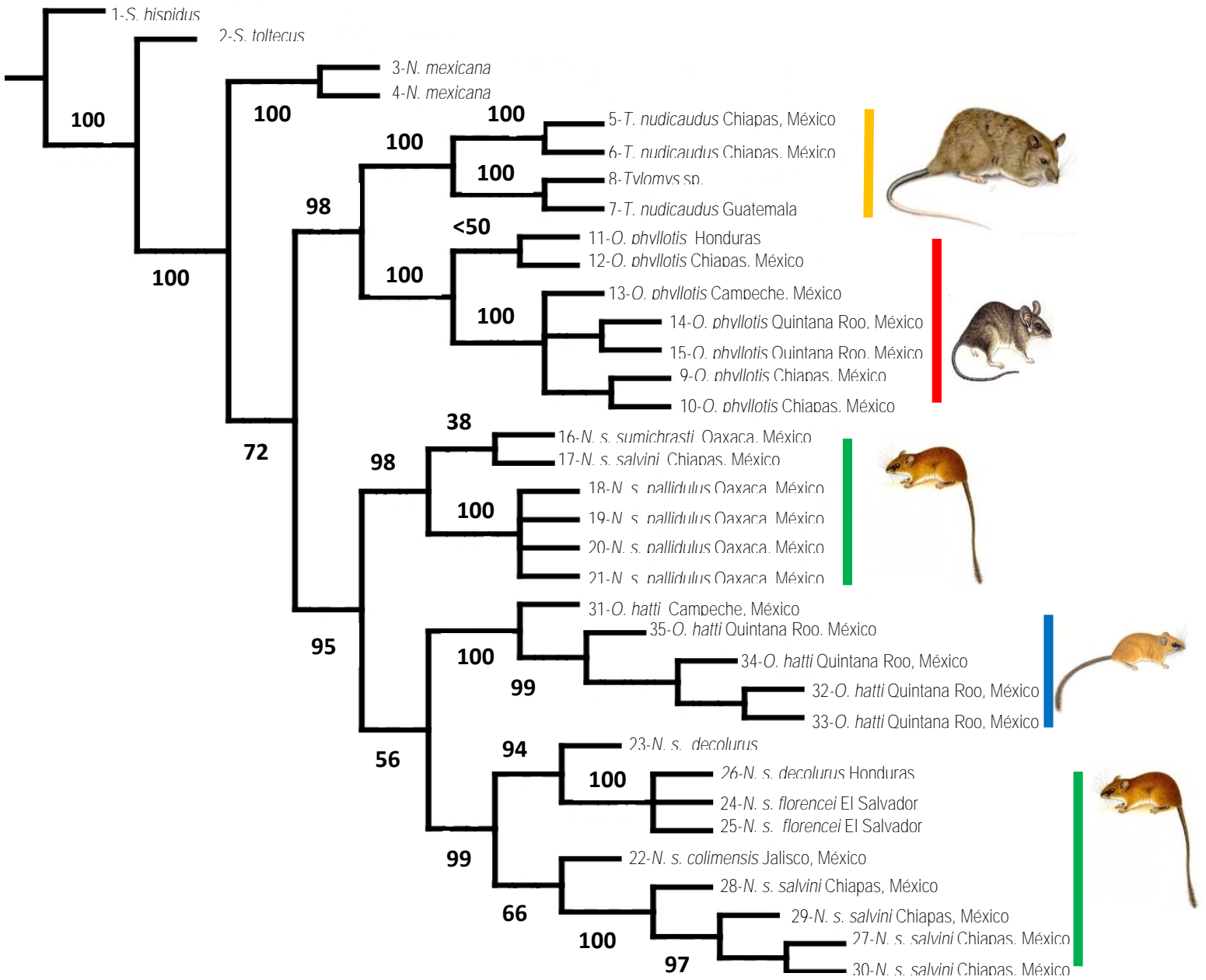
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1 <i>T. nudicaudus</i>											
2 <i>T. nudicaudus</i>	2										
3 <i>T. nudicaudus</i>	12	13									
4 <i>T. nudicaudus</i>	12	13	0.1								
5 <i>O. phyllotis</i>	21	21	19	19							
6 <i>O. phyllotis</i>	20	20	19	19	8						
7 <i>O. phyllotis</i>	19	19	19	19	8	2					
8 <i>O. phyllotis</i>	19	20	18	18	8	1	2				
9 <i>O. phyllotis</i>	19	21	18	18	8	1	2	1			
10 <i>O. phyllotis</i>	19	20	18	18	8	1	3	1	1		
11 <i>O. phyllotis</i>	20	21	18	18	8	7	9	7	7	7	

### Parsimonia

El análisis de parsimonia para el *Cit b* concluyó con tres árboles igualmente parsimoniosos (1716 pasos), a partir de los cuales se generó un árbol de consenso de mayoría (figura 6), mostrando a Tylomyinae como monofilético; se resolvieron los clados de *Tylomys* y *Ototylomys* manteniéndose como especies hermanas. Dentro de *T. nudicaudus* se generaron dos clados: Guatemala y Chiapas; y también dos clados para *O. phyllotis*: Chiapas-Honduras y Campeche-Quintana Roo-Chiapas.

*Nyctomys* aparece como un clado parafilético, donde son los linajes de Oaxaca y Chiapas (a quienes llamaremos, el linaje de Tierras elevadas) los que forman un clado nuevo. Su grupo hermano es el clado formado por *O. hatti* y el resto de *Nyctomys* (a quienes llamaremos *Nyctomys* de Tierras bajas). El nuevo clado está formado por secuencias del norte de Oaxaca-Chiapas y el sur de Oaxaca (ver anexo IV).

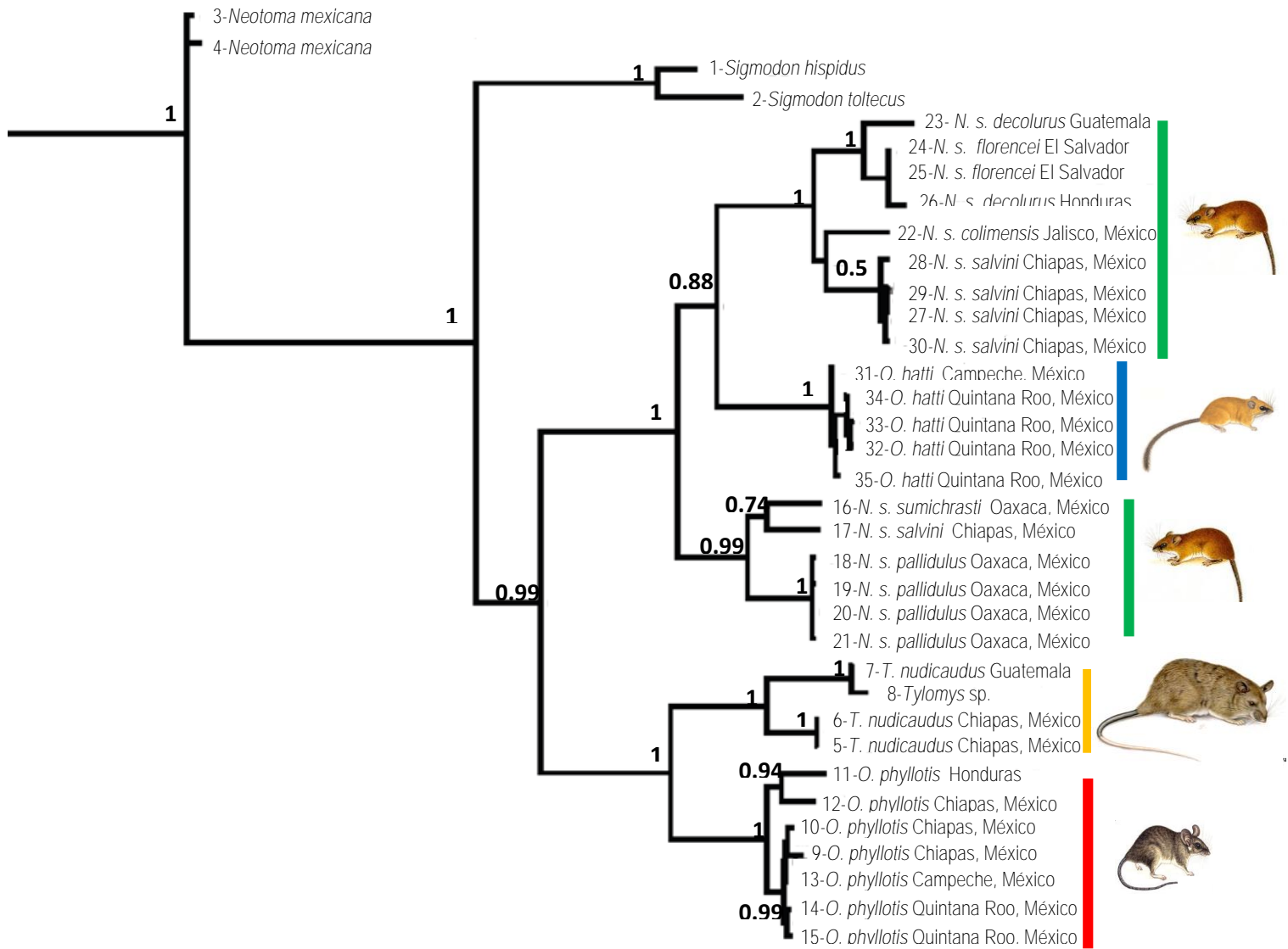
Cuatro de las cinco muestras de *O. hatti* provienen de la misma localidad y son hermanas del linaje de Campeche. Mientras que *Nyctomys* de Tierras bajas forma dos grupos: el de Guatemala-Honduras-El Salvador y el clado de México formado por Jalisco y Chiapas.



**Figura 6.** Árbol de consenso de mayoría (IC= 0.45 IR=0.81) los soportes de los clados están indicados por los valores de Bootstrap. En amarillo *Tylomys*; rojo *Ototylozomys*; azul *Otonyctomys*; verde "*Nyctomys*". Cada ejemplar cuenta con su número de referencia que aparece en el anexo IV.



## Inferencia Bayesiana



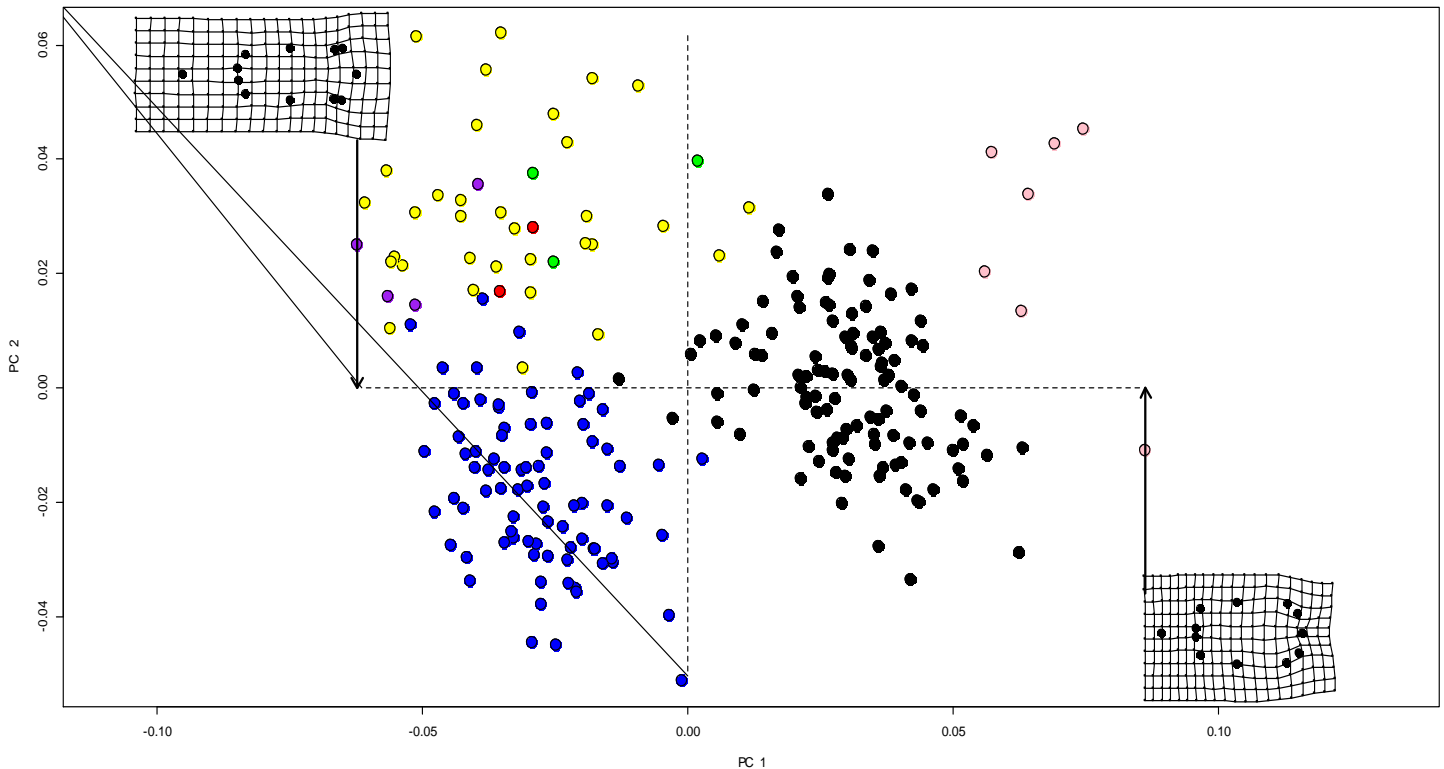
**Figura 7.** Árbol obtenido del análisis de inferencia bayesiana, los soportes en los clados están indicados por las probabilidades posteriores. En amarillo *Tylomys*; rojo *Ototylozomys*; azul *Otonyctomys*; verde “*Nyctomys*”. Cada ejemplar cuenta con su número de referencia que aparece en el anexo IV.

La topología obtenida, a partir del gen *Cit b*, mantiene en general, los mismos arreglos en cuanto a las relaciones filogenéticas que el análisis de parsimonia, los valores de probabilidad posterior en general son altos y cercanos a uno, salvo el valor de 0.5 en el

nodo que sostiene al clado de “*Nyctomys*” formado por Jalisco y Chiapas. *Tylomyinae* se mantiene como monofilético, *Tylomys* y *Ototylomys* como especies hermanas y el grupo “*Nyctomys*” aparece como un clado parafilético, con respecto a *O. hattii*

### Análisis de componentes principales (PCA)

Realizamos un análisis de componentes principales a las cinco vistas del cráneo y dentario, con la idea de conocer su posición (ordenación) en un espacio de coordenadas y estimar la varianza en la forma entre los linajes bajo estudio. Las cinco vistas generaron nubes de puntos (especies) separadas por la forma.



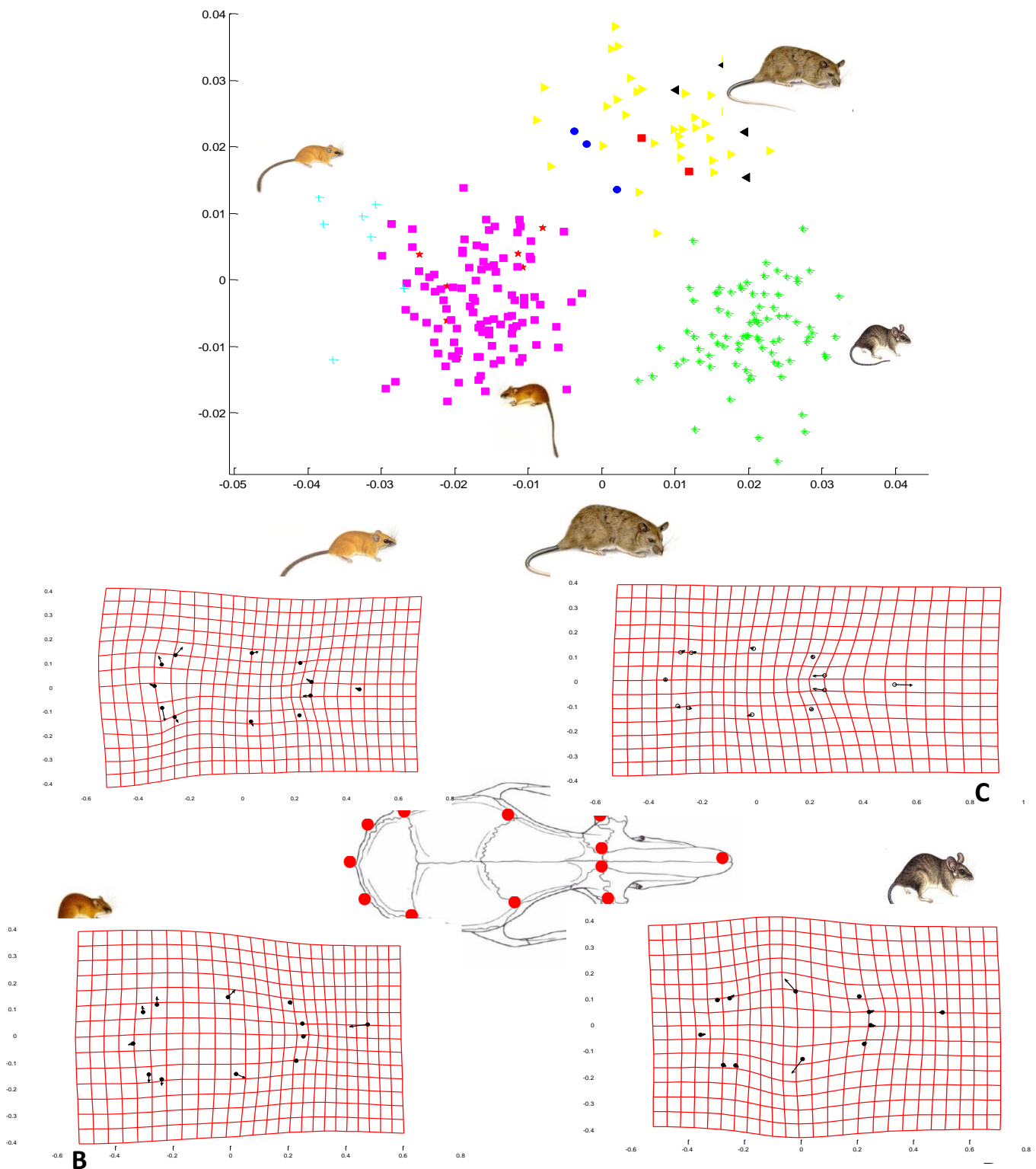
**Figura 8.** Análisis de Componentes Principales para la vista dorsal, en rosa: *O. hattii*; negro: *Nyctomys*; azul: *O. phyllotis*; amarillo: *T. nudicaudus*; violeta: *T. tumbalensis*; verde: *T. mirae*; rojo: *T. watsoni*

**Cuadro 7.** Porcentaje de varianza del componente principal 1 (PC1) y componente principal 2 (PC2) para las cinco vistas del cráneo y dentario

	PC1 %	PC2 %	% Acumulado
<b>Vista dorsal</b>	<b>43</b>	<b>16</b>	<b>59</b>
<b>Vista lateral</b>	<b>37</b>	<b>15</b>	<b>52</b>
<b>Vista ventral</b>	<b>49</b>	<b>14</b>	<b>63</b>
<b>Vista lateral del dentario (anterior)</b>	<b>52</b>	<b>22</b>	<b>74</b>
<b>Vista lateral del dentario (posterior)</b>	<b>42</b>	<b>18</b>	<b>60</b>

#### **Análisis de Variables Canónicas (CVA)**

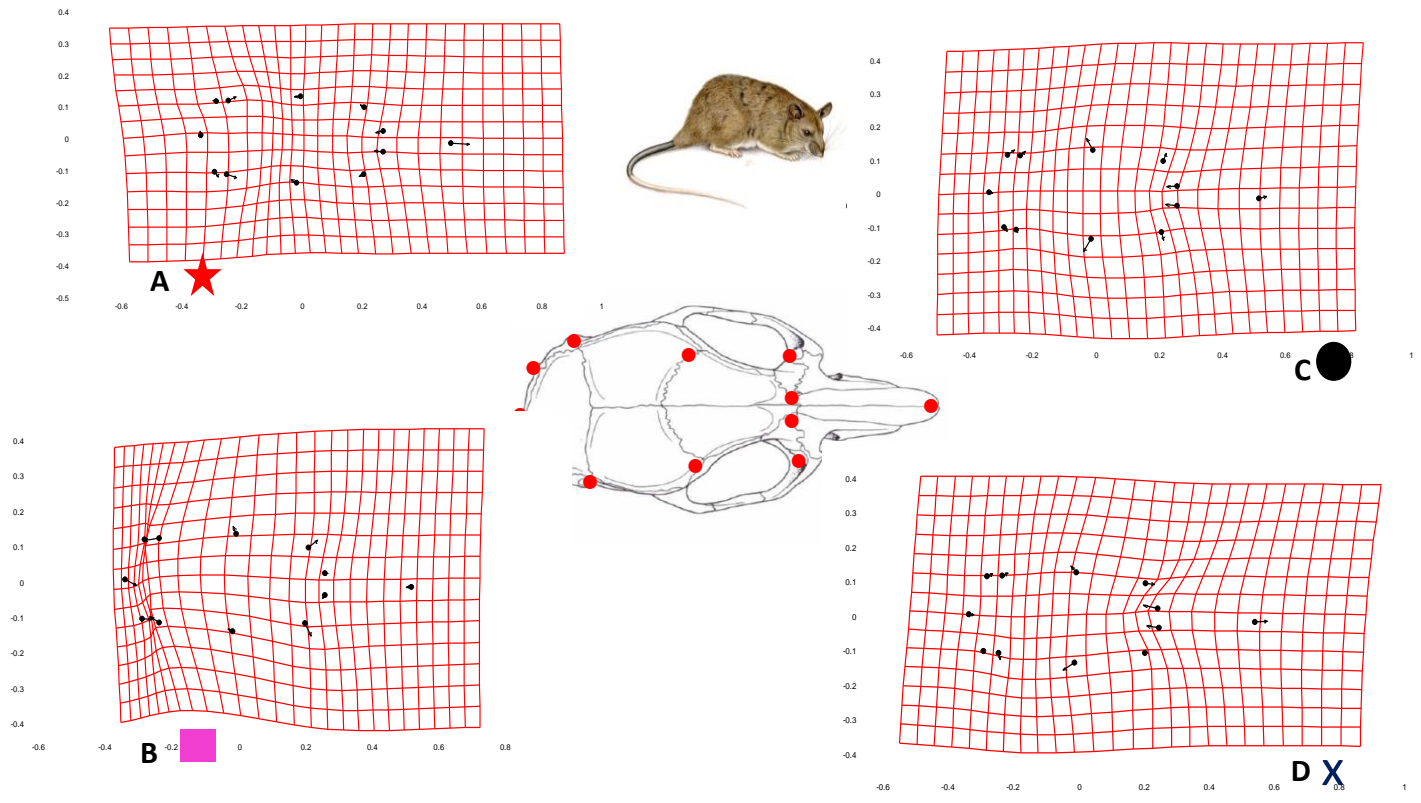
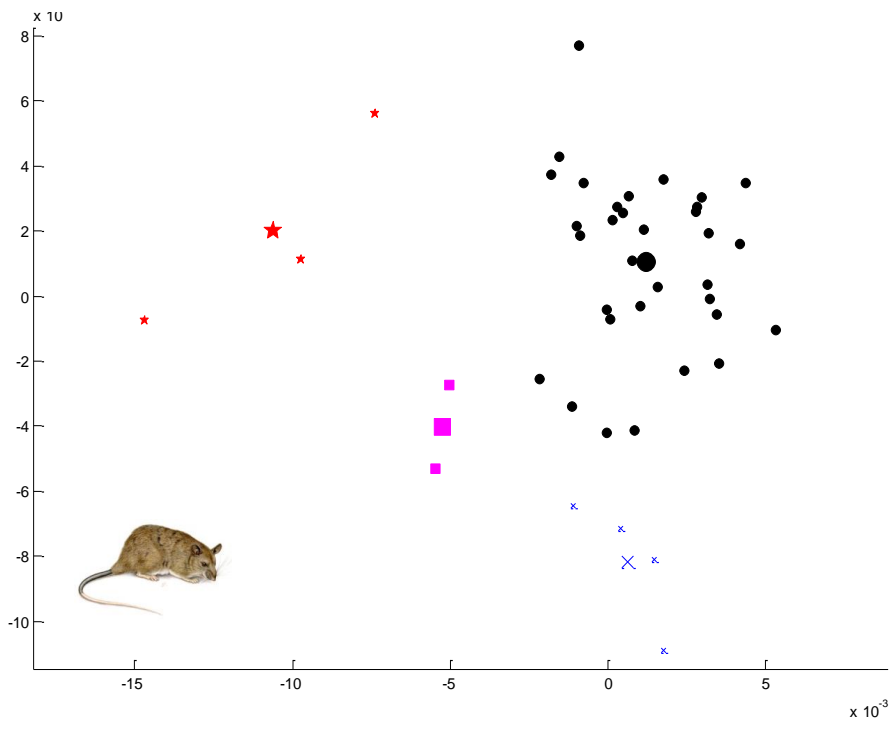
Nuestras propuestas de marcas analizadas bajo este discriminante mostro diferencias significativas, valores  $< 5\%$ , presentes en la forma de cada una de las vistas del cráneo y dentario (ver cuadro 8). Los datos morfométricos son informativos ya que se separan en el espacio morfométrico, es decir, las nubes de puntos (especies) se visualizan segregadas en cada género sobre un espacio de coordenadas (figura 9 y anexo III). El eje uno separa a *Tylomys* y *Ototylomys* de *Nyctomys* y *Otonyctomys* y el segundo eje separa a *Tylomys* de *Ototylomys* y a *Nyctomys* de *Otonyctomys*. La región dorsal, lateral y ventral muestra formas alargadas en *Tylomys* y *Ototylomys* mientras que son cortas y globosas en *Nyctomys* y *Otonyctomys*. La región posterior en el dentario donde se ubica el proceso coronoides y condiloideo es muy similar entre los géneros *Tylomys* y *Ototylomys*. Mientras que la forma en la región de los incisivos conserva una forma similar en entre *Nyctomys* y *Otonyctomys*. El análisis independiente en *Tylomys* mostro diferencias significativas, valores  $< 5\%$ , en la forma para todas las vistas (cuadro 9). En el espacio de coordenadas, la región de los incisivos en el dentario, solo discrimina claramente a *T. watsoni* de *T. nudiacudus*, *T. mirae* y *T. tumbalensis* (figura 10 y anexo III). La forma en vista dorsal, lateral, ventral y parte anterior del dentario separan en el plano de coordenadas claramente a las 4 especies evaluadas de *Tylomys* (Anexo III).



**Figura 9.** Arriba, ubicación de los grupos en un eje de coordenadas bajo un Análisis de Variables Canónicas para la vista dorsal. Abajo rejillas de deformación para los grupos de la subfamilia Tylomyinae. A=azul: *O. hatti*; B=rosa: *Nyctomys*; C=amarillo: *Tylomys*; D= verde: *Ototylomys*

**Cuadro 8.** Resultados del Análisis de Variables Canónicas en los integrantes de la subfamilia para las cinco vistas donde GI = grados de libertad, P= probabilidad.

<b>Vista dorsal</b>	<b>Eje</b>	<b>Chi cuadrada</b>	<b>GI</b>	<b>P</b>
	<b>1</b>	<b>1043.1701</b>	<b>140</b>	<b>&lt;2.22045e-016</b>
	<b>2</b>	<b>535.3389</b>	<b>114</b>	<b>&lt;2.22045e-016</b>
	<b>3</b>	<b>239.8095</b>	<b>90</b>	<b>1.44329e-015</b>
<b>Vista lateral</b>				
	<b>1</b>	<b>1320.7520</b>	<b>112</b>	<b>&lt;2.22045e-016</b>
	<b>2</b>	<b>654.9008</b>	<b>90</b>	<b>&lt;2.22045e-016</b>
	<b>3</b>	<b>303.0598</b>	<b>70</b>	<b>&lt;2.22045e-016</b>
	<b>4</b>	<b>117.1898</b>	<b>52</b>	<b>6.18442e-007</b>
	<b>5</b>	<b>67.4037</b>	<b>36</b>	<b>0.00116405</b>
<b>Vista ventral</b>				
	<b>1</b>	<b>1275.5375</b>	<b>154</b>	<b>&lt;2.22045e-016</b>
	<b>2</b>	<b>723.4632</b>	<b>126</b>	<b>&lt;2.22045e-016</b>
	<b>3</b>	<b>345.7135</b>	<b>100</b>	<b>&lt;2.22045e-016</b>
	<b>4</b>	<b>98.0406</b>	<b>76</b>	<b>0.0453026</b>
<b>Dentario I</b>				
	<b>1</b>	<b>837.7519</b>	<b>70</b>	<b>&lt;2.22045e-016</b>
	<b>2</b>	<b>210.4180</b>	<b>54</b>	<b>&lt;2.22045e-016</b>
	<b>3</b>	<b>80.1998</b>	<b>40</b>	<b>0.00016696</b>
	<b>4</b>	<b>48.4254</b>	<b>28</b>	<b>0.00963932</b>
<b>Dentario PA</b>				
	<b>1</b>	<b>779.7295</b>	<b>70</b>	<b>&lt;2.22045e-016</b>
	<b>2</b>	<b>280.8593</b>	<b>54</b>	<b>&lt;2.22045e-016</b>
	<b>3</b>	<b>85.8484</b>	<b>40</b>	<b>3.43434e-005</b>



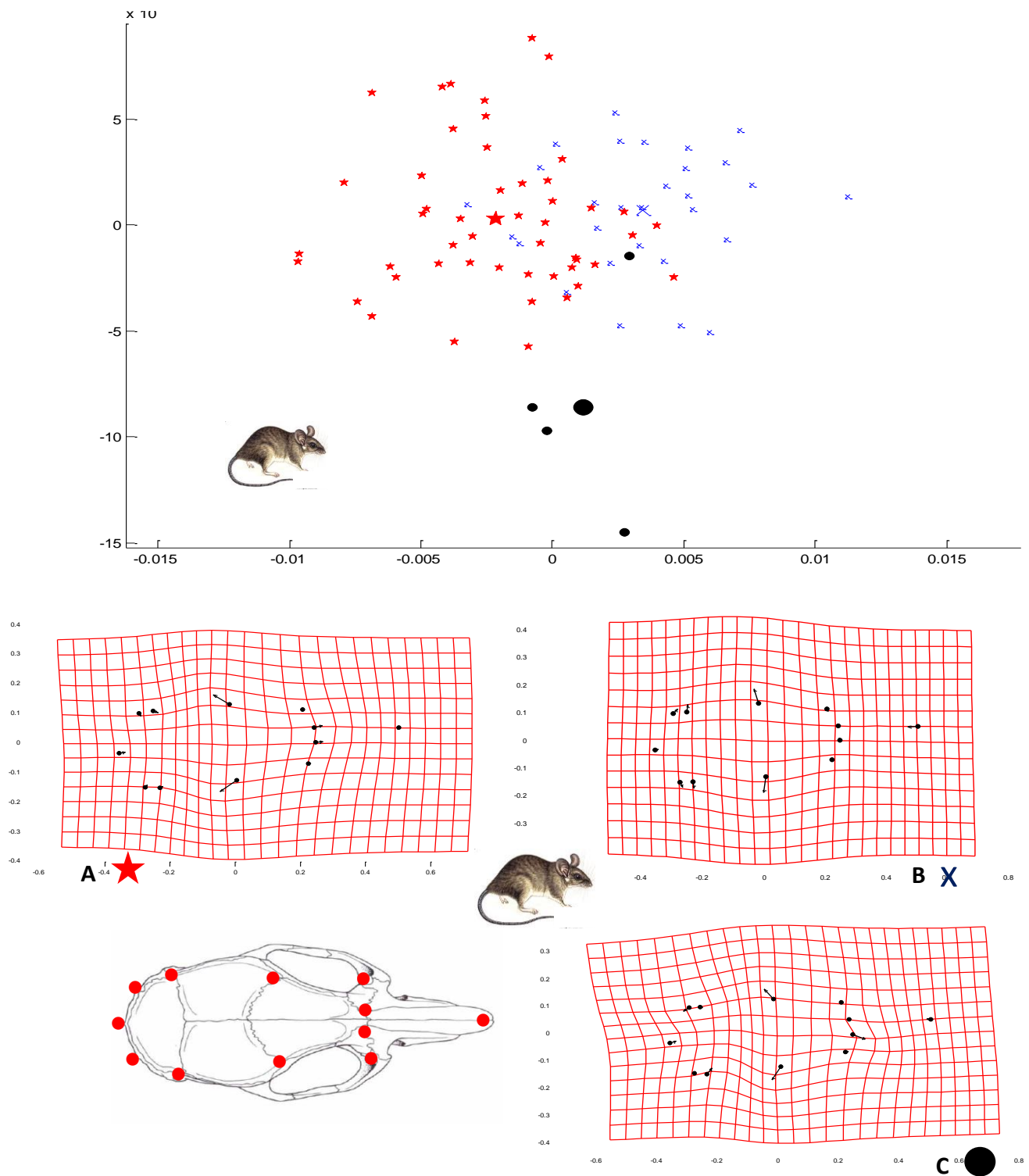
**Figura 10.** Arriba, ubicación de los grupos en un eje de coordenadas bajo un Análisis de Variables Canónicas para la vista dorsal. Abajo rejillas de deformación para los grupos del genero *Tylomys*. A=rojo: *T. mirae*; B=rosa:*T.watsoni*; C=negro: *T. nudicaudus*; D= azul: *T. tumbalensis*

**Cuadro 9.** Resultados del Análisis de Variables Canónicas en los integrantes del genero *Tylomys* para las cinco vistas donde Gl = grados de libertad, P= probabilidad.

<b>Vista dorsal</b>	<b>Eje</b>	<b>Chi cuadrada</b>	<b>Gl</b>	<b>P</b>
	1	80.4336	60	0.0403145
<b>Vista lateral</b>				
	1	80.8486	48	0.00210656
<b>Vista ventral</b>				
	1	97.4089	66	0.00719871
<b>Dentario I</b>				
	1	30.5596	12	0.00229848
<b>Dentario PA</b>				
	1	26.7299	12	0.00844936

El análisis en el género *Ototylomys* evidenció diferencias significativas, valores < a 5%, en la forma de las vistas entre los grupos formados por cada una de las tres subespecies (cuadro 10). El espacio de coordenadas muestra que las formas de la subespecie *O.p. australis* es distinta de las otras dos subespecies, las cuales se mantienen más cercanas. La región en el dentario, para el mapa de coordenadas, muestra los tres grupos sobrepuestos (figura 11 y anexo III).

En el caso de *Nyctomys*, las variables canónicas separan a los integrantes del nuevo clado de tierras elevadas de *Nyctomys* de tierras bajas, revelando diferencias significativas en todas las configuraciones, valores < 5% (cuadro 11). El espacio de coordenadas muestra la separación de dos conjuntos, para todas las vistas, siendo el primer eje el que logra esta distinción. Y bajo nuestra propuesta de marcas es la región ventral la que fue estadísticamente más significativa, siendo el área del basiesfenoides y los pterigoides donde se aprecian las diferencias en forma indicada por la dirección de cambio de los vectores en las rejillas de deformación (figura 12 y anexo III).



**Figura 11.** Arriba, ubicación de los grupos en un eje de coordenadas bajo un Análisis de Variables Canónicas para la vista dorsal. Abajo rejillas de deformación para los grupos del genero *Ototylomys*. A=rojo: *O.p. phyllotis*.; B=azul: *O.p. conectens*; C=negro: *O.p. australis*.

