



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA**

**Identificación molecular de la rata de monte
Hodomys alleni utilizando código de barras
de DNA**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

Bióloga

P R E S E N T A:

REBECA HERNÁNDEZ ALONSO

DIRECTOR DE TESIS:

Dr. FERNANDO ALFREDO CERVANTES REZA

ASESOR INTERNO:

Dr. MANUEL FERIA ORTIZ

Ciudad de México, 2021



**F E S
ZARAGOZA**



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.

1. Datos del alumno

Hernández
Alonso
Rebeca
Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Estudios Superiores Zaragoza
Biología
410037973

2. Datos del tutor

Dr.
Fernando Alfredo
Cervantes
Reza

3. Datos del asesor interno

Dr.
Manuel
Feria
Ortiz

4. Datos del sinodal 1

M. en E. S.
María Cristina
Alvarado
Domínguez

5. Datos del sinodal 2

Dra.
María del Carmen
García
Rodríguez

6. Datos del sinodal 3

M. en C.
Uri Omar
García Vázquez

7. Datos del trabajo escrito

Identificación molecular de la rata de monte *Hodomys alleni* utilizando código de barras de DNA.
58 P.
2021

Proyecto dedicado a todo ser que compartió,
comparte y compartirá su esencia conmigo,
permitiéndome ser lo que soy.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México, a la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, al Instituto de Biología y a la Colección Nacional de Mamíferos por abrirme las puertas y permitirme ser parte de esta comunidad académica. Por abrir y expandir mis horizontes hacia nuevas experiencias, conocimientos y emociones, ya que, sin ellas a mi lado me hubiera sido imposible acceder a todo esto.

Al programa: "Código de Barras de la Vida - México, Red Temática de CONACYT", por el apoyo a este proyecto.

Al Dr. Fernando A. Cervantes Reza por permitirme ser parte de la CNMA, por el tiempo invertido, apoyo, consejos, entusiasmo y, sobre todo, por la extraordinaria paciencia que tuvo en la realización de este trabajo. Gracias porque nunca perdió la confianza en mí y por enseñarme que siempre hay algo nuevo que aprender. Le agradezco las experiencias de vida relatadas, los chistes, las risas e inclusive, los regaños, ya que, me ayudaron a crecer y madurar en todos los ámbitos. Y gracias por demostrarme que cuándo tenemos pasión a las cosas que realizamos, podemos llegar muy lejos.

A las Maestras Yolanda Hortelano y Julieta Vargas por las sonrisas, aprendizaje, y conocimientos brindados durante mi servicio social y en la elaboración de este trabajo. Por estar siempre en la mejor disposición para apoyarme.

A la M. en C. Andrea Rubí Jiménez Marín por ser mi guía al ingresar a este lindo y complejo mundo molecular. Por su tiempo, enseñanzas y convivencias durante mis estancias en el Laboratorio de Biología Molecular del Departamento de Zoología.

A la Biol. María del Carmen Loyola Blanco por las fotografías tomadas, por su tiempo, conocimiento y consejos de vida aportados a mi persona.

Al Dr. Manuel Feria Ortiz por haber aceptado ser mi asesor interno, por su motivación, apoyo, momentos gratos compartidos durante la carrera y, sobre todo, por la humildad que lo caracteriza todo el tiempo.

A mis sinodales la M. en E. S. María Cristina Alvarado Domínguez y a la Dra. María del Carmen García Vázquez por sus comentario y observaciones realizadas para mejorar este trabajo.

Al M. en C. Uri Omar García Vázquez por su dedicación, pasión y empeño que le pone a todo lo que realiza, incluyendo este trabajo. Por sus comentarios tan certeros, humildad y motivación brindada para seguir mejorando.

Al Dr. Mario Altamirano Lozada[†] que fue uno de mis sinodales y lo seguiría siendo de no haber sido por su lamentable partida, sin embargo, agradezco el tiempo y comentarios brindados en su momento.

Al Ból. Luis Jonathan Gómez Reyes por sus cometarios y observaciones para mejorar este escrito, pero principalmente, por acompañarme desde el inicio de esta aventura y convertirse en un excelente amigo.

A la M. en C. Stephanye Mata González por su apoyo e interés en este trabajo. Por su paciencia y servir de guía en momentos complicados, pero más que nada, por su sincera forma de ser y su linda amistad.

A todos los profesores que me compartieron, transmitieron sus conocimientos y experiencias de vida a lo largo de mi trayectoria educativa.

A las personas que me acompañan en este viaje llamado “vida”, con las cuales he vivido una infinidad de emociones, pero que no nombraré porque sería inaceptable e injusto dejar a alguien sin ser mencionado, sin embargo, ellas saben quiénes son y lo que significan para mí. Igualmente, a todas las personas que en su momento fueron un pilar en mi vida y que ahora, simplemente, están en otro camino.

Finalmente, pero obviamente no menos importante, a mis padres, Lucia y Simón, y a mi hermano, Aarón, por las lecciones enseñadas y apoyo brindado, pero, sobre todo, por ser mis maestros de vida en este plano existencial. Por simplemente, estar y ser. Infinitamente, gracias por todo.

ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE CUADROS	iv
ÍNDICE DE FIGURAS	iv
RESUMEN	iv
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Descripción de <i>Hodomys alleni</i>	3
1.2 Código de barras de la vida o DNA	9
2. HIPÓTESIS	12
3. OBJETIVO	12
4. MATERIAL Y MÉTODO	13
4.1 Obtención de muestras biológicas	13
4.2 Procedimiento de laboratorio	13
Extracción de DNA.....	13
Amplificación y secuenciación del material genético.....	14
Amplificación.....	14
Secuenciación.....	15
4.3 Trabajo de gabinete	16
Edición y verificación de las secuencias	16
Alineación, búsqueda de secuencias nucleotídicas y análisis de distancias genéticas.....	17
5. RESULTADOS	19
Edición y verificación de las secuencias nucleotídicas	19
Frecuencias nucleotídicas.....	20
Distancias genéticas	20
Árbol de distancias genéticas.....	21

6. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	26
7. CONCLUSIONES	33
8. RECOMENDACIONES	33
LITERATURA CITADA	34
APÉNDICES	41
Apéndice I.....	41
Apéndice II.....	43
Apéndice III.....	44
Apéndice IV.....	45
Apéndice V.....	49
Apéndice VI.....	50

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1	<i>Primers</i> específicos utilizados en la amplificación del gen citocromo oxidasa subunidad I en la rata de monte <i>Hodomys alleni</i>	14
Cuadro 2	Tabla que indica el número de secuencias utilizadas por familia, género, especie y subespecie que integran la biblioteca de referencia	18
Cuadro 3	Longitudes de las secuencias obtenidas del gen COI de <i>Hodomys alleni</i> , así como las longitudes finales después de su edición.....	19
Cuadro 4	Matriz de distancias genéticas entre las 19 secuencias de <i>Hodomys alleni</i>	22
Cuadro 5	Distancias genéticas promedio al interior de los géneros.....	23
Cuadro 6	Matriz de distancias genéticas promedio entre el género <i>Hodomys</i> y los otros 16 géneros incluidos en el análisis.....	24

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	Fotografía de un ejemplar de <i>Hodomys alleni</i>	2
Figura 2	Distribución potencial de <i>Hodomys. alleni</i> y de sus subespecies.....	3
Figura 3	Vista dorsal y ventral de la piel de un ejemplar adulto de <i>Hodomys alleni</i>	4
Figura 4	Vista dorsal y ventral de la piel de un ejemplar juvenil de <i>Hodomys alleni</i>	4
Figura 5	Vista dorsal y ventral del cráneo de un ejemplar de <i>Hodomys alleni</i>	5
Figura 6	Dentario inferior y tercer molar inferior izquierdo de un ejemplar de <i>H. alleni</i>	5
Figura 7	Fotografía de las madrigueras que construye <i>Hodomys alleni</i>	7
Figura 8	Cladograma que indica las relaciones de parentesco filogenético de <i>Hodomys alleni</i>	8
Figura 9	Gel de agarosa al 1% utilizando Gel Red como colorante que muestra el DNA extraído de 15 muestras de tejido fresco de <i>Hodomys alleni</i>	14
Figura 10	Gel de agarosa al 1.5% teñido con Gel Red que muestra la amplificación del gen COI de 15 muestras de tejido fresco de <i>Hodomys alleni</i>	16
Figura 11	Árbol realizado con el método de Neighbor-Joining para todas las secuencias analizadas, basado en el gen COI.....	25

RESUMEN

La rata *Hodomys alleni*, endémica de selvas secas de tierras del Pacífico mexicano, es pobremente conocida y sus poblaciones posiblemente están amenazadas debido a la pérdida de su hábitat. Sus hábitos arborícolas, posición filogenética basal, condición de género monotípico y su perfil biogeográfico, la convierten en un taxón importante para su estudio y conservación. Ante esta situación, es necesario, contar con información básica para su identificación taxonómica. Infortunadamente, carencia de ejemplares en colecciones biológicas dificultan este proceso. Consecuentemente, decidimos generar información molecular complementaria para contribuir a su identificación apropiada. Se utilizaron los procedimientos convencionales para la elaboración de códigos de barras de DNA que produjeron secuencias (mDNA, gen COI) de calidad de 15 ejemplares. Y con el fin de comparar las secuencias de COI obtenidas para *Hodomys alleni* con las de otras especies de roedores (asignados a géneros cercanamente emparentados) y de este modo evaluar la capacidad de este gen para la identificación de la especie bajo estudio, se realizó una búsqueda de secuencias en la base de datos internacional BoldSystem y se descargaron 59 secuencias. Se encontró, que no existen registros públicos disponibles para su comparación, pero la distancia genética promedio entre las secuencias obtenidas fue de 0.19%, posteriormente, se obtuvieron cuatro secuencias de la misma especie de un proyecto llevado a cabo en la CNMA. las 19 secuencias de *Hodomys alleni* tuvieron una distancia genética de 1.06% y posteriormente se reduce a 0.17% cuando se extrae del análisis a un ejemplar de un extremo distante de su distribución geográfica; las secuencias de nuestros ejemplares son, por tanto, altamente similares entre sí. Un árbol de distancias genéticas mostró que el grupo externo más similar a *H. alleni* son las ratas *Neotoma cinérea* y la rata arborícola, *Xenomys nelsoni*, con quien comparte su hábitat. Las secuencias obtenidas pueden funcionar para reconocer molecularmente a *H. alleni*, las que combinadas con datos morfológicos producirán una identificación taxonómica certera de *H. alleni*.

1. INTRODUCCIÓN

En la actualidad, las especies silvestres se enfrentan a diferentes amenazas de extinción y ante esta amenaza las medidas de gestión de los recursos naturales se han enfocado en acelerar el inventario de la diversidad biológica, dado que, si no se cuenta con los conocimientos de las especies se dificulta la implementación de programas de conservación y la formulación de leyes precisas y efectivas para la protección de las mismas (SCBD, 2011). La actividad principal que ha provocado la crisis en la que se encuentra la biodiversidad es la destrucción y fragmentación de sus hábitats, llevada a cabo por acción del hombre. Por ejemplo, en el continente americano las zonas de selva se reducen cada año, donde las selvas secas son uno de los ecosistemas más amenazados. Hoy en día, las selvas secas cubren alrededor del 1% de su superficie original que había en Mesoamérica (Masera *et al.*, 1997), deforestándose alrededor de 300 mil hectáreas por año, tres veces más que la tasa de deforestación estimada para los bosques de coníferas y 1.5 veces más que para las selvas altas perennifolias. En la mayoría de las regiones del Pacífico, son transformadas para el uso agropecuario (Challenger, 1998). La transformación inicia con la roza, tumba y quema, seguida por el pastoreo intensivo para finalmente llegar a ser pastizales (De Ita-Martínez, 1983; Gutiérrez, 1993).

En nuestro país, la clase de los mamíferos terrestres cuenta con 496 especies (Ramírez-Pulido, *et al.*, 2014) de las cuales 183 se encuentran en las selvas del Pacífico Mexicano. En conjunto, las selvas secas del Pacífico Mexicano cuentan con una alta diversidad de especies de mamíferos ya que se han registrado 183 especies que representan cerca del 35% de las especies totales del país (Ceballos y García, 1995). Desde 1990 han sido reconocidas como una de las regiones de mayor endemismo de mamíferos a escala nacional y continental (Ceballos, 1995; Ceballos y García, 1995). Con esta información, el panorama resulta esclarecedor para este grupo al ver que se encuentra expuesto a una situación muy grave.

En particular, la rata de monte *Hodomys alleni* (Fig. 1), a pesar de no encontrarse registrado en listas de CITES, UICN (*Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza*) y SEMARNAT (2010) bajo ninguna categoría de riesgo, sus poblaciones podrían encontrarse amenazadas debido a la pérdida de su hábitat, pues su distribución coincide con la de las selvas secas.

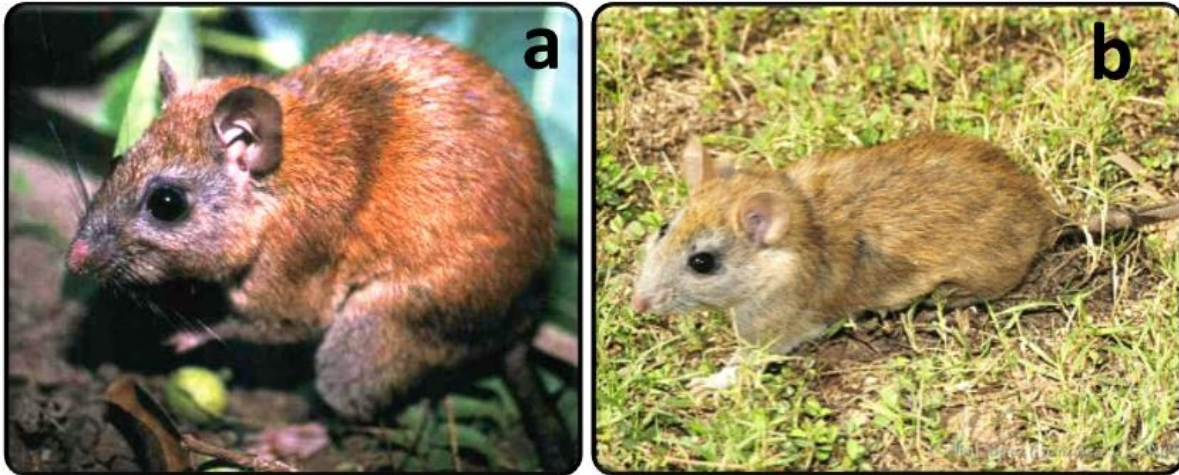


Figura 1. Ejemplar de *Hodomys alleni* en **a)** selva mediana, Tierra Colorada, Guerrero (Tomada de Ceballos y Oliva, 2005) y en **b)** Acaponeta, Nayarit (Fotografía por Celia López González).

Hodomys alleni se distribuye desde la vertiente del Pacífico tropical mexicano en los estados de Sinaloa, Nayarit, Jalisco, Colima, Michoacán, Guerrero y Oaxaca, y hacia el centro del país en los estados de Puebla, Morelos y la Ciudad de México (Fig. 2). Se le puede encontrar en algunos hábitats como el matorral espinoso, el chaparral espinoso, vegetación secundaria y cultivos (Ceballos y Oliva, 2005). A pesar de tener una amplia distribución se desconoce su estatus actual y el conocimiento sobre su biología es escaso. Llevar a cabo estudios que ayuden a conocer con exactitud su condición resulta difícil por el escaso número de capturas y registros que se tienen de ella. Para crear estrategias que ayuden a la conservación y protección de *H. alleni* es necesario contar con una correcta identificación taxonómica, ya que es la piedra angular de cualquier iniciativa de conservación biológica.

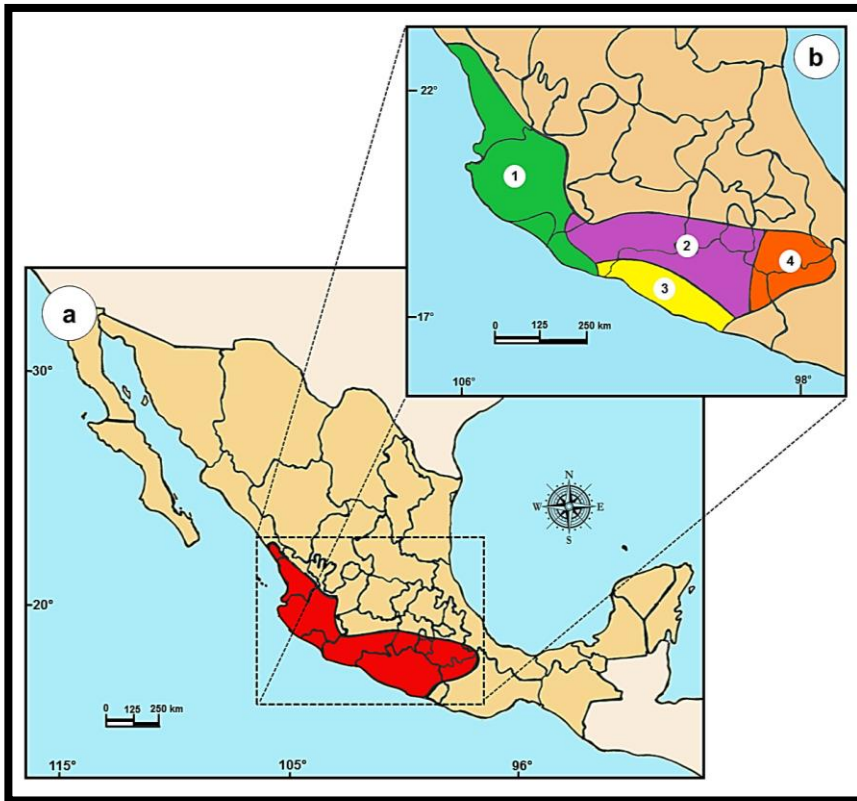


Figura 2. a) Distribución geográfica de *Hodomys alleni* (Mapa tomado y modificado de Ceballos y Oliva, 2005) y **b)** de sus subespecies (Mapa tomado y modificado de Wilson y Reeder, 2005) **1)** *H. a. alleni* (color verde), **2)** *H. a. elattura* (color morado), **3)** *H. a. guerrerensis* (color amarillo) y **4)** *H. a. vetula* (color naranja).

1.1 Descripción de *Hodomys alleni*

Los individuos *Hodomys alleni* son de talla mediana a relativamente grande, su longitud total varía entre los 370 a 480 mm; en general, la coloración del pelo dorsal varía de canela rojizo a leonado, con mayor o menor mezcla de pelos oscuros aunque el vientre es blanco opaco (Fig. 3); sin embargo, las crías presentan el pelo típicamente rizado de coloración grisácea (Fig. 4); la longitud de la pata trasera va de 37 a 45 mm y su color, como el de las patas delanteras es blanquecino, aunque, estas últimas tienen mezcla de pelo café oscuro en la superficie dorsal; el rostro es de una tonalidad más pálida que la coloración general del cuerpo; la cola por lo común es monocolor o claramente bicolor y está revestida escasamente de pelos cortos (Genoways y Jones, 1973; Goldman, 1938; Merriam, 1892 y Ceballos y Oliva, 2005).



Figura 3. Vista **a)** dorsal y **b)** ventral de la piel de un ejemplar adulto de *H. alleni*, en la cual se observa la colación del pelo (Tomada de Cervantes y Hernández-Alonso, 2016a).



Figura 4. Vista **a)** dorsal y **b)** ventral de la piel de un ejemplar juvenil de *H. alleni* en la cual se muestra la coloración grisácea del pelo que presentan las crías de esta especie (Tomada de Cervantes y Hernández-Alonso, 2016b).

El cráneo es largo y angosto con las protuberancias supraorbitales claramente desarrolladas (Fig. 5a), las porciones ascendentes de la región dorsal del premaxilar se extiende más allá de la parte posterior de los nasales (Fig. 5b), sus cavidades

esfenopalatinas están cerradas (Fig. 5c) y las bulas auditivas son pequeñas. Una de las características distintivas de esta especie es el tercer molar inferior que presenta una superficie oclusal en forma de “S” (Fig. 6), su fórmula dentaria es 1/1, C 0/0, P 0/0, M 3/3= 16 y llega a pesar entre 119 y 452 g (Godínez y Guerrero, 2014; Ceballos y Oliva, 2005; Birney y Jones, 1972).

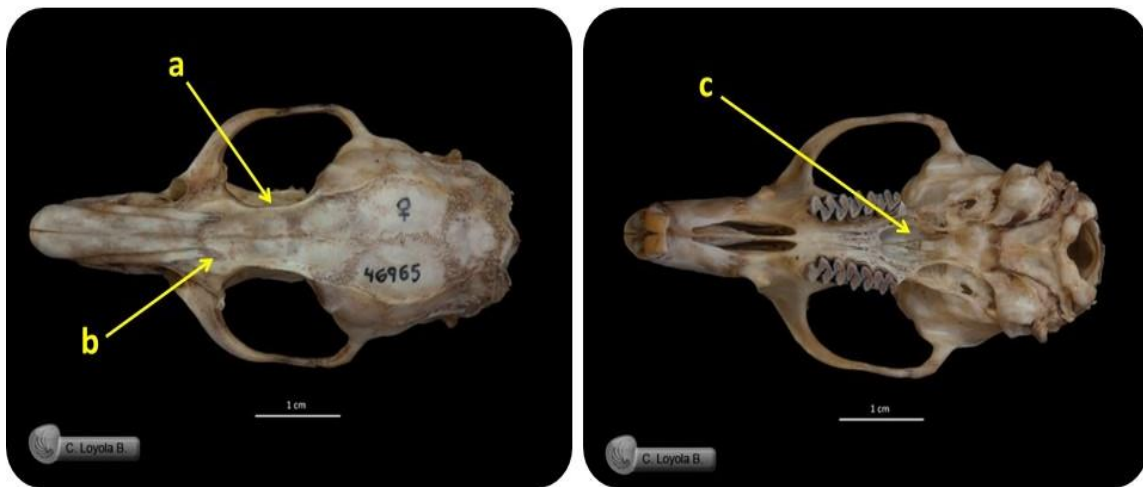


Figura 5. Vista dorsal (izquierda) y ventral (derecha) del cráneo de un ejemplar de *H. alleni*. donde se observan **a)** las protuberancias supraorbitales claramente desarrolladas, **b)** las porciones ascendentes de la región dorsal de los maxilares que se extienden más allá de la parte posterior de los nasales (Tomada de Cervantes y Hernández-Alonso, 2015a) y **c)** las cavidades esfenopalatinas cerradas (Tomada de Cervantes y Hernández-Alonso, 2015b).

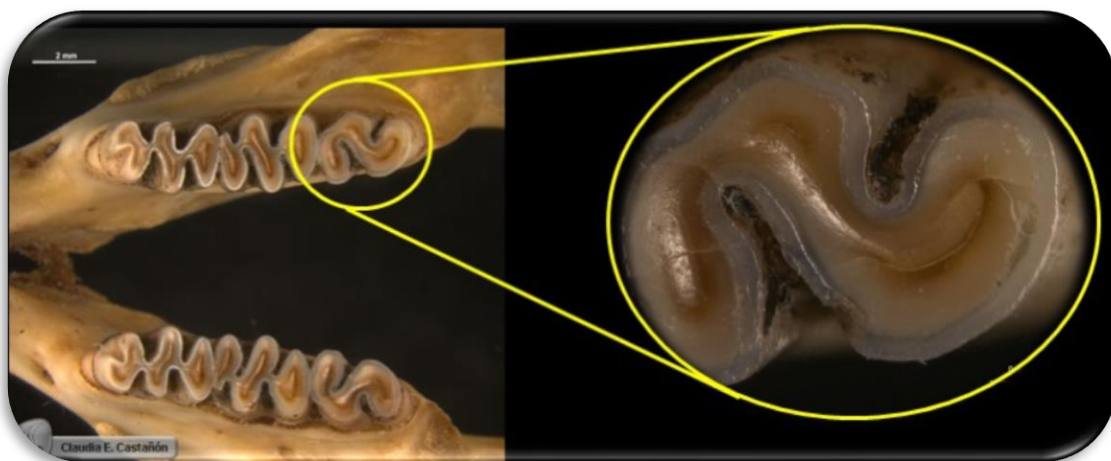


Figura 6. Dentario inferior (izquierda) y tercer molar inferior izquierdo (derecha) de un ejemplar de *Hodomys alleni*. Se muestra la superficie oclusal en forma de “S, característica distintiva de esta especie (Tomada de Cervantes *et al.*, 2016a; Cervantes *et al.*, 2016b).

Originalmente *Hodomys alleni* fue descrita por Merriam (1892) dentro del género *Neotoma*. Análisis morfológicos posteriores encontraron diferencias significativas en el cráneo y el dentario con respecto a las otras especies incluidas en *Neotoma*, lo cual propició que en Merriam (1894) describiera el género *Hodomys* designando a *N. alleni* como especie tipo. *Hodomys*, es un género monotípico dentro de la familia Cricetidae (Ramírez-Pulido *et al.*, 2014), es decir, que solo incluye a la especie *Hodomys alleni*, se encuentra agrupado dentro de la subfamilia Neotominae y la tribu Neotomini en la cual también se encuentran los géneros *Nelsonia*, *Neotoma* y *Xenomys*. Hoy en día se reconocen cuatro subespecies para *H. alleni* las cuales son, *H. a. alleni* (Merriam, 1892) *H. a. elattura* (Osgood, 1938), *H. a. guerrerensis* (Goldman, 1938) y *H. a. vetula* (Merriam, 1894).

Para tener una idea de la poca información disponible de la especie es necesario remarcar que aspectos tan importantes como son, sus hábitos alimentarios y reproducción se desconocen. En cuanto a la última, Arias-Caballero de Miguel *et al.* (2015), sugiere que presenta dos periodos reproductivos, uno durante los últimos meses de la temporada de seca y el segundo durante la temporada de lluvias, coincidiendo con los picos de nacimiento con el periodo más abundante de recursos en la selva baja. Tiene hábitos nocturnos y estrictamente arborícolas, sin embargo, usualmente construye madrigueras externas de gran tamaño que consisten en una acumulación de materiales orgánicos, éstas se pueden encontrar en el suelo, en la base de los árboles, entre rocas y algunas únicamente en huecos en el suelo con túneles (Fig. 7). Dejan numerosos caminos en el suelo que pueden llegar a formar una red entre sus madrigueras y están cuidadosamente limpios de maleza, hojas o ramas. Es común encontrar sus letrinas cerca de sus madrigueras; estas consisten en grandes acumulaciones de heces fecales que llegan a medir cerca de 1.5 cm de largo, se pueden encontrar a un lado, entre rocas o sobre ramas (Merriam, 1892; Arias-Caballero de Miguel *et al.*, 2015).

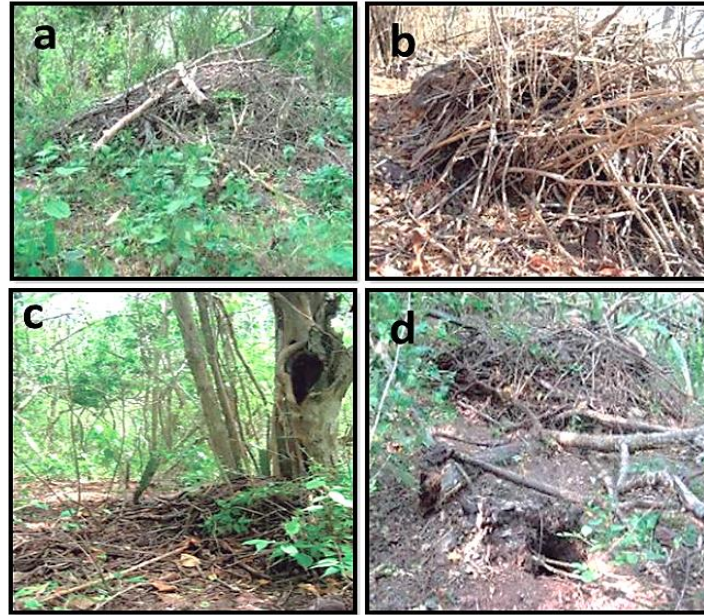


Figura 7 . Fotografía de las madrigueras que construye la rata arborícola *Hodomys alleni*. **a)** Madriguera construida en el suelo con una gran acumulación de ramas y otros materiales orgánicos; **b)** madriguera construida en el suelo en época de sequías; **c)** madriguera construida en la base de los árboles y **d)** madriguera que consiste en un hoyo, acumulación de ramas y otros materiales orgánicos (Fotografía de Arias-Caballero de Miguel *et al.*, 2015).

Se desconoce que depredadores tiene este roedor, a excepción de la lechuza *Tyto alba* puesto que se encontraron restos de él en egagrópilas del ave (Ramírez-Pulido y Sánchez-Hernández, 1972), Esta especie presenta una singularidad que consiste emitir sonidos que han sido descritos como notas explosivas parecidas a los de las ardillas o específicamente a los del lagomorfo *Ochotona princeps* (Schaladach, 1960).

En cuanto a sus relaciones de parentesco filogenético se sabe poco de su historia evolutiva. Carleton (1980) realizó un estudio comparativo de las estructuras reproductivas, concluyendo que *Hodomys alleni* estaba cercanamente emparentada con los géneros *Nelsonia*, *Neotoma* y *Xenomys*. Por otro lado, análisis filogenéticos moleculares realizados con secuencias de genes mitocondriales (citocromo-*b*; Edwards y Bradley, 2002; Bradley *et al.*, 2004) y secuencias de ADN del intrón 2 del gen 1 de la alcohol deshidrogenasa nuclear (*Adh* 1-12; Longhofer y Bradley, 2006) concluyeron que *H. alleni* está estrechamente emparentada con *Xenomys nelsoni*, considerándose como especies hermanas (Fig. 8). Recientemente un estudio comparativo del tercer molar inferior de los géneros incluidos en la tribu Neotomini, incluyendo especies fósiles, respaldó que *H. alleni* y *X. nelsoni* son especies hermanas (Martin y Zakrzewski, 2019).