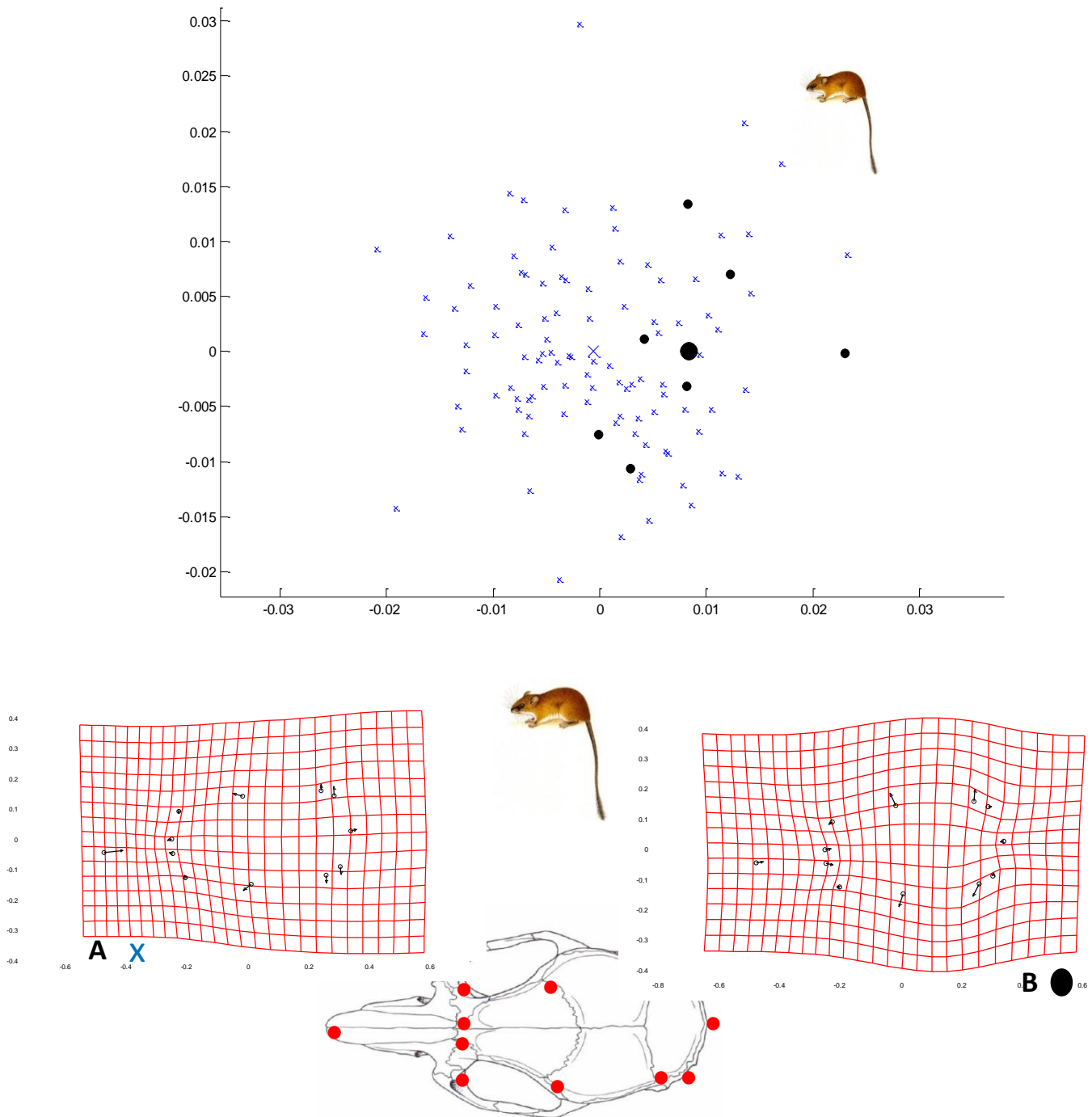


**Cuadro 10.** Resultados del Análisis de Variables Canónicas en los integrantes del genero *Ototylomys* para las cinco vistas donde Gl = grados de libertad, P= probabilidad.

<b>Vista dorsal</b>	<b>Eje</b>	<b>Chi cuadrada</b>	<b>Gl</b>	<b>P</b>
	1	57.3926	40	0.0367157
<b>Vista lateral</b>				
	1	78.0926	32	1.00049e-005
<b>Vista ventral</b>				
	1	64.1913	44	0.0250493
<b>Dentario I</b>				
	1	16.2237	6	0.0126022
<b>Dentario PA</b>				
	1	33.0004	6	1.0484e-005
	2	7.5621	2	0.0227985

**Cuadro 11.** Resultados del Análisis de Variables Canónicas en los integrantes de *Nyctomys* de tierras bajas y el nuevo clado de tierras elevadas, para las cinco vistas donde Gl = grados de libertad, P= probabilidad.

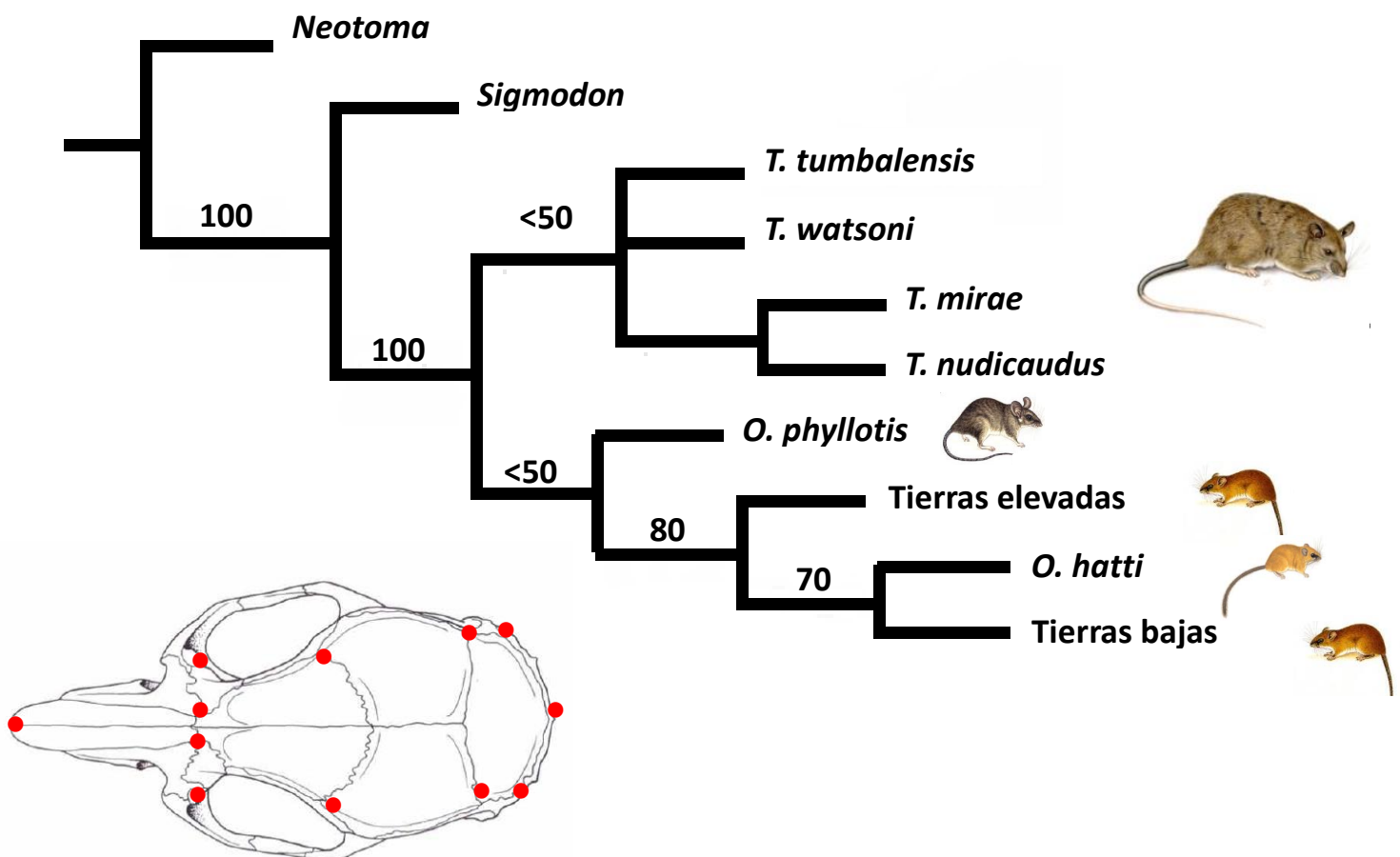
<b>Vista dorsal</b>	<b>Eje</b>	<b>Chi cuadrada</b>	<b>Gl</b>	<b>P</b>
	1	6.9504	2	0.0309562
<b>Vista lateral</b>				
	1	28.1665	16	0.0302015
<b>Vista ventral</b>				
	1	15.3634	2	0.00046119
<b>Dentario I</b>				
	1	21.5790	10	0.0173991
<b>Dentario PA</b>				
	1	13.4543	2	0.00119797



**Figura 12.** Arriba, ubicación de los grupos en un eje de coordenadas bajo un Análisis de Variables Canónicas para la vista dorsal. Abajo rejillas de deformación para *Nyctomys* de tierras bajas y el nuevo clado de tierras elevadas. A=azul: tierras bajas; B=negro: tierras altas.

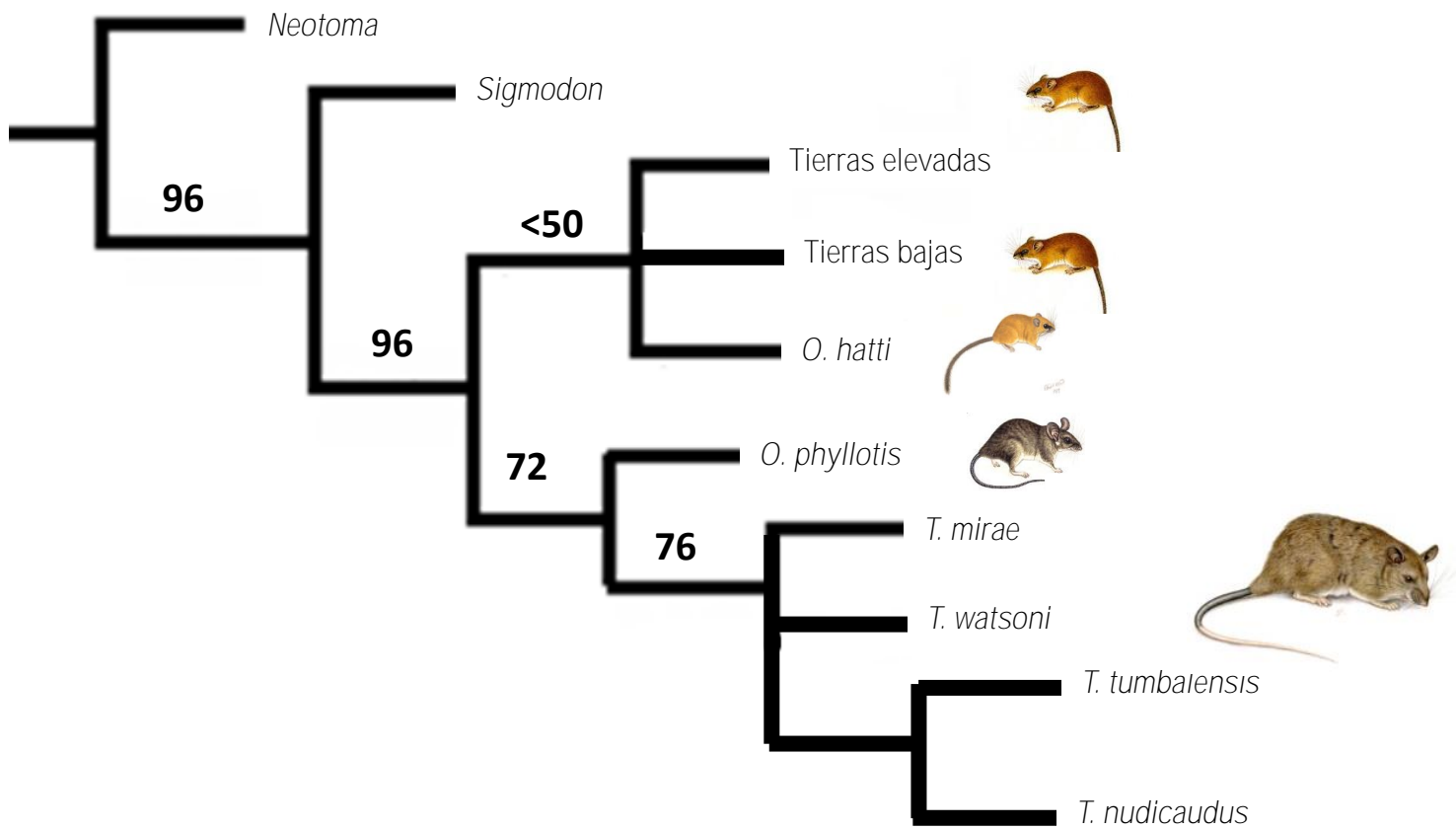
## Parsimonia con datos morfométricos

El análisis de datos morfométricos en el programa TNT bajo el criterio de Parsimonia mostro distintas topologías con cada uno de los cinco caracteres evaluados individualmente. Solo la configuración en vista dorsal del cráneo (Figura 13) recupera la monofilia del grupo y los arreglos de *Tylomys*; el nuevo clado de tierras elevadas; *Nyctomys* de tierras bajas y *O. hatti*.



**Figura 13.** Árbol bajo criterio de Parsimonia, para la configuración en vista dorsal, formada por 12 marcas. Abajo a la izquierda, marcas que describen la configuración. El soporte de los clados, está dado por valores de Jack.nife.

La combinación de los cinco caracteres de forma (Figura 14) mostro un árbol retenido con valor de 9.92310 donde la topología recupera la monofilia de la subfamilia; no resuelve los arreglos entre el clado nuevo de tierras elevadas, *Nyctomys* de tierras bajas y *O. hattii* pero los mantiene separados de *Tylomys* y *Otorylomys*. Los arreglos en *Tylomy* y *Ototylomys* se resuelven y quedan independientes al clado no resuelto de *Nyctomys* y *Otonyctomys*.



**Figura 14.** Árbol bajo criterio de Parsimonia, para todas las configuraciones del cráneo y dentario. El soporte de los clados está dado por valores de Jack.nife.

## **Parsimonia con datos combinados.**

### **Configuración de la vista dorsal del cráneo**

El análisis de datos combinados bajo el criterio de Parsimonia, arrojó un árbol de 1724.55849 pasos, en el cual se visualizan las formas promedio de los ancestros y las formas promedio de los terminales. Lo que nos permite evaluar e interpretar el cambio en forma de manera filogenética en las cinco vistas evaluadas (figura 15).

La subfamilia Tylomyinae se mantiene monofilético, el peso de los caracteres moleculares resuelve los clados al interior del grupo, *Tylomys* y *Ototylomys* se mantienen como especies hermanas, mientras que *Nyctomys* aparece parafilético con respecto a *O. hatti*. La forma promedio en la vista dorsal presenta un índice de consistencia de 0.74, es decir un porcentaje de homoplasia del 26 % para Tylomyinae. *Tylomys* y *Ototylomys* son de un rostro más largo y una caja craneana más comprimida con respecto a los representantes de “*Nyctomys*” y *O. hatti*, quienes presentan un rostro corto y una caja craneana redondeada, no se observa una diferencia entre los representantes de “*Nyctomys*” de tierras bajas y el nuevo clado de tierras elevadas. La forma ancestral promedio se asemeja más a los representantes del clado formado por *Tylomys* y *Otoylomys*.

### **Configuración de la vista lateral del cráneo**

La forma promedio en la vista lateral (Figura 16) presenta un porcentaje de homoplasia del 21 % (IC=0.79) y un índice de retención (IR) de 0.26 para Tylomyinae, el IR es alto cuando los cambios de estado ocurren en los nodos internos y, bajo cuando los cambios están concentrados en ramas pertenecientes a los taxones terminales. *Tylomys* es mucho más ancho en la región del hocico (premaxila y dentario) con respecto de *Ototylomys*, ambos son de un rostro más largo y una caja craneana más comprimida si se les compara a los representantes de *Nyctomys* y *O. hatti*, quienes presentan un rostro corto y una caja craneana redondeada. *O. hatti* presenta una forma marcadamente distinta de la bóveda craneana con respecto a los representantes de *Nyctomys*. No se observa una diferencia entre de *Nyctomys* de tierras bajas y el nuevo clado de tierras elevadas.

### **Configuración de la vista ventral del cráneo**

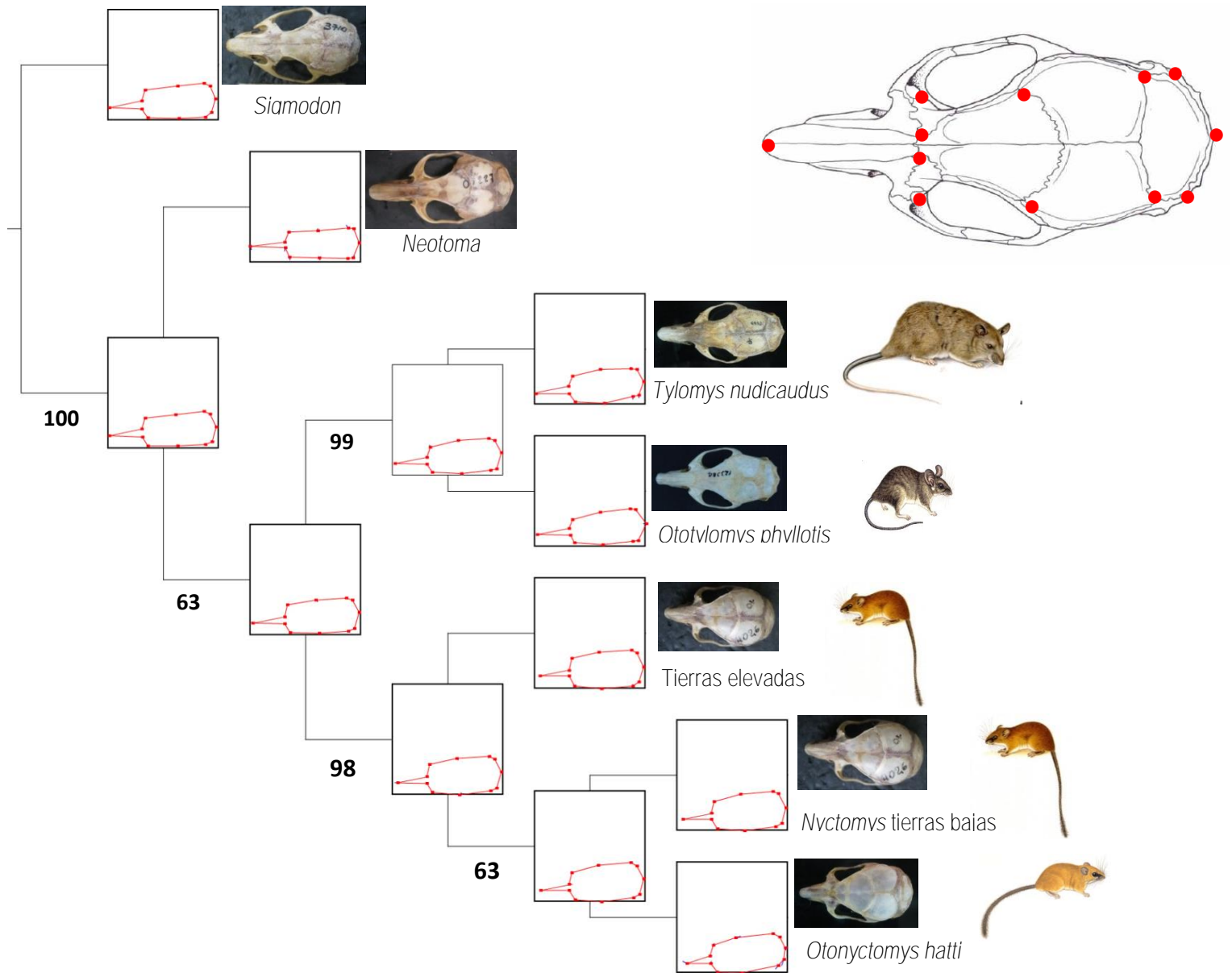
La forma promedio en la vista ventral (Figura 17) presenta un porcentaje de homoplasia del 28% (IC=0.72), mientras que el IR fue de 0.20 para Tylomyinae. La forma ancestral tiende a parecerse a las formas actuales de “Nyctomys”, en tanto que se aprecia estrecha y alargada para la región del palatino en *Tylomys* y *Otodylomys*. No se observa una diferencia entre “Nyctomys” de tierras bajas y el nuevo clado de tierras elevadas. “Nyctomys” y *O. hatti*, son distintos en la región basioccipital, donde se unen el hueso basiesfenoides con el occipital, debido a que *O. hatti* presenta bulas timpánicas de gran tamaño.

### **Configuración de la vista lateral del dentario (región anterior)**

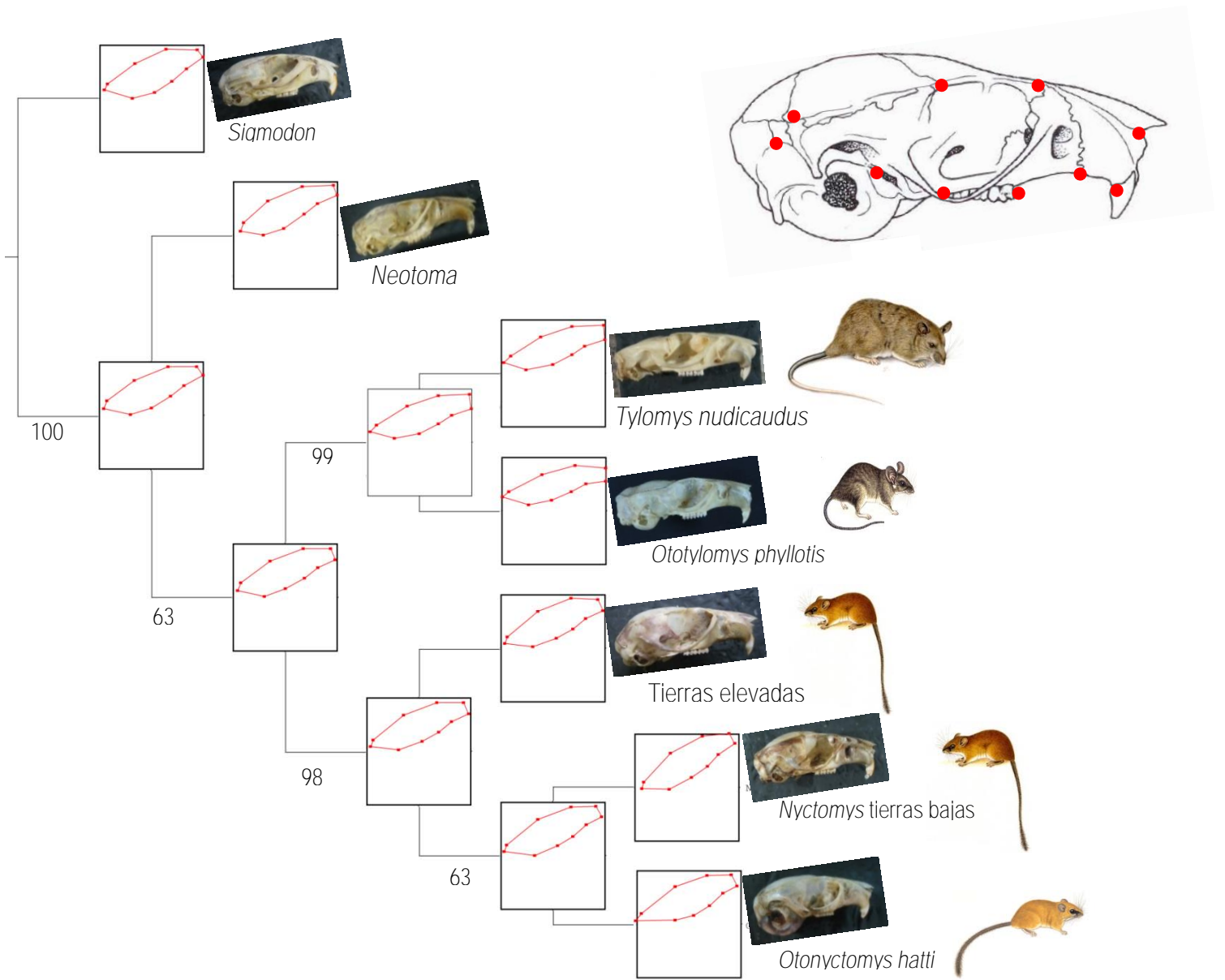
La forma promedio en la vista lateral del dentario (figura 18) presenta un porcentaje de homoplasia del 14% (IC=0.86) y su IR fue de 0.34 para Tylomyinae. La forma ancestral tiende a parecerse a la forma actual de *Tylomys*, esta región del dentario se visualiza comprimida dorsoventralmente en la forma actual de *Otodylomys*. No se observa una diferencia entre “Nyctomys” de tierras bajas y el nuevo clado de tierras elevadas. La forma en “Nyctomys” y *O. hatti* similar y más ancha que en *Tylomys* y *Otodylomys*.

### **Configuración de la vista lateral del dentario (región posterior)**

La forma promedio en la vista lateral (figura 19) presenta un porcentaje de homoplasia del 45 % (IC=0.55) y su IR fue de 0.14 para Tylomyinae. Es la estructura más cambiante, la forma ancestral del clado es distinta a la forma ancestral del grupo externo mostrando diferencias en la región del proceso coronoides, el proceso angular y el borde anterior de la cresta maseterica. La forma actual de *Tylomys* se visualiza similar con respecto a la forma ancestral y con variantes respecto a *Otodylomys*. El nuevo clado de tierras altas muestra una forma ligeramente más robusta que su grupo hermano, *O. hatti* muestra una configuración de alargamiento en la región del proceso coronoides.

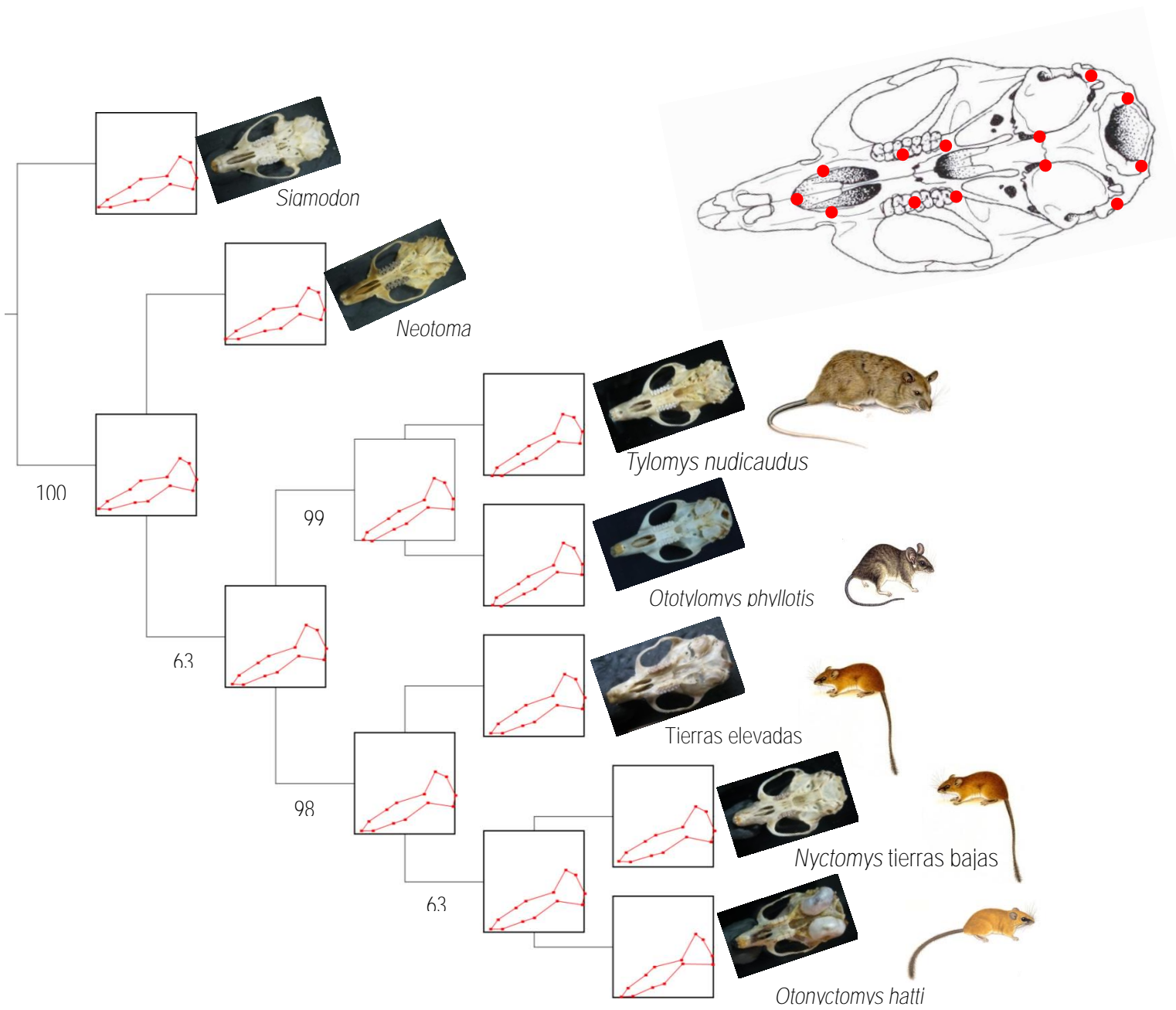


**Figura 15.** Árbol mínimo por Parsimonia (IC=0.74 IR=0.22), se visualizan las formas promedio de la vista dorsal. Los soportes de los clados están indicados por valores Jackknife. Arriba a la derecha, marcas que describen la vista dorsal del cráneo.

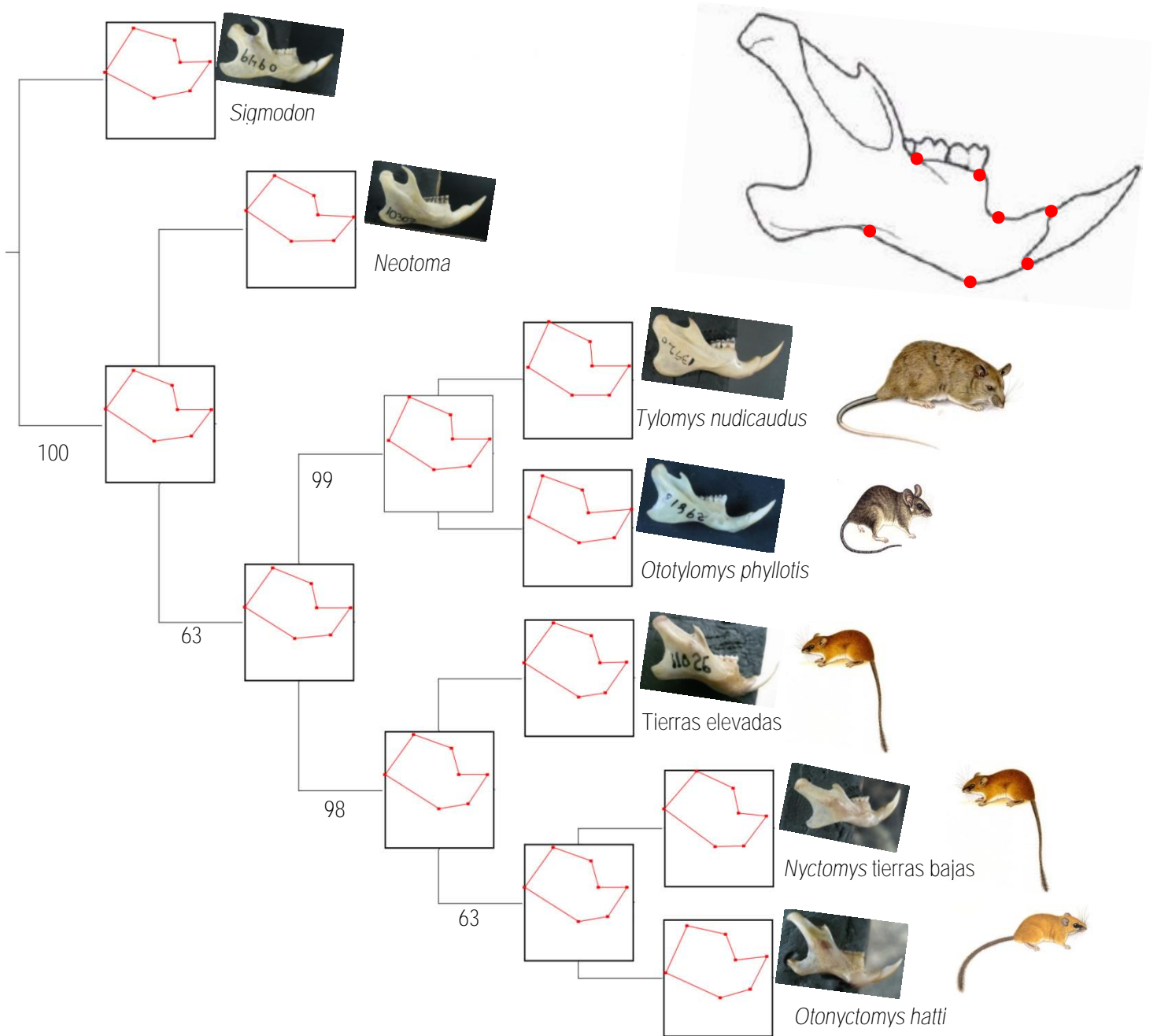


**Figura 16.** Árbol mínimo por Parsimonia (IC= 0.79 IR= 0.26), se visualizan las formas promedio de la vista lateral. Los soportes de los clados están indicados por valores de Jackknife. Arriba a la derecha marcas que describen la vista lateral del cráneo.

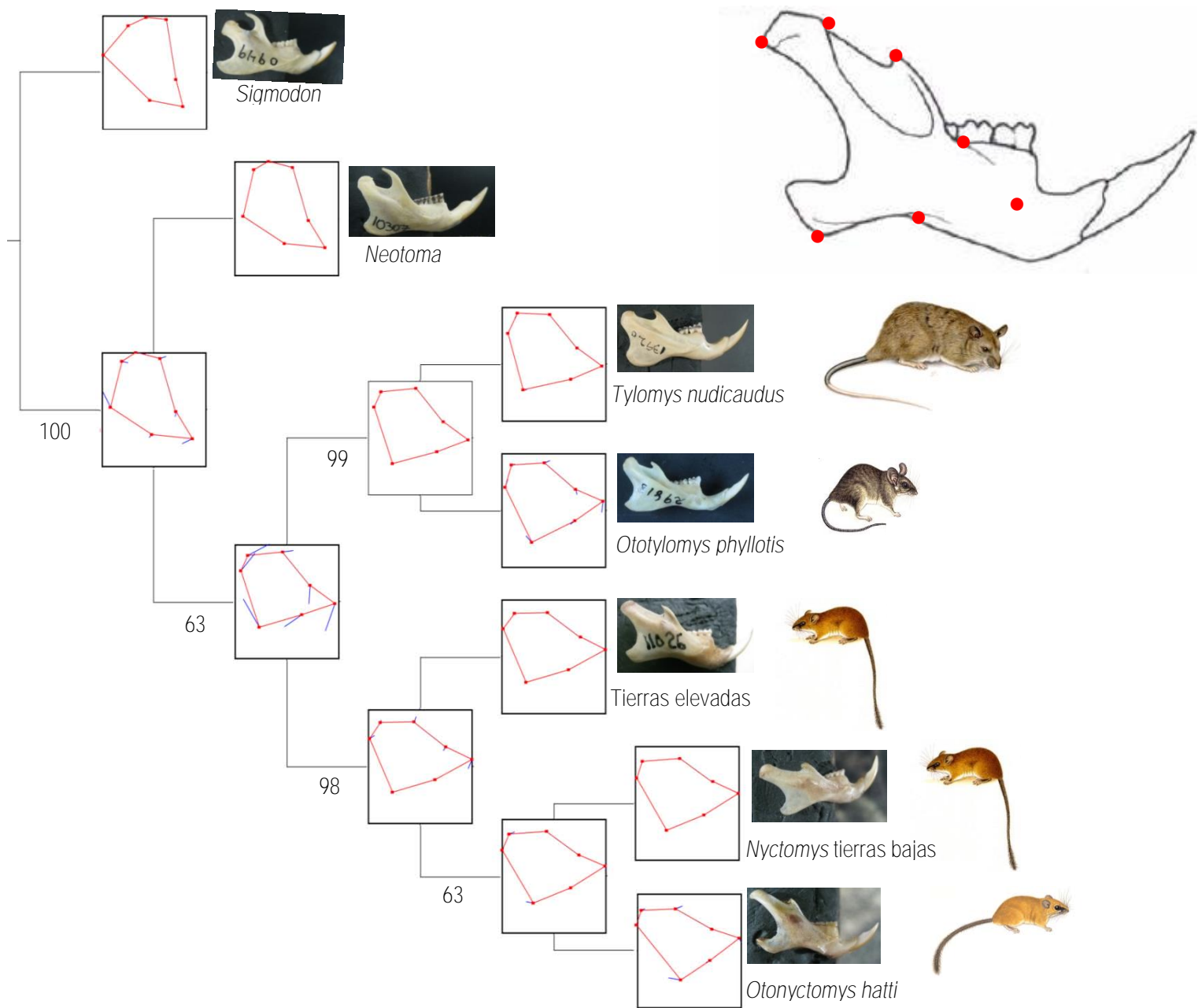




**Figura 17.** Árbol mínimo por Parsimonia (IC= 0.72 IR=0.20), se visualizan las formas promedio de la vista ventral. Los soportes de los clados están indicados por valores de Jackknife. Arriba a la derecha marcas que describen la vista ventral del cráneo.



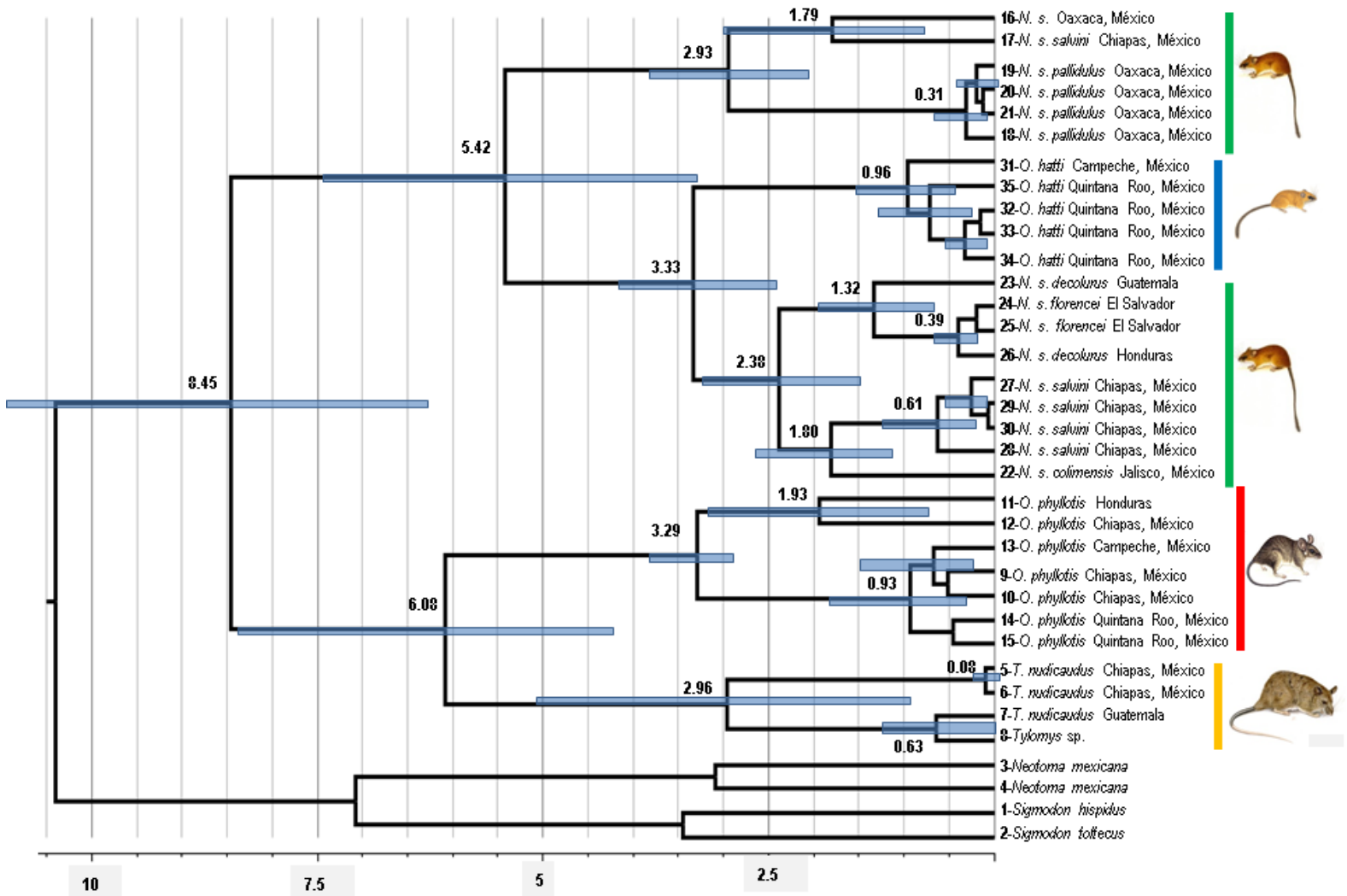
**Figura 18.** Árbol mínimo por Parsimonia (IC= 0.86 IR=0.34), se visualizan las formas promedio de la parte anterior de la vista lateral del dentario. Los soportes de los clados están indicados por valores de Jackknife. Arriba a la derecha marcas que describen la vista lateral del dentario



**Figura 19.** Árbol mínimo por Parsimonia (IC= 0.55 IR=0.14), se visualizan las formas promedio de la vista lateral del dentario. Los soportes de los clados están indicados por valores de Jackknife. Arriba a la derecha marcas que describen la vista lateral del dentario.

## Reloj molecular

De acuerdo con nuestros datos la topología obtenida propone el origen de la subfamilia aproximadamente hace 8.45 millones de años durante el Mioceno tardío, el clado conformado por *Tylomys* y *Ototylomys* divergió hace 6.08 millones de años a finales del Mioceno. El clado de *Tylomys* data de hace 2.96 millones de años, en tanto que el linaje de *Ototylomys* surgió hace 3.29 millones de años, ambos surgen a finales del Plioceno.



**Figura 20.** Topología propuesta de la Subfamilia Tylomyinae bajo reloj molecular relajado con el gen *Cit. b*, la escala es en millones de años. Los valores sobre los nodos equivalen al tiempo de divergencia y las barras en azul corresponden al error. En amarillo *Tylomys*; rojo *Ototylomys*; azul *Otonyctomys*; verde “*Nyctomys*”

Las fechas de divergencia mostradas para los integrantes de la subfamilia durante el Pleistoceno se corresponden con fechas propuestas para los periodos glaciales e interglaciales ocurridos en ese intervalo de tiempo.

El nuevo clado de tierras elevadas divergió de *O. hattii* y *Nyctomys* de tierras bajas hace 5.42 millones de años a finales del Mioceno inicios del Plioceno. El nuevo linaje de tierras elevadas data de hace 2.93 millones de años a finales del Plioceno principios del Pleistoceno.

El clado de *O.hattii* y *Nyctomys* de tierras bajas divergió hace 3.33 millones de años a finales del Plioceno principios del Pleistoceno. Dentro del linaje de *O. hattii* el linaje de Campeche divergió del de Quintana Roo hace 0.96 mil años durante el Pleistoceno. Mientras que las poblaciones de “*Nyctomys*” de tierras bajas ubicadas en Centroamérica se apartaron de las que se encuentran en México hace 2.38 millones de años durante el Pleistoceno.

## **Discusiones.**

Las estimaciones filogenéticas de la subfamilia Tylomyinae con datos moleculares, morfométricos y la combinación de ambos, convergieron en topologías esencialmente idénticas, solo el árbol de parsimonia presentó relaciones no resueltas. Sé corroboró que Tylomyinae es un clado monofilético. *Tylomys* y *Ototylomys* se mantienen como especies hermanas; el género “*Nyctomys*” es un grupo artificial, sus representantes forman un clado parafilético, en el que los linajes de Oaxaca-Chiapas de tierras elevadas son un clado nuevo y aparecen como el grupo hermano del clado conformado por *O. hatti* y los miembros de *Nyctomys* de tierras bajas. Lo anterior fundamentado por los valores de las distancias genéticas, la morfometría geométrica y corroborado con la información molecular. Permitiendo ver que las tierras altas de Mesoamérica pueden haber jugado un papel importante en la diversificación y radiación temprana de estos pequeños roedores neotropicales.

## **Filogenia molecular *Cit b***

Las estimaciones de divergencia en *Cit b* intraespecífico fue bajo en *O. hatti* (1.7%) y de 5.1% en *O. phyllotis* mientras que los representantes de “*Nyctomys*” y *T. nudicaudus* presentaron valores por arriba del 5%; cifras que para el gen *Cit b* son altas y exceden el promedio propuesto para considerarse especies hermanas y sugiere la existencia de nuevas entidades taxonómicas (Baker y Bradley, 2006; Bradley y Baker, 2001). Por lo que es probable que múltiples especies se encuentren incluidas en lo que es reconocido como *T. nudicaudus* y “*Nyctomys*”.

Para el género *Tylomys* logramos evaluar solo a una de las siete especies, *T. nudicaudus*, las muestras provienen de México (Chiapas) y de Guatemala. Los análisis filogenéticos mostraron la presencia de dos linajes distintos, en Chiapas y en Guatemala; con distancias genéticas entre ambos clados de 12-13%, valores altos en *Cit-b*, que permite considerar la presencia potencial de dos unidades evolutivas significativas (Baker y Bradley, 2006).

Espinoza y colaboradores en 2006, con muestras de *T. nudicaudus* provenientes de localidades en Chiapas, Veracruz y Guatemala, encuentran valores >5% en las distancias genéticas para *Cit-b*, información que genera la idea de un complejo de especies dentro de

*T. nudicaudus*. Ya se ha mencionado la propuesta de que *Tylomys* está formado por dos complejos genéticos, uno al norte de su distribución denominado, complejo *nudicaudus* conformado por *T. bullaris*, *T. tumbalensis* y *T. nudicaudus*; y otro al sur llamado, complejo *panamensis* formado por *T. fulviventer*, *T. panamensis*, *T. mirae* y *T. watsoni* (Alvarez- Castañeda, 2015).

*T. nudicaudus* es simpátrica con, *T. bullaris* y *T. tumbalensis*, las dos últimas son micro endémicas y se ha visto que en Mesoamérica (Llorente, 1996; Sullivan *et al.* 2000), área donde se distribuyen, es una región caracterizada por altos niveles de diversificación y endemismo para distintos grupos de plantas y animales (Baber y Klika, 2010; Garcia-Moreno, 2004; Gutiérrez-Rodríguez *et al.*, 2011; Sullivan *et al.*, 1997). Sin embargo Espinoza y colaboradores (2006) trabajaron *Cit b* de muestras provenientes de las localidades tipo de *T. bullaris* (Tuxtla Gutiérrez, Chiapas) y de *T. tumbalensis* (Tumbala, Chiapas), resaltan la ausencia de diferencias significativas entre los haplotipos de las tres especies que se encuentran en México. Esto puede deberse a que los endemismos reportados para mamíferos en Mesoamérica se presentan en regiones montañas elevadas (León-Paniagua *et al.*, 2007) y las localidades tipo de *T. bullaris* y *T. tumbalensis* se encuentran a 600 msnm y 1000 msnm respectivamente.

En Costa Rica Y Panamá se encuentra *T. watsoni* de quien se ha reportado valores de distancia genética para *Cit b* de <5% con respecto a representantes de Veracruz, México y valores >5% con respecto a poblaciones de Chiapas y Guatemala (Espinoza *et al.*, 2006).

No hay información molecular de las especies microendémicas *T. panamensis* y *T. fulviventer*, ni tampoco de *T. mirae* distribuida en el norte de Suramérica.

En *Ototylomys phyllotis* nuestros resultados moleculares apoyan la monofilia del género y evidencian la existencia de dos grupos: Honduras-Chiapas y Chiapas-Península de Yucatán, presentando 8% de distancia genética entre ellos. Datos que corroboran reportes previos con *Cit-b* de Gutiérrez-García (2008) y Gutiérrez-García y Vázquez-Domínguez (2012), donde análisis filogeográficos del género muestran la conformación de cuatro grupos: grupo 1, poblaciones de Nicaragua, El Salvador, Honduras y parte de Guatemala; grupo 2, poblaciones de Costa Rica; grupo 3, el denominado de tierras altas perteneciente a Chiapas y Guatemala; y grupo 4, las poblaciones ubicadas en la Península de Yucatán, Tabasco y Belice. Además, establecen que el *Otylomys* divergió y se dispersó en Suramérica hacia

Centroamérica. Los grupos mencionados se corresponden con datos morfométricos donde cada población presenta características genéticas y morfológicas particulares (Gutiérrez-Blando, 2015).

El caso de *Nyctomys* también es de llamar la atención, pues es considerado un taxón enigmático (Engel *et al.*, 1998), nuestros resultados moleculares coinciden con la evidencia de parafilía en *Nyctomys* reportada por Corley y colaboradores en 2011 y por lo tanto proponemos la descripción de un nuevo género y revisar la validez de las subespecies *N. s. colimensis*, *N. s. costarricensis*, *N. s. decolurus*, *N. s. florencei*, *N. s. nitellinus*, *N. s. pallidullus*, *N. s. salvini*, *N. s. sumichrasti* y *N. s. venustulus*, que componen al género.

Los integrantes del nuevo clado pertenecen a poblaciones aisladas en las tierras altas de la Sierra Madre del sur, tierras elevadas de Oaxaca y los altos de Chiapas. Los valores de distancia genética con respecto a sus similares de tierras bajas son del 18-20%, donde en *Cit-b* los valores de distancia genética >5 % exceden el valor promedio de especies hermanas en mamíferos y, como tal, debe ser evaluada bajo el contexto de géneros separados (Baker y Bradley, 2006).

El clado de tierras elevadas está conformado por poblaciones de tres localidades diferentes, todas en México, las localidades son 1- Oaxaca, distrito de Ixtlán 17°35'08"N, 96°30'41"W, a 2,950msnm, corresponde a una nueva localidad situada fuera del área de distribución conocida para "*Nyctomys*"; 2- Los altos de Chiapas, Cerro Tzontehuitz, 13 km NE San Cristóbal de las Casas, a 2,880msnm y; 3. Sierra sur de Oaxaca, Santa Catarina Juquila, La yerbabuena 16°12'11"N, 97°21'18"W, a 1500msnm.

Las poblaciones se encuentran aisladas en lugares montanos elevados y en una región vicariante caracterizada por altos niveles de diversificación y endemismo para diversos taxa de roedores: *Handleyomys* (Almendra *et al.* 2014); *Reithrodontomys* (Arellano *et al.*, 2006), *Habromys* (León-Paniagua *et al.*, 2007), *Peromyscus* (Ordóñez-Garza *et al.*, 2010), *Neotoma mexicana* (Ordóñez-Garza *et al.*, 2014) *Peromyscus aztecus* (Sullivan *et al.*, 1997), *Reithrodontomys sumichrasti* y el complejo *Peromyscus aztecus-P. hylocetes* (Sullivan *et al.* 2000). Y que complejos de taxones de tierras altas en Mesoamérica comparten historias biogeografías (Sullivan *et al.* 2000).





**Figura 21.** Nuevo arreglo y distribución, en azul *O. hattii*, en amarillo y naranja *Nyctomys* de tierras bajas y en rojo el nuevo clado de tierras elevadas.

Por otro lado el clado de tierras bajas evidencia la formación de dos grupos, uno en México y otro en Centro América. En México encontramos el linaje formado por Chiapas y Jalisco, este último presentó valores altos en las distancias genéticas con respecto a las poblaciones de Chiapas. Y en Centro América el linaje se compone de las poblaciones de El Salvador-Honduras-Guatemala. Dichos arreglos no se correspondieron con la asignación ni distribución de las subespecies descritas. Sin embargo falta reunir información de las poblaciones costeras del Pacífico y de la parte de Veracruz en México, y en Centroamérica se desconoce el estado de las poblaciones de Nicaragua, Costa Rica y Panamá. “*Nyctomys*” de tierras bajas se mantiene como hermano de *O. hattii*.

Por otro lado *O. hattii* es considerada una especie rara (Genoways, 2005) y cuando se le ha capturado ha sido en edificaciones de asentamientos humanos. Se diferencia de su género hermano *Nyctomys* genéticamente, por el tamaño de las bulas timpánicas y su distribución geográfica. Por lo tanto la colocación de *Otonyctomys hattii* como una sinonimia junior de *Nyctomys* es inapropiada (Corley et al., 2011). Las distancias genéticas intraespecíficas

fueron de 1.7% y del 20% al compararlas con los demás taxa de la subfamilia, dicha magnitud en la diferenciación genética apoya el reconocimiento del género.

Los análisis filogenéticos moleculares de Parsimonia e inferencia bayesiana mostraron a *O. hattii* como monofilético, donde el haplotipo de Campeche (18 15 N, 90 04 W) divergió del linaje del norte de Quintana Roo durante el Pleistoceno. Los haplotipos provenientes del Edén están más relacionados y forman dos linajes: la población silvestre y los nacidos en cautiverio, relación que se aprecia en las topologías de los análisis moleculares. Las muestras de la población en cautiverio corresponden a ejemplares capturados en octubre del 2010, cuatro hembras (una preñada) y un macho, en la estación “la sabana” ubicada dentro de la reserva Ecológica el Edén. Llevados a Mérida, Yucatán, donde se estableció una colonia que dio nacimiento a 15 individuos en ocho camadas (Panti-May, *et al.* 2014), los ejemplares nacidos en cautiverio fueron donados a distintas colecciones mastozoológicas nacionales.

### **Morfometría geométrica**

Los análisis de variables canónicas reflejaron lo encontrado por los exploratorios de componentes principales, es decir, la variación de los datos morfométricos es informativa ya que separa en el espacio morfométrico a *Tylomys* y *Ototylomys* de *Nyctomys* y *Otonyctomys*. La región dorsal, lateral y ventral muestran formas alargadas en *Tylomys* y *Ototylomys* mientras que son cortas y globosas en *Nyctomys* y *Otonyctomys*. La región posterior en el dentario donde se ubica el proceso coronoides y condiloideo fue significativa pero poco informativa entre los géneros *Tylomys* y *Ototylomys*. Mientras que *Nyctomys* y *Otonyctomys* fue la región de los incisivos la menos informativa pero estadísticamente significativa.

Se ha visto que los organismos con cráneos anchos, cortos y músculos maseteros robustos se alimenten principalmente de comidas duras, y la razón es que su biomecánica de la masticación les permite aumentar la fuerza en su mordida, debido a que se ha reducido la distancia que hay entre la articulación y el punto del hocico donde se muerde un objeto concreto, en otras palabras se ejerce la misma fuerza en la mordida con menos esfuerzo muscular o se muerde más fuerte con el mismo esfuerzo; mientras que eso no sucede con

cráneos más largos (Ospina, 2010; Vázquez-García, 2011). *Otonyctomys* y *Nyctomys* tienen una dieta a base de alimentos duros como son semillas y algunos frutos, a diferencia de *Ototylomys* que se alimenta de hojas y frutos (Lawlor, 1982; McCarthy 1993; Panti-May, *et al.* 2014;).

El análisis de variables canónicas en *Tylomys* mostró diferencias significativas, reconociendo formas diferentes entre *T. watsoni*, *T.nudicaudus*, *T. mirae* y *T. tumbalensis*. La configuración en vista ventral no es informativa para distinguir a *T. nudicaudus* de *T. tumbalensis*. La región de los incisivos en el dentario, solo discrimina claramente a *T. watsoni* y no es informativa para separar a *T.nudicaudus*, *T. mirae* y *T. tumbalensis*.

La clasificación de las especies del género *Tylomys* se basa principalmente en los límites geográficos, el patrón de coloración y la medida de caracteres craneales, como el tamaño de la bulla timpánica y la longitud de los molares. Sin embargo, el patrón de coloración es altamente variable, incluso en ejemplares de la misma localidad y la longitud de los molares y el tamaño de la bulla timpánica dependen de la edad de los individuos (Espinoza, 2002). Actualmente son reconocidas siete especies descritas con los caracteres mencionados anteriormente. De ellas, tres se encuentran en México, *T. nudicaudus*, *T. bullaris* y *T. tumbalensis*, pero las colecciones nacionales albergan solo ejemplares de *T. nudicaudus*, (Hall, 1981; Ramírez-Pulido y Castro-Campillo, 1990; Ramírez-Pulido, *et al.*, 2014). *T. bullaris* fue descrita a partir de un ejemplar inmaduro, que presentaba el desarrollo de los tres molares, dentina sin desgaste y longitud total del cuerpo de 324 mm, descrito como “del tamaño de una rata común *Rattus rattus*” factores importantes presentes en los muridos por lo que se le consideró una especie distinta (Espinoza, 2002; Hall, 1981).

*T. tumbalensis* fue colectada por Nelson y Goldman en Tumbalá, Chiapas en octubre de 1896, el ejemplar, fue considerado un adulto joven de 448 mm longitud total (124 mm más que *T. bullaris*), medida que lo hizo diferente de los inmaduros y adultos de *T. nudicaudus* que seguramente utilizó Merriam (1901) para sus descripciones. De acuerdo con Merriam el cráneo de *T. tumbalensis* es menos masivo, esbelto y alargado, la bulla es menos globosa y ligeramente más larga; los molares son más largos y pesados. Espinoza en 2002 y Espinoza y Martínez en 2010 tomando en cuenta las características morfológicas, la coloración, tamaño de los individuos y características craneales, concluyen que no es posible establecer una diferencia entre *T. bullaris*, *T. nudicaudus*, *T. tumbalensis* y *T.*

*watsoni*, y proponen el reconocimiento de solo dos grupos a lo largo de su distribución. Nosotros encontramos evidencia en la forma que nos permite distinguir entre las cuatro especies a las que tuvimos acceso y negar la existencia de dos morfo grupos.

En Centroamérica se encuentran el resto de las especies *T. mirae*, *T. fulviventer*, *T. panamensis* y *T. watsoni*, cada una de ellas con sus respectivos problemas. *T. watsoni* no presenta diferencia significativa en los patrones de coloración, el color de la piel a la altura del metacarpo en las patas posteriores, en donde el color blanco de las patas que caracteriza a las demás especies de *Tylomys*, es más oscuro y llega en algunos casos hasta el inicio de los dedos. Esta característica es también observada en algunos ejemplares de Chiapas (Espinoza, 2002, Hall, 1981).

*T. panamensis* presenta características craneales notablemente diferentes, donde la bóveda craneana es elevada, mostrando una forma “globosa”, rasgo notorio en comparación con el resto de los taxa, los cuales presentan esa región aplanada (Espinoza, 2002). Pese a no contar con ejemplares de *T. panamensis*, la forma promedio que obtuvimos apoya la descripción anterior, debido a que la vista lateral muestra un cráneo aplanado en los cuatro taxa analizados.

Espinoza en 2002 no reporta diferencias entre *T. mirae* y *T. fulviventer*, pero si una particularidad distintiva importante que las diferencia del resto, ambas presentan una mancha ocre muy notoria en el vientre. La similitud de ambas ha llevado a proponer que *T. fulviventer* es una subespecie de *T. mirae* (Cabrera, 1961). Mientras que de acuerdo con Handley (1966) *T. fulviventer* y *T. watsoni* son sinonimias júnior de *T. panamensis*. Recomendamos una revisión taxonómica que reúna la muestra suficiente para validar las especies del género. En el presente trabajo encontramos morfotipos distintos que se corresponden con las especies descritas.

Por otro lado el género *Ototylomys* evidenció diferencias significativas, en la forma de las vistas entre los grupos formados por cada una de las tres subespecies. El espacio de coordenadas muestra que las formas de la subespecies *O.p. australis* es distinta de las otras dos subespecies. La región anterior en el dentario, es significativa pero no es informativa para discriminar claramente entre los tres grupos en el mapa de coordenadas. Estas diferencias en forma se corresponden con lo propuesto por Gutierrez-García (2008) y

Vázquez-Domínguez (2012) donde mencionan que las poblaciones de Costa Rica (Centroamérica) deben ser analizadas de manera independiente, por ser diferentes genéticamente del resto, el linaje de Costa Rica corresponde a la subespecie *O.p. australis*.

Adicionalmente, *Ototylomys* presenta variación morfológica altitudinal entre poblaciones de tierras bajas, intermedias y altas, a lo largo de su distribución. Así como también la presencia de dos morfos distintos en la Península de Yucatán, uno al Oeste y el otro al E, a lo largo de la pequeña sierra de Ticul (Gutiérrez-Blando, 2015). Nosotros no evaluamos el tamaño pero se ha reportado que los individuos de tierras altas (Chiapas, Costa Rica) son más grandes en comparación con los individuos de (Yucatán y Belice) en tierras bajas (Lawlor, 1969).

A pesar del gran parecido en el cráneo de los dos linajes, asociado a sus afinidades filogenéticas, se logra distinguir el nuevo clado de tierras elevadas del clado *Nyctomys* de tierras bajas. Bajo nuestra propuesta de marcas es la región ventral la que fue estadísticamente más significativa, siendo el área del basiesfenoides y los pterigoides donde se aprecian las diferencias en forma indicada por la dirección de cambio de los vectores en las rejillas de deformación. Musser y Carleton en 2005 proponen que las *Nyctomys* del norte son distintas de las del sur. Lo anterior con base en dos caracteres, el patrón circulatorio de la carótida (completa vs derivada) y el número de raíces en el molar 2 (tres vs cuatro). El grupo de noroeste del Istmo de Tehuantepec (que poseen un patrón completo y tres raíces en el M2); y el otro más al sur y al sureste del istmo (que exhiben una condición derivada de la carótida y cuatro raíces en el M2). Sin embargo en el presente estudio las formas de tierras elevadas son diferentes de las de tierras bajas y son apoyadas por la evidencia molecular.

Se han reportado formas diferentes relacionadas con gradientes altitudinales en roedores (Fadda y Corti 1998, 2001; Gutiérrez-Blando, 2015; Monterio *et al.*, 2003). En *Nyctomys* los individuos de tierras bajas secas tienden a ser más pequeños y de colores más brillantes, mientras que los de regiones altas húmedas son más grandes y oscuros (Reid 2009). Y el promedio de medidas somáticas en sugiere un incremento de talla a lo largo de su distribución de norte a sur (Bangs 1902; Goldman 1916, 1937; Goodwin 1969; Laurie 1953; True 1894).

Finalmente al comparar la forma de *Otonyctomys* con las formas de su grupo hermano “*Nyctomys*” de tierras bajas encontramos que ventralmente la región del basiesfenoides es reducida debido a que las bulas timpánicas son grandes y ocupan un espacio importante en la base del cráneo, dicha característica también se refleja en la caja craneana vista lateralmente. En *O.hatti* el hueso dentario es distinto porque presenta un alargamiento y separación evidente de los procesos condiloideo, coronoides y angular. El alargamiento de los procesos condiloideo, coronoides y angular, así como el aumento de tamaño de las bullas timpánicas, en roedores, está asociado a ambientes secos (Monteiro *et al.*, 2013). *Otonyctomys* habita las partes elevadas de los árboles que componen las selvas altas, medianas caducifolias y selvas secas, llamadas localmente “acahuales”, vegetación caracterizada por una temporada larga de sequía.

### **Morfometría geométrica y Filogenia**

De acuerdo a las configuraciones propuestas, solo la vista dorsal recupera la monofilia de la subfamilia y encuentra la parafilia que presenta *Nyctomys*, exponiendo un cierto nivel de congruencia respecto a la filogenia molecular, esto puede deberse a que es una estructura conservada, que presenta señal filogenética y un bajo porcentaje de homoplasia. La combinación de los caracteres de forma, es muy similar a la propuesta con datos moleculares, recupera la monofila de la subfamilia pero no resuelve los arreglos entre el clado nuevo de tierras elevadas, *Nyctomys* de tierras bajas y *O. hattii* pero los mantiene separados de *Tylomys* y *Otorylomys*. Los arreglos en *Tylomy* y *Ototylomys* se resuelven y quedan independientes al clado no resuelto de *Nyctomys* y *Otonyctomys*. La reconstrucción de las configuraciones muestra que la forma ancestral que dio origen a la subfamilia presentaba un cráneo corto y robusto. Esta configuración origino dos tipos de forma, alargada y comprimida dorsoventralmente que presentan *Tylomys* y *Ototylomys*, y la forma corta, ancha y globosa que presentan el nuevo clado de tierras elevadas, *Nyctomys* de tierras bajas y *Otonyctomys*.

El uso de una sola configuración en análisis ha mostrado casos donde los resultados obtenidos han presentado un cierto nivel de acuerdo con filogenias aceptadas (González-José *et al.*, 2008; Panchietti *et al.*, 2008; Scalaci y Panchietti, 2011). Pero en general los análisis filogenéticos basado solo en una configuración de marcas arrojan resultados pobres y en muchas ocasiones peores que los obtenidos cuando se considera el conjunto de datos

completo (Ospina, 2016), situación que nosotros encontramos, ya que al evaluar las cinco configuraciones por separado, solo la vista dorsal mostro congruencia con la propuesta filogenética molecular. El uso de configuraciones de marcas para inferir relaciones filogenéticas es relativamente nuevo y se ha visto que el incremento en el número de configuraciones así como el número de marcas, mejora sustancialmente los resultados del análisis (Assis 2009; Catalano *et al.* 2014; Wiens 2004).

### **Datos combinados y filogenia**

El análisis filogenético por datos combinados con la evidencia molecular y las configuraciones producto de la morfométrica geométrica brinda una mayor solidez a las propuestas filogenéticas del presente estudio, además muestra las reconstrucciones de las configuraciones ancestrales. La forma ancestral de la subfamilia en las vistas del cráneo no presenta cambios notables con respecto a las formas de los representantes actuales sin embargo es clara la separación de dos subgrupos donde las formas ancestrales muestran una tendencia hacia rostros largos y cajas craneanas comprimidas dorsoventralmente en *Tylomys* y *Otonyctomys*; mientras que la tendencia de rostro corto, ancho y caja craneana globosa se ve en la forma ancestral del nuevo clado de tierras elevadas, *Nyctomys* de tierras bajas y *Otonyctomys*. Es *Otonyctomys* el que muestra formas distintitas con respecto a las formas promedio de su grupo hermano. El porcentaje de homoplasia para los tres caracteres (configuraciones) fue bajo entre 21-28%.

El Dentario, dividido en región anterior (incisivos) y posterior (proceso coronoides, condiloideo y angular), mostro un diastema corto en la forma ancestral, la cual es similar en los representantes actuales de *Otonyctomys* y *Nyctomys*, mientras que se aprecia de mayor longitud en *Tylomys* y *Ototylomys*. Esta configuración fue la que resultó con menos porcentaje de homoplasia (14%). La región posterior donde se ubican los cóndilos fue la que mostró mayores cambios y mayor porcentaje de homoplasia (45%), toda la configuración cambia con respecto a la configuración del grupo externo. Esta región se muestra compacta en la forma ancestral muy similar a la forma que presentan *Tylomys* y *Ototylomys*, dicha región se extiende horizontal y verticalmente en las formas que presenta *Nyctomys* y *Otonyctomys*.

De acuerdo con nuestras configuraciones propuestas cuatro de las cinco vistas mostraron ligeros cambios entre los ancestros y descendientes, por lo cual podríamos hablar de señal filogenética donde la cantidad de cambio es pequeña y se produce de manera estocástica. De esta forma, la cantidad de cambio será proporcional al tiempo evolutivo transcurrido, y, por tanto, cuanto más emparentados estén dos especies, menor será el tiempo desde su divergencia, y menor se espera que sea la diferencia en dicho carácter (Losos, 2008).

Mientras que la configuración anterior del dentario (figura 19) fue la que más cambios presentó, en la región de los procesos coronoides, condiloideo y angular, diferencias que pueden deberse a que es una estructura ósea sometida a grandes presiones de selección como consecuencia a la adaptación a distintos tipos de alimentación (Casanovas-Vilar y J. Dam, 2013; Ospina, 2010).

En general es evidente que la forma ancestral que dio origen en el Mioceno a la subfamilia presentaba un cráneo corto y robusto. Por lo que es probable que un cambio en la dieta originara los dos tipos de formas, a finales del Mioceno, intervalo de tiempo donde la vegetación experimento ciertos grados de alteración debido a un cambio de clima más frío, seco y estacional (Woodburne, 2010).

De manera particular en *Tylomys* encontramos diferencias en forma para las cuatro especies, sin embargo solo evaluamos con datos combinados a *T. nudicaudus*. Donde la vista dorsal muestra un ensanchamiento en la región donde se unen el frontal y parietal con respecto a la forma ancestral, la vista lateral, la vista ventral y la región anterior del dentario mantienen una forma conservativa y no evidencian cambios notables entre las configuraciones ancestrales y las actuales. El dentario muestra, los procesos coronoides y condiloideo más robustos que los procesos que presenta *Ototylomys*, congruente con lo reportado por Lawlor en 1982. *Tylomys* se diferencia de su grupo hermano, *Ototylomys*, por ser un roedor de mayor tamaño, presentar una cola bicolor, ausencia de una mancha blanca en la base de las orejas y una bula auditiva pequeña y de menor tamaño (Lawlor, 1969,1982).

Por otro lado *Ototylomys* presentó una forma similar entre la reconstrucción ancestral y la forma actual en la vista dorsal y ventral, la caja craneana es ligeramente más redonda que la de *Tylomys*. La forma ancestral en la vista lateral es oronda y en la configuración actual en *Ototylomys* se percibe delgada y estrecha dorsoventralmente. El dentario se visualiza



comprimida dorsoventralmente en la forma actual de *Ototylomys* con respecto a la reconstrucción ancestral. *Ototylomys phyllotis* está formado por cuatro filogrupos y presenta variación morfológica que se corresponde con los datos genéticos que presenta a lo largo de su distribución (Gutiérrez-Blando, 2015).

Entre *Nyctomys* de tierras bajas y el clado nuevo de tierras elevadas, cuatro de las cinco vistas no muestran diferencias claras que los distinguan y tampoco con respecto a la forma ancestral, sin embargo presentan diferencias en el dentario, donde las poblaciones de tierras bajas exhiben una mayor separación entre el proceso condiloideo y el proceso coronoides con respecto a la forma promedio de las poblaciones de tierras altas y el ancestro. Las diferencias presentes en dichos procesos, en murciélagos, están asociadas a la masticación, fuerza de mordida y dieta (Ospina, 2016).