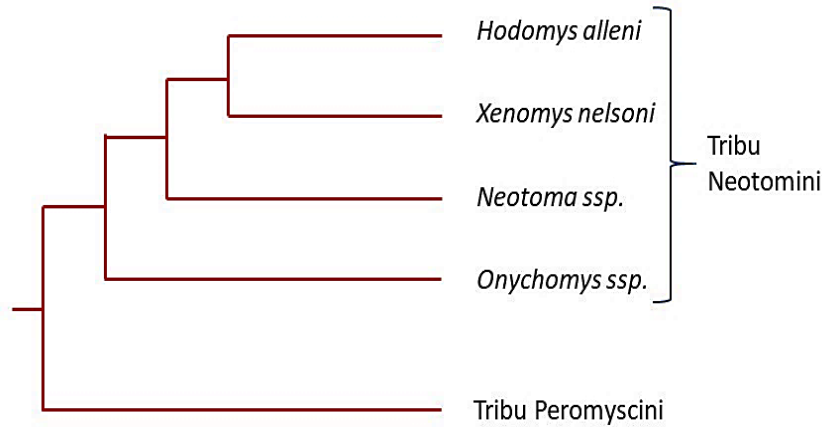


Figura 8. Cladograma que indica las relaciones de parentesco filogenético de *Hodomys alleni* (modificado de; Longhofer y Bradley, 2006).

Con la información expuesta anteriormente es evidente que el conocimiento sobre la biología de este roedor es escaso y, además, habita en uno de los ecosistemas más amenazados a nivel mundial, por estos motivos, es necesario generar la mayor cantidad de información posible que ayude a dilucidar su estado de conservación actual. Dicha tarea adquiere mayor importancia al ser un roedor endémico para el territorio nacional y, por lo tanto, si se pretenden tomar medidas para proteger y conservar a esta especie resulta necesario contar con la mayor cantidad de herramientas para su correcta identificación taxonómica, la cual, en algunas ocasiones es complicada de realizar porque, como se había mencionado previamente, los registros encontrados en colecciones científicas son limitados y el método utilizado primariamente para este fin emplea caracteres morfológicos, por lo tanto, el problema radica cuando solo se encuentra parte del organismo y no se pueden observar sus caracteres morfológicos completos. Que si bien, al estar basado en caracteres externos, es aplicable tanto en situaciones de identificación en campo como funcional y operacional por basarse en criterios demostrables empíricamente. Sin embargo, en algunas circunstancias, podría resultar subjetivo, lo que genera limitantes que no permiten la adecuada identificación taxonómica.

Entre las dificultades más frecuentes que enfrentan los taxónomos son problemas intrínsecos en ciertos grupos con plasticidad fenotípica, diferencias ontogénicas, dimorfismo sexual y en ocasiones no se detectan los taxones morfológicamente crípticos; en otras situaciones las claves taxonómicas son eficaces sólo para una etapa o género de

vida en particular (Hebert *et al.*, 2003a, Packer *et al.*, 2009). Entre los ejemplos más comunes se encuentran algunos estadios larvales, fragmentos de tejido como restos de hojas, semillas, sangre, plumas, carne o piel, los cuales no presentan suficientes caracteres diagnósticos para una identificación taxonómica apropiada (Eaton *et al.*, 2010).

Estas limitantes remarcan la necesidad de adoptar un nuevo enfoque para el reconocimiento taxonómico; en la búsqueda de este nuevo sistema se han incorporado técnicas que analizan la variación a nivel molecular utilizando secuencias de DNA. Ésta se ha convertido en una herramienta muy valiosa, debido a que la información genética que se obtiene puede adquirirse a partir de un pequeño fragmento del organismo. Dentro de estas técnicas que permiten aproximarse a la identificación de individuos, especies, o ambos, se encuentra un método llamado código de barras de DNA o de la vida (Hebert *et al.*, 2003a, 2003b, 2004a, 2004b).

1.2 Código de barras de la vida o de DNA

Los códigos de barras de DNA o de la vida son una herramienta de identificación y descubrimiento de especies usando un fragmento estandarizado del gen mitocondrial llamado COI, Citocromo C Oxidasa, Subunidad I, como marcador de identificación universal para especies animales (Hebert *et al.*, 2003b). Este fragmento genético tiene aproximadamente 658 pares de bases, la ventaja de usarlo es que es suficientemente corto para ser secuenciado con relativa facilidad, de forma rápida y barata con la tecnología actual. Aunque resulta ser un fragmento muy corto de DNA es suficientemente largo para identificar las variaciones que hay entre especies (Hebert *et al.*, 2003a). Es dada a conocer por primera vez a la comunidad científica en el 2003 cuando Paul Hebert y su grupo de investigación de la Universidad de Guelph, Ontario en Canadá, publicaron un artículo titulado "*Biological identifications through DNA barcodes*".

Su nombre se debe a que fue concebido como un método capaz de identificar a las especies, con base en la idea del código universal de productos, conocido como código de barras en la industria del comercio, en el cual se utiliza un orden variable de líneas gruesas y finas para generarlo. Con esta técnica de identificación molecular se utilizó este mismo concepto y se le aplicó el nombre de "código de barras de DNA", en donde, la forma de dichas líneas son el resultado de las diferentes combinaciones en las que se pueden

encontrar los nucleótidos a lo largo de la cadena de DNA (Stoeckle y Hebert, 2008). Por ejemplo, un cálculo sencillo que contemple 15 posiciones diferentes de estos nucleótidos, da como resultado más de un billón (4^{15}) de códigos diferentes, un número cien veces superior al que se necesitaría para clasificar cada taxón de manera exclusiva (Hebert *et al.*, 2003a).

La principal ventaja e innovación al utilizar la técnica de código de barras de DNA es que nos permite identificar las especies usando información dentro de una misma región génica, en casi todos los taxones y con condiciones de secuenciación universalmente aceptadas y estandarizadas y a una relación costo-eficiencia relativamente baja. Además, el protocolo destaca la necesidad de relacionar esta información con ejemplares *voucher* depositados en museos (Lanteri, 2007); permitiendo desarrollar un sistema confiable para la identificación de muestras biológicas que podrá ser usado por cualquier persona y constituirá una herramienta complementaria a la práctica taxonómica tradicional (Burelo, 2012). Actualmente, se utiliza cuando los métodos tradicionales presentan limitaciones como en cualquier estadio de vida (huevos, larvas, juveniles, tallo, hoja, semilla), en análisis de contenido estomacal o de excretas, es una herramienta importante en el control de plagas y se ha demostrado que la eficacia del método permite reconocer especies crípticas (Hebert, *et al.*, 2004b).

Basándose en los resultados favorables que se han obtenido, es indudable que el DNA mitocondrial es la herramienta adecuada para los análisis de diversidad genética en animales, esto se debe a las propiedades moleculares que posee; es una molécula compacta circular que dispone de un alto número de copias, razones por las que es relativamente fácil de purificar y caracterizar, además de carecer de intrones. De igual modo, presenta una tasa de evolución (sustitución) a nivel de secuencias de nucleótidos, una amplia variación intraespecífica, además, de una prácticamente nula recombinación que le permite acumular mutaciones con gran rapidez en el tiempo, generando polimorfismos específicos en una población, a los que se puede dar seguimiento temporal y espacial (Pakendorf y Stoneking, 2005; Vázquez, 2007).

Como todo DNA mitocondrial, el gen COI, presenta una herencia estrictamente materna (haploide) que es transmitida por oogénesis a la siguiente generación, lo que provoca, que una vez una variación se haya establecido en una hembra todos sus

descendientes la posean, por lo que su patrón hereditario es clonal a lo largo del linaje materno (Wilson, 1985; Quinn, 1997).

Se corroboró, que más del 95% de las especies animales analizadas posee una secuencia única de COI, entre éstas se encuentran los lepidópteros, aves, peces (Hajibabaei *et al.*, 2007) y mamíferos (Clare *et al.*, 2007; Borisenko *et al.*, 2008). Los resultados de las investigaciones más recientes señalan que, la obtención de diversos códigos de barras de animales tanto terrestres como marinos ha permitido distinguir alrededor de un 98% de las especies reconocidas a través de un estudio taxonómico previo, y que, el 2% restante pertenece a análisis realizados entre especies muy afines o estrechamente relacionadas cuyos linajes divergieron hace, relativamente poco tiempo (Stoeckle y Hebert, 2008).

Las secuencias de códigos de barras de DNA, que se generan, se almacenan en una base internacional de libre acceso que se encuentra en línea y que lleva el nombre de *Barcode of Life of Data Systems* (BOLDSystems; Hajibabaei *et al.*, 2005; Ratnasingham y Hebert, 2007). BOLDSystems recopila los siete elementos esenciales de los códigos de barras, que son: la información taxonómica, los datos del ejemplar *voucher*, la información de colecta incluyendo datos geográficos, el identificador de espécimen, la secuencia COI de mínimo 500 pb, los primers y los electroferogramas.

Por lo cual, la finalidad del presente trabajo es implementar la técnica Código de Barras de DNA como una herramienta complementaria a la tradicional identificación taxonómica basada en caracteres morfológicos y al mismo tiempo contribuir con la producción de códigos de barras de DNA de la rata de monte *Hodomys alleni*, ya que, se tiene un conocimiento muy escaso de su biología y los registros encontrados en las colecciones científicas son limitados. Además, esta especie es de suma importancia para el territorio nacional al ser endémica y pertenecer a un género monotípico (Schaladach, 1960; Carleton, 1980). Los códigos de barras generados al ser depositados en la base internacional BOLDSystem podrán ser utilizados de manera libre por cualquier persona interesada en el tema, así mismo, podrán llegar a tener innumerables aplicaciones como son los programas de conservación biológica, tanto en México como a nivel mundial.

2. HIPÓTESIS

Las secuencias producidas de la rata de monte *Hodomys alleni* del marcador molecular estándar Citocromo Oxidasa subunidad I (COI), empleado en la técnica Código de barras de DNA para animales, tendrán un porcentaje elevado de similitud entre ellas al pertenecer a la misma especie, sin embargo, este porcentaje disminuirá al ser comparadas con secuencias que pertenecen a otras especies filogenéticamente cercanas, ya que el marcador es lo suficientemente variable para discriminar entre éstas, así mismo se constatará que los códigos de barras de DNA resultan eficaces al emplearse como una herramienta complementaria en la identificación de la especie en estudio, además de la información obtenida con ayuda de caracteres morfológicos.

3. OBJETIVO

Identificar molecularmente a *Hodomys alleni* dentro de un grupo de especies cercanamente emparentadas y con ejemplares distribuidos en territorio nacional, utilizando códigos de barras de DNA.

- ❖ Producir secuencias nucleotídicas de la rata de monte *Hodomys. alleni* haciendo uso del marcador molecular estándar del gen mitocondrial Citocromo Oxidasa subunidad I (COI).

- ❖ Emplear el marcador molecular Citocromo Oxidasa subunidad I (COI) como una herramienta complementaria a la tradicional basada en caracteres morfológicos para la correcta identificación taxonómica de *Hodomys alleni* de otras especies cercanamente emparentadas.

4. MATERIAL Y MÉTODO

4.1 Obtención de muestras biológicas

Todos los procesos necesarios para la obtención de las secuencias del gen COI se realizaron en el Laboratorio de Biología Molecular de Zoología, en el Instituto de Biología de la UNAM. Se utilizaron 15 muestras de tejido congelados proveniente de oreja y músculo, obtenidas de la colección anexa de tejidos congelados de la Colección Nacional de Mamíferos (CNMA), del Instituto de Biología. Todas las muestras provienen de individuos asignados a la especie *Hodomys alleni* que fueron previamente identificados observando su carácter diagnóstico, el tercer molar inferior. Éstas proceden de localidades ubicadas en los estados de Colima y Jalisco. En el apéndice 1, se especifican los datos de colecta de cada muestra utilizada.

4.2 Procedimiento de laboratorio

Extracción de DNA.

La extracción de DNA total se llevó a cabo a partir de muestras de tejido congelado, utilizando el Kit comercial DNA Dneasy Blood and Tissue (QIAGEN™) siguiendo el protocolo del fabricante (Apéndice 2). Para confirmar la presencia de DNA se realizó una electroforesis en gel de agarosa (Labcitect™) al 1% en buffer TAE 1x, colocando 5 µl de DNA y 1 µl de colorante Gel Red (6x) en cada uno de los pozos del gel y se corrió a 120 V, 500 mA durante cuarenta y cinco minutos. El DNA, se visualizó en un transiluminador de luz ultra violeta y a continuación se tomó una fotografía con una cámara digital (Fig. 9). Las concentraciones del DNA se cuantificaron con ayuda de un espectrofotómetro de microvolumen NanoDrop 2000 (Thermo Scientific™). Las concentraciones obtenidas de las muestras se encontraron en un intervalo de 16.1 a 121.1 ng/µl, en el apéndice 3 se detallan las concentraciones de cada muestra.

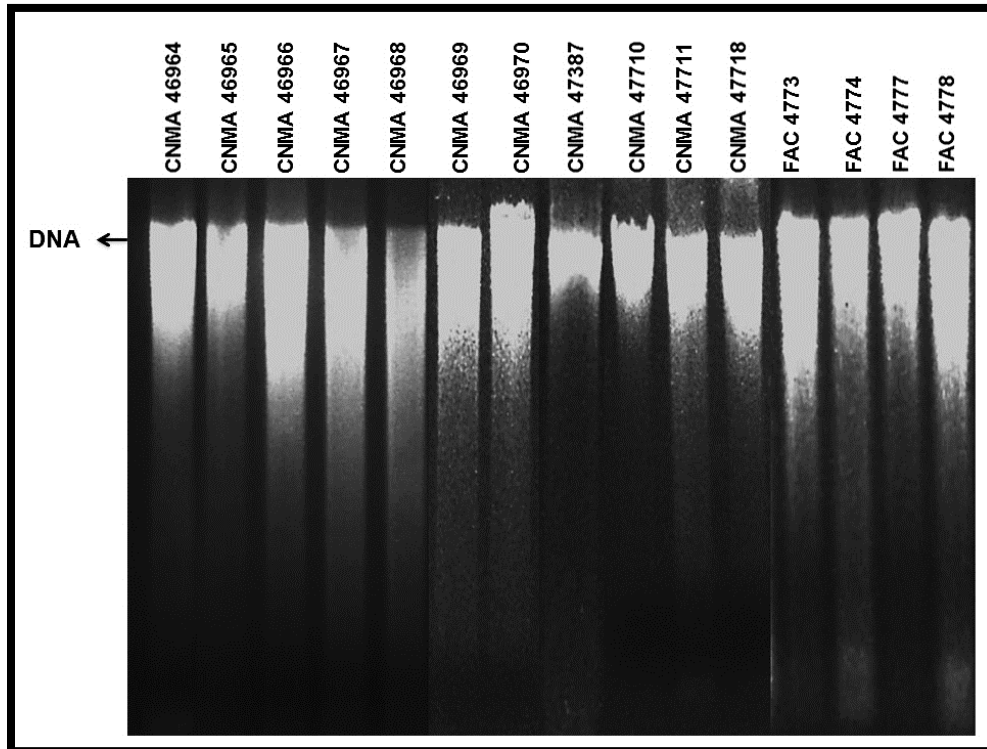


Figura 9. Gel de agarosa al 1% utilizando Gel Red como colorante que muestra el DNA extraído de 15 muestras de tejido fresco de *Hodomys alleni* obtenidas en la colección anexa de tejidos congelados de la Colección Nacional de Mamíferos. Los números de los carriles corresponden a los números de catálogo asignados por la CNMA.