De manera particular *O. hatti* presenta diferencias en las formas actuales con respecto a las formas ancestrales. La vista dorsal nos dice que el ancestro presentaba un rostro más largo que en la forma actual donde el rostro es corto y también ligeramente comprimido lateralmente. La forma del cráneo en *O. hatti* es abombada, con un basiesfenoides reducido debido al gran espacio que ocupan las bulas timpánicas en esa región. El tamaño de las bulas timpánicas es un carácter homoplasico, ya que los miembros de la subfamilia Heteromyidae también presentan bulas timpánicas de gran tamaño. El hueso dentario muestra diferencias en la forma actual de la parte posterior donde un alargamiento y separación de los procesos condiloideo y coronoides. La parte anterior (incisivos, molares, diastema y parte del ramus mandibular) se mantienen sin cambios notables en la forma ancestral con respecto a la actual.

Las diferencias morfológicas, previamente reportadas, junto con las medidas craneales de menor tamaño, hilera de dientes maxilares de menor extensión y principalmente el tamaño de las bulas timpánicas (Anthony, 1916; MacSwiney *et al.*, 2009) y su distribución restringida a la península de Yucatán, norte de Guatemala y Belice, son diferencias notables que hacen de *O. hatti* un taxa distinto de *Nyctomys* (Aranda *et al.*, 1997; McCarthy 1993; MacSwiney *et al.*, 2009).

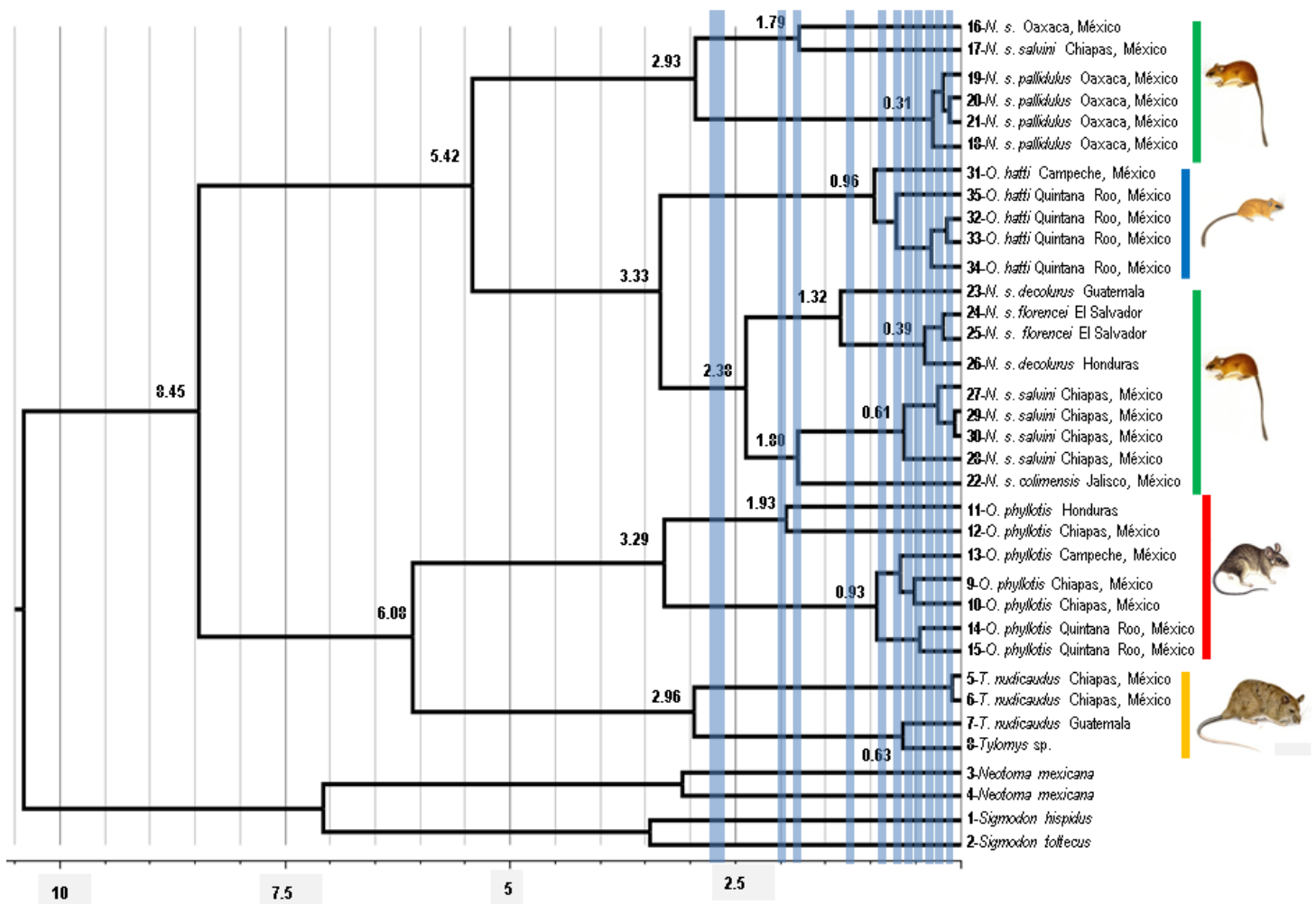
## Reloj molecular

El reloj molecular para *Cit b* mostró una propuesta topológica donde el origen de la subfamilia es calculada en 8.45 millones de años aproximadamente durante el Mioceno. La evidencia molecular ha reportado numerosos eventos de cladogenesis durante el Neógeno que dieron origen a las subfamilias americanas actuales de roedores cricetidos, evidencia apoyado por la riqueza del registro fósil durante ese intervalo de tiempo para dichas subfamilias (Engel *et al.*, 1998; Fabre *et al.*, 2012; Korth, 1991; Schenk *et al.* 2013).

El grupo hermano de la subfamilia son los sigmodontinos, por lo que es muy probable que los ancestros de Tylomyinae se originaran en Suramérica y posteriormente poblaran Centroamérica, donde comenzaron su radiación hace 8.45 m.a. Lo anterior siguiendo propuestas sobre las primeras migraciones de mamíferos terrestres de Suramérica hacia Norteamérica y viceversa, a través de Centroamérica que fungió como corredor biológico, el cual para el Mioceno estaba formado por un arco volcánico (Carrillo *et al.*, 2015; Coates *et al.*, 1992; Coates *et al.*, 2004; Cody *et al.*, 2010; Escalante y Astorga, 1994; Woodburne, 2010). Y es que roedores fósiles con afinidades Suramericanas ya están presentes en Norteamérica, mucho antes del Gran Intercambio Biótico Americano, como los géneros *Guanajuatomys* y *Marfilomys* en México, relacionados con roedores caviomorphos (Black y Stephens, 1973; Ferrusquia-Villafranca, 1989) y los primeros sigmodontinidos en Florida para el Claredoniano (13.6-10.3m.a.) de Norteamérica (Baskin, 1986).

En Centroamérica, el clado conformado por *Tylomys* y *Ototylomys* posiblemente divergió hace 6.08 millones de años a finales del Mioceno, mientras que el clado que contiene al nuevo linaje de tierras elevadas se separó de *O. hatti* y *Nyctomys* de tierras bajas hace 5.42 millones de años a finales del Mioceno inicios del Plioceno. La evidencia geológica muestra para esas fechas (6 m.a.) que las tierras que hoy forman Nicaragua, Honduras y El Salvador ya habían emergido, en tanto que la región de Costa Rica y Panamá estaba conformada, por una serie de islas, formando una vía de paso entre Suramérica y Norteamérica. (Coates *et al.*, 1992; Coates *et al.*, 2004; Escalante y Astorga, 1994). Por lo que es probable que los ancestros de *Tylomys*, *Ototylomys*, *Nyctomys* y *Otonyctomys* comenzaran a dispersarse a partir de algún punto en Centroamérica, hacia el norte y el sur, dado que las condiciones geológicas de la época se los permitió.

El linaje de *Ototylomys* probablemente surgió hace 3.29 millones de años a finales de Plioceno y es posible que su origen sea en Centroamérica (Honduras). Edades similares a lo reportado para el género con *Cit-b* por Gutiérrez-García en 2008; Gutiérrez-García y Vázquez-Domínguez en 2012. El ancestro de *Ototylomys* debió encontrarse en lo que hoy es Honduras/El salvador hace 3.35 millones de años y a partir de allí se diversificó y expandió al norte, hacia la península de Yucatán, y al sur, hasta Costa Rica, durante el Gran Intercambio Biótico Americano (GABI) con el surgimiento del Istmo de Panamá (Gutiérrez-García, 2008; Gutiérrez-García y Vázquez-Domínguez, 2012).



**Figura 22.** Tiempos de divergencia con el gen *Cit. b*, la escala es en millones de años. Las barras paralelas en azul corresponden a eventos glaciales. En amarillo *Tylomys*; rojo *Ototylomys*; azul *Otonyctomys*; verde “*Nyctomys*”

El clado formado por Honduras y Chiapas divergió hace 1.9 m.a., mientras que el clado de Campeche y Chiapas se separaron del de Quintana Roo hace 930 mil años durante el Pleistoceno. Este periodo de tiempo se caracterizó por presentar intervalos de oscilaciones climáticas extremas (episodios glaciales e interglaciales) que comenzaron hace 2.6 m.a. aproximadamente (Gibbard y Kolfshoten, 2004) las fechas de separación de los clados se corresponden con los episodios de glaciación. Fósiles de *Ototylomys* han sido reportados para cuevas en la península de Yucatán, siendo hasta ahora fechados con métodos radiométricos los de la cueva de Loltún con una edad de 25 mil años calibrados aproximadamente, por lo que *Ototylomys* ya se encontraba establecido en la península a finales del Pleistoceno (Gutierrez.García et al., 2014; Morales-Mejía et al., 2009).

El clado conformado por *Tylomys* divergió de *Ototylomys* hace 6.08 millones de años a finales del Mioceno. Cabe recordar que de las siete especies reconocidas para el género solo contamos con evidencia molecular de una de ellas, por lo tanto las poblaciones de *Tylomys nudicaudus* analizadas, datan de finales del Plioceno hace 2.96 m.a. Posiblemente a partir de Centroamérica se dispersaron hacia el norte llegando hasta Veracruz por la parte del Golfo y hasta Guerrero por la parte del Pacífico en México y hacia el sur, hasta Nicaragua.

Tres especies de *Tylomys* se distribuyen actualmente en Costa Rica y Panamá, región en Centroamérica de reciente formación geológica, a partir de un arco de volcánico de islas que comenzó hace 12 m.a. y culminando con el surgimiento del Istmo de Panamá hace cerca de 3 m.a. (Coates et al., 1992; Coates et al., 2004). Por lo que es posible que *T. watsoni* (de Costa Rica y Panamá); *T. fulviventer* (lado este de la cordillera del Darién, Panamá) y *T. panamensis* (el alto Darién, Panamá) sean resultado de los eventos geológicos antes mencionados y los cambios climáticos extremos del Pleistoceno. Finalmente *T. mirae* la especie más al sur y de quien tampoco tenemos datos moleculares, actualmente se encuentra en el norte de Colombia y Ecuador, entre la cordillera de los Andes y las laderas Oeste de la cordillera del Darién en Panamá (Espinoza et al, 2006; Musser y Carleton, 2005).

El registro fósil de *Tylomys* es escaso y solo se han descrito algunos fragmentos óseos y dientes de *T. watsoni* encontrados en depósitos de travertino en Costa Rica, fechados para el Pleistoceno superior (Laurito-Mora, 2003).

Por otro lado los ancestros del linaje nuevo de tierras elevadas divergió del clado formado por *O.hatti* y *Nyctomys* de tierras bajas hace 5.42 m.a. a finales del Mioceno y principios del Plioceno, fecha similar al tiempo de separación reportado por Cody y colaboradores en 2011. La información geológica sugiere que durante el Mioceno hubo un corredor formado por tierras altas a lo largo del Istmo de Tehuantepec y que posteriormente colapso por actividad tectónica durante el Plioceno, este evento separo las montañas a ambos lados del Istmo (Arbeláez-Cortez et al., 2010). Los representantes más antiguos del nuevo linaje de tierras elevadas se encuentran aislados en las regiones sur de la Sierra Madre Oriental, al norte del Istmo, y en los altos de Chiapas, al lado sur del Istmo.

El nuevo linaje de tierras elevadas origino dos clados hace 2.93 millones de años a finales del Plioceno principios del Pleistoceno, resultado de una glaciación pre-Ilioniana (Gibbard y Kolfshoten, 2004). Los representantes más remotos son los de las montañas del sur de la Sierra Madre Oriental, Oaxaca y la Sierra Madre de Chiapas y las poblaciones más recientes son las de la Sierra Madre del Sur, en Oaxaca.

Mientras que *Nyctomys* de tierras bajas se diferenció de hace *Otonyctomys* 3.33 m.a. a finales del Plioceno principios del Pleistoceno. *Nyctomys* de tierras bajas se dispersó en México durante el Pleistoceno, posiblemente, a través del corredor biológico del pacífico y el corredor de la llanura costera del Golfo propuestos por Ferrusquia-Villafranca y colaboradores en 2010, dichas rutas de migración concuerdan con el patrón de distribución actual y es probable que exista una relación pues *Nyctomys* de tierras bajas se encuentra entre la Sierra Madre del Sur hacia las tierras costeras del Pacífico desde Colima hasta Chiapas y, por la parte del Golfo va de la Sierra Madre Oriental hacia la llanura costera del Golfo a través de Veracruz y Tabasco.

*Nyctomys* de tierras bajas sufrió varios eventos de cladogenesis durante el Pleistoceno y coinciden con fechas de periodos glaciales e interglaciares pre-Illinoniamos e Illinonianos. El linaje de Centroamérica (Guatemala, El Salvador, Honduras) se diferenció de los que se

encuentran en México (Chiapas, Jalisco) hace 2.38 m.a., siendo las tierras bajas de Jalisco, el lugar de los representantes más ancestrales, tanto de México como de Centroamérica. Situación similar exhibe el ratón tlacuache *Tlacuatzin canescens*, también de afinidad sudamericana, donde sus poblaciones más antiguas se encuentran en las islas Marías y las tierras bajas de Jalisco y Colima (Arcangeli, 2013). Durante el Neógeno ocurrieron migraciones independientes, es decir, las especies provenientes de Suramérica entraron a Centroamérica y Norteamérica en diferentes momentos (Arteaga, 2011, Carrillo *et al.*, 2015; Baskin, 1986; Pinto-Sánchez *et al.*, 2012), por lo que probablemente el linaje de Jalisco es consecuencia de las primeras migraciones que pudieron presentar los integrantes de *Nyctomys* de tierras bajas al llegar a Norteamérica. No se conoce material fósil asociado a *Nyctomys*.

Finalmente *O.hatti* surge hace 3.33 millones de años a finales del Plioceno principios del Pleistoceno. *Otonyctomys* se encuentra en las tierras bajas de la península de Yucatán, donde la Sierra Madre de Chiapas y el Istmo de Tehuantepec, en México, y la Cordillera Centroamericana, en Guatemala, actúan como barrera geográfica para el género. Las faunas actuales de la península de Yucatán provienen del sur, lugar donde se originaron y comenzaron su dispersión hacia el norte de la misma (Vázquez-Domínguez y Arita, 2010). Material fósil de *O. hatti* ha sido reportado para el Pleistoceno, los restos se encontraron en depósitos dentro de las cuevas de Lara, Has, Loltún, Coyok, Chaclajas y Spukil en Yucatán, México, y corresponden a 18 dentarios, dos molares y otros fragmentos óseos (Hatt *et al.*, 1953).

El presente estudio encontró características morfométricas y moleculares particulares de cada género, donde la información molecular nos habla de la diversidad de especies, resultado de un balance entre especiación y extinción, mientras que la diferencia morfológica es consecuencia de la adaptación (Fabre *et al.* 2012).

## El caso de *Nyctomys* y el Nuevo clado

*Nyctomys sumichrasti* fue considerado un género monotípico de amplia distribución, situación que cambia ante la luz de la nueva evidencia encontrada. Se ha visto que géneros con amplia distribución generalmente están formados por más de una especie, en mamíferos podemos mencionar el caso de los roedores del género *Sigmodon* (Carroll *et al.*, 2005) y *Handleyomys* (Almendra *et al.*, 2014), así como el murciélago del género *Sturnira* (Velazco y Patterson, 2013).

En el 2011 Corley y colaboradores, con base en datos moleculares, mostraron a *Nyctomys* como un grupo parafilético y sugirieron que la taxonomía del género debía ser revaluada. El presente trabajo encontró resultados similares apoyado por más elementos, como los valores de distancia genética, diferencias en forma y el aislamiento geográfico, que apoyan la existencia de un nuevo género endémico de roedor para la subfamilia y posiblemente más de una especie. De acuerdo con nuestra propuesta de reloj molecular el nuevo clado posiblemente divergió de *O. hatti* y *Nyctomys* de tierras bajas hace 5.42 millones de años a finales del Mioceno inicios del Plioceno. Se encuentra dividido en dos linajes, uno en las partes altas al sur la Sierra Madre del Sur, en Oaxaca y el otro linaje se encuentra al sur de la Sierra Madre Oriental y la Sierra Madre de Chiapas. Esta divergencia ocurrió hace aproximadamente 2.93 millones de años a finales del Plioceno principios del Pleistoceno. Las distancias genéticas entre ambos linajes son valores de 10-12%.

La morfometría geométrica encontró diferencias en el cráneo y dentario del nuevo clado al compararlo con las *Nyctomys* de tierras bajas, dichas diferencias muestran un cráneo corto y más globoso, donde los vectores de cambio muestran una reducción en la región frontal y occipital, amplitud en la región del basiesfenoides y un dentario corto.

El nuevo clado de tierras elevadas, es genéticamente distinto y morfológicamente similar al clado de *Nyctomys* de tierras bajas por lo que han sido consideradas un mismo ente biológico, esta es una particularidad de las especies consideradas cripticas. Ecológicamente, las especies cripticas surgen por medio de selección estabilizadora que actúa sobre taxones que presentan intervalos de distribución restringidos y una morfología conservadora (Egea *et al.*, 2016). Aquí reportamos diferencias estadísticamente significativas y visuales que ayudan a diferenciar los dos linajes.

Con base en la información recabada el género *Nyctomy* corresponderá al clado de tierras bajas formado por 2 linajes, uno en México y otro en Centro América. Por lo pronto en México encontramos el linaje formado por Chiapas y Jalisco, este último presenta valores altos en las distancias genéticas de 12% con respecto a las poblaciones de Chiapas. Y en Centro América el linaje se compone de las poblaciones de El Salvador-Honduras-Guatemala que también presentan valores altos entre ellos del 8-13% y valores altos del 12-15 % con respecto al linaje de Jalisco y Chiapas. Dichos arreglos no se correspondieron con la distribución de las subespecies descritas, por lo que se sugiere que sea revisada su validez taxonómica.

Sin embargo falta reunir información de las poblaciones costeras del Pacífico (Colima, Michoacán, Guerrero y Oaxaca) y de Veracruz del lado del Golfo de México. En Centroamérica se desconoce el estado de las poblaciones de Nicaragua, Costa Rica y Panamá. Lo anterior permitirá conocer y explicar de mejor manera la historia evolutiva y distribución del género *Nyctomys* de tierras bajas.



## Conclusiones.

-Los análisis filogenéticos moleculares, morfométricos y concatenados recuperan la monofilia de la subfamilia Tylomyinae; *Tylomys* y *Ototylomys* se conservan como linajes hermanos y monofiléticos formando la tribu Tylomyini; *Otonyctomys* se mantiene monofilético y se evidencia que “*Nyctomys*” no es un grupo natural. De él se desprende el nuevo clado de tierras elevadas y el clado de tierras bajas, por lo que la tribu Nyctomyini estaría conformada por *Otonyctomys*, *Nyctomys* y el clado nuevo de tierras elevadas.

- La reconstrucción de las configuraciones muestra que la forma ancestral que dio origen a la subfamilia presentaba un cráneo corto y robusto. Esta configuración origino dos tipos de forma, alargada y comprimida dorsoventralmente que presentan *Tylomys* y *Ototylomys*, y la forma corta, ancha y globosa que presentan el nuevo clado de tierras elevadas, *Nyctomys* de tierras bajas y *Otonyctomys*.

-El nuevo clado de tierras elevadas es endémico a México y se reconocen tres localidades, dos en las sierras de Oaxaca y una en los altos de Chiapas (Anexo IV) y los valores de distancia genética entre el nuevo clado de tierras elevadas y *Nyctomys* tierras bajas fue de 19.3% (cuadro 5).

-Los linajes de de las tierras bajas pertenecen al género *Nyctomys*, el clado de Jalisco debe ser analizado minuciosamente debido a que presentó valores altos en las distancias genéticas con respecto a otras *Nyctomys*.

-*Tylomys* es un género monofilético, se encontraron dos linajes en *T. nudicaudus*: México (Chiapas) y Guatemala. Presentan valores de distancia genética de 12-13% entre ellos. Los análisis filogenéticos de la forma indican que *T. watsoni* está más relacionado con *T. mirae* mientras que *T. nudicaudus* lo está con *T. tumbaensis* (figura 14).

-*O. hatti* es un clado monofilético y presenta distancias genéticas bajas del 1.7%.

-*Ototylomys* es un género monofilético, el linaje de Costa Rica mostro diferencias significativas en forma respecto al resto del grupo.

-El uso de la morfometría geométrica posee ventajas en las reconstrucciones filogenéticas, como el poder incluir ejemplares raros o difíciles de coleccionar pero que están presentes en las colecciones científicas (los ejemplares escasos de las especies de *Tylomys*); puede incorporar en sus análisis taxas fósiles; y proporcionar evidencia alternativa que puede ser utilizada para identificar los posibles sesgos en los datos moleculares. No menos importante los estudios filogenéticos morfológicos generan gran cantidad de conocimiento biológico-anatómico, importante en el estudio de la sistemática. Los datos morfométricos son complemento ideal de la información molecular.

## Literatura citada.

- Adkins, R. M., E. L. Gelke, D. Rowe y R. L. Honeycutt. 2001. Molecular phylogeny and divergence time estimates for major rodent groups: Evidence from multiple genes. *Molecular Biology and Evolution*. 18: 777-791.
- Almendra A., D. Rogers y F. González-Cózatl, 2014. Molecular phylogenetics of the *Handleyomys chapmani* complex in Mesoamerica. *Journal of Mammalogy* 95 (1): 26-40
- Alvarez-Castañeda T., 2015. Subfamily Tylomyinae Reig, 1984. Pp. 685-687, en *Mammals of South America Volume 2: Rodents* (Patton J, U. Pardiñas y G. D'Elía eds.) University Chicago Press, 1336 pp.
- Anthony H. 1916. Panama mammals collected in 1914-1915. *Bulletin of the AMNH* 35:357-375pp
- Aranda M., J. Escobedo y C. Pozo. 1997. Registros recientes de *Otonyctomys hatti* (Rodentia: Muridae) en Quintana Roo, México. *Acta Zoológica Mexicana* 72: 63-65
- Arbelaez-Cortés E., A. Nýari y A. Navarro-Singüenza, 2010. The differential effect of lowlands on the phylogeographic pattern of Mesoamerican montane species (*Lepidocolaptes affinis*, Aves:Furnariidae) *Mol. Phyl. and Evol.* 57: 658-668
- Arcangeli J., F Cervantes y J. Ligth, 2013. Sistemática molecular del ratón tlacuache (*Tlacuatzin canescens*). *Memorias del XII Congreso Nacional de Mastozoología*.
- Arellano E., D. Rogers y F. González-Cózatl, 2006. Sistemática molecular del género *Reithrodontomys* (Rodentia:Muridae) 27-35 p. En En Vázquez-Dominguez E. y D. Hafner, eds. *Genética y mamíferos mexicanos: presente y futuro*. New México Museum of Natural History and Science Bulletin 32.
- Arita H., 2005. *Ototylomys phyllotis* Merriam, 1901 en Ceballos, G. y G. Oliva. 2005. *Los mamíferos silvestres de México*. Fondo de Cultura Económica. México. 986 p.p

- Arteaga M., 2011. Filogeografía del armadillo de nueve bandas (*Dasypus novemcinctus*) en México. Tesis Doctoral, Instituto de Ecología, UNAM. 110 pp.
- Assis L., 2009. Coherence, correspondence, and the renaissance of morphology in phylogenetic systematics. *Cladistics* 25:528-544
- Avice J., 2004. Molecular markers, natural history and evolution. Sinauer Associates, Inc. Publisher. Sunderland, Massachusetts 684 pag.
- Baker R. y R. Bradley, 2006. Speciation in mammals and the genetic species concept. *Journal of Mammalogy* 87(4): 643-642
- Bangs O., 1902. Chiriqui mammalia. *Bulletin of the Museum of Comparative Zoology* 39:17-51
- Barber B. y J. Klicka, 2010. Two pulse of diversification across the Isthmus of Tehuantepec in a montane Mexican bird fauna. *Proceedings of the Royal Society B*, 277: 2675-2681
- Barciová L., 2009. Advances in insectivore and rodents systematic due to geometric morphometrics. *Mammal Review*, 39 (2): 80-91
- Baskin J., 1986. The late Miocene radiation of Neotropical sigmodontine rodents in North America, en: *Vertebrates, Phylogeny, and Philosophy* (K. Flanagan y Lillegraven, eds.), pp. 287-304
- Black C. y J. Stephens, 1973. Rodents from Paleogene at Guanajuato, México. *Occasional Pappers Museum Texas Tech University* 14: 1-10
- Bradley R. y R. Baker, 2001. A test of the genetic species concept: cytochrome-b sequence and mammasl. *Journal of Mammalogy* 82(4): 960-973
- Bradley, R. D., C. W. Edwards, D. S. Carrol y C. W. Kilpatrick. 2004. Phylogenetic relationships of Neotominae-Peromyscine rodents: based on DNA sequences from the mitochondrial cytochrome-b gene. *Journal of Mammalogy*. 85: 389-395.

- Bradley, R. D., N. Durish, D. Rogers, J. Miller, M. Engstrom y C. W. Kilpatrick., 2007. Toward a molecular phylogeny for *Peromyscus*: evidence from mitochondrial cytochrome-b sequences. *Journal of Mammalogy* 88 (5):1146-1159
- Cabrera A. 1961. Catálogo de los mamíferos de América del sur. *Revista del museo de ciencias naturales "Bernardo Rivadavia" e instituto nacional de invastigacion de ciencias naturales* 4:309-732.
- Cardini A., 2003. The geometry of the marmot (Rodentia: Sciuridae) Mandible: Phylogeny and Patterns of Morphological evolution. *Syst. Biol.* 52 (2): 186-205
- Cardini A. y O'higgins, 2004. Patterns of morphological evolution in Marmota (Rodentia, Sciuridae): geometric morphometrics of the cranium in the context of marmot phylogeny, ecology and conservation. *Biological Journal of the Linnean Society*, 82: 385-407
- Carrillo J., A. Forasiepi, C. Jaramillo y M. Sánchez-Villagra, 2015. Neotropical mammal diverdity and Great American Biotic Interchange: spatial and temporal variation in south America's fossil record. *Frointiers in Genetics* 5: 1-11
- Carleton M., 1980. Philogenetic Relationships in Neotominae-Peromyscine Rodents (Muroidea) and a Reappraisal of the Dichotomy within New World Cricetinae. *Micellaneous Publications, Museum of Zoology, University of Michigan* 157: 1-146.
- Carranza S., 2002. Los métodos moleculares en el estudio de la sistemática y filogenia de los Anfibios y Reptiles Ibéricos. Pp 551-579 *en* Atlas y Libro Rojo de los Anfibios y Reptiles de España. Pleguezuelos J., R. Márquez y M. Lizana, eds. Dirección General de la Conservación de la Naturaleza-Asociación Herpetológica Española (2ª impresión). Madrid.
- Carrol D. y R. Bradley, 2005. Systematics of the genus *Sigmodon*: DNA Sequences from Beta-fibrinogen and Cytochrome b. *The Southwestern Naturalist* 50 (3): 342-349
- Casanovas-Vilar I. y J. Van Dam, 2013. Conservatism and adaptability during squirrel radiation: what is mandible shape telling us. *PLosOne* 8(3):e61298

- Catalano S., M. Ercoli y F. Prevosti, 2015. The more, the better: the use of multiple Landmark configurations to solve the phylogenetic relationships in Musteloids. *Syst. Biol.* 64 (2):294-306
- Catalano S. y P. Goloboff, 2012. Simultaneously Mapping and Superimposing Landmark configurations with parsimony as optical criterion. *Syst. Biol.* 61(3):392-400
- Catalano S., P. Goloboff y N. Giannini, 2010. Phylogenetic morphometrics (I): the use of landmark in a phylogenetic framework. *Cladistic* 26:11-20
- Corley M., N. Ordoñez-Garza, D. Rogers y R. Bradley, 2011. Molecular Evidence for Paraphyly in *Nyctomys sumichrasti*: Support for a New Genus of Vesper Mice? *Ocasional papers Museum Texas Tech University* 306: 1-10
- Coates A., J. Jackson, L. Collins, T. Cronin, H. Dowsett, L. Bybell, P. Jung y J. Obando, 1992. Closure of the Isthmus of Panama: The near-shore marine record of Costa Rica and western Panama. *Geological Society of America Bulletin* 104: 814-828
- Coates A., L. Collins, M. Aubry, W. Berggren, 2004. The geology of Darien, Panama, and the late Miocene-Pliocene collision of the Panama arc with northwestern South America. *Geological Society of America Bulletin* 116 (11): 1327-1344
- Domínguez-Castellanos Y., F. Pimentel y G. Ceballos, 2007. Uso del Hábitat de roedores arborícolas en la selva seca de la reserva de la biosfera Chamela-Cuixmala, Jalisco. *Revista Mexicana de Mastozoología* 11: 21-40
- Drake A. y C. Klingenberg, 2010. Large-scale diversification of skull shape in domestic dogs: disparity and modularity. *The American Naturalist* 175: 289-301
- Drummond A. y A. Rambaut, 2007. BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC Evolutionary Biology* 7:214
- Edwards C. y R. Bradley, 2002. Molecular systematics and historical phylogeography of the *Neotoma mexicana* species group. *Journal of Mammalogy*, 83 (1): 20-30

-Egea E., B. David, T. Choné, B. Laurin, J Féral y A. Chenuil, 2016. Morphological and genetic analyses reveal a cryptic species complex in the *Echinocardium cordatum* and rule out a stabilizing selection explanation. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 94: 207-220

-Engel S., K. Hogan, J. Taylor y S. Davis, 1998. Molecular systematics and paleobiogeography of the South American Sigmodontine rodents. *Molecular Biology and evolution* 15:35-49

-Escalante G. y A. Astorga, 1994. Geología del estado de Costa Rica y el Norte de Panama. *Revista Geológica de América Central*. Vol. Especial Terremoto de Limón: 1-14

-Espinoza M. E., 2002. Biogeografía y sistemática de las ratas arborícolas del género *Tylomys* en México y Centroamérica. Tesis profesional de Doctorado en Ciencias Recursos Bióticos. Facultad de Ciencias Naturales. Universidad Autónoma de Querétaro, México.

-Espinoza M., I. Sánchez, M. García y C. Lorenzo, 2006. Análisis de la distribución de roedores de la familia Muridae en el sur de México. Pp. 47-54. En Vázquez-Domínguez E. y D. Hafner, eds. *Genética y mamíferos mexicanos: presente y futuro*. New México Museum of Natural History and Science Bulletin 32.

-Espinoza M. y Martínez M., 2010. Análisis morfológico y morfométrico de ratas arborícolas del género *Tylomys*. Pp. 43-54 in 60 años de la Colección Nacional de Mamíferos del Instituto de Biología, UNAM. Aportaciones al conocimiento y conservación de los mamíferos mexicanos.

-Espinoza M. E., 2014. *Tylomys bullaris* Merriam, 1901 en Ceballos, G. 2014. *Mammals of Mexico The most comprehensive reference Mexico 's diverse mammalian fauna*. Jonh Hopkins University Press 976 p.p

-Espinoza M. E., 2014. *Tylomys nudicaudus* Peters, 1866, en Ceballos, G. 2014. *Mammals of Mexico The most comprehensive reference Mexico 's diverse mammalian fauna*.Jonh Hopkins University Press 976 p.p

- Espinoza M. E., 2014. *Tylomys tumbalensis* Merriam, 1901, en Ceballos, G. 2014. Mammals of Mexico The most comprehensive reference Mexico 's diverse mammalian fauna. Jonh Hopkins University Press 976 p.p
- Evin A., M. Baylac, M. Ruedi, M. Mucedda y J. Pons, 2008. Taxonomy, skull diversity and evolution in a species complex of *Myotis* (Chiroptera: Vespertilionidae): a geometric morphometric appraisal. *Biological Journal of the Society* 95: 529-538
- Fadda, C. & Corti, M. (1998) Geographic variation of *Arvicanthis* (Rodentia, Muridae) in the Nile Valley. *Zeitschrift für Säugetierkunde*, 63:104–113
- Fadda, C. & Corti, M. (2001) Three-dimensional geometric morphometrics of *Arvicanthis*: implications for systematics and taxonomy. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 39: 235–245.
- Fabre P., L. Hautier, D. Dimitrov y E. Douzey, 2012. A glimpse on the pattern of rodent diversification: a phylogenetic approach. *BMC Evolutionary Biology* 12:88
- Felsenstein J., 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the boots trap. *Evolution*, 39:783-791
- Ferrusquia-Villafranca I., 1989. A new rodent genus from central México and its bearing on the origin of the Caviomorpha, in Papers on Fossil Rodents in Honor of Albert Elmer Wood (C. Black and M. Dawson eds.) Sci. Ser. Nat. Hist. Mus. Los Angeles Co. 33: 91-118
- Ferrusquia-Villafranca I., J. Arroyo-Cabrales, E. Martinez-Hernandez, J. Gama-Castro, J. Ruiz-González, O. Polaco y E. Johnson. Pleistocene mammals of Mexico: A critical review of regional chronofaunas, climate change response and biogeographic provinciality. *Quaternary International* 217: 53:104
- Galewski T., M. Tilak, S. Sanchez, P. Chevret, E. Paradis, E. Douzery., 2006. The evolutionary radiation of Arviocolinae rodents (voles and lemmings): relative contribution of nuclear and mitochondrial DNA phylogenies. *Evolutionary Biology* 6:1-17



- García-Moreno J., A. Navarro-Singüenza, T. Peterson y L. Sánchez.González, 2004. Genetic variation coincide with geographic structure in the common bush-tanager (*Chlorospingus ophthalmicus*) complex from Mexico. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 33: 186-196
- Genoways H., Jones J. K., 1972. Variation and ecology in a local population of the vesper Mouse (*Nyctomys sumichrasti*). *Ocasional Papers of the Museum, Texas Tech University*, 9:1-22.
- Gibbard, P. y V Kolfshoten, 2004. The Pleistocene and Holocene epochs . En Gradstein, F. M.; Ogg, James G.; Smith, A. Gilbert. *A Geologic Time Scale 2004*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Goldman E., 1916. A new vesper rat from Nicaragua. *Proceedings of the biological Society of Washington* 29:155-156
- Goldman E., 1937. New rodents from Middle America. *Journal of the Washington Academy of Sciences* 27:418-423.
- Goloboff P., S. Farris y K. Nixon, 2003. TNT: Tree analysis using new technology. Publicado por los autores. Tucuman.
- Goloboff P. y S. Catalano, 2011. Phylogenetic morphometrics (II): algorithms for landmark optimization. *Cladistics* 27:42-51
- González-José R., I. Escapa, W. Neves, R. Cúneo, N. Pucciarelli, 2008. Cladistic analysis of continuous modularized traits provides phylogenetic signals in Homo evolution. *Nature* 453: 775-778
- Goodwin G., 1969. Mammals from the state of Oaxaca, México, in the American Museum of Natural History. *Bulletin of the American Museum of Natural History* 141:1-269
- Gutierrez Blando C., 2015. Analisis morfogeometrico cranial de la variación geográfica en *Ototylomys phyllotis* (Rodentia,muridae). Tesis para obtener el grado de Maestría en Ciencias Biológicas. Universidad Nacional Autonoma de México 117 pag.

- Gutiérrez-García T., 2008. Estructura genética y filogeografía de *Otodylomys phyllotis*. Tesis profesional de Maestría en Ciencias Biológicas-UNAM Instituto de Ecología. Universidad Nacional Autónoma de México. D.F. México. 58 pag.
- Gutiérrez-García T. y E. Vázquez-Domínguez, 2012. Biogeographically dynamic genetic structure bridging two continents in the monotypic Central American rodent *Otodylomys Phyllotis*. *Biological Journal of the Linnean Society* :1-18
- Gutierrez-García T., E. Vázquez-Domínguez, J. Arroyo-Cabrales, M. Kuch, J. Enk, C. King y H. Poinar., 2014. Ancient DNA and the tropics: a rodent's tale. *Biol.Lett.* 10:20140224
- Gutiérrez-Rodríguez C., J. Ornelas y F. Rodríguez-Gómez, 2011. Chloroplast DNA phylogeography of a distylous shrub (*Palicourea padifolia*, Rubiaceae) reveals past fragmentation and demographic expansion in Mexican cloud forests. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 61:603-615
- Hall, E.R. 1981. The Mammals of North America. The Ronald Press. Nueva York., Vol. I y Vol. II
- Hall T. A. 1999. Bioedit: a user friendly biological sequence alignment editor and analysis program for windows. *Nucl. Acids. Symp. Ser.* 41:95-98
- Handley C., 1966. Checklist of the mammals of Panama. Pp. 753-795, en *Ectoparasites of Panama*, Wenzel R. y V. Tipton, eds.) Field Museum of Natural History, Chicago 861 pp.
- Hatt R., H. Fisher, D. Landgebartel y G. Brainerd, 1953. Faunal and archeological researches in Yucatan caves. *Bulletin of the Cranbrook Institute of Science* 33:1-119
- Hibbard C., 1960. An interpretation of Pliocene and Pleistocene climates in North America. *Ann. Rep. Michigan Acad. Sci., Arts., Letters* 62:5-30
- .Hooper, 1960. The glans penis in *Neotoma* (Rodentia) and allied genera. *Occasional papers of the Museum of Zoology University of Michigan*, 618:1-21

-Hooper, E. T. y G. G. Musser. 1964. The glans penis in neotropical cricetines (family Muridae) with comments on classification of muroid rodents. *Micellaneous Publications, Museum of Zoology, University of Michigan* 635: 1-13.

-Hugh Genoways, R. Timm y M. Engstrom, 2004. Natural history and karyology of the Yucatán vesper mouse, *Otonyctomys hatti*, Capítulo 19:213-218. En Sánchez-Cordero V. y R. Medellín (Eds.) *Contribuciones Mastozoológicas en Homenaje a Bernardo Villa*, Instituto de Biología e Instituto de Ecología, UNAM, 500 p.

-Hunt J., J. Morris y T. Best. 2004. *Nyctomys sumichrasti*. *Mammalian species* 754:1-6

-Kimura M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution* 16:111-120

-Klingenberg C., L. Leamy, E. Routman y J. Cheverud, 2001. Genetic architecture of mandible shape in mice: effects of quantitative trait loci analyzed by geometric morphometrics. *Genetics* 157: 785-802.

-Korth W., 1991. *The Tertiary Record of Rodents in North America*. Plenum Press, New York and London 319 pp.

Laurent Granjon y Claudine Montgelard, 2012. The Input of DNA Sequences to Animal Systematics: Rodents as Study Cases, *DNA Sequencing - Methods and Applications*, Dr. Anjana Munshi (Ed.), InTech, DOI: 10.5772/37969. Disponible en: <http://www.intechopen.com/books/dna-sequencing-methods-and-applications/the-input-of-dna-sequences-to-animal-systematics-rodents-as-study-cases>

-Laurie E., 1953. Rodents from British Honduras, Mexico, Trinidad, Haiti and Jamaica collected by Mr. I. T. Sanderson. *Annals and Magazine of Natural History*, series 12 6:382-394

-Laurito Mora C., 2003. Roedores fósiles de Pleistoceno Superior de la localidad La Palmera de San Carlos, Provincia de Alajuela, Costa Rica. *Revista Geológica de America Central*, 29:43-52

- Lawlor, T. E., 1969. A systematic study of the rodent genus *Ototylomys*. *Journal of Mammalogy* 50(1):28-42.
- León-Paniagua L., A. Navarro-Singuenza, B. Hernandez-Baños, C. Morales, 2007. Diversification of the arboreal mice of the genus *Habromys* (Rodentia:Cricetidae: Neotominae) in the Mesoamerican highlands. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 42:653-664
- Losos J., 2008. Phylogenetic niche conservatism, phylogenetic signal and the relationship between phylogenetic relatedness and ecological similarity among species. *Ecology Letters* 11:995-1003
- Lottie P. y R. Bradley, 2000. Cryptic species in *Sigmodon hispidus*: evidence from dna sequence. *Journal of Mammalogy*, 81(2): 332-343
- Llorente B., 1996. Biogeografía de artrópodos de México: ¿Hacia un nuevo enfoque? En: Biodiversidad, taxonomía y biogeografía de artrópodos de México: Hacia una síntesis de su conocimiento. In: Llorente J. J. González-Soriano, N. Papavero (eds.). Universidad Nacional Autónoma de México, Vol.II, pp. 41-56
- McCarthy T., 1993. Checklist: mammals of Belize. *Belize Audubon Society Newsletter* 25:2-3
- MacLeod N., 2002. Phylogenetic signal in morphometric data. Pp. 1-31 *en* Morphology, shape and phylogeny. MacLeod y Forey eds. Taylor & Francis, Londres.
- MacSwiney C., S. Hernandez-Betancourt y R. Avila-Flores., 2009. *Otonyctomys hattii* (Rodentia: Cricetidae). *Mammalian Species* 825:1-5
- Malcolm J. R., 2004. Ecology and conservation of canopy mammals. Pp. 297-331 *en* Forest Canopies. Lowman M. y B. Rinker, eds. Elsevier Academic Press, New York.
- Martin A. y S. Palumbi., 1993. Protein evolution in different cellular environments: cytochrome b in sharks and mammals. *Molecular and Biological Evolution* 10 (4):873-891

- Maureen J. R. Van Etten, C. Wright, M. Walberg y D. Clayton., 1981. Sequence and gene organization mouse mitochondrial DNA. *Cell* 26:167-180
- Mendez-Carbajal P., M. Peñafiel, A. Zapata y G. Berguido, 2015. The Panamian climbing rat, mammalia, Rodentia, Cricetidae, *Tylomys panamensis* (Gray, 1873): New report in Darien. *Tecnociencia* 17: 47-56
- Merriam H. 1901. Seven new mammals from México, including a new genus of rodents. *Proceedings of the Washington academy of science*. Vol. III, 559-563 pp.
- McKenna, M. y S. Bell. 1998. *Classification of the Mammals above the species level*. Columbia University Press, New York, 631 pp.
- Monteiro L., L. Duarte y S. dos Reis., 2003. Environmental correlates of geographical variation in skull and mandible shape of the punaré rat *Thrichomys apereoides* (Rodentia: Echimyidae). *Journal Zoology* 261:47-57
- Morales-Mejía F., J. Arroyo-Cabrales y O. Polaco, 2009. New records of the Pleistocene Mammal Fauna from Loltún cave, Yucatán, México. *Current Research in the Pleistocene* 26:166-168
- Musser, G. G. y M. D. Carleton. 2005. Superfamily Muroidea. Pp. 894-1531 *en* *Mammal Species of the World a Taxonomic and Geographic Reference*. D. E. Wilson and D. M. Reeder eds. Johns Hopkins University Press, Baltimore.
- Najera Cortazar L., 2013. Filogenia del murciélago endémico *Myotis peninsularis* (Chiroptera, Vespertilionidae) con ADN mitocondrial y análisis de morfometría geométrica. Tesis profesional de Maestría en Ciencias, uso, manejo y preservación de los recursos naturales. Centro de Investigaciones Biológicas del Noreste, S.C.90 pag.
- Ordoñez-Garza N., C. Thompson, M. Unkefer, C. Edwards, J. Owen y R. Bradley, 2014. Systematics of the *Neotoma Mexicana* species group (Mammalia: Rodentia: Cricetidae) in Mesoamerica: new molecular evidence on the status and relationships of *N. ferruginea* Tomes, 1862. *Proceedings of the biological society of Washington* 127 (3): 518-532

- Ospina S., 2010. Análisis ecomorfológico del aparato masticador de *Myotis vivesi* (Chiroptera: Vespertilionidae). Tesis profesional de Maestría en Ciencias Biológicas-UNAM Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México. D.F. México. 100 pag.
- Ospina S., 2016. Evolución de la piscivoría en el género *myotis* (chiroptera: vespertilionidae). Tesis Doctoral, Instituto de Biología, UNAM 125 pp.
- Panchetti F., M. Scalici, G. Carpaneto y G. Gibertini, 2008. Shape and size variation in the cranium of elephant-shrews: a morphometric contribution to a phylogenetic debate. *Zoomorphology* 127: 69-82
- Panti-May J., C. MacSwiney, S. Hernández-Betancourt y O. Valdes-Rodríguez, 2014. Reproduction and posnatal development in the Yucatan vesper mouse. *Mammalia*, 79 (2):169-176
- Peña L., Y. Domínguez y B. Hernández., 2005. *Nyctomys sumichrasti* (Saussure, 1860), en Ceballos, G. y G. Oliva. 2005. Los mamíferos silvestres de México. Fondo de Cultura Económica. México. 986 p.p
- PDB (The Paleobiology Database). 2011. The Paleobiology Database. Disponible en: <http://paleodb.org/cgi-bin/bridge.pl> (Último acceso, 1 de mayo 2015).
- Pinto-Sánchez N., R. Ibañez, S. Madriñan, O. Sanjur, E. Bermingham y A. Crawford, 2012. The Great American Biotic Interchange in frogs: Multiple and early colonization of central American by South American genus *Pristimantis* (Anura:Craugastoridae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 62: 954-972
- Posada D., 2008. jModelTest: Phylogenetic model averaging. *Molecular Biology and Evolution*, 25:1253-1256
- Prusak B. y T. Grzybowski, 2004. Non-random base composition in codons of mitochondrial cytochrome b gene in vertebrates. *Acta Biochimica Polonica* 51(4):879-905

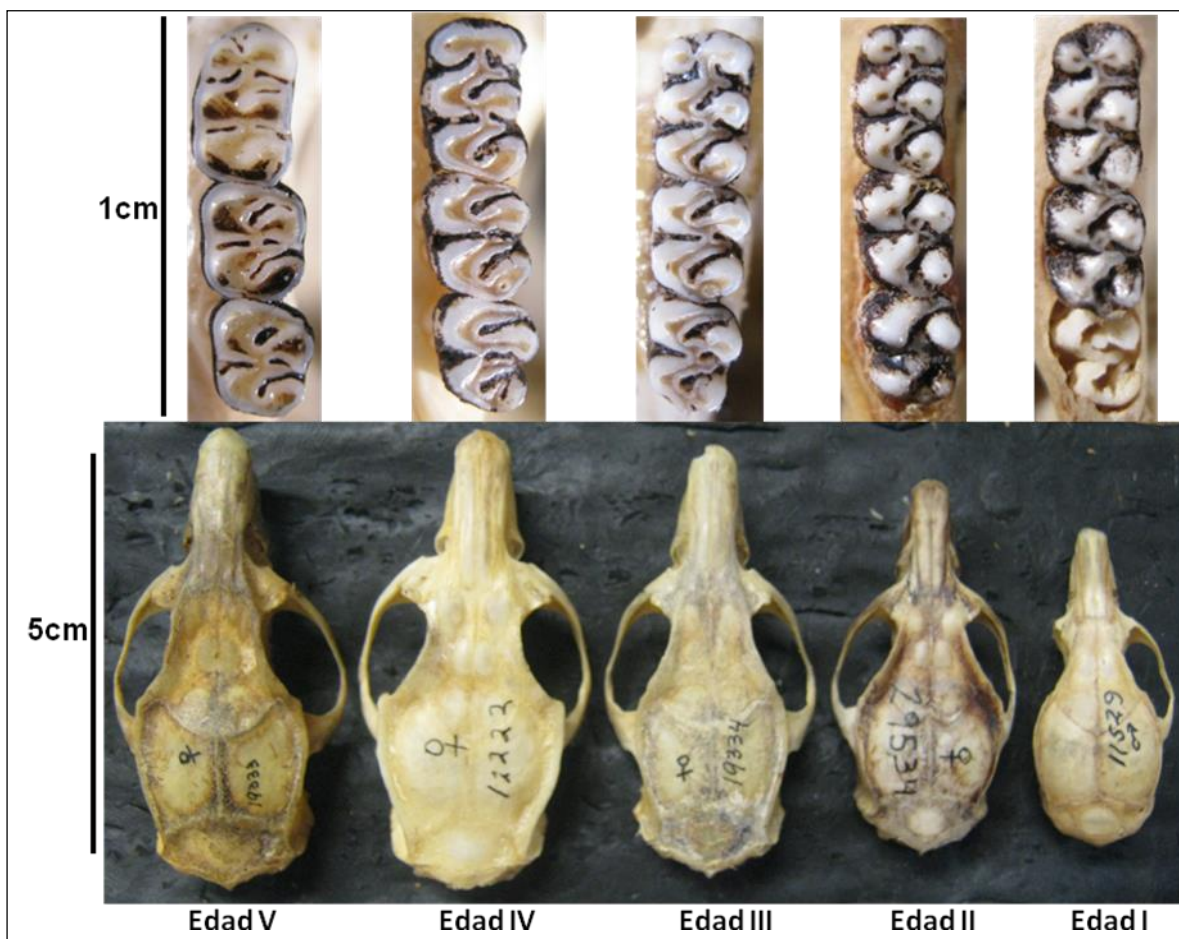
- Ramírez-Pulido J. y A. Castro-Campillo, 1994. Bibliografía reciente de los mamíferos de México 1983/1993. Universidad Autónoma Metropolitana, México.
- Ramírez-Pulido J., N. González-Ruiz, A. Gardner y J. Arroyo-Cabrales. 2014. List of recent land mammals of México. Special Publications of the Museum of Texas Tech University 63:1-69
- Reid Fiona, 2009. A field guide to the mammals of Central America & Southeast Mexico. Oxford University Press. 346 pp.
- Reig O., 1984. Distribuição geográfica e história evolutiva dos roedores Muroideos sulamericanos (Cricetidae: Sigmodontinae). *Revista Brasileira de Genética* 7 (2):333-365
- Rohlf F. J., 1990. Morphometrics. *Annual Review of Ecology and Systematics* 21: 299-316
- Ronquist F., M. Teslenko, P. Van Der Mark, D. Ayres, A. Darling, S. Höhna, B. Larget, L. Liu, M. Suchard, J. Huelsenbeck, 2012. MrBayes 3.2: Efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across large model space. *Systematic Biology*, 61:539-542
- Scalici M., Panchetti F., 2011. Morphological cranial diversity contributes to phylogeny in soft-furred sengis (Afrotheria, Macroscelidea). *Zoology* 114: 85–94.
- Schenk J., Rowe K. y J. Stepan, 2013. Ecological opportunity and incumbency in the diversification of repeated continental colonizations by Muroid rodents. *Syst. Biol* 62(6): 837-864
- Sheets, H. D., 2004. Morphometric software IMP-Integrate Morphometrics Package, Department of Physics, Canisius Collage, Main St. Buffalo, New York. Disponible: <http://www.canisius.edu/~sheets/morphsoft.html>
- Smith M. y J. Patton, 1993. The diversification of South American murid rodents: evidence from mitochondrial DNA sequence data for the akodontine tribe. *Biological Journal of the Linnean Society* 50: 149-177

- Soto-Vivas A., J. Liria y E. de Luna, 2011. Morfometría geométrica y filogenia en Rhodnini (Hemiptera, Reduviidae) de Venezuela. *Acta Zoológica Mexicana* 27:87-102
- Steppan S., R. Adkins y J. Anderson, 2004. Phylogeny and divergence-date estimates of rapid radiations in Muroid rodents based on multiple nuclear genes. *Syst. Biol.* 53 (4): 533-553
- Sullivan, J., Markert, J.A., Kilpatrick, C.W., 1997. Phylogeography and molecular systematics of the *Peromyscus aztecus* species group (Rodentia: Muridae) inferred using parsimony and likelihood. *Syst. Biol.* 46, 426–440.
- Sullivan, J., E. Arellano, D. Rogers, 2000. Comparative phylogeography of Mesoamerican highland rodents: concerted versus independent response to past climatic fluctuations. *The American Naturalist* 155, 755–768.
- Tamura K., D. Peterson, N. Peterson, G. Stecher, M. Nei y S. Kumar. 2011. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance and Maximum Parsimony Methods. *Molecular Biology and Evolution*, 28:2731-2739
- True F., 1894. Description of a new species of mouse (*Sitomys decolurus*) from Central America. *Proceedings of the United States National Museum* 16:689-690
- Vargas G., 2010. Morfometría funcional del ratón de abazones *Heteromys desmarestianus* en ecosistemas tropicales de la región de los Tuxtlas, Veracruz Tesis Maestría. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F. 168 pag.
- Vázquez-Domínguez E. y H. Arita, 2010. The Yucatan peninsula: biogeographical history 65 million years in the making. *Ecography* 33: 212-219
- Vázquez-García R. A., 2011. Comparación del cráneo y dentario de los ratones tlacuache *Tlacuatzin canescens* y *Marmosa mexicana* (Didelphimorphia: Didelphidae) de México, aplicando morfometría geométrica. Tesis de licenciatura, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F. 50 pag.

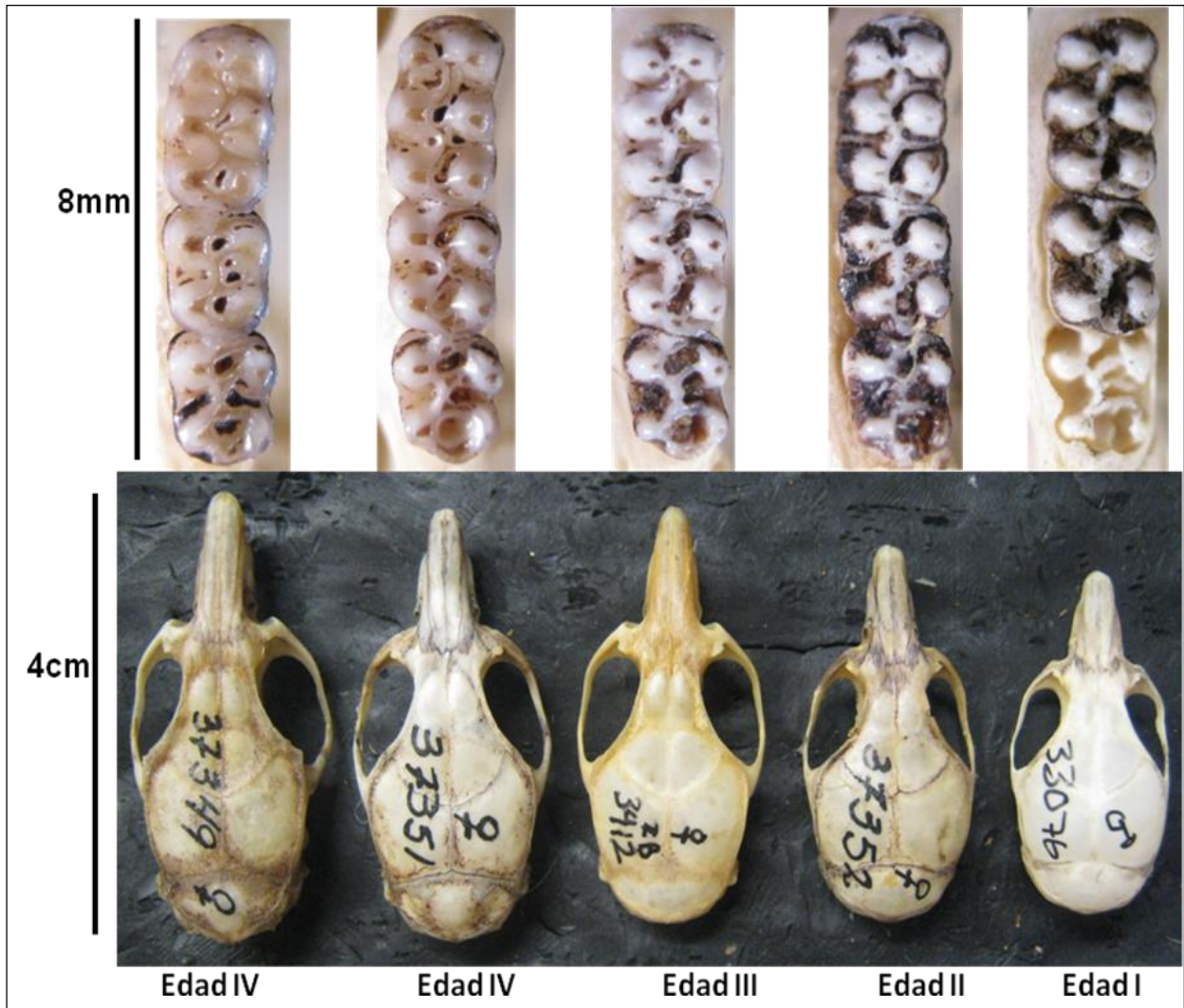


- Velasco p. y B. Patterson, 2014. Diversification of the Yellow-shouldered bats, genus *Sturnira* (Chiroptera, Phyllostomidae), in the new world tropics. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 68: 683-698
- Weksler M., A. Reis y R. Voss, 2006. Ten new genera of Oryzomyine rodents (Cricetidae: Sigmodontinae). *American Museum Novitates* 3537, 29 pp.
- Wiens J., 2004. The role of morphological data in phylogeny reconstruction. *Syst. Biol.* 53:653-661
- Woodburne M., 2010. The great American biotic interchange: dispersals, tectonics, climate, sea level and holding pens. *Journal Mammalian Evolution* 17:245-264
- Zelditch M.L., Swiderski D. L., Sheets H. D., Fink W. L., 2004. *Geometric morphometric for biologist: a primer*. London Academic Press.

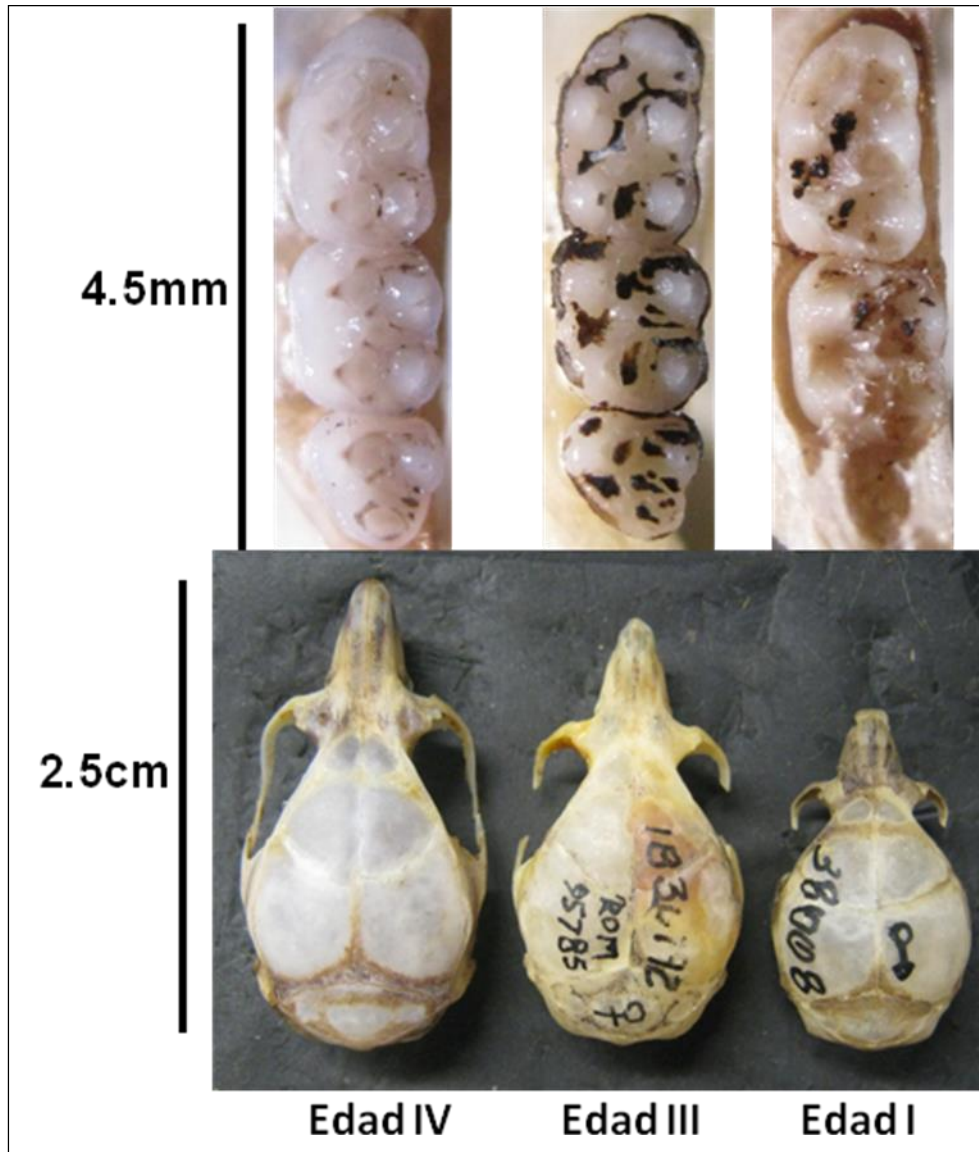
## ANEXO I. Determinación de edades



**Figura A.** Edades en *Tylomys nudicaudus*. Edad I) Sutura exoccipital-basioccipital evidente, cráneo abombado, cresta temporal ausente, o ligeramente desarrollada, M3 no ha brotado, largo total 4cm. Edad II) Sutura exoccipital-basioccipital ya no es evidente, molares sin desgaste, largo total 4-4.5cm. Edad III) Molares con desgaste considerable, pero la cúspide natural del diente aún es evidente, Largo total 4.5-5cm. Edad IV) Molares desgastados, la superficie oclusal del diente consiste de una serie de lagos de dentina. Largo total 4.5-5cm. Edad V) Molares muy desgastados, todo el esmalte ha entrado en forma de ángulos e islas. Largo total de 5cm en adelante.

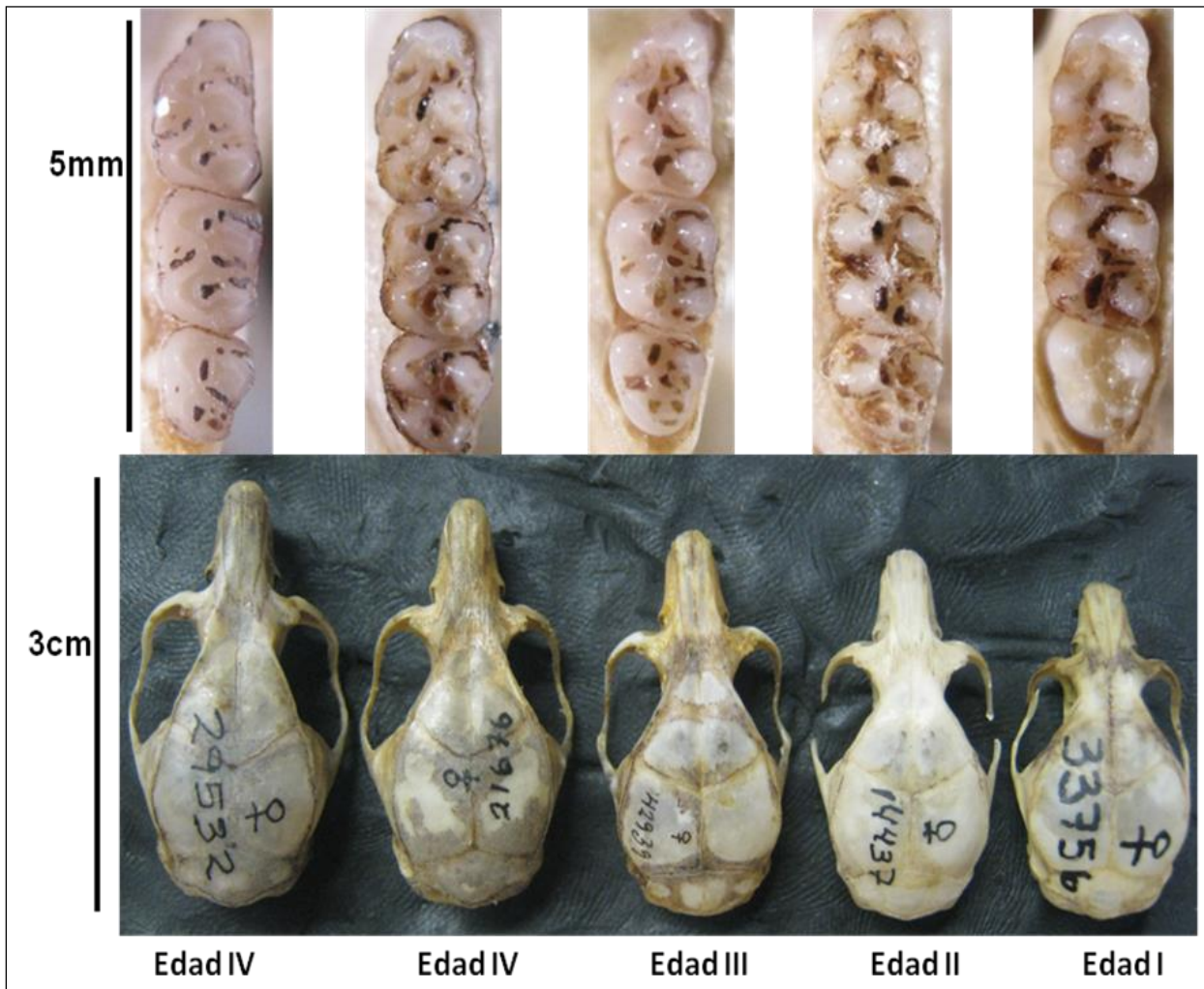


**Figura B.** Edades en *Ototilomys phyllotis*. Edad I) Sutura exoccipital-basioccipital evidente, cráneo abombado, cresta temporal ausente, o ligeramente desarrollada, M3 no ha brotado, largo total 2.5cm. Edad II) Sutura exoccipital-basioccipital ya no es evidente, molares sin desgaste, largo total 2.5-3cm. Edad III) Molares con desgaste considerable, pero la cúspide natural del diente aún es evidente, Largo total 3-3.5cm. Edad IV) Molares desgastados, la superficie oclusal del diente consiste de una serie de lagos de dentina. Largo total 3.5-4cm. Edad V) Molares desgastados, el esmalte ha entrado en forma de ángulos e islas. Largo total de 4cm en adelante.



**Figura C.** Edades en *Otonyctomys hattii*. Edad I) Sutura exoccipital-basioccipital evidente, cráneo abombado, M3 no ha brotado, largo total 150 mm. Edad II) sin identificar. Edad III) Molares con desgaste considerable, pero la cúspide natural del diente aún es evidente. Largo total de 200 a 215 mm. Edad IV) Molares desgastados, pero la cúspide natural del diente aún es evidente, la superficie oclusal del diente consiste de una serie de lagos de dentina intercalados con esmalte reentrante en forma de ángulos e islas. Largo total de 220-250 mm. Edad V) sin identificar.