Amplificación y secuenciación del material genético.

Amplificación. Para efectuar la amplificación de un fragmento del gen mitocondrial Citocromo Oxidasa subunidad I (COI), cuyo tamaño aproximado es de 661 pares de bases, se empleó la técnica basada en la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR por sus siglas en inglés) utilizando los primers específicos VF1d_t1 y VR1d_t1 (Cuadro 1).

Cuadro 1. Primers específicos utilizados en la amplificación del gen Citocromo Oxidasa subunidad I en la rata de monte *Hodomys alleni*.

Primer	Secuencia	Referencia
VF1d_t1 (5'->3')	TTCTCAACCAACCACAARGAYATYGG	Ivanova <i>et al.</i> 2007
VR1d_t1 (5'->3')	TAGACTTCTGGGTGGCCRAARAAYCA	Ivanova <i>et al.</i> 2007

Las reacciones de la PCR se llevaron a cabo en volúmenes finales de 15 µl por muestra, conteniendo las siguientes concentraciones de reactivos, 10.85 µl de H₂O ultrapura, 1.5 µl de buffer a 10xPCR, 0.75 µl de MgCl₂ (50mM), 0.3 µl de dNTP's Master Mix (50 Umol, 100mM Conc. 1X500 UL), 0.24 µl del primer forward (10 µM), 0.24 µl del *primer* reverse, 0.12 µl de Taq Polimerasa (5U/ µl) además de 1 µl de DNA. El programa del termociclador se ajustó de acuerdo a las características de los *primers* específicos, el cual constó de 5 ciclos de 1 minuto inicial a 94°C, 30 s a 94°C, alineación de 40 s a 50°C y una extensión de 1 minuto a 72°C, seguido de 30 ciclos de 30 s iniciales a 94°C, alineación de 40 s a 55°C, extensión de 1 minuto a 72°C y finalmente un ciclo terminal de 5 minutos a 72°C.

Se corroboró la calidad de los productos de las amplificaciones mediante electroforesis en gel de agarosa al 1.5% (Labcitect™) en buffer TAE 1x. Se colocaron 3 µl de DNA y 1 µl de colorante GelRed (6x) en cada uno de los carriles del gel. Se utilizó un marcador de referencia de 100 pb (Thermo Scientific GeneRuler™ 100bp DNA Ladder) para confirmar por comparación visual si la amplificación obtenida fue del tamaño esperado (~600 – 700 pb). En seguida, se aplicó una corriente de 100 V, 500 mA y se dejaron las muestras durante cuarenta y cinco minutos. Las bandas de DNA se visualizaron con luz ultravioleta para finalmente tomar una fotografía con una cámara digital (Fig. 10).

Secuenciación. Los productos de la PCR correspondientes a las muestras CNMA 46967, CNMA 46968, CNMA 47387, FAC 4774 y FAC 4778 se mandaron a secuenciar al High-Throughput Genomics Center de la Universidad de Washington, en Seattle E. U. y se obtuvieron 5 electroferogramas en un solo sentido 5'-3'. Los diez productos de la PCR restantes se enviaron a secuenciar al Laboratorio de Biología Molecular del Instituto de Biología, UNAM y en este caso, se obtuvieron 10 electroferogramas con sentido 5'-3' y otros 10 más correspondientes a sus complementos 3'-5'. En ambos casos los archivos de secuencias se recibieron vía correo electrónico listas para ser editadas.

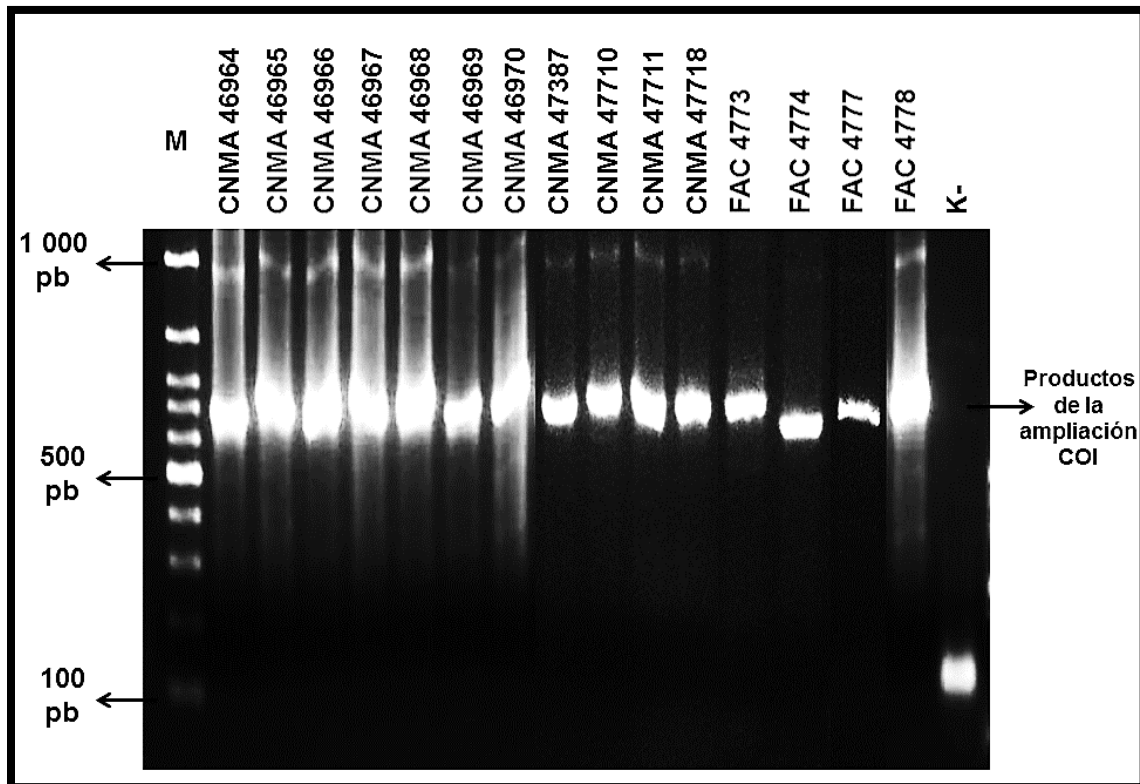


Figura 10. Gel de agarosa al 1.5% teñido con Gel Red que muestra la amplificación del gen COI de 15 muestras de tejido fresco de *Hodomys alleni* obtenidas en la colección de tejidos congelados de la Colección Nacional de Mamíferos. Los números de los carriles corresponden a los números de catálogo asignados por la CNMA. M = Marcador de peso molecular Scientific GeneRuler™ 100bp DNA Ladder; pb = pares de bases.

4.3 Trabajo de gabinete

Edición y verificación de las secuencias

Para la visualización y edición de los electroferogramas que sólo tienen el sentido 5'-3' se utilizó el software Finch TV Versión 1 .4 .0. (© 2004-2006, Geospiza Inc.) y para las secuencias que tienen ambos sentidos se realizó un consenso entre el sentido 5'-3- y su complemento reverso 3'-5' haciendo uso del software Sequencher™ versión 4. 1. 4. (©1991- 2002, Gene Codes Corporación). Para verificar la autenticidad de cada secuencia obtenida se realizó una comparación con secuencias COI incluidas en el banco de datos internacional GenBank. Para este fin, se ingresaron las secuencias producidas en este banco de datos utilizando la Herramienta de Búsqueda de Alineamientos Básicos Locales

(BLAST, por sus siglas en inglés; Altschul *et al.*, 1990), la cual está disponible en esta plataforma).

Alineación, búsqueda de secuencias nucleotídicas y análisis de distancias genéticas

Se alinearon las secuencias utilizando el algoritmo Clustal W (Thompson *et al.*, 1994) incluido en el programa MEGA 6 (Tamura *et al.* 2013). Y con el fin de comparar las secuencias COI obtenidas para *Hodomys alleni* con las de otras especies de roedores (asignados a géneros cercanamente emparentados con *Hodomys*), y de este modo evaluar la capacidad de este gen para la identificación de la especie bajo estudio, se realizó una búsqueda de secuencias en la base de datos internacional BoldSystem y se descargaron 59 secuencias, el apéndice 4 muestra la colección de donde provienen los ejemplares, así como la localidad y los números de acceso de las secuencias en GenBank y BOLDSYSTEM. Es importante resaltar que entre las secuencias obtenidas desde dicho portal se encuentran cuatro de la especie *Hodomys alleni*, tres son procedentes del estado de Colima y una del estado de Oaxaca. Estas fueron generadas en la CNMA para el proyecto titulado “Código de Barras de Ejemplares de la Colección Nacional de Mamíferos del Instituto de Biología, UNAM (2009)”, sin embargo, no son de acceso libre y sólo los responsables de dicho proyecto pueden consultarlas, por lo tanto, no hay secuencias públicas para la especie en estudio.

Debido a que no se encontraron secuencias para el género *Nelsonia*, se incluyeron siete secuencias obtenidas en la CNMA por el M. en C. León Tapia (Apéndice 5), utilizándolas en un estudio filogenético para este género (León-Tapia, 2013). En total, se obtuvieron 66 secuencias nucleotídicas que pertenecen a dos familias, 17 géneros, 23 especies y tres subespecies (Cuadro 2), las cuales formaron una biblioteca de referencia. La familia Leporidae se incluyó en este trabajo porque pertenece al orden Lagomopha, el cual es el grupo hermano del orden Rodentia al que pertenece la especie *Hodomys alleni* (Wu *et al.*, 2012).

Se generó una matriz de datos que incluyó la biblioteca de referencia más las 15 secuencias producidas de *Hodomys alleni*, sumando en total 81 secuencias nucleotídicas (Apéndice 6)

El análisis de las secuencias se llevó a cabo mediante la generación de matrices de distancia y el empleo del modelo de sustitución de nucleótidos de 2 parámetros de Kimura (K2P; Kimura, 1980), incluido en el programa MEGA 6 (Tamura *et al.* 2013). Con el fin de verificar, cómo las muestras de *Hodomys alleni* se agrupaban, se construyó un árbol empleando el algoritmo del vecino más cercano Neighbor-Joining (NJ; Saitou y Nei, 1987). Para determinar el soporte de los árboles se obtuvieron los valores de bootstrap utilizando 1 000 réplicas de los datos originales (Felsenstein, 1985).

Cuadro 2. Tabla que indica el número de secuencias utilizadas por familia, género, especie y subespecie que integran la biblioteca de referencia. No. Sec.= número de secuencias obtenidas por especie y subespecie.

Familia	Género	Especie y subespecie	No. Sec.
Cricetidae	<i>Hodomys</i>	<i>Hodomys alleni alleni</i>	3
		<i>Hodomys alleni vetula</i>	1
	<i>Nelsonia</i>	<i>Nelsonia neotomodon</i>	2
		<i>Nelsonia goldmani</i>	2
		<i>Nelsonia goldmani cliftoni</i>	3
	<i>Neotoma</i>	<i>Neotoma cinérea</i>	3
	<i>Xenomys</i>	<i>Xenomys nelsoni</i>	5
	<i>Habromys</i>	<i>Habromys lophurus</i>	3
	<i>Neotomodon</i>	<i>Neotomodon alstoni</i>	3
	<i>Onychomys</i>	<i>Onychomys leucogaster</i>	3
	<i>Osgoodomys</i>	<i>Osgoodomys banderanus</i>	3
	<i>Peromyscus</i>	<i>Peromyscus aztecus</i>	3
	<i>Reithrodontomys</i>	<i>Reithrodontomys sumichrasti</i>	3
		<i>Reithrodontomys fulvescens</i>	3
	<i>Sigmodon</i>	<i>Sigmodon hispidus</i>	3
<i>Sigmodon mascotensis</i>		3	
<i>Ototylomys</i>	<i>Ototylomys phyllotis</i>	3	
<i>Tylomys</i>	<i>Tylomys nudicaudus</i>	3	
Leporidae	<i>Romerolagus</i>	<i>Romerolagus diazi</i>	2
	<i>Lepus</i>	<i>Lepus californicus</i>	2
		<i>Lepus callotis</i>	2
	<i>Oryctolagus</i>	<i>Oryctolagus cuniculus</i>	2
	<i>Sylvilagus</i>	<i>Sylvilagus audubonii</i>	2
		<i>Sylvilagus cunicularius</i>	2
<i>Sylvilagus floridanus</i>		2	
Total	17	23 especies 3 subespecies	66

5. RESULTADOS

Edición y verificación de las secuencias nucleótídicas

En este trabajo se logró obtener un total de 15 secuencias de *Hodomys alleni* del gen Citocromo Oxidasa subunidad I (COI; 650 pb) que oscilaron entre los 679 y 736 pares de bases (Cuadro 3), correspondientes a los estados de Colima y Jalisco. El análisis que se efectuó con la herramienta BLAST dio como resultado que no hay secuencias publicas disponibles para la especie *Hodomys alleni* del gen COI en ninguna base internacional y se detectó que la identidad más cercana que comparte con otra especie fue del 85% que corresponde con el roedor *Myodes glareolus* (Número de acceso en GenBank KM892819.1) de la familia Cricetidae.

Cuadro 3. Longitudes de las secuencias obtenidas del gen COI de *H. alleni*, así como las longitudes finales después de su edición. Pb= número de pares de bases; s/s = sin secuencia 3'-5'.

Muestra	Longitud de secuencia 5'-3' (pb)	Longitud de secuencia 3'-5' (pb)	Longitud final de secuencias (pb)
CNMA 46964	719	715	723
CNMA 46965	717	716	722
CNMA 46966	717	716	724
CNMA 46967	709	s/s	685
CNMA 46968	709	s/s	681
CNMA 46969	716	719	722
CNMA 46970	719	716	724
CNMA 47387	717	s/s	693
CNMA 47710	720	720	703
CNMA 47711	721	717	723
CNMA 47718	721	716	725
FAC 4773	712	716	736
FAC 4774	710	s/s	679
FAC 4778	709	s/s	687
FAC 4777	720	718	735

Frecuencias nucleotídicas

En las secuencias obtenidas no se detectó ninguna inserción ni deleción, tampoco se encontró la presencia de codones de terminación. Las frecuencias nucleotídicas para las secuencias de *Hodomys alleni* del gen COI fue de 28.9% A, 30.6 % C, 17.2% G y 23.3% T. Se obtuvo un total del 97.14% de sitios conservados (715/736), 2.85% de sitios variables (21/736), 1.08% de sitios parsimoniosamente informativos y finalmente 1.76% de sitios singleton (13/736).