**Figura D.** Edades en *Nyctomys sumichrasti*. Edad I) Sutura exoccipital-basioccipital evidente, cráneo abombado, cresta temporal ausente, o ligeramente desarrollada, M3 no ha brotado, largo total 175 a 200 mm. Edad II) Sutura exoccipital-basioccipital ya no es evidente, molares sin desgaste, (la cúspide lingual es la primera que se desgasta y muestra el mayor desgaste en este grupo. La cúspide labial revela desgaste sólo en la punta, largo total de 200 a 230 mm. Edad III) Molares con desgaste considerable, pero la cúspide natural del diente aún es evidente. La cúspide labial se desgasta más allá de las puntas. Largo total de 230 a 260 mm. Edad IV) Molares desgastados, la superficie oclusal del diente consiste de una serie de lagos de dentina intercalados con esmalte reentrante en forma de ángulos e islas. Largo total de 260 a 280 mm. Edad V) Molares muy desgastados, todo el esmalte ha entrado en forma de ángulos e islas, esencialmente se ha ido a un lago central, rodeado de dentina, con un borde de esmalte (especialmente en el M2). Largo total de 290mm en adelante

## Anexo II. Ubicación de las marcas en las vistas del cráneo y dentario

### Vista dorsal

Marcas	Ubicación
1	Nasal
2 y 12	Unión entre el frontal, maxilar y nasal
3 y 11	Unión entre la maxila, frontal y lacrimal
4 y 10	Unión entre el frontal y el parietal
5 y 9	Unión entre el parietal, escamo y occipital
6 y 8	Unión entre el escamoso y occipital
7	Cresta occipital externa

### Vista ventral

Marcas	Ubicación
1	Borde anterior del foramen palatino, en la premaxila
2 y 13	Unión entre la premaxila y la maxila, a los costados del foramen palatino
3 y 12	Unión del primer molar y segundo molar
4 y 11	Terminación del tercer molar
5 y 10	Unión entre el basioccipital y el basiesfenoides
6 y 9	Proceso paraoccipital
7 y 8	Cóndilos occipitales

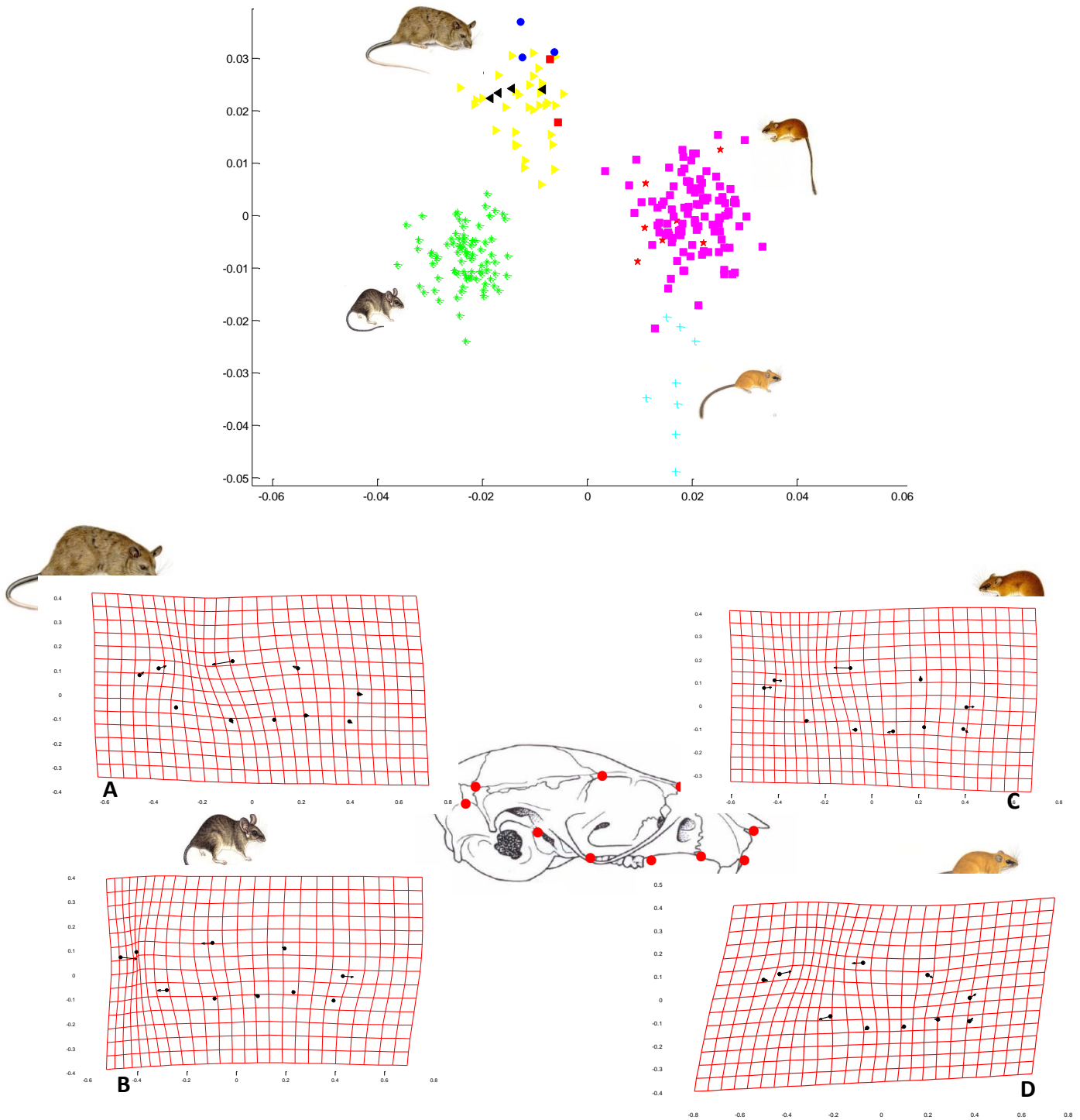
### Vista lateral

Landmarks	Ubicación
1	Punto más anterior de unión entre la premaxila y el nasal
2	Unión del nasal, premaxila,, maxila y frontal
3	Unión entre el frontal y el parietal
4	Unión entre parietal, escamoso y occipital
5	Unión entre escamoso y occipital
6	Borde inferior del escamoso
7	Punto más posterior en el alveolo del M4
8	Punto anterior en el alveolo del PM1
9	Unión entre la maxila y premaxila
10	Punto más alto de unión entre la premaxila y e incisivo

## Vista lateral del dentario

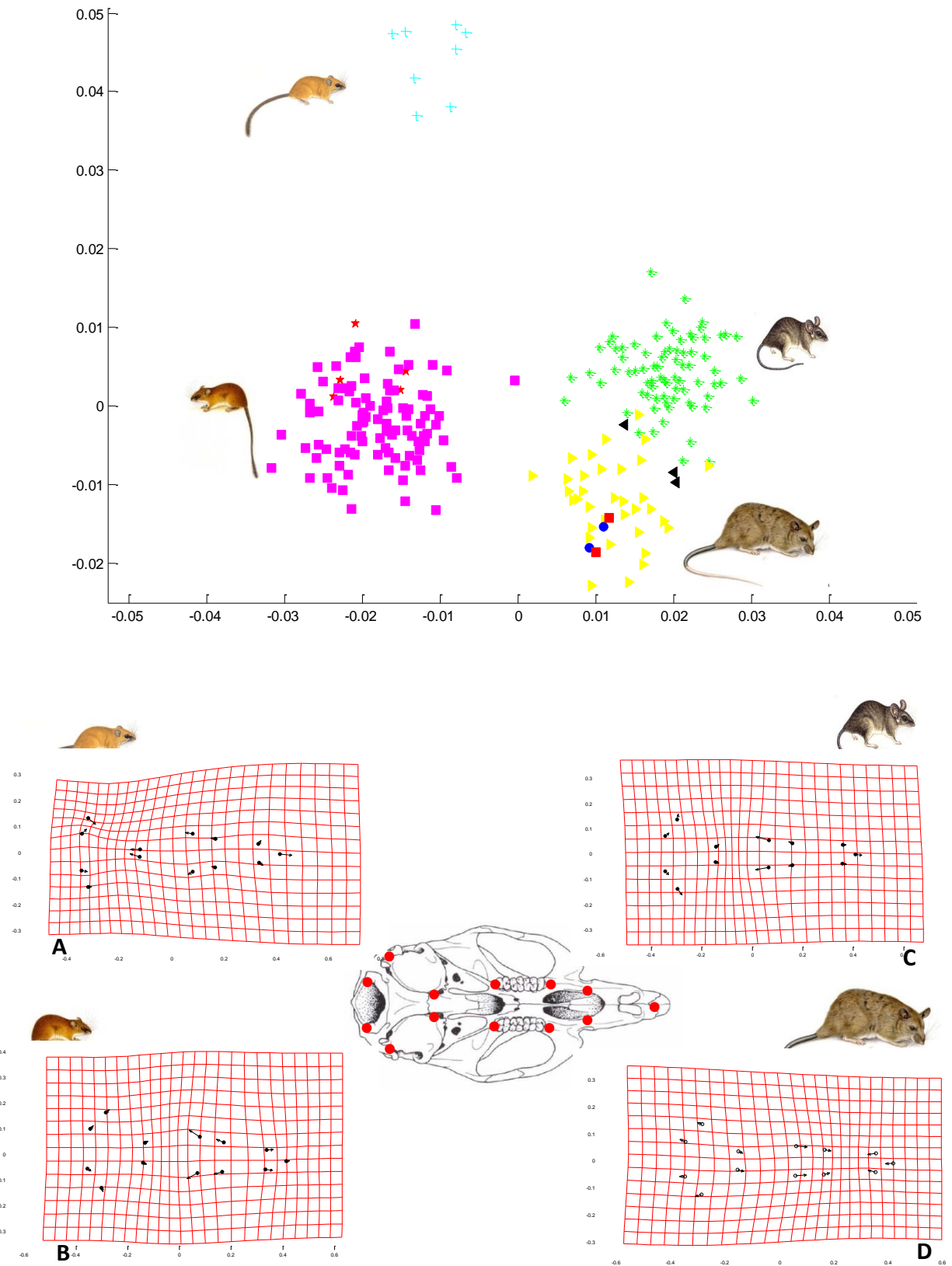
<b>Marcas</b>	<b>Ubicación</b>
Parte anterior del dentario	
1	Punto de unión más alto entre el incisivo y el diastema
2	Punto donde se forma un ángulo de 90 grados en el diastema
3	Base del PM 4
4	Unión entre M1 y M2
5	Margen ascendente hacia el proceso angular
6	Borde, bajo el foramen del mentón
7	Punto de unión bajo entre el incisivo y el dentario
Parte posterior del dentario	
1	Proceso coronoide
2	Margen anterior del proceso condiloideo
3	Margen posterior del proceso condiloideo
4	Base del proceso angular
5	Margen ascendente hacia el proceso angular
6	Fenestra mandibular
7	Unión entre M1 y M2

### ANEXO III. Análisis de variables canónicas

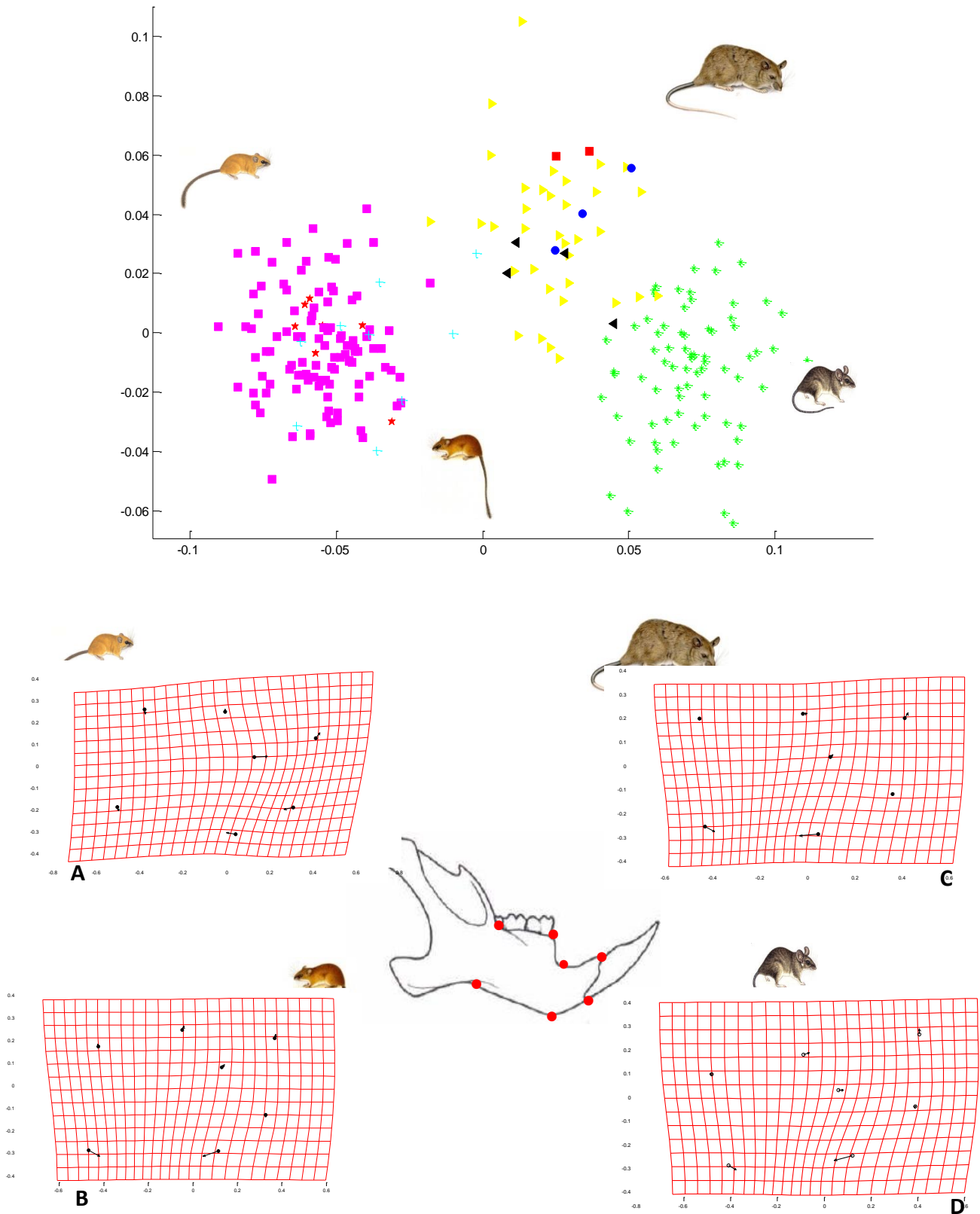


**Figura 23.** Arriba, ubicación de los grupos en un eje de coordenadas bajo un Análisis de Variables Canónicas para la vista lateral. Abajo rejillas de deformación para los grupos de la subfamilia. A=amarillo: *Tylomys*; B=verde: *Ototylomys*; C=rosa: *Nyctomys*; D=azul: *Otonyctomys*

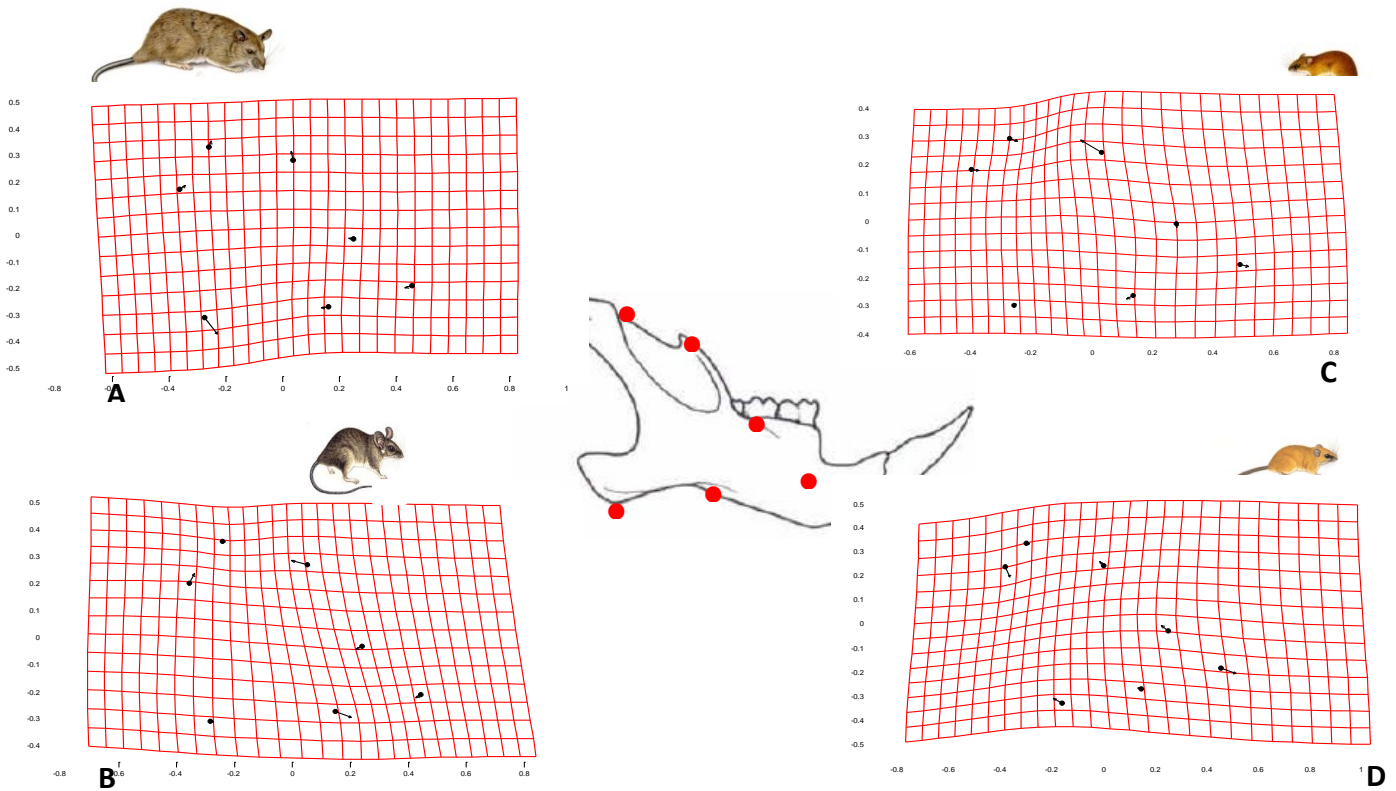
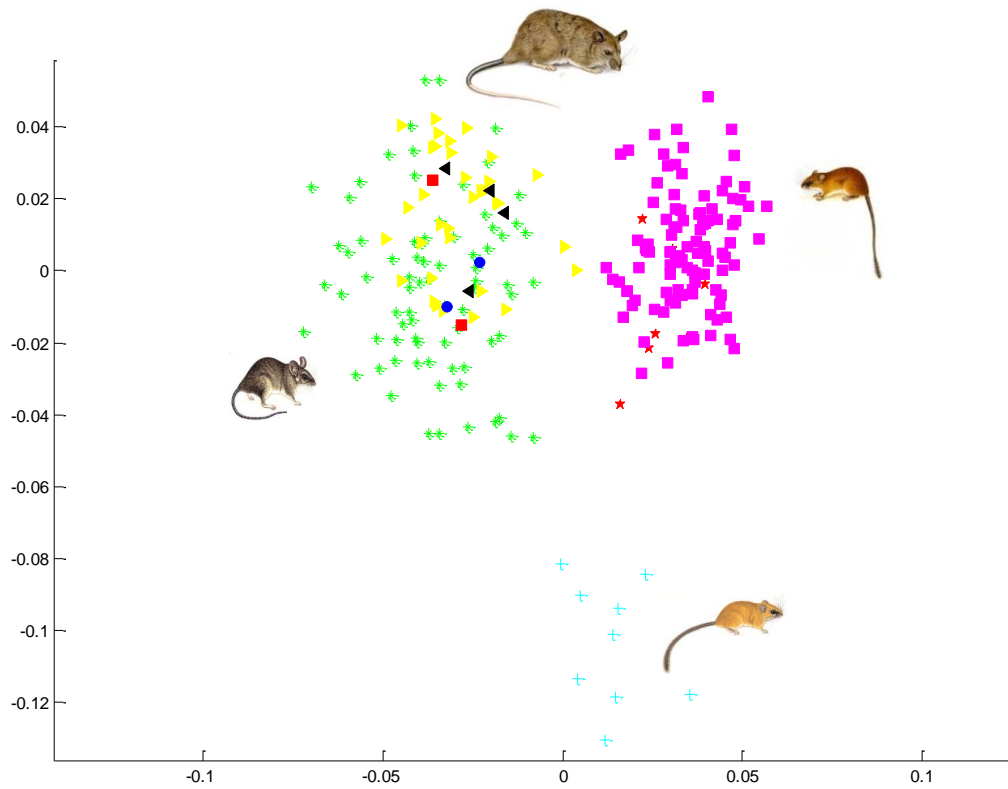




**Figura 24.** Arriba, ubicación de los grupos en un eje de coordenadas bajo un Análisis de Variables Canónicas para la vista ventral. Abajo rejillas de deformación para los grupos de la subfamilia. A= azul: *Otonyctomys*; B= rosa: *Nyctomys*; C= verde: *Ototylomys*; D= amarillo: *Tylomys*

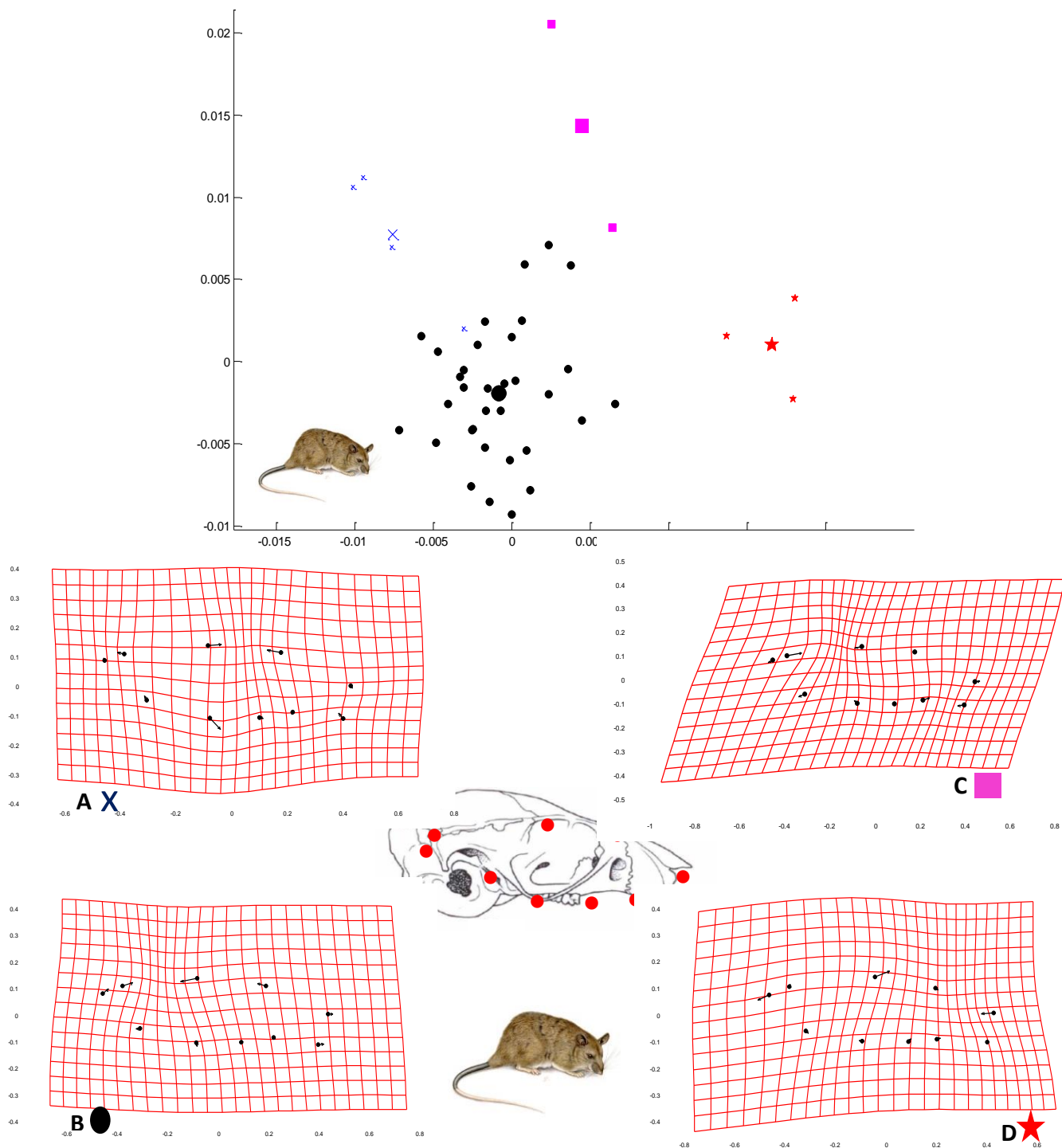


**Figura 25.** Arriba, ubicación de los grupos en un eje de coordenadas bajo un Análisis de Variables Canónicas para la parte anterior el dentario. Abajo rejillas de deformación para los grupos de la subfamili. A= azul: *Otonyctomys*; B= rosa: *Nyctomys*; C= verde: *Ototylozomys*; D= amarillo: *Tylomys*

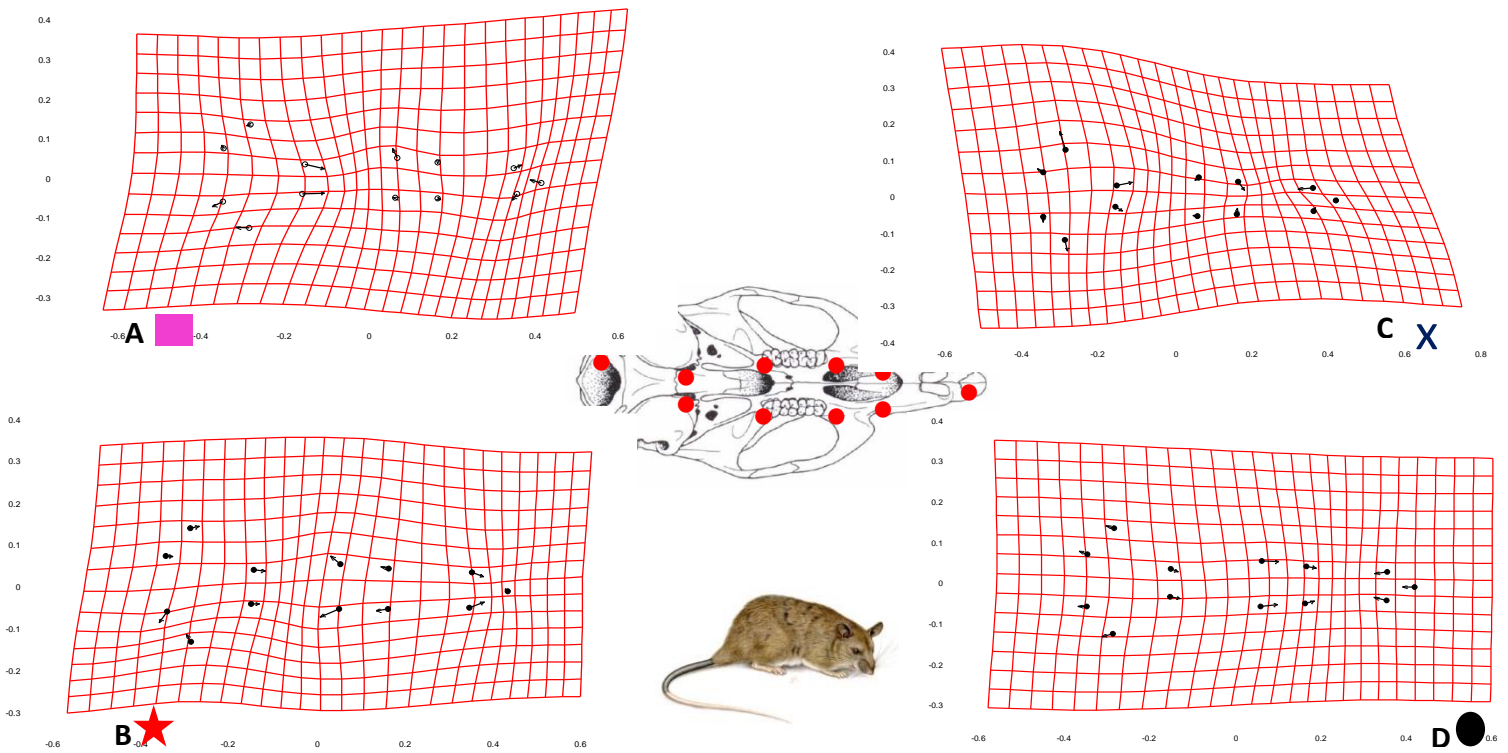
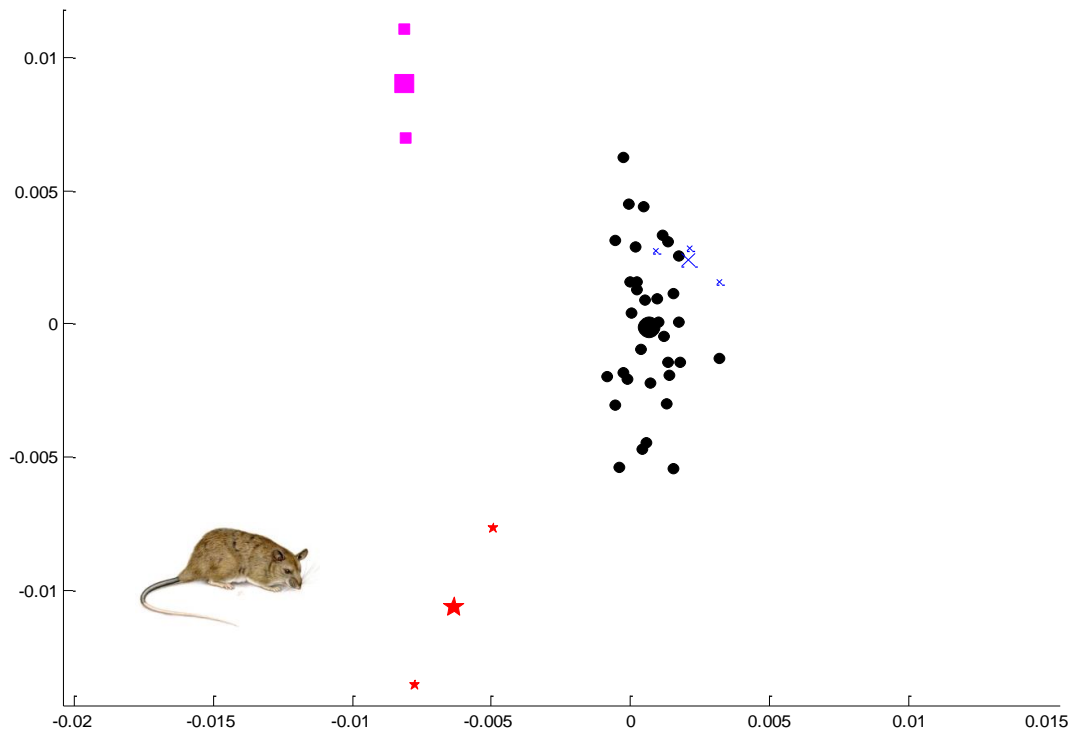


**Figura 26.** Arriba, ubicación de los grupos en un eje de coordenadas bajo un Análisis de Variables Canónicas para la vista lateral. Abajo rejillas de deformación para los grupos de la subfamilia. A=amarillo: *Tylomys*; B=verde: *Ototylomys*; C=rosa: *Nyctomys*; D=azul: *Otonyctomy*

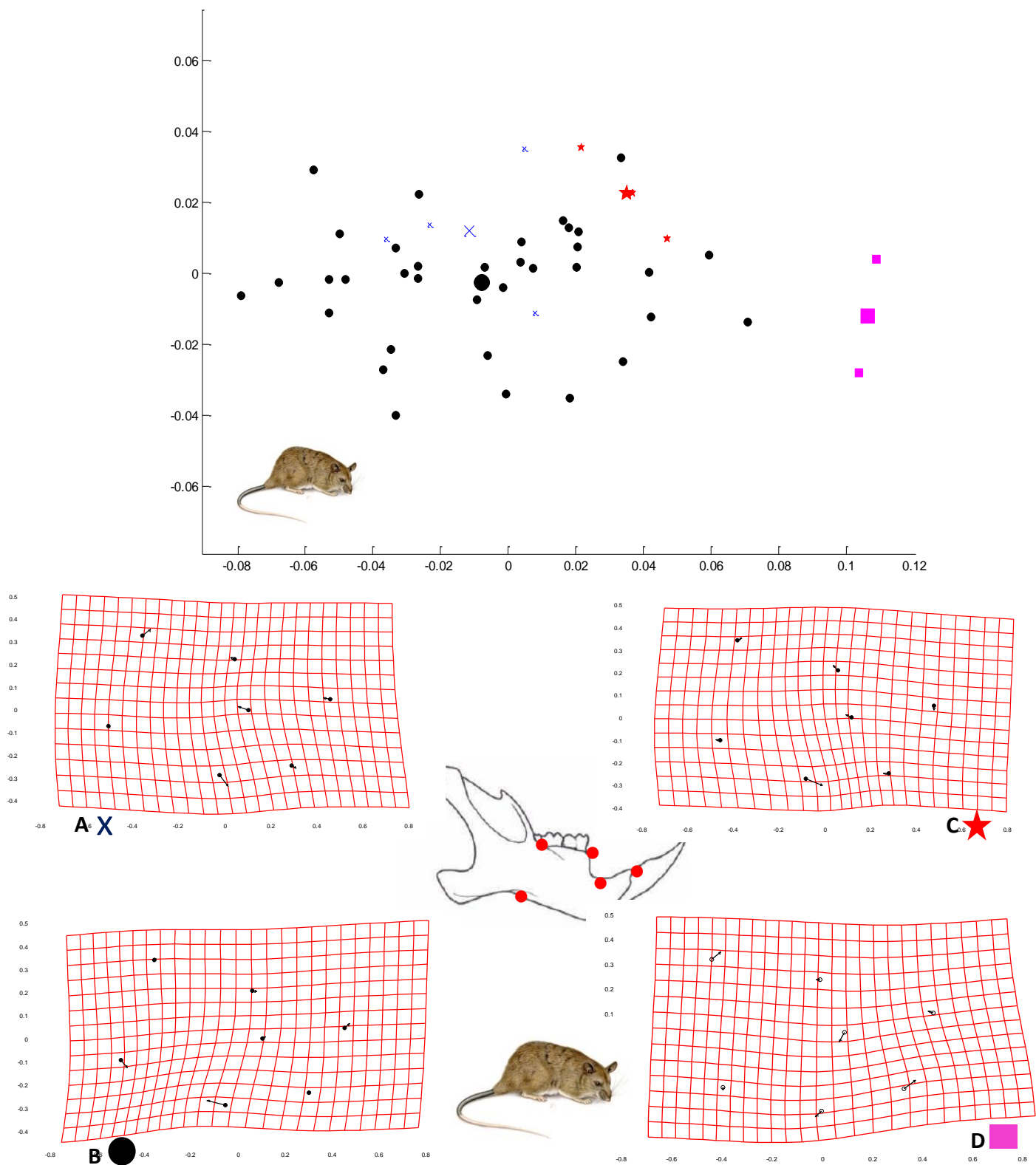
## Análisis de variables canónicas en *Tylomys*



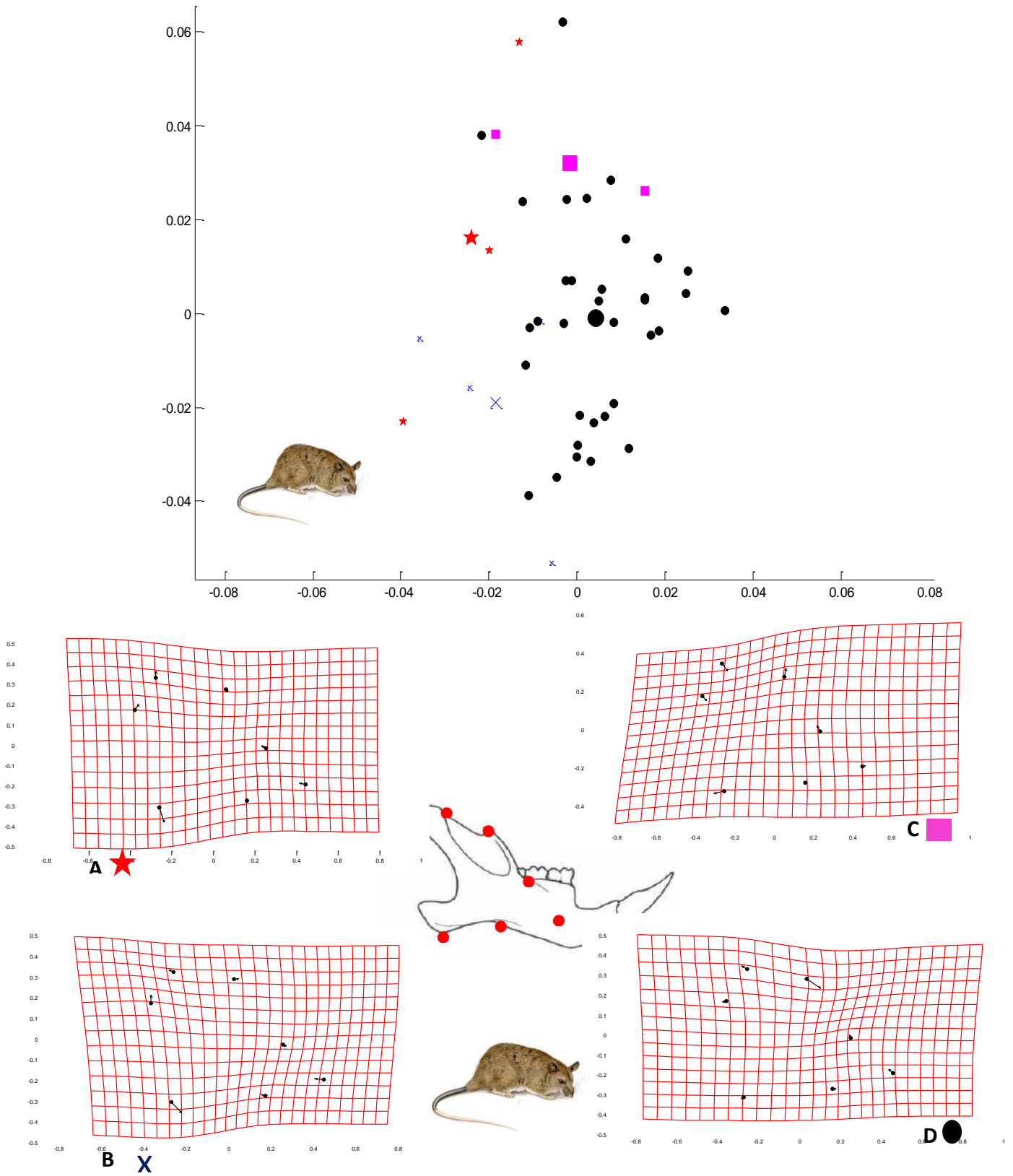
**Figura 27.** Arriba, ubicación de los grupos en un eje de coordenadas bajo un Análisis de Variables Canónicas para la vista lateral. Abajo rejillas de deformación para los grupos del genero *Tylomys*. A= azul: *T. tumbalensis*; B= negro: *T. nudicaudus*; C= rosa: *T. watsoni*; D= rojo: *T. mirae*.



**Figura 28.** Arriba, ubicación de los grupos en un eje de coordenadas bajo un Análisis de Variables Canónicas para la vista ventral. Abajo rejillas de deformación para los grupos del genero *Tylomys*. A= rosa: *T. watsoni*; B= rojo: *T. mirae*; C= azul: *T. tumbalensis*; D= negro: *T. nudicaudus*

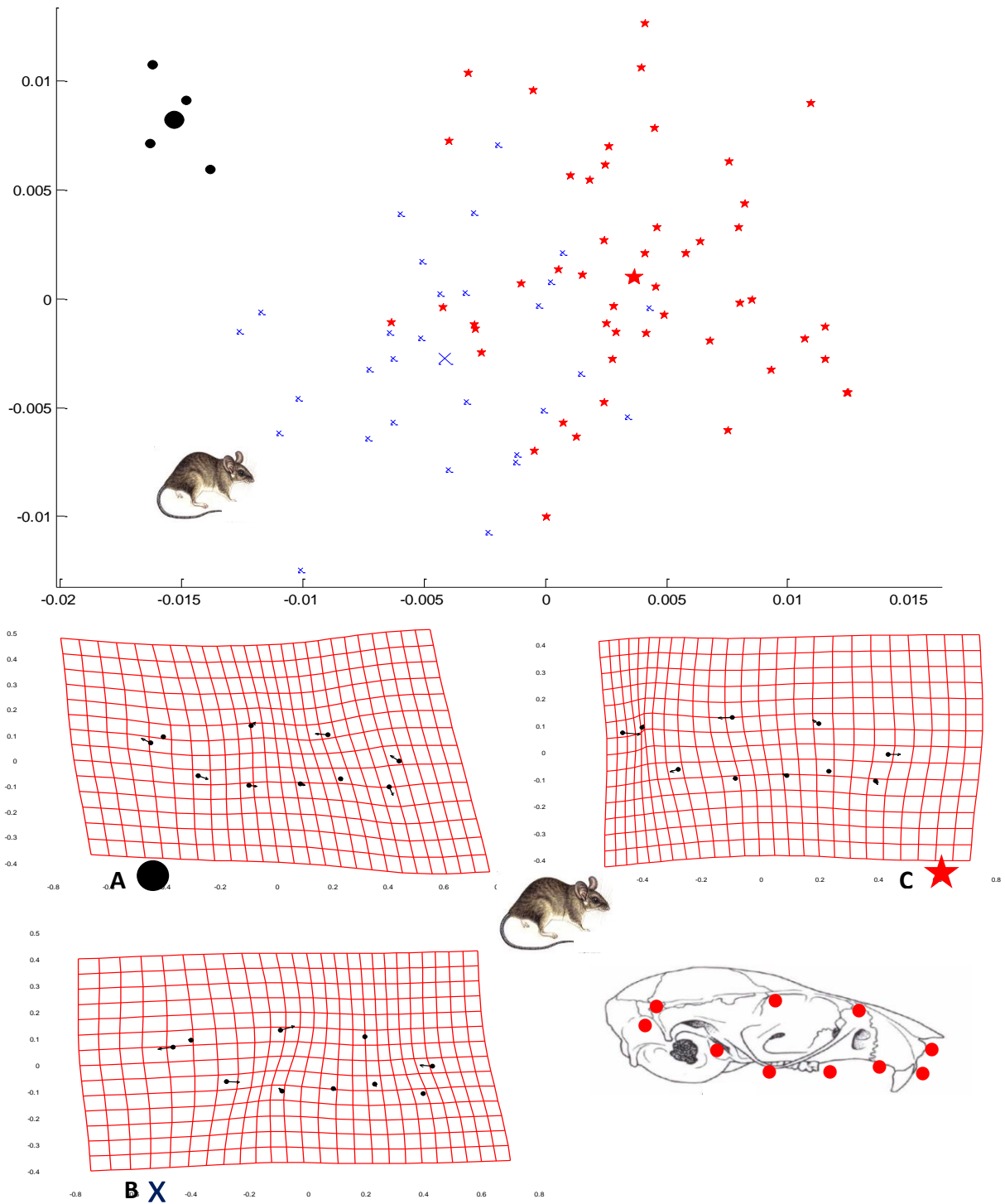


**Figura 29.** Arriba, ubicación de los grupos en un eje de coordenadas bajo un Análisis de Variables Canónicas para la parte anterior del dentario. Abajo rejillas de deformación para los grupos del genero *Tylomys*. A= azul: *T. tumbalensis*; B= negro: *T. nudicaudus*; C= rojo: *T. mirae*; D= rosa: *T. watsoni*.



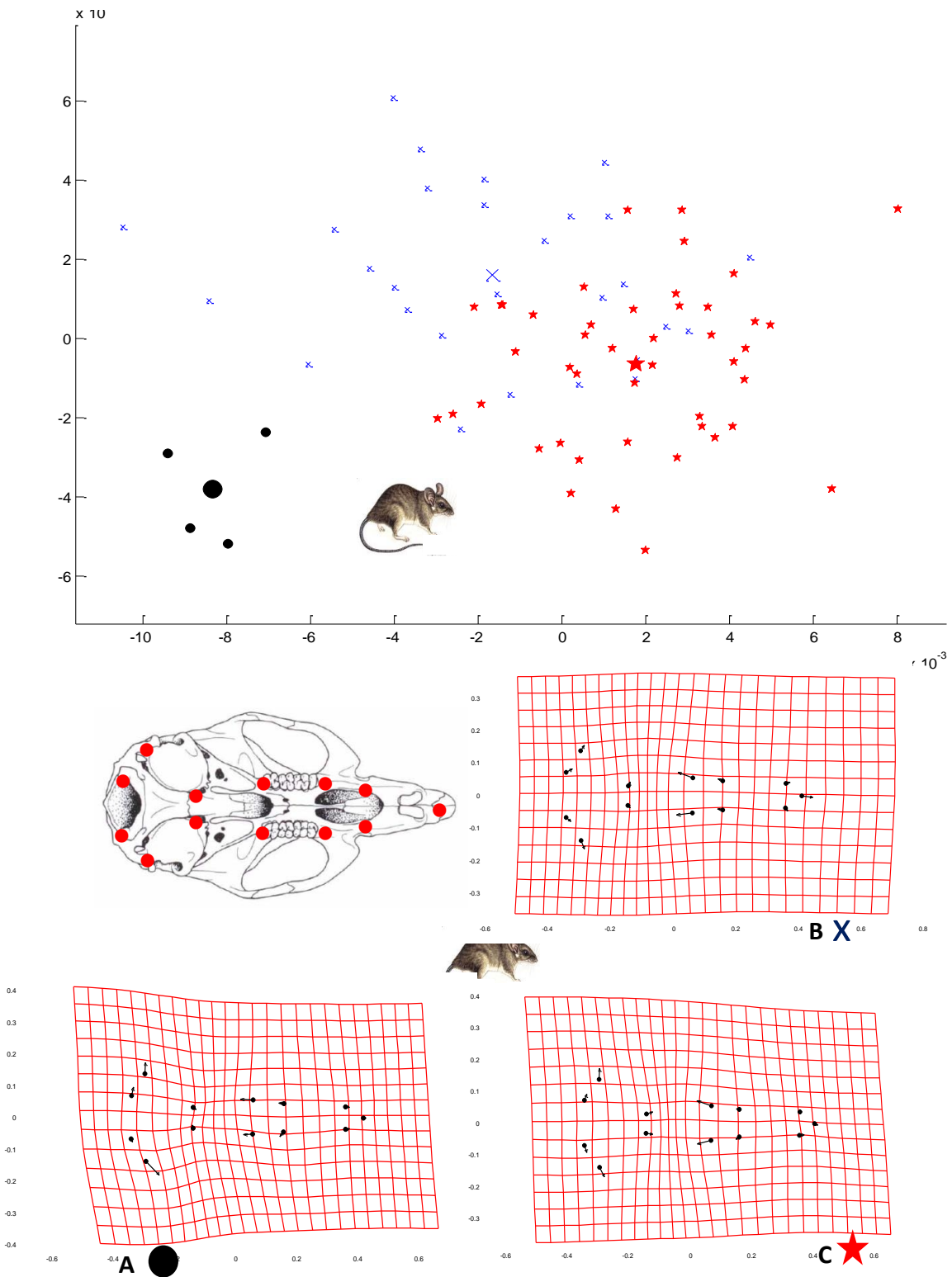
**Figura 30.** Arriba, ubicación de los grupos en un eje de coordenadas bajo un Análisis de Variables Canónicas para la parte posterior del dentario. Abajo rejillas de deformación para los grupos del genero *Tylomys*. A= rojo: *T. mirae*; B= azul: *T. tumbalensis*; C= rosa: *T. watsoni*; D= negro: *T. nudicaudus*

### Análisis de variables canónicas *Ototylomys*

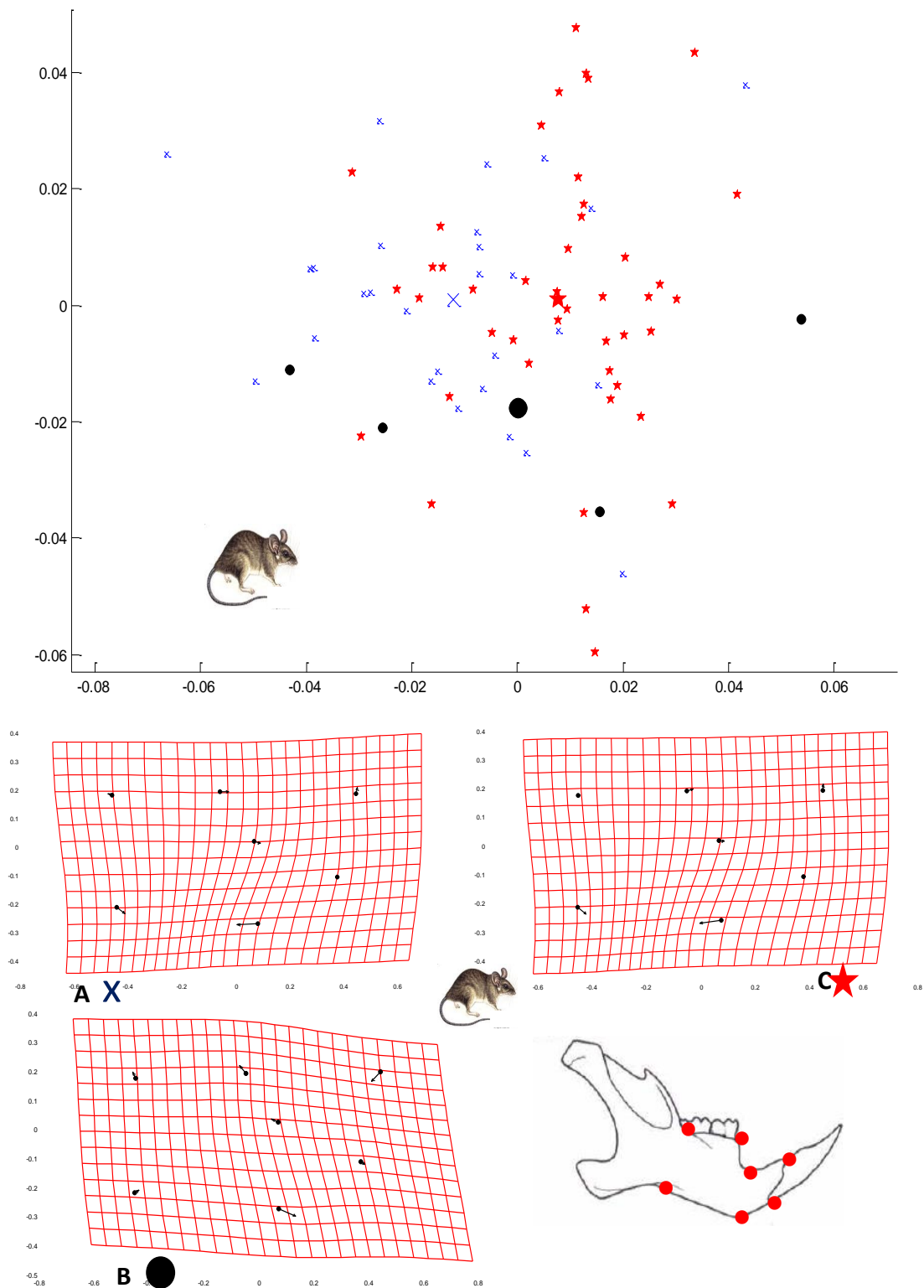


**Figura 31.** Arriba, ubicación de los grupos en un eje de coordenadas bajo un Análisis de Variables Canónicas para la vista lateral. Abajo rejillas de deformación para los grupos del genero *Ototylomys*. A=negro: *O.p. australis*; B=azul: *O.p. conectens*; C= rojo: *O.p. phyllotis*.

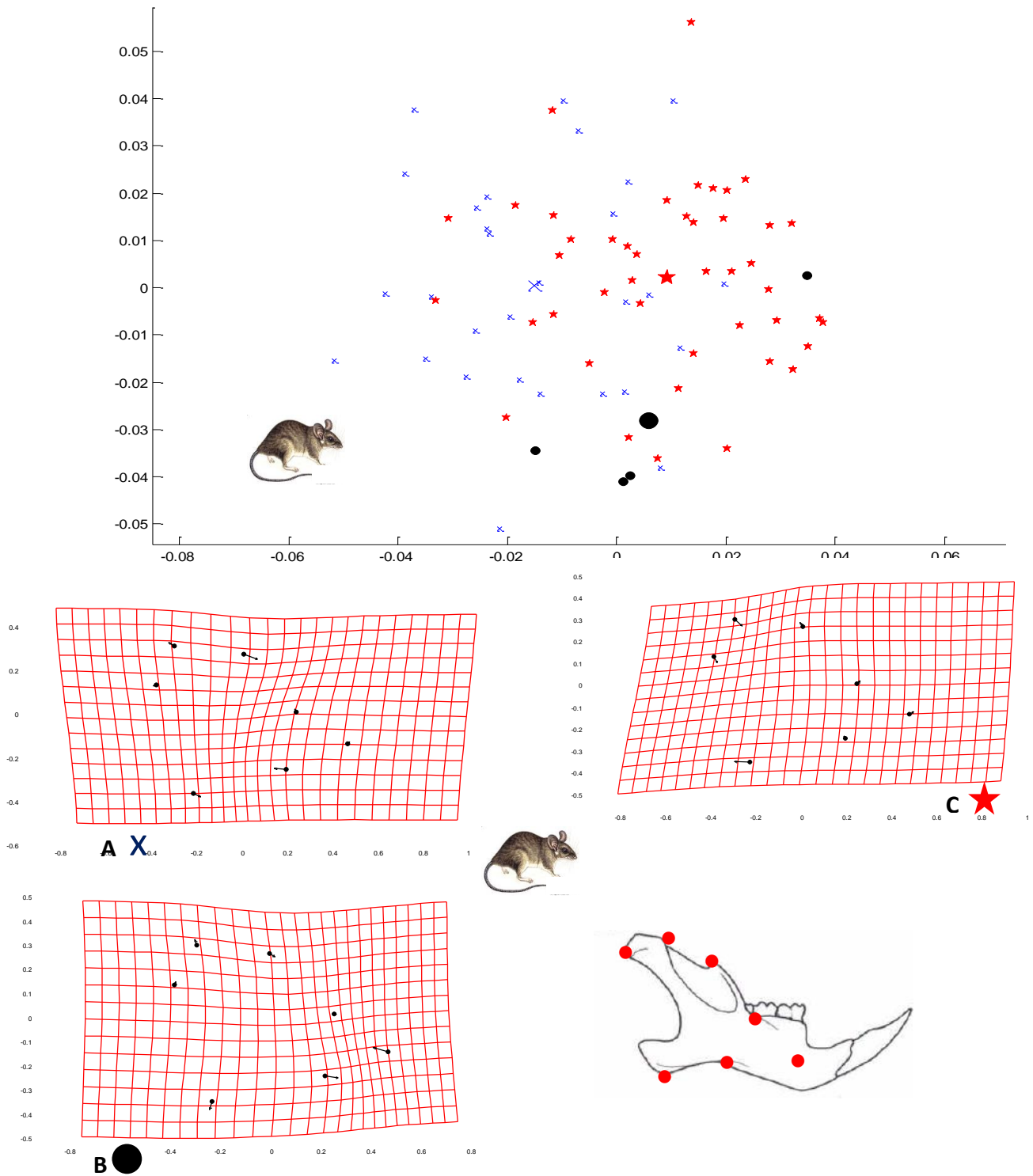




**Figura 32.** Arriba, ubicación de los grupos en un eje de coordenadas bajo un Análisis de Variables Canónicas para la vista ventral. Abajo rejillas de deformación para los grupos del genero *Ototylomys*. A=negro: *O.p. australis*; B=azul: *O.p. conectens*; C= rojo: *O.p. phyllotis*.

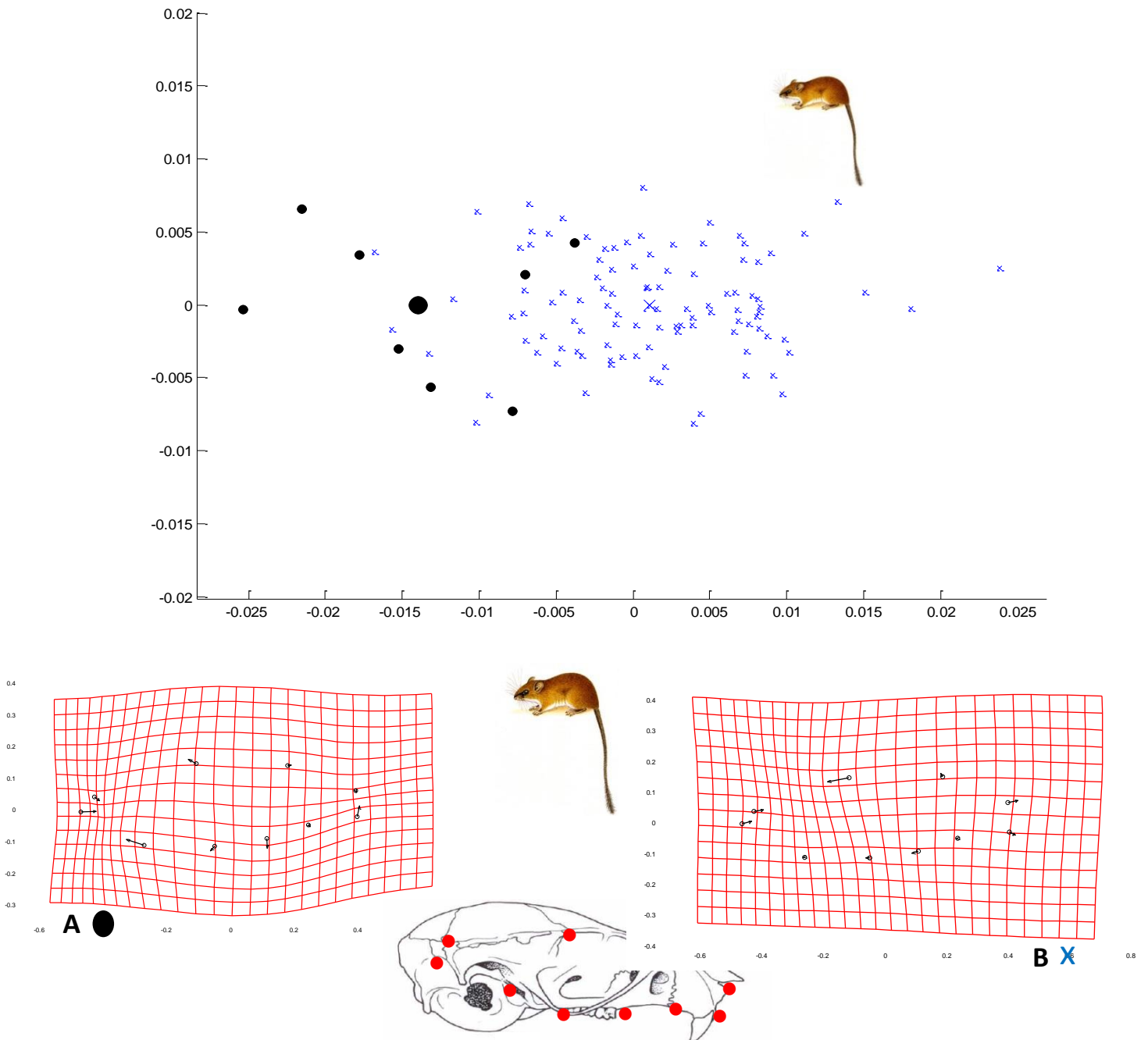


**Figura 33.** Arriba, ubicación de los grupos en un eje de coordenadas bajo un Análisis de Variables Canónicas para la región anterior del dentario. Abajo rejillas de deformación para los grupos del genero *Ototylomys*. A= azul: *O.p.conectens*; B= negro: *O.p. australis*; C= rojo: *O.p phyllotis*.

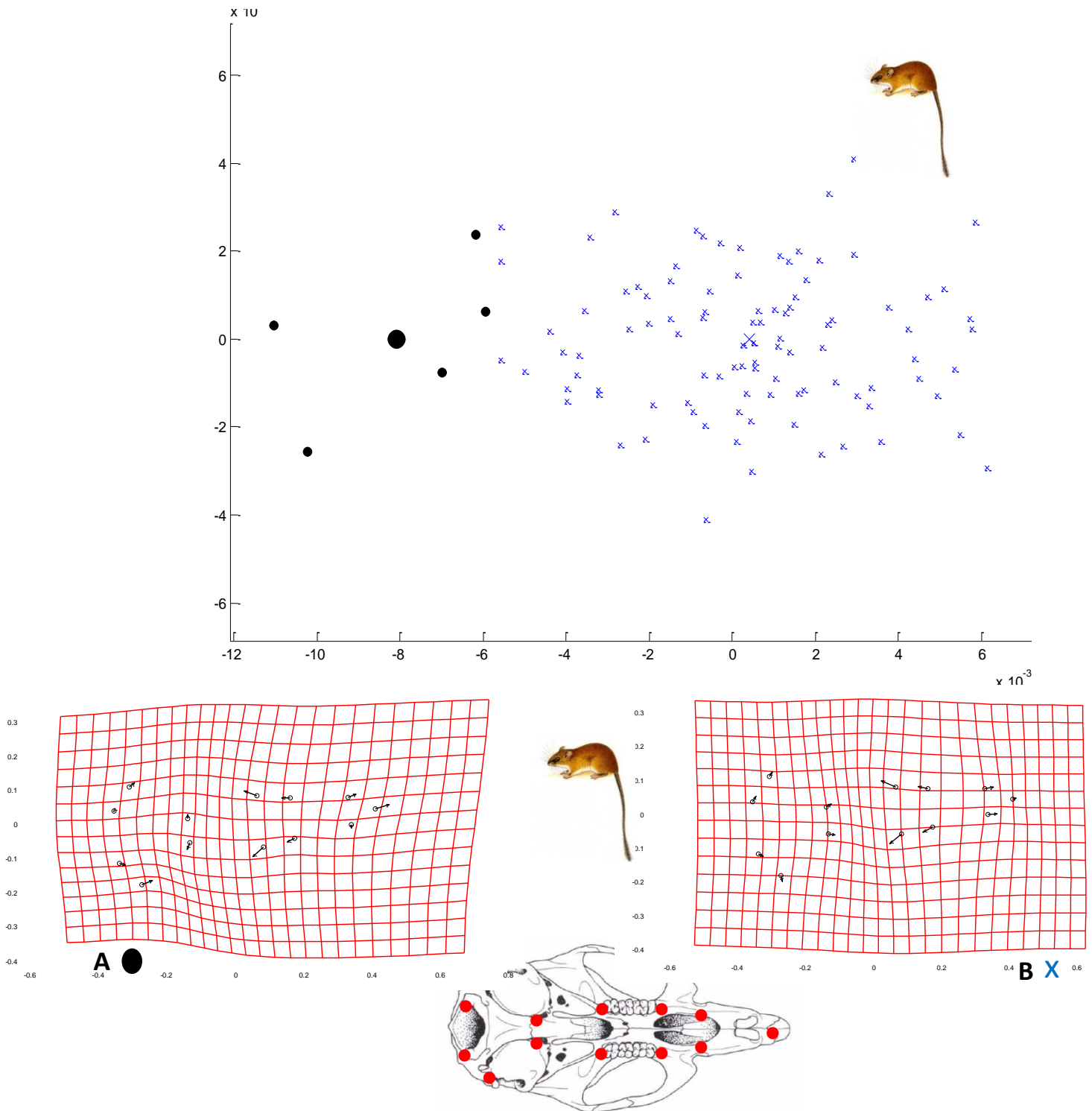


**Figura 34.** Arriba, ubicación de los grupos en un eje de coordenadas bajo un Análisis de Variables Canónicas para la región posterior del dentario. Abajo rejillas de deformación para los grupos del genero *Ototylomys*. A= azul: *O.p.conectens*; B= negro: *O.p. australis*; C= rojo: *O.p phyllotis*.

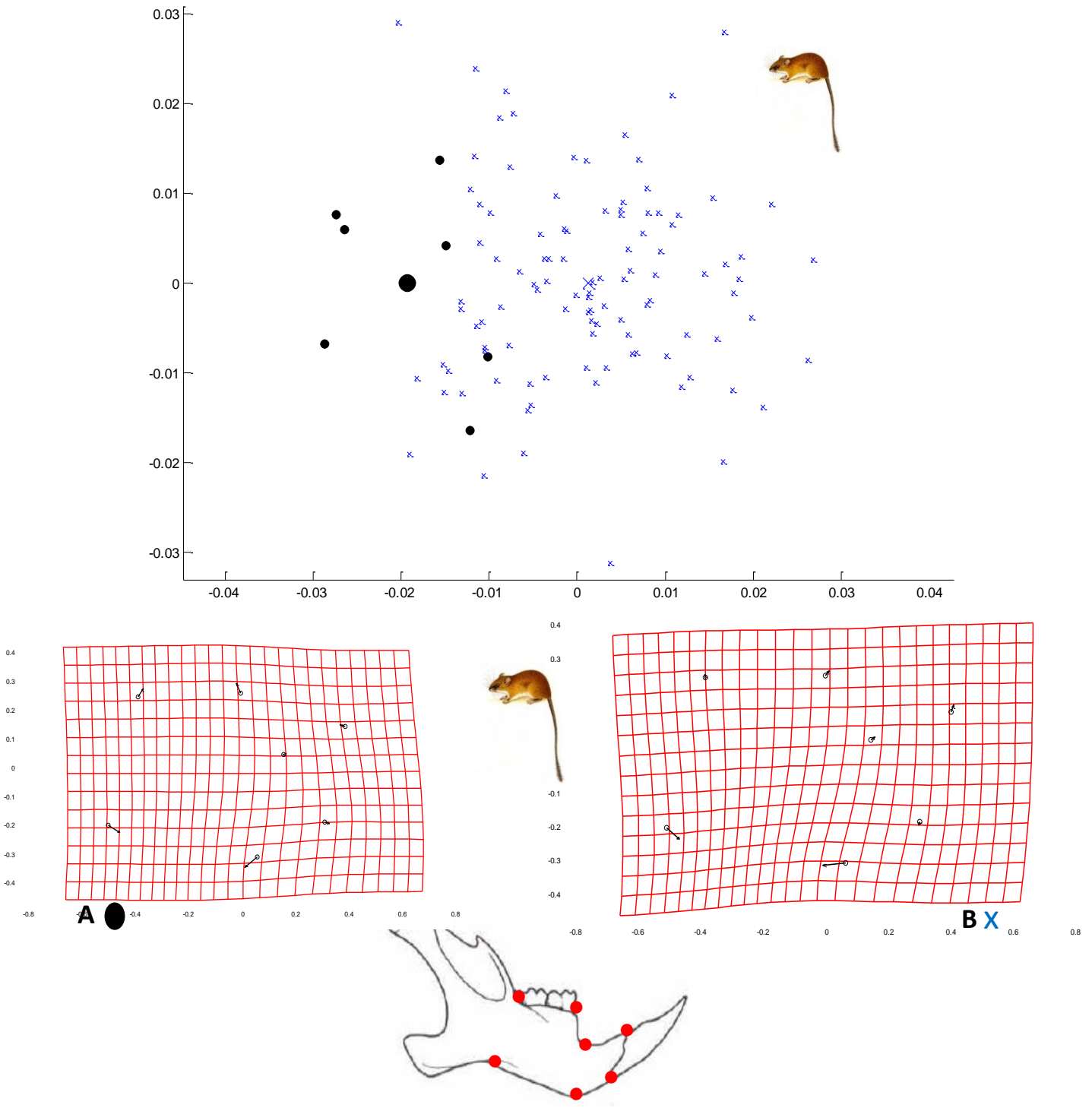
## Análisis de variables canónicas “*Nyctomys*”



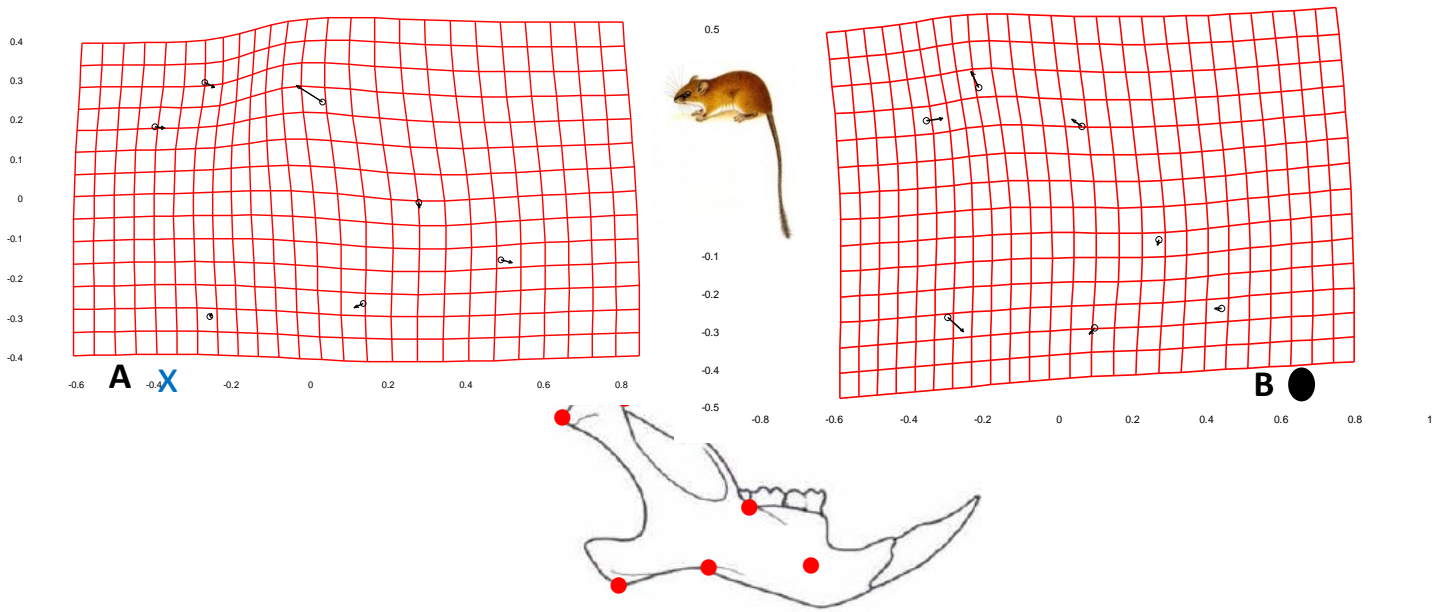
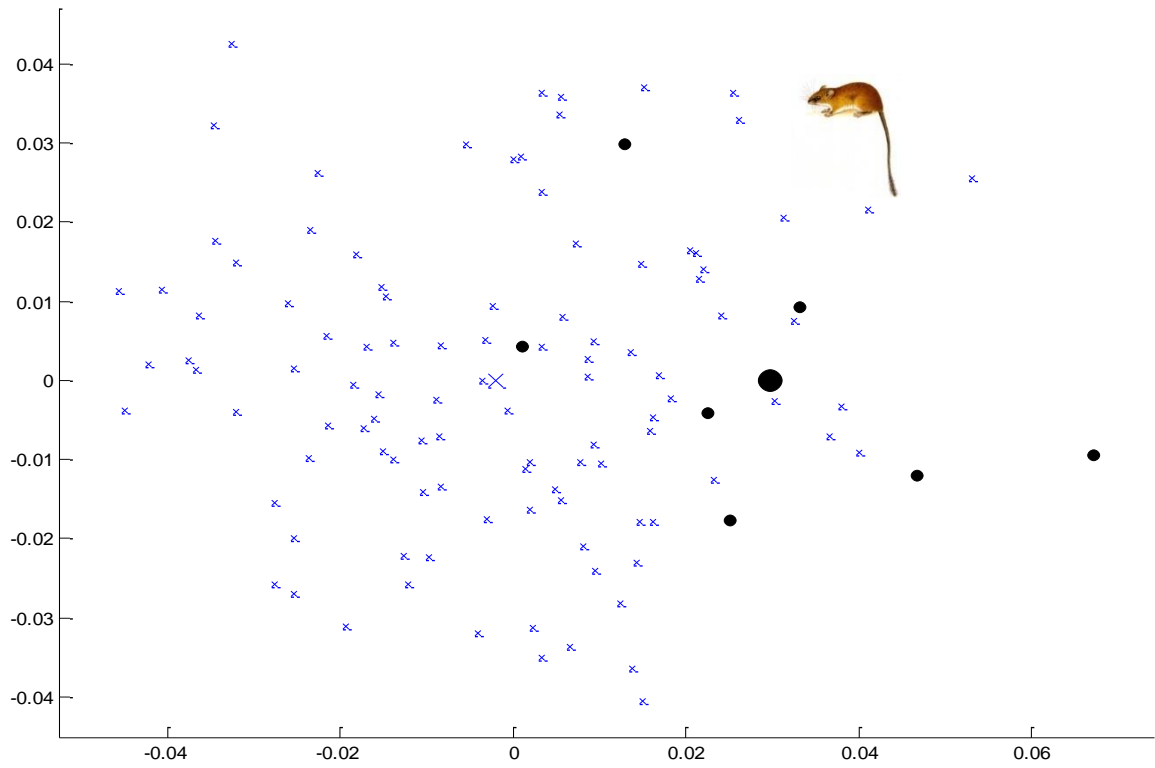
**Figura 35.** Arriba, ubicación de los grupos en un eje de coordenadas bajo un Análisis de Variables Canónicas para la vista lateral. Abajo rejillas de deformación para los grupos en “*Nyctomys*”. A= negro: tierras altas; B= azul: tierras bajas



**Figura 36.** Arriba, ubicación de los grupos en un eje de coordenadas bajo un Análisis de Variables Canónicas para la vista ventral. Abajo rejillas de deformación para los grupos en “Nyctomys”. A= negro: tierras altas; B= azul: tierras bajas



**Figura 37.** Arriba, ubicación de los grupos en un eje de coordenadas bajo un Análisis de Variables Canónicas para la región anterior del dentario. Abajo rejillas de deformación para los grupos en “Nyctomys”. A= negro: tierras altas; B= azul: tierras bajas



**Figura 38.** Arriba, ubicación de los grupos en un eje de coordenadas bajo un Análisis de Variables Canónicas para la región posterior del dentario. Abajo rejillas de deformación para los grupos en “*Nyctomys*”. A= azul: tierras bajas; B= negro: tierras altas.