Distancias genéticas

Se generó una matriz de distancias genéticas entre las 19 secuencias de *Hodomys alleni* (Cuadro 4), se obtuvo un intervalo entre el 0.00% a 9.1%. Las 15 secuencias nucleotídicas obtenidas cuentan con un intervalo que va de 0.0% a 0.7%. La muestra CNMA 45236, proveniente de Cosoltepec, Oaxaca, presenta la mayor distancia, de entre 8.3% a 9.1%.

De igual manera, se obtuvieron las distancias promedio al interior de los 17 géneros (Cuadro 5) mostrando que las secuencias nucleotídicas de *Hodomys* generadas en el presente trabajo cuentan con una distancia de 0.19%, asimismo, la diferencia entre todas las muestras del género *Hodomys* es de 1.06%. Cuando se retira la muestra CNMA 45236, procedente de Cosoltepec, Oaxaca, que es la única que pertenece a la subespecie *Hodomys alleni vetula*, mientras el resto son de la subespecie *Hodomys alleni alleni*, baja la distancia hasta 0.17% de distancia. En los géneros donde se utilizó solamente una especie, como son el caso de *Xenomys*, *Neotoma*, *Habromys*, *Neotomodon*, *Osgoodmys*, *Peromyscus*, *Romerolagus*, y *Oryctolagus*, la distancia genética tiene un intervalo que va del 0.00% al 1.80%. Mientras que, los géneros donde se incluye más de una especie, como es *Nelsonia*, *Reithrodontomys*, *Sigmodon*, y *Sylvilagus* el porcentaje de divergencia genética aumenta, teniendo un intervalo que va del 8.48% a 10.37%. En el caso de los géneros *Onychomys*, *Otodylomys* y *Tylomys* el intervalo de distancia, a pesar de solo contener una especie, es de 7.19% a 8.19%, mayor a la esperada y el género *Lepus* tuvo una distancia de 1.80%, menor a la esperada por tener dos especies.

En la matriz de distancias genéticas promedio entre el género *Hodomys* y los otros 16 géneros (Cuadro 6), se obtuvo como resultado que el género con mayor similitud a *Hodomys* es *Xenomys* con un 16.1% de distancia genética, seguido del género *Neotoma* con un 16.7%. El género de roedor con el que presenta la mayor distancia es con *Tylomys*, con un 22.9%. El género con el que presenta la mayor variación genética es con *Oryctolagus*, siendo de 25.1%, seguido de *Sylvilagus* con un 23.9% y *Lepus* con 24.4%, todos ellos pertenecientes a la familia Leporidae del Orden Lagomorpha.

Árbol de distancias genéticas

En el árbol construido por el método Neighbor-Joining (NJ; Fig. 10), se observó que tanto los géneros, como las especies se agruparon de acuerdo al grado de similitud que presentaron con otras. Todas las secuencias de *Hodomys alleni*, tanto las generadas en el presente trabajo como las descargadas de BoldSystem, formaron un grupo excluyendo a las demás especies de éste. El grupo formado por el género *Hodomys* tiene como grupo hermano a *Neotoma cinerea* y *Xenomys nelsoni*, a la vez, estos tres géneros tienen como grupo hermano al género *Nelsonia*. En conjunto, los cuatro géneros forman la tribu Neotomini, grupo hermano de la tribu Reithrodontomyini, que contiene los géneros *Habromys*, *Neotomodon*, *Onychomys*, *Osgoodomys*, *Peromyscus* y *Reithrodontomys*. Estas tribus forman la subfamilia Neotominae, tiene como grupo hermano al conjunto de las subfamilias Tylominae (géneros *Ototylomys* y *Tylomys*) y Sigmodontidae (género *Sigmodon*). El grupo externo, en este caso la familia Leporidae también presentó una correcta separación de especies. En un grupo se integran todas las especies del género *Sylvilagus* y en el otro los de los géneros *Lepus*, *Romerolagus* y *Oryctolagus*. Los valores de Bootstrap fueron altos ($\geq 99\%$) para los agrupamientos que representan a los géneros, tanto de la familia Cricetidae como de la familia Leporidae.

Cuadro 4. Matriz de distancias genéticas entre las 19 secuencias de *Hodomys alleni*. Las cuatro muestras que presentan * son las que se descargaron del portal BOLDSYSTEM.

Muestra	Distancias genéticas (%)																		
	-	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
1. CNMA 46964	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2. CNMA 46965	0.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3. CNMA 46966	0.0	0.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4. CNMA 46967	0.0	0.3	0.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5. CNMA 46968	0.0	0.3	0.0	0.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6. CNMA 46969	0.5	0.2	0.5	0.5	0.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7. CNMA 46970	0.5	0.2	0.5	0.5	0.5	0.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8. CNMA 47387	0.7	0.3	0.7	0.7	0.7	0.2	0.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9. CNMA 47710	0.5	0.2	0.5	0.5	0.5	0.0	0.0	0.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10. CNMA 47711	0.3	0.0	0.3	0.3	0.3	0.2	0.2	0.3	0.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11. CNMA 47718	0.0	0.3	0.0	0.0	0.0	0.5	0.5	0.7	0.5	0.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12. FAC 4773	0.0	0.3	0.0	0.0	0.0	0.5	0.5	0.7	0.5	0.3	0.0	-	-	-	-	-	-	-	-
13. FAC 4774	0.0	0.3	0.0	0.0	0.0	0.5	0.5	0.7	0.5	0.3	0.0	0.0	-	-	-	-	-	-	-
14. FAC 4777	0.0	0.3	0.0	0.0	0.0	0.5	0.5	0.7	0.5	0.3	0.0	0.0	0.0	-	-	-	-	-	-
15. FAC 4778	0.0	0.3	0.0	0.0	0.0	0.5	0.5	0.7	0.5	0.3	0.0	0.0	0.0	0.0	-	-	-	-	-
16. CNMA 46567*	0.0	0.3	0.0	0.0	0.0	0.5	0.5	0.7	0.5	0.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-	-	-	-
17. CNMA 46568*	0.0	0.3	0.0	0.0	0.0	0.5	0.5	0.7	0.5	0.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-	-	-
18. CNMA 46569*	0.0	0.3	0.0	0.0	0.0	0.5	0.5	0.7	0.5	0.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-	-
19. CNMA 45236*	8.3	8.7	8.3	8.3	8.3	8.9	8.9	9.1	9.0	8.9	8.7	8.3	8.3	8.3	8.3	8.3	8.3	8.3	8.3

Cuadro 5. Distancias genéticas promedio al interior de los géneros

Género	Distancia genética (%)	Error estándar
<i>Hodomys</i> (15 muestras generadas en el presente trabajo)	0.19	0.001
<i>Hodomys</i> (se incluyen las 19 muestras)	1.06	0.002
<i>Hodomys</i> (todas, a excepción de la muestra de Oaxaca)	0.17	0.001
<i>Xenomys</i>	1.11	0.003
<i>Neotoma</i>	0.48	0.002
<i>Nelsonia</i>	10.37	0.010
<i>Habromys</i>	0.72	0.003
<i>Neotomodon</i>	0.12	0.001
<i>Onychomys</i>	7.19	0.011
<i>Osgoodomys</i>	0.36	0.002
<i>Peromyscus</i>	0.24	0.002
<i>Reithrodontomys</i>	8.09	0.010
<i>Sigmodon</i>	9.07	0.010
<i>Ototylomys</i>	5.35	0.008
<i>Tylomys</i>	8.19	0.011
<i>Romerolagus</i>	0.18	0.002
<i>Lepus</i>	1.80	0.004
<i>Sylvilagus</i>	8.48	0.010
<i>Oryctolagus</i>	0.00	0.000

Cuadro 6. Matriz de distancias genéticas promedio entre el género *Hodomys* y los otros 16 géneros incluidos en el trabajo.

Genero	Distancias genéticas promedio (%)															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
-																
1. <i>Hodomys</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2. <i>Xenomys</i>	16.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3. <i>Neotoma</i>	16.7	15.7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4. <i>Nelsonia</i>	20.1	21.0	22.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5. <i>Habromys</i>	22.3	22.8	19.0	19.4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6. <i>Neotomodon</i>	19.7	18.5	19.5	18.6	14.7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7. <i>Onychomys</i>	21.0	22.8	21.8	18.2	16.2	15.6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8. <i>Osgoodomys</i>	20.7	18.4	19.5	17.9	16.1	15.2	16.8	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9. <i>Peromyscus</i>	19.2	19.7	18.9	20.2	17.0	12.7	18.0	14.2	-	-	-	-	-	-	-	-
10. <i>Reithrodontomys</i>	20.8	18.4	19.0	19.5	16.7	17.0	17.9	15.6	17.3	-	-	-	-	-	-	-
11. <i>Sigmodon</i>	22.2	21.4	22.5	22.9	22.3	21.0	21.8	22.2	22.6	20.7	-	-	-	-	-	-
12. <i>Ototylomys</i>	22.8	20.3	19.9	21.0	23.3	21.9	23.2	21.3	22.0	20.0	22.0	-	-	-	-	-
13. <i>Tylomys</i>	22.9	21.1	22.8	23.3	23.1	23.1	23.1	20.4	21.8	22.7	21.7	18.7	-	-	-	-
14. <i>Romerolagus</i>	23.3	20.4	24.4	21.7	20.9	22.9	21.6	20.4	24.9	20.8	22.2	23.2	23.2	-	-	-
15. <i>Lepus</i>	24.4	23.6	24.2	23.1	23.9	22.8	22.4	26.7	23.9	22.8	25.0	24.2	23.4	17.8	-	-
16. <i>Sylvilagus</i>	23.9	22.1	23.3	23.8	22.0	22.6	22.6	24.7	24.2	23.3	21.8	24.0	23.6	19.0	18.9	-
17. <i>Oryctolagus</i>	25.7	22.6	25.0	23.5	22.9	22.1	22.3	23.0	24.7	22.3	21.5	22.2	25.1	16.8	18.3	19.0

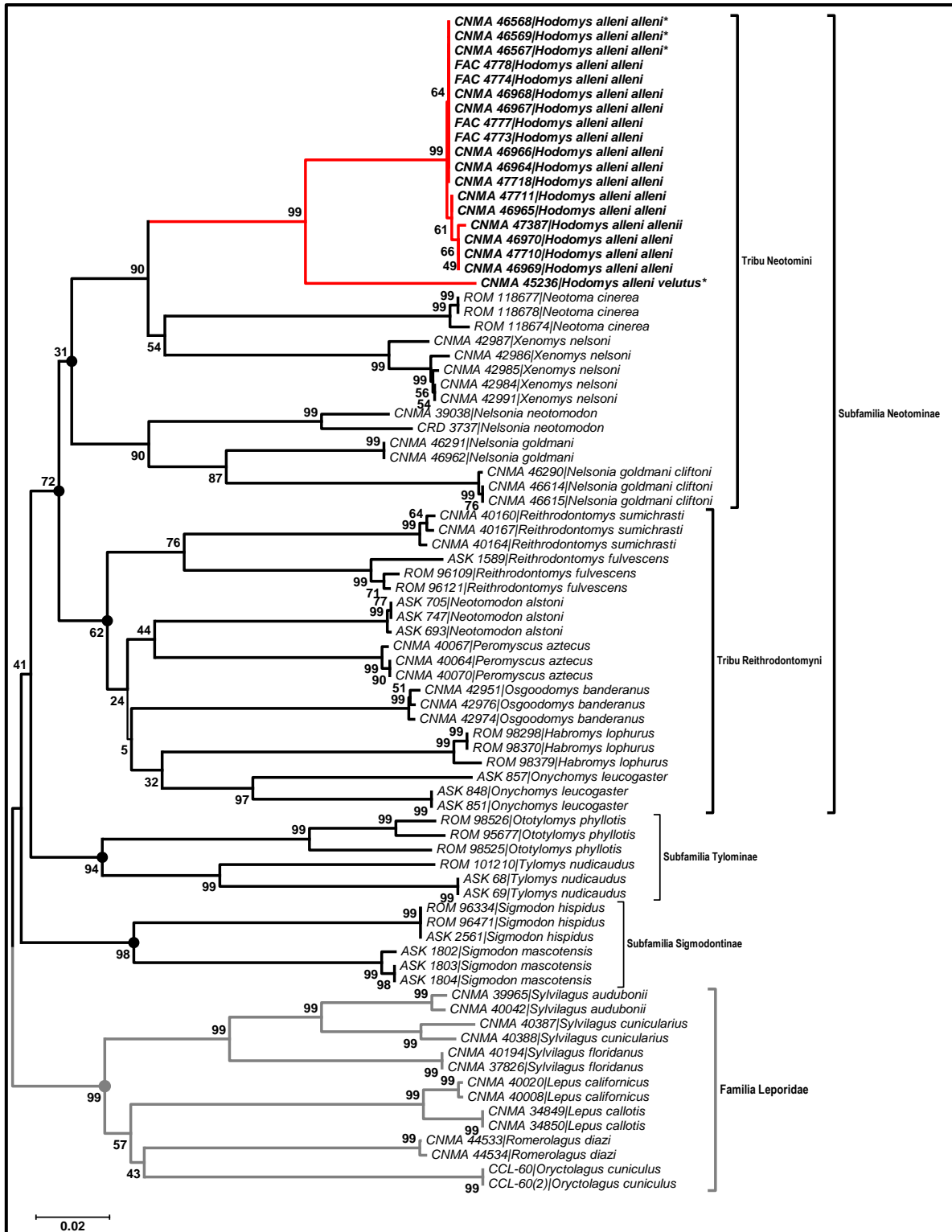


Figura 11. Árbol de distancias genéticas realizado con el método de Neighbor-Joining, haciendo uso del modelo de sustitución de nucleótidos 2 parámetros de Kimura (K2P; Kimura, 1980) para todas las secuencias analizadas, basado en el gen COI. Los números sobre las ramas representan los valores de confiabilidad de los nodos estimados por bootstrap con la opción de 1 000 réplicas.

6. DISCUSIÓN

El presente trabajo confirmó que las secuencias obtenidas con el marcador molecular Citocromo Oxidasa subunidad 1, empleado en la técnica código de barras de DNA puede distinguir eficazmente a la especie *Hodomys alleni*, ya que las secuencias tuvieron un porcentaje alto de similitud entre ellas. En el 100% de los casos se observó un parecido entre la clasificación taxonómica actual (Bradley *et al.*, 2004; Longhofer y Bradley, 2006) y este método molecular, mostrando que todas las especies tenían secuencias COI únicas y no se compartieron códigos de barras entre ellas. Las secuencias nucleotídicas generadas que cumplan con todos los lineamientos para ser códigos de barras de DNA se podrán encontrar en el portal BoldSystem de manera libre una vez que el trabajo sea publicado.

Las matrices de distancias genéticas muestran la variación que tienen las secuencias para el gen COI, tanto entre especies como entre poblaciones; en estudios previos se consideró que una divergencia genética mínima del 2% es un valor suficiente para discriminar entre especies estrechamente emparentadas (Hebert *et al.*, 2003b; Hebert *et al.*, 2004a; Lovette, 2004; Janzen *et al.*, 2005). Las secuencias nucleotídicas obtenidas de *Hodomys alleni*, cuentan con un intervalo de distancia genética menor al 2% (0.0% a 0.7%), lo que indica que pertenecen a la misma especie ya que la variación fue mínima. Posiblemente se deba a que los individuos pertenecen a las mismas localidades o a localidades relativamente cercanas. Es sabido que cuando se observan divergencias más altas, estas variantes normalmente ocurren como aislamientos geográficos, por lo tanto, las secuencias del gen COI no solo permiten distinguir con un mayor porcentaje de confiabilidad la variación genética existente entre especies, del mismo modo, nos permiten ver la variación genética que hay entre poblaciones de la misma especie (Hebert *et al.* 2003a). En el árbol de distancias generado en el presente trabajo se encuentra otro ejemplo de lo mencionado, pues al observar el grupo formado por la especie *Nelsonia goldmani cliftoni* vemos que las muestras se separan de acuerdo a la distribución geográfica, en este caso representada por la subespecie

La variación de las distancias genéticas intraespecíficas se conservó en el mismo intervalo con respecto a las muestras CNMA 46567, CNMA 46568 y CNMA 46569 obtenidas en el proyecto de Código de barras de la CNMA, probablemente por que

pertenecen al estado de Colima. Por el contrario, la muestra CNMA 45236 proveniente de la localidad Cosoltepec, Oaxaca, posee la mayor distancia (8.3%-9.1%). Las distancias genéticas obtenidas sugieren que el ejemplar CNMA 45236 representa un linaje evolutivo distinto dentro del género *Hodomys* entre las poblaciones de los estados de Colima y Jalisco con respecto a las presentes en el estado de Oaxaca, pero al tener sólo una muestra de esta localidad no resulta suficiente para hacer tal afirmación, ya que no se cuenta con la información necesaria para comparar molecular y morfológicamente al ejemplar con otro originario de la misma localidad. Sin embargo, es evidente que existe una diferenciación significativa entre estas poblaciones. Para descartar o aceptar estas posibles explicaciones es necesario llevar a cabo un mayor muestreo en toda su área de distribución. Tarea primordial para el avance del conocimiento ya que, es una especie relativamente rara a juzgar por el escaso número de capturas que presenta (Ceballos y Oliva, 2005) y esto ocasiona que los estudios realizados no sean concluyentes.

En la matriz de distancias genéticas promedio entre el género *Hodomys* y los otros 16 géneros, se obtuvo como resultado que el género con mayor similitud a *Hodomys* es *Xenomys* y *Neotoma*. Esto concuerda con la literatura, ya que además de ser un género monotípico, la especie *Xenomys nelsoni* se considera como la especie hermana de *Hodomys alleni* (Carleton, 1980; Bradley *et al.*, 2004; Longhofer y Bradley, 2006; Matocq, *et al.*, 2007, Wu *et al.*, 2019) y por lo tanto comparten el ancestro común más reciente.

Es importante destacar que el análisis llevado a cabo con la herramienta BLAST dio como resultado la nula presencia de secuencias públicas COI para *Hodomys alleni*, de la misma manera, este hecho se repite en el caso de los géneros *Xenomys* y *Nelsonia*, ya que tampoco hay secuencias públicas disponibles en ninguna base de secuencias internacional. Únicamente el género *Neotoma* cuenta con tan solo 13 secuencias nucleotídicas registradas, sin embargo, ninguna corresponde al territorio nacional y provienen de países como Canadá y Estados Unidos. En resumen, solo un género de los cuatro presentes en la tribu Neotomini cuenta con secuencias disponibles en los portales internacionales. La relevancia de esta tribu se incrementa cuando se sabe que los géneros *Hodomys*, *Xenomys* y *Nelsonia* son endémicos, así como algunas de las especies del género *Neotoma*.

De esta manera, se demuestra que el trabajo llevado a cabo hasta nuestros tiempos, para acelerar el inventario de la biodiversidad requieren de mayor esfuerzo, sobre todo

cuando se trata de roedores endémicos con hábitos arborícolas. La problemática que presentan estos roedores es que son un grupo poco estudiado y la mayoría de los trabajos sobre pequeños roedores se elaboran colocando las trampas a nivel de piso, lo que restringe el muestreo de aquellas especies que suelen usar el estrato arbóreo, como es el caso de *Hodomys alleni*. Estas circunstancias que se suscitan durante el muestreo limitan la obtención de nuevos registros para ciertas especies, lo cual lleva a contar con poca información sobre la biología de algunos roedores y a tener representaciones erróneas acerca de sus densidades poblacionales (Malcolm 1991; Vieira, 1998). Aquí, es donde los Códigos de barras de DNA juegan un papel clave, pues podrían arrojar información importante sin la necesidad de capturar y sacrificar al organismo, por ejemplo, anteriormente se describió que Arias-Caballero de Miguel *et al.*, 2015, en su trabajo encontró las letrinas de *Hodomys alleni* cerca de sus madrigueras, por consiguiente, estos hallazgos resultan clave para determinar aspectos ecológicos de la especie. En este caso se pueden aprovechar las herramientas de DNA y utilizar únicamente pelo, heces u orina que el roedor deja, y así determinar el régimen alimenticio que tiene o con que otras especies comparte su habitat, sin necesidad de tenerlo físicamente.

En cuanto al árbol de distancias generado, forma agrupaciones que coinciden con la taxonomía y la sistemática reportada en la literatura, pero no reflejan relaciones de ancestría-descendencia. Puesto que, para generar un árbol utilizando el algoritmo NJ, creado por Saitou y Nei, (1987), se unen dos secuencias que tengan la menor distancia genética, que se calcula en base al número total de sustituciones de nucleótidos (Saitou y Nei, 1987), es decir en el número de nucleótidos que son diferentes en las dos secuencias. Luego, este par inicial se considera como una sola entidad, y se busca la siguiente secuencia que presente la menor distancia genética con esta. El procedimiento continúa hasta unir todas las secuencias. Por lo tanto, el árbol generado con este método no refleja relaciones evolutivas, sólo representa el grado de similitud de las secuencias lo cual corresponde al campo de la fenética (Crisci y López, 1983), no de la sistemática filogenética.

A pesar de que las secuencias obtenidas en este estudio pueden resultar pocas, son una contribución de gran valor para el conocimiento de esta especie, proporcionando la base para un sistema de identificación altamente efectivo. Así mismo, aporta información molecular de *Hodomy alleni*, que actualmente, funciona como una herramienta para ayudar con la implementación de medidas para su conservación y proteger el área de distribución,

puesto que, como ya se había dicho es una especie endémica. Aunque este roedor no se encuentra en ninguna categoría de riesgo en la Norma Oficial Mexicana 059 (NOM-059), el hecho de que su hábitat, en las selvas secas están siendo fuertemente deteriorado y la escasa información que se tiene sobre su biología hace que cualquier aportación sea valiosa.

La aplicación de este método molecular se hace aún más importante cuando podemos observar que puede trabajar con fragmentos de material biológico, ésta es una de sus principales cualidades, ya que permite la identificación de los organismos a partir de muestras biológicas incompletas, dañadas o en estado inmaduro (Rodríguez-Castro *et al.*, 2017; Webb *et al.*, 2006). En ocasiones resulta un método poco invasivo, que hace innecesario el sacrificio del ejemplar para su correcta identificación y de esta manera se benefician las especies que se encuentran en alguna categoría de riesgo. En este trabajo se pudo comprobar que sólo se necesita de una pequeña muestra de tejido de aproximadamente 4 mm² para lograr identificar un espécimen. Por ejemplo, cuatro de las muestras utilizadas FAC 4773, FAC 4774, FAC 4777 y FAC 4778 no poseen ejemplar *voucher* en alguna colección, solamente se tiene tejido de la oreja obtenido *in situ* durante una práctica de campo, pues en el sitio se identificaron por su coloración y tamaño, pero al no revisar el carácter dental diagnóstico presente en *Hodomys alleni* la incertidumbre aún quedaba latente. Sin embargo, al obtener los códigos de barras de estas muestras podemos observar que en el árbol de distancias se agrupan con las muestras de *Hodomys alleni*. Así mismo, adquiere mayor relevancia saber que no necesariamente se requiere de tejido fresco para identificar un organismo, en algunas investigaciones se utilizaron ejemplares resguardados en museos con más de 20 años de antigüedad y la obtención de sus códigos de barras fue exitosa (Hebert *et al.* 2004b; Jordaens *et al.* 2015).

Las aplicaciones de los códigos de barras de DNA van más allá de solo la identificación de ejemplares y robustecer inventarios moleculares de la biodiversidad, por ejemplo, mamíferos (Clare *et al.*, 2007; Cai *et al.*, 2016; Kumar *et al.*, 2018), aves (Hebert *et al.* 2004a; Arif *et al.*, 2011), reptiles y anfibios (Vences *et al.* 2012; Chambers y Hebert, 2016) peces (Goldenberg-Barbosa *et al.* 2019; Bingpengal *al et.* 2018), insectos (Hebert *et al.* 2004b; Kim *et al.* 2020), entre otros taxones. También son utilizados por múltiples disciplinas como la ecología, y como se había mencionado anteriormente, los códigos de barras de DNA se pueden aplicar para analizar la dieta de diferentes animales, Valentini *et*

al. (2008) describieron el régimen alimenticio de la marmota (*Marmota caudata*) y el oso (*Ursus arctos*) presentes en el parque Dusai, Pakistan, puesto que los estudios de dieta basados únicamente en análisis morfológicos comúnmente presentan altos porcentajes de muestras no identificadas debido al intenso deterioro. A pesar de ello, al utilizar esta técnica se han llegado a identificar las presas de algunos carnívoros y aumentar de esta manera la información que se tenía hasta ese momento (Santos *et al.* 2015). De igual manera, las excretas podrían ser sometidas a este método para obtener conocimiento de las redes alimentarias (Nakahara *et al.* 2015) o inclusive saber que parásitos o larvas viven dentro del espécimen (Chel *et al.* 2019). La posibilidad de identificar de qué se alimentan los animales es indispensable para comprender el funcionamiento de los ecosistemas y el papel que juegan las especies en las redes tróficas.

Además, los códigos de barras de DNA pueden representar una ventaja para monitorear el comercio ilegal de subproductos animales. Cuando se venden tales productos, la identificación mediante características morfológicas puede que ya no sea posible. A pesar de ello, Eaton *et al.*, 2010, demostró que con ayuda de secuencias de COI era posible identificar animales objeto de tráfico ilegal en América de Sur y África a partir de materiales manufacturados, por ejemplo, pieles, bolsos, zapatos, correas. De esta forma, el código de barras de DNA se convierte en una herramienta con aplicaciones legales y utilidad directa para los agentes que regulan el comercio de especies o de partes de ellas.

En la industria alimentaria se puede encontrar otros ejemplos de su aplicación. Utilizando esta técnica revelaron que el 23% de las muestras de caviar negro compradas en los EE. UU. estaban etiquetadas con un nombre de especie incorrecto y, en algunos casos, la especie comercial (esturión ruso, *Acipenser gueldenstaedtii*) fue reemplazada por una en peligro de extinción (esturión de barco, *Acipenser nudiiventris*; Birstein *et al.*, 2000). Un enfoque molecular de este tipo se utiliza ahora ampliamente y es particularmente útil para detectar la presencia de especies esquivas o en peligro de extinción (Shang-Yin *et al.*, 2013). En aspectos sanitarios y económicos las aplicaciones de los códigos de barras de ADN ayudan en la identificación de vectores de enfermedades (An *et al.*, 2014), el manejo de plagas y especies invasoras (Armstrong y Ball, 2005; Madden *et al.*, 2019).

Aunque esta técnica molecular tuvo una gran aceptación por permitir el desarrollo de un sistema confiable y rápido para la identificación de muestras biológicas es necesario

remarcar que también tiene limitaciones. Una de ellas es que no existe un gen de código de barras de DNA universal, no hay un gen único que se conserve en todos los dominios de la vida y exhiba suficiente divergencia genética en su secuencia para la discriminación de especies. Si bien para la mayoría de los grupos animales el gen COI es apropiado para su identificación, existen dificultades para utilizar el mismo gen en algunos otros grupos. Por ejemplo, COI parece evolucionar lentamente en cnidarios y esponjas, por consiguiente, la distancia genética entre especies cercanas es muy pequeña para permitir la identificación confiable a nivel de especie (Hebert *et al.*, 2003b). Debido a esto, en esponjas se sugiere secuenciar un fragmento más largo de COI e incluir el gen nuclear, *Internal Transcribed Spacer* (ITS) y para cnidarios, el gen mitocondrial 16S se ha recomendado como gen complementario (Moura *et al.*, 2008). En el caso de plantas y de hongos, el COI no se puede utilizar como código de barras de DNA lo que ha llevado a buscar secuencias alternativas. En plantas, la tasa de sustitución en la región COI es muy baja, lo cual, se traduce en una falta de variación genética entre especies del mismo género, por lo tanto, los códigos de barras generados para plantas proceden del genoma nuclear y plastídico, aprobando CBOL en el 2009 las regiones *matK* y *rbcl*. En caso de los hongos, se ha sugerido el uso de ITS y la *Large subunit* de DNAr (LSU), pero aún no hay consenso sobre el marcador estándar para ellos. La aparición de nuevas especies que han surgido a través de la hibridación (Barber y Boyse, 2006), la divergencia reciente de especies, en este caso, los grupos insipientes comparten haplotipos, sin embargo, aunque la especie no se identifique es posible llegar a la familia y género al cual pertenece la muestra (Stoeckle, 2003). La presencia de pseudogenes (Rubinoff, 2006) o la incorporación de genes de una población genéticamente distinta o introgresión (Liu *et al.*, 2005), son algunas otras limitaciones que presenta generar códigos de barras.

Desde sus inicios, el uso de códigos de barras de DNA para la identificación de especies generó una gran polémica en la comunidad científica. El uso de técnicas moleculares para la identificación de especies ha sido estigmatizado por una parte de la comunidad, provocando el rechazo de algunos taxónomos. Se tienen dos razones principales, una de ellas es el alto costo en los procesos de laboratorios para la compra de reactivos y equipo que permitan analizar las muestras (Cameron *et al.*, 2006) y por otra parte pensaba que la clasificación de los especímenes ya no dependería de los caracteres morfológicos sino únicamente de las secuencias de DNA, argumentando que la taxonomía clásica podía llegar a ser suplantada por este nuevo método (Will y Rubinoff, 2004; Ebach

y Holdrege, 2005). El último argumento se debe a la gran confusión que existe entre los códigos de barras y la taxonomía por ADN (Blaxter, 2004). En el caso de la taxonomía por ADN, el reconocimiento de especies ya no dependería de caracteres morfológicos sino únicamente de secuencias de ADN (Tautz *et al.*, 2003). Ambas técnicas utilizan la distancia genética intraespecífica obtenida de secuencias de ADN, sin embargo, trabajos realizados por diferentes investigadores (Hebert *et al.*, 2003b; Avó *et al.*, 2017; Montes *et al.*, 2017; Batta-Lona *et al.*, 2019; Faik *et al.*, 2019) hacen evidente que generar códigos de barras no descarta en absoluto el uso de la taxonomía basada en características morfológicas, por el contrario la expone como una herramienta complementaria para la correcta identificación de las especies, teniendo mayor importancia su aplicación en especies amenazadas, víctimas de tráfico ilegal y ejemplares incompletos o deteriorados (Padial y De la Riva, 2007).