## ANEXO IV. Lista de ejemplares

Ejemplares de *Tylomys* utilizados en los análisis morfométricos. ND= no determinado

	Catalogo	Especie	Localidad	Sexo	Edad
1	CNMA 15395	<i>T. nudicaudus</i>	Veracruz, Los amates	M	4
2	CNMA 7715	<i>T. nudicaudus</i>	Veracruz, 2km W Suchilapa	M	3
3	CNMA 13920	<i>T. nudicaudus</i>	Veracruz, hotel playa escondida 1km SE cerro Balzapote, los Tuxtlas 50m	H	3
4	CNMA 19334	<i>T. nudicaudus</i>	Chiapas, 3km S Tuxtla Gutierrez, Zoologico Miguel Alvarez del Toro	H	3
5	CNMA 19333	<i>T. nudicaudus</i>	Chiapas, 3km S Tuxtla Gutierrez, Zoologico Miguel Alvarez del Toro	H	5
6	CNMA 16486	<i>T. nudicaudus</i>	Puebla, cueva de la garita 7km rancho las margaritas, Hueytamalco	ND	5
7	CNMA 7179	<i>T. nudicaudus</i>	Chiapas	H	3
8	CNMA 7180	<i>T. nudicaudus</i>	Chiapas, Rio Pichucalco	H	5
9	CNMA 12222	<i>T. nudicaudus</i>	Chiapas, Estación Juárez rancho Alejandria Mpio. Juárez	H	4
10	CNMA 24481	<i>T. tumbalensis</i>	Chiapas, Cueva a 5km N de la Estación SEDUE bosque el ocote Mpio. Ocozocuautla	M	3
11	CNMA 24482	<i>T. tumbalensis</i>	Chiapas, Cueva a 5km N de la Estación SEDUE bosque el ocote Mpio. Ocozocuautla	H	4
12	CNMA 24483	<i>T. tumbalensis</i>	Chiapas, Cueva a 5km N de la Estación SEDUE bosque el ocote Mpio. Ocozocuautla	H	4
13	CNMA 3096	<i>T. nudicaudus</i>	Chiapas, Parque Madero, Tuxtla Gutiérrez	M	4
14	CNMA 8515	<i>T. nudicaudus</i>	Oaxaca, 36.5km N San Gabriel Mixtepec, Mpio. De Juquila	M	3
15	CNMA 608	<i>T. nudicaudus</i>	Veracruz, Estación de Biología tropical Los Tuxtlas, Mpio. San Andrés Tuxtla	H	4
16	MZFC 6796	<i>T. nudicaudus</i>	Chiapas, km 21.5 carretera Ocozocuautla	M	5
17	MZFC 6797	<i>T. nudicaudus</i>	Chiapas, km 21.5 carretera Ocozocuautla	H	5
18	MZFC NSG 60	<i>T. nudicaudus</i>	México	M	4
19	MZFC ASM 61	<i>T. nudicaudus</i>	México	ND	4
20	MZFC 7779	<i>T. nudicaudus</i>	Oaxaca, Mpio. Santa Maria Chimalapa San isidro La gringa	M	3
21	MZFC 7780	<i>T. nudicaudus</i>	Oaxaca, Mpio. Santa Maria Chimalapa Chalchijapa	M	5
22	MZFC 10058	<i>T. nudicaudus</i>	Oaxaca, Nizanda Cerro Verde Mpio. Asunción Ixtaltepec	M	3
23	ECO 1367	<i>T. nudicaudus</i>	Chiapas, Mpio. Maravilla Tenejeapa, 0.6 km SE ejido Loma Bonita	H	4
24	ECO 807	<i>T. nudicaudus</i>	Chiapas, Mpio. Oxchuc Santo Tomás Oxchuc. Mercado indígena	M	4
25	ECO 1233	<i>T. nudicaudus</i>	Chiapas, Mpio. Oxchuc Santo Tomás Oxchuc. Mercado indígena	H	4
26	ECO 1395	<i>T. nudicaudus</i>	Chiapas, Mpio. Mapastepec, 0.5 km Ejido Nicolás Bravo	M	4
27	ECO 1388	<i>T. nudicaudus</i>	Chiapas, Mpio. Mapastepec, 700m SE Ejido los Olivos	H	4
28	ECO 387	<i>T. nudicaudus</i>	Chiapas, Mpio. La concordia, Rancho Bélgica, 5.2km NW Finca Santa Cruz RB El Triunfo polígono V	H	4
29	ECO 910	<i>T. nudicaudus</i>	Chiapas, Mpio. La concordia, Finca Santa Cruz RB El Triunfo polígono V	M	4
30	ECO 3422	<i>T. nudicaudus</i>	Chiapas, Mpio. Villa Comatitlan, Rancho las Bugambilias	H	4
31	IHNCH 1247	<i>T. nudicaudus</i>	Chiapas, Mpio. La concordia, Finca Santa Cruz	H	4
32	IHNCH 1604	<i>T. nudicaudus</i>	Chiapas, Mpio. Villa Flores, Ejido Nueva Independencia	M	4
33	IHNCH 1793	<i>T. nudicaudus</i>	Chiapas, Mpio. Villa Corzo, Ejido plan de Ayala, cañada la angostura	M	3
34	IHNCH 1249	<i>T. nudicaudus</i>	Chiapas, Mpio. Ocozocuautla, cañada la palma, 1km S del encajonado	M	4
35	IHNCH 1248	<i>T. nudicaudus</i>	Chiapas, Mpio. Ocozocuautla, junta de los rios negro y la venta	H	4
36	AMNH243829	<i>T. nudicaudus</i>	Guatemala	M	4
37	AMNH 18775	<i>T. watsoni</i>	Colombia	M	4
38	AMNH 79301	<i>T. nudicaudus</i>	Guatemala	H	4
39	AMNH 79308	<i>T. nudicaudus</i>	Guatemala	H	4
40	AMNH 34203	<i>T. mirae</i>	Colombia	M	4
41	AMNH 34204	<i>T. mirae</i>	Colombia	M	4
42	AMNH 34205	<i>T. mirae</i>	Colombia	M	4
43	AMNH148409	<i>T. nudicaudus</i>	Yucatán, ixcuitepec	M	4
44	AMNH139459	<i>T. watsoni</i>	Costa Rica	H	4



Ejemplares de *Ototylomys phyllotis* utilizados en los análisis morfométricos. ND= no determinado

	Catálogo	Especie	Localidad	Sexo	Edad
1	CNMA36681	<i>O. phyllotis</i>	Campeche, central chiclera Villahermosa, Mpio. Champoton	H	4
2	CNMA31743	<i>O. phyllotis</i>	Campeche, el remate, 14 km w Tankuche	M	3
3	CNMA37350	<i>O. phyllotis</i>	Campeche, Cueva del sol Ak-tum-kim, 33.3 km SSW Xpujil Mpio. Champoton 300m	M	5
4	CNMA37351	<i>O. phyllotis</i>	Campeche, Cueva del sol Ak-tum-kim, 33.3 km SSW Xpujil Mpio. Champoton 300m	H	4
5	CNMA36679	<i>O. phyllotis</i>	Campeche, central chiclera Villahermosa, Mpio. Champoton	H	3
6	CNMA31745	<i>O. phyllotis</i>	Quintana Roo, Kohunlich	M	4
7	CNMA37349	<i>O. phyllotis</i>	Zona arqueologica calakmul, mpio. champoton	H	5
8	CNMA31748	<i>O. phyllotis</i>	6 km s, 1.5 km w tres garantias	M	3
9	CNMA31749	<i>O. phyllotis</i>	6 km s, 1.5 km w tres garantias	M	4
10	CNMA31750	<i>O. phyllotis</i>	6 km s, 1.5 km w tres garantias	H	3
11	CNMA19091	<i>O. phyllotis</i>	ruinas de tulum	M	4
12	CNMA12393	<i>O. phyllotis</i>	la caotal finca san leandro 30 km w de palenque	H	4
13	CNMA30775	<i>O. phyllotis</i>	27.5 km s, 70 km e constitucion, mpio. escarcega	M	3
14	CNMA30778	<i>O. phyllotis</i>	44 km s, 70 km e constitucion, mpio. escarcega	M	4
15	CNMA30774	<i>O. phyllotis</i>	30 km n escarcega, mpio. escarcega por carretera	M	4
16	CNMA30780	<i>O. phyllotis</i>	44 km s, 70 km e constitucion, mpio. escarcega	H	4
17	CNMA30782	<i>O. phyllotis</i>	44 km s, 70 km e constitucion, mpio. escarcega	H	4
18	CNMA30783	<i>O. phyllotis</i>	25 km n xpujil	H	3
19	CNMA30784	<i>O. phyllotis</i>	2 km e chichen-itza cenote seco	M	3
20	AMNH28286	<i>O. phyllotis</i>	el viejo	M	4
21	AMNH29816	<i>O. phyllotis</i>	san ramon, uluce	M	4
22	AMNH29818	<i>O. phyllotis</i>	tola, penas blancas	H	4
23	AMNH91218	<i>O. phyllotis</i>	tinum, chichen itza	H	5
24	AMNH91221	<i>O. phyllotis</i>	tinum, chichen itza	H	ND
25	AMNH91219	<i>O. phyllotis</i>	tinum, chichen itza	M	4
26	AMNH145526	<i>O. phyllotis</i>	flores,uaxactun	H	4
27	AMNH79306	<i>O. phyllotis</i>	cahabon, chimoxan	M	4
28	AMNH79309	<i>O. phyllotis</i>	cahabon, chimoxan	M	4
29	AMNH123304	<i>O. phyllotis</i>	san jeronimo pirris	H	4
30	ECO9	<i>O. phyllotis</i>	Quintana Roo, 15 km SW Cancún	M	3
31	ECO189	<i>O. phyllotis</i>	Quintana Roo, 30 km sur de Felipe Carrillo Puerto, Rancho Palmas	M	3
32	ECO 8	<i>O. phyllotis</i>	Quintana Roo, 15 km SW Cancún	H	4
33	ECO 69	<i>O. phyllotis</i>	Quintana Roo, 30 km sur de Felipe Carrillo Puerto, Rancho Palmas	H	5
34	ECO 169	<i>O. phyllotis</i>	Quintana Roo, 30 km sur de Felipe Carrillo Puerto, Rancho Palmas	H	5
35	ECO 229	<i>O. phyllotis</i>	Quintana Roo, 30 km sur de Felipe Carrillo Puerto, Rancho Palmas	H	3
36	ECO 245	<i>O. phyllotis</i>	Quintana Roo, 30 km sur de Felipe Carrillo Puerto, Rancho Palmas	H	5
37	ECO247	<i>O. phyllotis</i>	Quintana Roo, 30 km sur de Felipe Carrillo Puerto, Rancho Palmas	M	5
38	ENCB2437	<i>O. phyllotis</i>	Quintana Roo, 2.5 km NE F. Carrillo Puerto	H	4
39	ENCB 2438	<i>O. phyllotis</i>	Quintana Roo, 2 km NE F. Carrillo Puerto	H	4
40	ENCB 18757	<i>O. phyllotis</i>	Chiapas, Ruinas de Yaxchilán	H	4
41	ENCB 18758	<i>O. phyllotis</i>	Chiapas, Ruinas de Yaxchilán	H	4
42	ENCB 18759	<i>O. phyllotis</i>	Chiapas, Ruinas de Yaxchilán	H	4
43	ENCB 34291	<i>O. phyllotis</i>	Tabasco, 3 km S, 0.5 W El Cuyo	H	5
44	ENCB 37309	<i>O. phyllotis</i>	Quintana Roo, X-Puja, 25 km SW Playa del Carmen	H	4
45	ENCB 1668	<i>O. phyllotis</i>	Chiapas, Ruinas de Palenque	M	3
46	ENCB 2435	<i>O. phyllotis</i>	Quintana Roo, 2.5 km NE F. Carrillo Puerto	M	4
47	ENCB2439	<i>O. phyllotis</i>	Quintana Roo, 2 km NE F. Carrillo Puerto	M	4
48	ENCB 18755	<i>O. phyllotis</i>	Chiapas, Ruinas de Yaxchilán	M	4
49	ENCB 18756	<i>O. phyllotis</i>	Chiapas, Ruinas de Yaxchilán	M	3
50	ENCB 18760	<i>O. phyllotis</i>	Chiapas, Ruinas de Yaxchilán	M	4
51	ENCB 37308	<i>O. phyllotis</i>	Quintana Roo, X-Puja, 25 km SW Playa del Carmen	M	3
52	INAHJCTM11	<i>O. phyllotis</i>	Yucatán, Loltún	H	5
53	INAHJCTM12	<i>O. phyllotis</i>	Yucatán, Loltún	M	4
54	LSU9513	<i>O. phyllotis</i>	Costa Rica, San Ignacio de Acosta	H	4
55	LSU11523	<i>O. phyllotis</i>	Costa Rica, San José 1 mi E Cangrejal	M	4
56	LSU28353	<i>O. phyllotis</i>	Costa Rica, Puntarenas 5 mi S, 6 Mi W Esparza	H	4

57	MZFC7023	<i>O. phyllotis</i>	Chiapas, Ruinas de Yaxchilán	H	4
58	MZFC 7030	<i>O. phyllotis</i>	Chiapas, Ruinas de Yaxchilán	H	4
59	MZFC 7054	<i>O. phyllotis</i>	Chiapas, Ruinas de Yaxchilán	H	3
60	MZFC 9707	<i>O. phyllotis</i>	Yucatán, Peto, Pechil	H	4
61	MZFC 9709	<i>O. phyllotis</i>	Yucatán, Peto, Pechil	H	4
62	MZFC 7004	<i>O. phyllotis</i>	Chiapas, Ruinas de Yaxchilán	M	4
63	MZFC 7031	<i>O. phyllotis</i>	Chiapas, Ruinas de Yaxchilán	M	3
64	NMNH108088	<i>O. phyllotis</i>	Yucatán, Chichen-Itza	H	5
65	NMNH 108095	<i>O. phyllotis</i>	Yucatán, Chichen-Itza	H	4
66	NMNH 392879	<i>O. phyllotis</i>	Nicaragua, Río Kurinwas	H	4
67	NMNH 565152	<i>O. phyllotis</i>	Guatemala, Tikal parque Nacional, Flores 60 km N	H	5
68	NMNH 565153	<i>O. phyllotis</i>	Guatemala, Tikal parque Nacional, Flores 60 km N	H	3
69	NMNH 565156	<i>O. phyllotis</i>	Guatemala, Tikal parque Nacional, Flores 60 km N	H	5
70	NMNH 565159	<i>O. phyllotis</i>	Guatemala, Tikal parque Nacional, Flores 60 km N	H	5
71	NMNH 565160	<i>O. phyllotis</i>	Guatemala, Tikal parque Nacional, Flores 60 km N	H	3
72	NMNH 565161	<i>O. phyllotis</i>	Guatemala, Tikal parque Nacional, Flores 60 km N	H	3
73	NMNH 565167	<i>O. phyllotis</i>	Honduras, Valle del Cauca. Las Cuevitas, San Francisco 7km W	H	4
74	NMNH 108092	<i>O. phyllotis</i>	Yucatán, Chichen-Itza	M	3
75	NMNH 108485	<i>O. phyllotis</i>	Yucatán, La Vega	M	4
76	NMNH 244971	<i>O. phyllotis</i>	Guatemala, Peten, Pacomón	M	3
77	NMNH 565149	<i>O. phyllotis</i>	Guatemala, Tikal parque Nacional, Flores 60 km N	M	3
78	NMNH 565155	<i>O. phyllotis</i>	Guatemala, Tikal parque Nacional, Flores 60 km N	M	5
79	NMNH 565162	<i>O. phyllotis</i>	Guatemala, Finca Chahuites, 12 km NE camino Ca-9, km 143, Sierra de las Minas	M	4
80	NMNH 583075	<i>O. phyllotis</i>	Belice, Stann Creek Cockscomb Basin Wildlife Sanctuary	M	3
81	NMNH 583186	<i>O. phyllotis</i>	Belice, Cayo, Granja Central	M	3
82	NMNH 583188	<i>O. phyllotis</i>	Belice, Georville 8 min. Del camino a Chiquibul	M	5

**Ejemplares de *Nyctomys* de tierras bajas utilizados en los análisis morfométricos. ND= no determinado**

	Catalogo	Especie	Localidad	Sexo	Edad
1	CNMA34769	<i>N. sumichrasti</i>	Chiapas, Ejido loma bonita río Chajul, Mpio. Ocosingo	M	4
2	CNMA22978	<i>N. sumichrasti</i>	Chiapas, Reserva montes azules Est. Chajul SEDUE, Mpio. Ocosingo	M	5
3	CNMA40273	<i>N. sumichrasti</i>	Guerrero, 0.5km NW Omiltemi, 2198m, Mpio. Chilpancingo	M	3
4	CNMA12116	<i>N. sumichrasti</i>	Jalisco, 8km E Chamela 60m, Mpio. La huerta	M	3
5	CNMA42939	<i>N. sumichrasti</i>	Jalisco, Estación biológica Chamela 5.5km SE Chamela 72m, Mpio. La huerta	H	3
6	CNMA46263	<i>N. sumichrasti</i>	Guerrero, 4.1 km NW Yetla, Mpio. Coyuca de Benítez 143m	M	3
7	CNMA46262	<i>N. sumichrasti</i>	Guerrero, 4.1 km NW Yetla, Mpio. Coyuca de Benítez 143m	M	3
8	CNMA39874	<i>N. sumichrasti</i>	Oaxaca, 1.5km S puerto de la soledad, Mpio. Teotitlan de Flores Magón	M	4
9	CNMA21676	<i>N. sumichrasti</i>	Oaxaca, Puerto de la soledad 2350m, Mpio. Teotitlan de Flores Magón	H	4
10	CNMA36580	<i>N. sumichrasti</i>	Veracruz, Estación de Biología Tropical los Tuxtlas, Mpio. San Andres Tuxtlas 200m	M	3
11	CNMA373	<i>N. sumichrasti</i>	Veracruz, 2.5km N el bastonal, ejido Adolfo Lopez Mateos, catemaco Mpio. Catemaco 340m	M	4
12	CNMA377	<i>N. sumichrasti</i>	Veracruz, 2.5km N el bastonal, ejido Adolfo Lopez Mateos, catemaco Mpio. Catemaco 340m	M	4
13	CNMA374	<i>N. sumichrasti</i>	Veracruz, 2.5km N el bastonal, ejido Adolfo Lopez Mateos, catemaco Mpio. Catemaco 340m	H	3
14	CNMA378	<i>N. sumichrasti</i>	Veracruz, 2.5km N el bastonal, ejido Adolfo Lopez Mateos, catemaco Mpio. Catemaco 340m	M	3
15	CNMA375	<i>N. sumichrasti</i>	Veracruz, 2.5km N el bastonal, ejido Adolfo Lopez Mateos, catemaco Mpio. Catemaco 340m	H	4
16	CNMA382	<i>N. sumichrasti</i>	Veracruz, 2.5km N el bastonal, ejido Adolfo Lopez Mateos, catemaco Mpio. Catemaco 340m	M	3
17	CNMA384	<i>N. sumichrasti</i>	Veracruz, 2.5km N el bastonal, ejido Adolfo Lopez Mateos, catemaco Mpio. Catemaco 340m	M	4
18	MZFC9827	<i>N. sumichrasti</i>	Oaxaca, Finca infiernillo 2.3 km de pluma hidalgo, Pto. Miahuatlan	M	4
19	ECO1719	<i>N. sumichrasti</i>	Oaxaca, Mpio. San Francisco del Mar, Laguna Ta chano: 1.48km al SE de Montecillo Santa Cruz	H	4
20	ECO450	<i>N. sumichrasti</i>	Chiapas, Mpio. Marqués de comillas, RB Montes Azules. Enfrente del ejido reforma agraria	M	4
21	ECO562	<i>N. sumichrasti</i>	Chiapas, Mpio. La trinitaria, PN Lagos de Montebello. Yalhuech	M	4
22	ECO3285	<i>N. sumichrasti</i>	Chiapas, Mpio. Siltepec, km 4 carretera de terracería a la comunidad la cascada, 7.3km W el porvenir	H	4
23	ECO1967	<i>N. sumichrasti</i>	Chiapas, Mpio. Bellavista, ejido ojo de agua	H	4
24	IHNCH2031	<i>N. sumichrasti</i>	Chiapas, Mpio. Motozintla, ejido libertad calera	H	5
25	AMNH28551	<i>N. sumichrasti</i>	Nicaraguan, Chontales	M	4
26	AMNH28552	<i>N. sumichrasti</i>	Nicaragua, Nueva Segovia, Ocotol	M	4

27	AMNH30761	<i>N. sumichrasti</i>	Nicaragua, Matagalpa	H	4
28	AMNH129893	<i>N. sumichrasti</i>	Honduras	H	4
29	AMNH129891	<i>N. sumichrasti</i>	Honduras	H	4
30	AMNH129890	<i>N. sumichrasti</i>	Honduras	M	4
31	AMNH129889	<i>N. sumichrasti</i>	Honduras	H	4
32	AMNH129888	<i>N. sumichrasti</i>	Honduras	M	4
33	AMNH123294	<i>N. sumichrasti</i>	Honduras, El derrumbo	M	4
34	AMNH123293	<i>N. sumichrasti</i>	Honduras	M	4
35	AMNH123299	<i>N. sumichrasti</i>	Honduras	H	4
36	AMNH123296	<i>N. sumichrasti</i>	Honduras	M	5
37	AMNH123303	<i>N. sumichrasti</i>	Honduras	M	4
38	AMNH128482	<i>N. sumichrasti</i>	Honduras	M	4
39	AMNH127628	<i>N. sumichrasti</i>	Honduras	H	4
40	AMNH127629	<i>N. sumichrasti</i>	Honduras	H	3
41	AMNH129883	<i>N. sumichrasti</i>	Honduras	M	3
42	AMNH129882	<i>N. sumichrasti</i>	Honduras	H	4
43	AMNH129879	<i>N. sumichrasti</i>	Honduras	H	4
44	AMNH129880	<i>N. sumichrasti</i>	Honduras	M	4
45	AMNH129878	<i>N. sumichrasti</i>	Honduras	H	ND
46	AMNH129872	<i>N. sumichrasti</i>	Honduras	H	3
47	AMNH129158	<i>N. sumichrasti</i>	Honduras	M	4
48	AMNH129157	<i>N. sumichrasti</i>	Honduras	H	4
49	AMNH129152	<i>N. sumichrasti</i>	Honduras	M	4
50	AMNH129154	<i>N. sumichrasti</i>	Honduras	H	3
51	AMNH129153	<i>N. sumichrasti</i>	Honduras	M	5
52	AMNH129150	<i>N. sumichrasti</i>	Honduras, Las Flores gracias	H	4
53	AMNH129148	<i>N. sumichrasti</i>	Honduras	M	3
54	AMNH129147	<i>N. sumichrasti</i>	Honduras	M	5
55	AMNH129146	<i>N. sumichrasti</i>	Honduras	H	4
56	AMNH129145	<i>N. sumichrasti</i>	Honduras	H	4
57	AMNH129804	<i>N. sumichrasti</i>	Honduras, Lepaera, gracias	H	4
58	AMNH25973	<i>N. sumichrasti</i>	Costa Rica	M	4
59	AMNH147792	<i>N. sumichrasti</i>	Panamá, Cerro pando, Chiriquí. 4100 msnm	H	4
60	AMNH147803	<i>N. sumichrasti</i>	Panamá, Volcán, Chiriquí. 4100 msnm	M	4
61	AMNH147689	<i>N. sumichrasti</i>	Oaxaca, Tehuantepec	M	3
62	AMNH147690	<i>N. sumichrasti</i>	Oaxaca, Tehuantepec	M	3
63	AMNH146013	<i>N. sumichrasti</i>	Oaxaca, Tehuantepec	H	4
64	AMNH147686	<i>N. sumichrasti</i>	Oaxaca, Tehuantepec	H	4
65	AMNH148836	<i>N. sumichrasti</i>	Oaxaca, Tehuantepec	H	4
66	AMNH149019	<i>N. sumichrasti</i>	Oaxaca, Tehuantepec	M	4
67	AMNH2420	<i>N. sumichrasti</i>	México	M	4
68	AMNH2421	<i>N. sumichrasti</i>	México	H	4
69	AMNH2422	<i>N. sumichrasti</i>	México	M	4
70	AMNH2425	<i>N. sumichrasti</i>	Oaxaca, Tehuantepec	M	4
71	AMNH185019	<i>N. sumichrasti</i>	Oaxaca, Tehuantepec	M	4
72	AMNH208951	<i>N. sumichrasti</i>	Oaxaca, Tehuantepec	H	4
73	AMNH145212	<i>N. sumichrasti</i>	Oaxaca, Tehuantepec	M	4
74	AMNH143381	<i>N. sumichrasti</i>	Oaxaca, Tehuantepec	M	4
75	AMNH145829	<i>N. sumichrasti</i>	Oaxaca, Tehuantepec	M	4
76	AMNH147693	<i>N. sumichrasti</i>	Oaxaca, Tehuantepec	H	4
77	AMNH149042	<i>N. sumichrasti</i>	Oaxaca, Tehuantepec	M	4
78	AMNH74202	<i>N. sumichrasti</i>	Guatemala, Panajachel	M	4
79	AMNH74205	<i>N. sumichrasti</i>	Guatemala, Panajachel	H	4
80	AMNH74206	<i>N. sumichrasti</i>	Guatemala, Panajachel	H	4
81	AMNH74209	<i>N. sumichrasti</i>	Guatemala, Panajachel	H	4
82	AMNH74206	<i>N. sumichrasti</i>	Guatemala, Panajachel	H	4
83	AMNH74210	<i>N. sumichrasti</i>	Guatemala, Panajachel	M	4
84	AMNH74211	<i>N. sumichrasti</i>	Guatemala, Panajachel	H	4
85	AMNH74213	<i>N. sumichrasti</i>	Guatemala, Panajachel	M	4
86	AMNH74203	<i>N. sumichrasti</i>	Guatemala, Panajachel	H	4

87	AMNH74215	<i>N. sumichrasti</i>	Guatemala, Panajachel	H	4
88	AMNH74217	<i>N. sumichrasti</i>	Guatemala, Panajachel	H	4
89	AMNH74201	<i>N. sumichrasti</i>	Guatemala, Panajachel	M	4
90	AMNH74204	<i>N. sumichrasti</i>	Guatemala, Panajachel	M	4
91	AMNH74214	<i>N. sumichrasti</i>	Guatemala, Panajachel	M	4
92	AMNH74216	<i>N. sumichrasti</i>	Guatemala, Panajachel	H	4
93	AMNH74207	<i>N. sumichrasti</i>	Guatemala, Panajachel	ND	4
94	AMNH74219	<i>N. sumichrasti</i>	Guatemala, Panajachel	H	4
95	AMNH74220	<i>N. sumichrasti</i>	Guatemala, Panajachel	M	4
96	AMNH74221	<i>N. sumichrasti</i>	Guatemala, Panajachel	H	4
97	AMNH74222	<i>N. sumichrasti</i>	Guatemala, Panajachel	M	4
98	AMNH74223	<i>N. sumichrasti</i>	Guatemala, Panajachel	M	4
99	AMNH74226	<i>N. sumichrasti</i>	Guatemala, Panajachel	M	4
100	AMNH74228	<i>N. sumichrasti</i>	Guatemala, Panajachel	H	4
101	AMNH74230	<i>N. sumichrasti</i>	Guatemala, Panajachel	M	5
102	AMNH74208	<i>N. sumichrasti</i>	Guatemala, San Lucas	H	4
103	AMNH75070	<i>N. sumichrasti</i>	Guatemala, San Lucas	H	4
104	AMNH79300	<i>N. sumichrasti</i>	Guatemala, San Lucas	H	4
105	AMNH175084	<i>N. sumichrasti</i>	Chiapas, 5 millas sur de Teopisca	H	4
106	AMNH141938	<i>N. sumichrasti</i>	Costa Rica	M	4

**Ejemplares del nuevo clado de tierras elevadas utilizados en los análisis morfométricos.**

	Catalogo	Localidad	Sexo	Edad
1	CNMA35550	Chiapas, Cerro Tzontehuitz 13km NE san cristobal de las casas, Mpio. Chamula 2880msm	M	4
2	CNMA29530	Oaxaca, 11km SW la esperanza camino lodoso hacia san isidro, Mpio. Santiago Comaltepec 2000m	M	4
3	CNMA29531	Oaxaca, 11km SW la esperanza camino lodoso hacia san isidro, Mpio. Santiago Comaltepec 2000m	M	4
4	CNMA29532	Oaxaca, 11km SW la esperanza camino lodoso hacia san isidro, Mpio. Santiago Comaltepec 2000m	H	5
5	CNMA29533	Oaxaca, 11km SW la esperanza camino nuevo hacia san isidro, Mpio. Santiago Comaltepec 2000m	M	4
6	MZFC10752	Oaxaca, Mpio. Juquila, 4km SW de Juquila	H	4
7	MZFC10884	Oaxaca, Mpio. Santa Catarina Juquila; la Yerbabuena 1500msnm	M	4
8	MZFC11026	Oaxaca, Mpio. Santa Catarina Juquila; la Yerbabuena 1500msnm	H	4

**Ejemplares de *Otonyctomys hatti* utilizados en los análisis morfométricos.**

	Catalogo	Especie	Localidad	Sexo	Edad
1	CNMA30792	<i>O. hatti</i>	Campeche, 44km S, 70km E, Escárcega, Mpio. Escárcega	H	4
2	CNMA973	<i>O. hatti</i>	Cautiverio	M	4
3	CNMA968	<i>O. hatti</i>	Cautiverio	H	4
4	MZFC16131	<i>O. hatti</i>	Cautiverio	H	4
5	MZFC16132	<i>O. hatti</i>	Cautiverio	M	4
6	MZFC16129	<i>O. hatti</i>	Quintana Roo, Reserva ecológica El Edén 25km NNE Leona Vicario, Mpio. Lázaro Cárdenas 5-10m	H	4
7	ECO4550	<i>O. hatti</i>	Quintana Roo, Reserva ecológica El Edén 25km NNE Leona Vicario, Mpio. Lazaro Cardenas 5-10m	H	4
8	AMNH91189	<i>O. hatti</i>	Yucatán, Tinum, Chichen Itza	H	4
9	AMNH91190	<i>O. hatti</i>	Yucatán, Tinum, Chichen Itza	M	4

Ejemplares obtenidos de Genbank y PCR de laboratorio usados en los análisis moleculares.

#	Nombre	No. de catalogo	Localidad
1	<i>Sigmodon hispidus</i>	GenBankAF155419	
2	<i>S. toltecus</i>	GenBankAF155418	
3	<i>Neotoma mexicana</i>	GenBankAF186821	
4	<i>N. mexicana</i>	GenBankFJ716222	
5	<i>Tylomys nudicaudus</i>	ECO 3422	Chiapas, Mpio. Villa Comatitlan, Rancho las Bugambillas
6	<i>T. nudicaudus</i>	ECO 3408	Chiapas, Mpio. Villa Comatitlan, Rancho las Bugambillas
7	<i>T. nudicaudus</i>	GenBankDQ179812	Guatemala, Izabal
8	<i>T. nudicaudus</i>	GenBankAF307839	Guatemala
9	<i>Otylomys phyllotis</i>	GenBankAY009788	Chiapas
10	<i>O. phyllotis</i>	GenBankAY009789	Chiapas
11	<i>O. phyllotis</i>	GenBankDQ179814	Honduras, Jardín botánico Lancelilla, Atlantida
12	<i>O. phyllotis</i>	ECO 2184	Chiapas, Toibilja. 10.67 km N Oxchuc.
13	<i>O. phyllotis</i>	MZFC14803	Campeche, Campamento Yaax-Che, Carretera 186 Escárcega-Chetumal km 98+7 Calakmul
14	<i>O. phyllotis</i>	Ravga18	Quintana Roo, Reserva de la Biosfera Sian Kaán, Estación Santa Teresa, F. Carrillo Puerto
15	<i>O. phyllotis</i>	MZFC14820	Quintana Roo, Reserva de la Biosfera Sian Kaán, Estación Santa Teresa, F. Carrillo Puerto
16	Tierras elevadas	GenBankJQ183067	Oaxaca, Distrito de Ixtlán, 28 km SW camino a la Esperanza 2950msnm
17	Tierras elevadas	GenBankJQ183065	Chiapas, Cerro Tzontehuitz, 13 km NE San Cristobal de las Casas 2880msnm
18	Tierras elevadas	MZFC10884	Oaxaca, Mpio. Santa Catarina Juquila: la Yerbabuena 1500msnm
19	Tierras elevadas	MZFC11027	Oaxaca, Mpio. Santa Catarina Juquila: la Yerbabuena 1500msnm
20	Tierras elevadas	MZFC11028	Oaxaca, Mpio. Santa Catarina Juquila: la Yerbabuena 1500msnm
21	Tierras elevadas	MZFC11025	Oaxaca, Mpio. Santa Catarina Juquila: la Yerbabuena 1500msnm
22	<i>Nyctomys tierras bajas</i>	GenBankJQ183066	Jalisco, 6km SE Chamela, UNAM Estación de Biología
23	<i>Nyctomys tierras bajas</i>	GenBankJN851816	Guatemala, Petén San Jose, limite Oeste Biotipo San Miguel La Palotada-EI Zotz 215msnm
24	<i>Nyctomys tierras bajas</i>	GenBankJQ183064	El Salvador La paz, 3 min NW San Luis Talpa
25	<i>Nyctomys tierras bajas</i>	GenBankJQ183063	El Salvador La paz, 3 min NW San Luis Talpa
26	<i>Nyctomys tierras bajas</i>	GenBankAY195801	Honduras
27	<i>Nyctomys tierras bajas</i>	ECO3285	Chiapas, Mpio. Siltepec, km 4 carretera de terracería a la comunidad la cascada, 7.3km W el porvenir
28	<i>Nyctomys tierras bajas</i>	ECO1967	Chiapas, Mpio. Bellavista, ejido ojo de agua
29	<i>Nyctomys tierras bajas</i>	ECO3383	Chiapas, El Porvenir, Cerro Madron. 4.85 km W El Porvenir
30	<i>Nyctomys tierras bajas</i>	ECO4577	Chiapas, 3 km NW Motozintla.
31	<i>Otonyctomys hatti</i>	GenBankJQ183060	Campeche: 44 km S de Constitución, 70 km E de Escárcega
32	<i>O. hatti</i>	CNMA968	Cautiverio
33	<i>O. hatti</i>	MZFC16131	Cautiverio
34	<i>O. hatti</i>	MZFC16132	Cautiverio
35	<i>O. hatti</i>	MZFC16129	Quintana Roo, Reserva ecológica El Edén 25km NNE Leona Vicario, Mpio. Lázaro Cárdenas

## **ANEXO V. Protocolo de extracción y distancias genéticas**

Protocolo modificado para la extracción de ADN por el método de NaCl y cloroformo: alcohol isoamílico.

- Colocar de 30 a 100 mg de tejido en un microtubo limpio
- Adicionar 410 mL de Buffer de lisis y 90 mL de SDSal 10%
- Incubar por 65°C por 15 minutos
- Homogenizar el tejido en partículas finas
- Añadir 20 mL de proteinasa K
- Vórtex por 10 segundos
- Incubar a 65°C por 30-40 minutos
- Adicionar 200 mL de NaCl saturado (6M)
- Agitar vigorosamente, volteando a mano durante 10 minutos
- Incubar en baño de hielo por 10 minutos
- Centrifugar a 10,000 rpm durante 10 minutos
- Transferir 400 mL de sobrenadante a un microtubo limpio
- Adicionar 350 mL de cloroformo:alcohol isoamílico (24:1)
- Agitar vigorosamente, volteando a mano durante 10 minutos
- Centrifugar a 14,000 rpm durante 5 minutos
- Transferir 400 mL del sobrenadante a un microtubo limpio
- Adicionar 800 mL (o 2 volúmenes de lo colectado) de etanol puro frio
- Mezclar un par de veces por inversión

Si se observa pellet de ADN:

Transferir el pellet a un microtubo limpio que contenga agua.

Si no se observa pellet de ADN:

Centrifugar a 14,000 rpm durante 10 minutos

Decantar el etanol

Secar las muestras y retirar el etanol restante

Disolver el ADN en agua.