Por lo tanto, en el presente trabajo y bajo nuestra perspectiva, los códigos de barras en ningún momento podrían llegar a excluir la taxonomía basada en caracteres morfológicos, sino todo lo contrario, es una herramienta complementaria basada en técnicas moleculares que ayudan a la correcta identificación de especies. Así mismo, coincidimos con el punto de vista dado por diferentes científicos. Por ejemplo, DeSalle (2006) menciona que los problemas que se plantean comúnmente contra los códigos de barras de ADN solo desaparecerán cuando los investigadores comprendan que el ADN es una extensión de la taxonomía o que el código de barras se ha considerado una ayuda eficaz para la taxonomía tradicional, y la morfología por sí sola también ha demostrado ser ineficaz para resolver algunos problemas taxonómicos, lo que exige un uso cada vez mayor de herramientas moleculares (Packer *et al.*, 2009, Radulovici *et al.*, 2010). Y a medida que disminuyan aún más los costos de secuenciación, la identificación de especies basada en el ADN estará disponible para una comunidad cada vez más amplia. En consecuencia, la adopción de métodos de códigos de barras y la taxonomía basada en caracteres morfológicos mediante una taxonomía integradora (Dayrat 2005, Will *et al.*, 2005) es una idea plausible. La taxonomía no necesita una revolución llena de conflictos que no contribuyan a la resolución de la crisis existente. En cambio, necesita evolucionar (Pires y Marinoli, 2010).

7. CONCLUSIONES

En el presente trabajo se concluye que las secuencias nucleotídicas producidas de la rata de monte *Hodomys alleni*, con el marcador molecular Citocromo Oxidasa subunidad I (COI; 650 pb), utilizado en la técnica de códigos de barras de DNA o de la vida, tienen un porcentaje elevado de similitud entre ellas y las obtenidas del portal BoldSystem. De igual manera, este marcador tuvo la capacidad de discriminar a las especies cercanamente emparentados, así mismo, se reitera que el gen mitocondrial COI se puede emplear como una herramienta complementaria a la tradicional basada en caracteres morfológicos para la correcta identificación de la especie en estudio. Por lo tanto, se cumple el objetivo propuesto en este trabajo, ya que las secuencias nucleotídicas obtenidas funcionan para identificar a *H. alleni* de un grupo de ejemplares encontrados en el territorio nacional.

8. RECOMENDACIONES

Es necesario continuar con el estudio de la especie *Hodomys alleni*, incluyendo las demás especies de su misma tribu, así mismo, realizar un muestreo exhaustivo en toda el área de distribución de la especie, puesto que se cuenta con un escaso número de ejemplares y registros en colecciones científicas. Además, se deben llevar a cabo estudios morfológicos, ecológicos y moleculares que permitan comprobar el estatus específico de la especie.

LITERATURA CITADA

- ALTSCHUL, S. F., W. GISH, W. MILLER, E. W. MYERS y D. J. LIPMAN. 1990.** Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology*. 215: 403-410.
- AN, C., Y. SUN, B. CHEN, S. FAN, L. HUO, J. SHE y W. LYU. 2014.** Identification on host animals for plague by DNA barcoding technology in Shaanxi province. *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi*. 35(9):1042-5.
- ARIAS-CABALLERO DE MIGUEL, P., D. MEDELLÍN, Y. DOMÍNGUEZ-CASTELLANOS y G. CEBALLOS. 2015.** Hábitat de *Hodomys alleni* (Rodentia: Muridae) en la Selva Baja Caducifolia en la región central de Colima, México. *Revista Mexicana de Mastozoología Nueva época*. 5 (1): 63-80.
- ARMSTRONG, K., F. y S. L. BALL. 2005.** DNA barcodes for biosecurity: invasive species identification. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 360(1462):1813-1823.
- ARIF, A., H. A. KHAN, M. SHOBRAK y J. WILLIAMS. 2011.** Cytochrome C oxidase subunit I barcoding of the green bee-eater (*Merops orientalis*). *Genetics and molecular research*, 10(4): 3992-3998.
- AVÓ, A., P., T. J. DANIELL, R. NEILSON, S. OLIVEIRA, J. BRANCO y H. ADÃO. 2017.** DNA barcoding and morphological identification of benthic nematodes assemblages of estuarine intertidal sediments: advances in molecular tools for biodiversity assessment. *Front. Mar. Sci*. 4:66. DOI:10.3389/fmars.2017.00066
- BARBER, P. y S. L. BOYSE. 2006.** Estimating diversity of Indo-Pacific coral reef stomatopod larvae. *Proc. R. Soc. B*. 273: 2053-2061. DOI: 10.1098/rspb.2006.3540.
- BATTA-LONA P., G., C. E. GALINDO-SÁNCHEZ, M. C. ARTEAGA, J. ROBLES-FLORES y S. P. A. JIMÉNEZ-ROSENBERG. 2019.** DNA barcoding and morphological taxonomy: identification of lanternfish (Myctophidae) larvae in the Gulf of Mexico. *Mitochondrial DNA. Part A, DNA Mapping, Sequencing, and analysis*, 30(2): 375-383.
- BINGPENG, X., L. HESHAN, Z. ZHILAN, W. CHUNGUANG, W. YANGUO y W. JIANJUN. 2018.** DNA barcoding for identification of fish species in the Taiwan Strait. *PLoS ONE* 13(6): e0198109. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0198109>.
- BIRNEY, E. C., Y J. K. JONES JR. 1972.** Woodrats (genus *Neotoma*) of Sinaloa, México. *Transactions of the Kansas Academy of Science*, 74: 197-211.
- BIRSTEIN, V., P. DOUKAKIS y R. DeSALLE. 2000.** Polyphyly of mtDNA lineages in the Russian sturgeon, *Acipenser gueldenstaedtii*: forensic and evolutionary implications. *Conserv. Genet*. 1: 81–88
- BORISENKO, A., V., B. K. LIM, N. V. IVANOVA, R. H. HANNER, P. D. N. HEBERT. 2008.** DNA barcoding in surveys of small mammal communities: a field study in Suriname. *Molecular Ecology Resources* 8: 471–479.
- BRADLEY, R., D., C. W. EDWARDS, D. S. CARROLL y C. W. KILPATRICK. 2004.** Phylogenetic relationship of Neotominae-Peromyscine rodents: based on DNA sequences from the mitochondrial cytochrome-b gene. *Journal of Mammalogy*, 85(3): 389-395.
- BLAXTER, M., L. 2004.** The promise of a DNA taxonomy. *Philos Trans. Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 359(1444):669-679.

- BURELO, R. C., L. I. CABRERA, P. ROSAS, P. ESCALANTE, M. GUADARRAMA y N. DEL CARMEN. 2012.** Código de Barras de ADN: una nueva herramienta para la sistemática. *Kuxulkab' Revista de Divulgación*. 18(35): 61-64.
- CAI, Y., L. ZHANG, Y. WANG, Q. LIU, Q. SHUI, B. YUE, Z. ZHANG y J. LI. 2016.** Identification of deer species (Cervidae, Cetartiodactyla) in China using mitochondrial cytochrome C oxidase subunit I (mtDNA COI). *Mitochondrial DNA A DNA Mapp Seq. Anal*, 7(6):4240-4243. DOI: 10.3109/19401736.2014.1003919.
- CAMERON, S., D. RUBINOFF y K. WILL. 2006.** Who will actually use DNA barcoding and what will it cost? *Syst. Biol.* 55:844-847.
- CARLETON, M. D. 1980.** Phylogenetic relationships in neotomine-promyscine rodents (Muroidea) and a reappraisal of the dichotomy within New World Cricetinae. *Miscellaneous Publications of the Museum of Zoology, University of Michigan*, 157:1-146.
- CEBALLOS, G. 1995.** Vertebrate diversity, ecology, and conservation in Neotropical dry forests. Seasonally dry tropical forests. S. H. Bullock, H. A. Mooney y E. Medina (eds.). Cambridge University Press, Cambridge. 195-220 pp.
- CEBALLOS, G. y A. GARCÍA. 1995.** Conserving Neotropical biodiversity: the role of dry forest in western Mexico. *Conservation Biology* 9: 1349-1356.
- CEBALLOS, G. y G. OLIVA. 2005.** Los mamíferos silvestres de México. CONABIO – Fondo de Cultura Económica, México D.F. Pp. 988.
- CERVANTES, F., A., C. E. CASTAÑÓN, J. A. SÁNCHEZ, J. VARGAS y Y. HORTELANO. 2016a.** Tercer molar inferior derecho de un ejemplar joven de la rata arborícola *Hodomys alleni*. Ficha digital IREKANI no. 11903, Instituto de Biología, UNAM (<http://unibio.unam.mx/irekani/handle/123456789/37957?proyecto=Irekani>)
- CERVANTES, F., A., C. E. CASTAÑÓN, J. A. SÁNCHEZ, J. VARGAS y Y. HORTELANO. 2016b.** Mandíbula de la rata arborícola *Hodomys alleni*. Ficha digital IREKANI no. 11909, Instituto de Biología, UNAM (<http://unibio.unam.mx/irekani/handle/123456789/37961?proyecto=Irekani>).
- CERVANTES, F., A. y R. HERNÁNDEZ-ALONSO. 2015a.** Vista dorsal del cráneo de la rata de monte (*Hodomys alleni alleni*; IBUNAM: CNMA:46965). Ficha digital IREKANI no. 11768, Instituto de Biología, UNAM (<http://unibio.unam.mx/irekani/handle/123456789/32137?proyecto=Irekani>).
- CERVANTES F., A. y R. HERNÁNDEZ-ALONSO. 2015b.** Vista ventral del cráneo de la rata de monte (*Hodomys alleni alleni*; IBUNAM: CNMA:46965). Ficha digital IREKANI no. 11770, Instituto de Biología, UNAM (<http://unibio.unam.mx/irekani/handle/123456789/32136?proyecto=Irekani>).
- CERVANTES, F. A. Y R. HERNÁNDEZ-ALONSO. 2016a.** Piel de un ejemplar de museo de la rata de monte *Hodomys alleni*. Ficha IREKANI no. 12094, Instituto de Biología; UNAM (<http://unibio.unam.mx/irekani/handle/123456789/70418?proyecto=Irekani>)
- CERVANTES, F. A. Y R. HERNÁNDEZ-ALONSO. 2016b.** Piel de un ejemplar de museo de la rata de monte *Hodomys alleni*. Ficha IREKANI no. 12093, Instituto de Biología; UNAM (<http://unibio.unam.mx/irekani/handle/123456789/70414?proyecto=Irekani>).
- CHALLENGER, A. 1998.** Utilización y Conservación de los Ecosistemas Terrestres de México. Pasado, Presente y Futuro. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, México D.F.

- CHAMBERS, E., A., y P. D. N. HEBERT. 2016.** Assessing DNA barcodes for species identification in North American reptiles and amphibians in Natural History collections. PLoS ONE, 11(4): e0154363. doi:10.1371/journal.pone.0154363.
- CHEL, H., M., R. NAKAO, N. OHSAWA, Z. M. OO, N. NONAKA y K. KATAKURA. 2019.** First record and analysis of the COI gene of *Cobboldia elephantis* obtained from a captive Asian elephant from Myanmar. Parasitology Internacional, 75, 102035. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2019.102035>.
- CLARE, E., L., B. K. LIM, M. D. ENGSTROM, J. L. EGER y P.D.N. HEBERT. 2007.** DNA barcoding of Neotropical bats: species identification and discovery within Guyana. Molecular Ecology Notes 7: 184–190.
- CRISCI, J., V. y M. LÓPEZ. 1983.** Introducción a la teoría y práctica de la taxonomía numérica. Secretaría General de la Organización de los Estados Americano. Pp. 132.
- DAYRAT, B. 2005.** Towards integrative taxonomy. Biol. J. Linn. Soc. 85:407-415.
- DE ITA-MARTÍNEZ, C. 1983.** Patrones de producción agrícola en un ecosistema tropical estacional en la Costa de Jalisco. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM, México.
- DESALLE, R. 2006.** Species discovery versus species identification in DNA barcoding efforts: response to Rubinoff. Conserv. Biol. 20:1545-1547.
- EATON, M., G. MEYERS, S. O. KOLOKOTRONIS, M. LESLIE, A. MARTIN y G. AMARATO. 2010.** Barcoding bushmeat: Molecular identification of Central African and South American harvested vertebrates. Conservation Genetics. 11(4):1389-1404.
- FAIK., A., A., M., N. K. M. NAGALIGAM, R. ROLAND, A. M. S. A. BAKAR, M. H. Y. MENG, L. Y. KUEN y S. A. SANI. 2019.** DNA barcoding and analysis of nine butterfly species and three moth species from Entopia Penang butterfly farm. Journal of Physics: Conference Series, 1358 012013. DOI:10.1088/1742-6596/1358/1/012013
- FELSENSTEIN, J. 1985.** Confidence limits on phylogenetics: An approach using the bootstrap. Evolution, 39: 783-791.
- EBACH, M., C. y C. HOLDREGE. 2005.** More taxonomy, not DNA barcoding. Bioscience, 55:822–823.
- EDWARDS, C. W., y R. D. BRADLEY. 2002.** Molecular systematics of the genus *Neotoma*. Molecular Phylogenetics and Evolution. 25: 489-500.
- GENOWAYS, H. H., y J. K. JONES, Jr. 1973.** Notes on some mammals from Jalisco, Mexico. Occasional Pappers The Museum Texas Tech University. 9: 1-22.
- GODINEZ, E. G. y S. GUERRERO. 2014.** Los roedores de Jalisco, México: clave de determinación. Revista THERYA, 5(2): 633-678.
- GOLDENBERG-BARBOSA, R., D. A. SILVA, E. F. CARVALHO, S. LOIOLA y C. R. L. AMARRAL. 2019.** Molecular identification of poisonous pufferfishes and cross-atlantic genetic divergence patterns based on the mitochondrial COI gene. Forensic Science International: Genetics Supplement Series, 7(1): 2014-2015.
- GOLDMAN, E. A. 1938.** A new woodrat of the genus *Hodomys*. Journal Washington Academy Sciences. 28: 498-499.

- GUTIÉRREZ, A. R. 1993.** La ganadería extensiva en el trópico seco mexicano: causas, consecuencias y manifestaciones en su medio social. Tesis de Licenciatura. Facultad de Filosofía y Letras, UNAM, México.
- HAJIBABAEI, M., G. A. SINGER, P. N. HEBERT y D. A. HICKEY. 2007.** DNA barcoding: How it complements taxonomy, molecular phylogenetics and population genetics. *Trends in Genetics*, 30(10):1-6.
- HAJIBABAEI, M., JR. DEWAARD, N. V. IVANOVA, S. RATNASINGHAM, R. T. DOOH, S. L. KIRK, et al. 2005.** Critical factors for assembling a high volume of DNA barcodes. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*. 360 (1462): 1959-1967.
- HEBERT, P. D. N., A. CYWINSKA, S. BALL y J. DEWAARD. 2003a.** Barcoding Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London. Biological Sciences*, 270:313-321.
- HEBERT, P. D. N., S. RATNASINGHAM, J. R. DEWAARD. 2003b.** Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proceedings of the Royal Society of London. Biological Sciences B*, 270: S96-S99.
- HEBERT, P., D., N., M. Y. STOECKLE, T. S. ZEMLAK y C. M. FRANCIS. 2004a.** Identification of Birds through DNA Barcodes. *PLoS Biol.* 2(10): e312.
- HEBERT, P. D. N., E. H. PENTON, J. M. BURNS, D. H. JANZEN y W. HALLWACHS. 2004b.** Ten species in one: DNA barcoding reveals cryptic species in the neotropical skipper butterfly *Astraptes fulgerator*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS)*, 101: 14812-14817.
- IVANOVA, N.V., T. S. ZEMLAK, R. H. HANNER y P. D. N. HEBERT. 2007.** Universal primer cocktails for fish DNA barcoding. *Molecular Ecology Notes*, 7: 544–548.
- JANZEN, D., H., M. HAJIBABAEI, J. M. BURNS, W. HALLWACHS, E. D. REMIGIO y P. D. N. HEBERT. 2005.** Wedding biodiversity inventory of a large and complex lepidoptera fauna with DNA barcoding. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 360 (1462):1835-1845.
- JORDAENS, K., G. GOERGEN, M. VIRGILIO, T. BACKELJAU, A. VOKAER y M. DE MEYER. 2015.** DNA barcoding to improve the taxonomy of the afrotropical hoverflies (Insecta: Diptera: Syrphidae). *PLoS One*, 10(10): e0140264. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0140264>.
- KIM, S., Y. YU, Y. LEE, H.-W. HAN y H. KIM. 2020.** COI barcoding for molecular identification of the genus *Aphidius* (Braconidae: Aphidiinae in South Korea, with diagnoses of two newly recorded species. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 23(4): 1202-1207.
- KIMURA, M. 1980.** A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal Molecular Evolution*, 16: 111-120.
- KUMAR, P., V., M. SHUKLA, A. RAJPOOT, M, THAKUR, P. NIGAM, D. KUMAR, A. KUMAR y S. P. GOYAL. 2018.** DNA barcoding as a tool for robust identification of cervids of India and its utility in wildlife forensics. *Mitochondrial DNA Part B*, 3:1, 250-255, DOI: 10.1080/23802359.2018.1438858.
- LANTERI, A. 2007.** Código de Barras de ADN y sus posibles aplicaciones en el campo de la Entomología. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*. 66 (3-4):15-25.

- LEÓN-TAPIA, M. A. 2013.** Ubicación filogenética con caracteres moleculares de la rata de monte (*Nelsonia goldmani*), endémica del eje Neovolcánico Transversal. Tesis de Maestría en Ciencias Biológicas (Sistemática). Universidad Nacional Autónoma de México.
- LIU K., C. WANG, W. CHEI, L. TU, M.-S. MIN, K. BI y J. FU. 2010.** Rampant historical mitochondrial genome introgression between two species of green pond frogs, *Pelophylax nigromaculatus* and *P. plancyi*. BMC Evolutionary Biology. 10:201. DOI:10.1186/1471-2148-10-201.
- LONGHOFER, L., K. y R. D. BRADLEY. 2006.** Molecular systematics of the genus *Neotoma* based on DNA sequences from Intron 2 of the Alcohol Dehydrogenase Gene. Journal Mammal, 87(5): 961-970.
- LOVETTE, I. 2004.** Mitochondrial dating and mixed support for the 2% rule in birds. The Auk. A Quarterly Journal of Ornithology, 121(1): 1-6.
- MADDEN, M., J., R. G. YOUNG, J. W. BROWN, S. E. MILLER, A. J. FREWIN y R. H. HANNER. 2019.** Using DNA barcoding to improve invasive pest identification at U.S. ports-of-entry. PLoS ONE 14(9): e0222291. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0222291>
- MARTIN, R. A. y R. J. ZAKRZEWSKI. 2019.** On the ancestry of woodrats. Journal of Mammalogy, 100(5):1564-1582.
- MASERA, O., M. J. ORDÓÑEZ y R. DIRZO. 1997.** Carbon emissions from Mexican forests: current situation and long-term scenarios. Climatic Change, 35:265-295.
- MALCOLM, J., R. 1991.** Comparative abundances of Neotropical small mammals by trap height. Journal of Mammalogy, 72:188-192.
- MATOCQ, MARJORIE, D., Q. R. SHURLIFF y C. R. FELDMAN. 2007.** Phylogenetics of the woodrat genus *Neotoma* (Rodentia: Muridae): Implications for the evolution of phenotypic variation in male external genitalia. Molecular Phylogenetics and Evolution 42: 637-652.
- MERRIAM, C. H. 1892.** Description of nine new mammals collected by E. W. Nelson in the states of Colima and Jalisco, México. Proceedings of the Biological Society of Washington, 7:164-74.
- MERRIAM, C. H. 1894.** A new subfamily of murine rodents –the Neotominae– with description of a new genus and species and a synopsis of the know forms. Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia, 14:225-252.
- MONTES, M., M., R. CASTRO-ROMERO y S. R. MARTORELLI. 2017.** Morphological identification and DNA barcoding of a new species of *Parabrachiella* (Siphonostomatoida: Lernaepodidae) with aspects of their intraspecific variation. Acta Tropica, 173: 34-44.
- MOURA, C., J., D. J. HARRIS, M. R. CUNHA y A. D. ROGERS. 2008.** DNA barcoding reveals cryptic diversity in marine hydroids (Cnidaria, Hydrozoa) from coastal and Deep-sea environments. Zool Scr., 37(1): 93-108.
- NAKAHARA, F., H. ANDO, H. ITO, A. MURAKAMI, N. MORIMOTO, M. YAMASAKI, A. TAKAYANAGI y Y. ISAGI. 2015.** The applicability of DNA barcoding for dietary analysis of sika deer. DNA Barcodes, 3: 200-206.
- OSGOOD, W. H. 1938.** A new woodrat from Mexico. Field Museum of Natural History. Zoological series. 20: 475-476.

- PACKER, L., J. GIBBS, C. SHEFFIELD y R. HANNER. 2009.** DNA barcoding and the mediocrity of morphology. *Molecular Ecology Resources*. 9:42-50.
- PADIAL, J., M. y DE LA RIVA. 2007.** Integrative taxonomists should use and produce DNA barcodes. *Biological Systems*. 1586:67-68.
- PAKENDORF, B. y M. STONEKING. 2005.** Mitochondrial DNA and human evolution. *Annual Reviews Genomics and Human Genetics*. 6: 165-183.
- PIRES, A.C. y L. MARINONI. 2010.** DNA barcoding and traditional taxonomy unified through integrative taxonomy: a view that challenges the debate questioning both methodologies. *Biota Neotropica*, 10(2): 339-346. DOI: [10.1590/S1676-06032010000200035](https://doi.org/10.1590/S1676-06032010000200035)
- QUINN, T. W. 1997.** Molecular evolution of the mitochondrial genome. *Avian Molecular Evolution and Systematics*. Mindell (editor). Academic Press. San Diego. Pp. 3-23.
- RADULOVICI, A., E., P. ARCHAMBAULT y F. DUFRESNE. 2010.** DNA Barcodes for marine biodiversity: moving fast Forward? *Diversity* 2:450-472.
- RAMÍREZ-PULIDO, J. y C. SÁNCHEZ-HERNÁNDEZ. 1972.** Regurgitaciones de lechuza, procedentes de la cueva del Cañón de Zopilote, Guerrero, México. *Revista de la Sociedad de Historia Natural*, 23: 107-112.
- RAMÍREZ-PULIDO, J., N., GONZÁLEZ-RUIZ, A. L. GARDNER y J. ARROYO-CABRALES. 2014.** List of recent land mammals of Mexico, 2014. *Special Publications Museum of TexasTech University*, 63:1-69.
- RATNASINGHAM, S. y P. D. N. HEBERT. 2007.** BOLD: The barcode of life data system. *Molecular Ecology Notes*, 7: 355-364
- RODRÍGUEZ-CASTRO, K., G., G. CIOCHETI, J. W. RIBEIRO, M. C. RIBEIRO y P. M. GALETTI JR. 2017.** Using DNA barcode to relate landscape attributes to small vertebrate roadkill. *Biodiversity and Conservation*, 26: 1161-1178.
- RUBINOFF D. 2006.** Utility of mitochondrial DNA barcodes in species conservation. *Conserv Biol*. 20(4): 1026-1033.
- SAITOU, N. y M. NEI. 1987.** The Neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, 4:406-425.
- SANTOS, T., C. FONSECA, T. BARROS, R. GODINHO, C. BASTOS-SILVEIRA, V. BANDEIRA y R. G. ROCHA. 2015.** Using stomach contents for diet analysis of carnivores through DNA barcoding. *Wildlife Biology in Practice*, 11(1):47-55.
- SCBD. Convention on Biological Diversity. 2011.** En línea. Disponible en: URL: <http://www.cbd.int/>
- SCHALADACH, W. J. 1960.** *Xenomys nelsoni* Merriam, sus relaciones y hábitos. *Revista de la Sociedad Mexicana de Historia Natural*, 21:425-434.
- SHANG-YIN, V., L., C. C. CHIA-LING, O. LIN, H. CHIEH-SHEN y C. A. CHEN. 2013.** DNA barcoding of shark meats identify species composition and CITES-Listed species from the markets in Taiwan. *PLoS ONE* 8(11): e79373. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0079373>
- SEMARNAT. Secretaria del Medio Ambiente y Recursos Naturales. 2010.** Norma oficial Mexicana NOM-059-ECOL-2010, protección ambiental – especies nativas de México de flora y fauna silvestres –

- categorías de riesgo y especificaciones para la inclusión, exclusión o cambio – lista de especies de riesgo. Diario Oficial de la Federación, 26 de noviembre de 2010.
- STOECKLE, M. 2003.** Taxonomy, DNA and the bar code of life. *BioScience* 53: 2-3
- STOECKLE, M. y P. D. N. HEBERT. 2008.** Barcode of life. *Scientific American*. Oct: 82-88.
- TAMURA, K., G. STECHER, D. PETERSON, A. FILIPSKI y S. KUMAR. 2013.** MEGA6: Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, 30 (12): 2725-2729.
- TAUTZ, D., P. ARCTANDER, A. MINELLI, R. H. THOMAS y A. P. VOGLER. 2003.** A plea for DNA taxonomy. *Trends Ecology Evolution*. 18(2):70-74.
- THOMPSON, J., D., D. G. HIGGINS y T. J. GIBSON. 1994.** CLUSTAL W: Improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position specific gaps penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research*, 22: 4673-4680.
- VALENTINI, A., F. POMPANON y P. TABERLET. 2008.** Barcoding for ecologist. *Trends Ecol. Evol.*, 24(2): 110-117.
- VÁZQUEZ, E. 2007.** Filogeografía y vertebrados Cap. 14. En: Eguiarte, L. E., Souza, V. y Aguirre, X. Compiladores. *Ecología Molecular*. México. SEMARNAT, INECOL, UNAM y CONABIO. Pp. 441-461.
- VENCES, M., Z. T. NAGY, G. SONET y E. VERHEYEN. 2012.** DNA barcoding amphibians and reptiles. In: Kress W., Erickson D. (eds) *DNA Barcodes. Methods in Molecular Biology (Methods and Protocols)*, 858:79-07.
- VIEIRA, E. M. 1998.** A technique for trapping small mammals in the forest canopy. *Mammalia*, 62:306-310.
- WEBB, K., D. K. A. BARNES, M. S. CLARK y D. A. BOWDEN. 2006.** DNA barcoding: A molecular tool to identify Antarctic marine larvae. *Deep Sea Research Part II Topical Studies in Oceanography*, 53 (8): 1053-1060. DOI: [10.1016/j.dsr2.2006.02.013](https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2006.02.013).
- WILL, K., W., B. D. MISHLER y Q. D. WHEELER. 2005.** The perils of DNA barcoding and the need for integrative taxonomy. *Syst. Biol.* 54:844-851.
- WILL, K., W., y D. RUBINOFF. 2004.** Myth of the molecule: DNA barcodes for species cannot replace morphology for identification and classification. *Cladistics*, 20: 47–55.
- WILSON, A. C., L. CANN, S. CARR, M. GEORGE, U. B. GYLLENSTEN, K. M. HELM-BYCHOWSKI, R. G. HIGUCHI, S. R. PALUMBI, E. M. PRAGER, R. D. SAGE y M. STONEKING. 1985.** Mitochondrial DNA and two perspectives on evolutionary genetics. *Biological Journal of the Linnean Society*. 26: 375-400.
- WILSON, D. E. y D. M. REEDER (eds.). 2005.** *Mammal Species of the World. A Taxonomic and Geographic Reference*. Tercera edición. Johns Hopkins University Press. 2,142 pp.
- WU, S., W. WU, F. ZHANG, J. YE, X. NI, J. SUN, S. V. EDWARDS, J. MENG Y C. L. ORGAN. 2012.** Molecular and paleontological evidence for a post-cretaceous origin of rodents. *PLoS one*. 7(10): e46445.

APÉNDICE I

Datos de colecta de los ejemplares de *Hodomys alleni* de donde provienen las muestras de tejidos congelados que se utilizaron para realizar los análisis moleculares, obtenidas de la colección de tejidos congelados, ubicada en la Colección Nacional de Mamíferos (CNMA), del Instituto de Biología. Mpio. = Municipio; ♂ = Macho; ♀ = Hembra; ND = No determinado; M= Músculo; O= Oreja; F. colecta= fecha de colecta del ejemplar.

Muestra	Sexo	Localidad	Tejido	F. colecta
CNMA 46964	♂	COLIMA: La Encampanada 6.75 km SE Pueblo Juárez, Mpio. Coquimatlán, 294 m. N 19°7'40.6", W 103°53'13.5".	M	28-nov-2013
CNMA 46965	♀	COLIMA: La Encampanada 6.75 km SE Pueblo Juárez, Mpio. Coquimatlán, 294 m. N 19°7'40.6", W 103°53'13.5".	M	29-nov-2013
CNMA 46966	♂	COLIMA: La Encampanada 6.75 km SE Pueblo Juárez, Mpio. Coquimatlán, 294 m. N 19°7'40.6", W 103°53'13.5".	M	29-nov-2013
CNMA 46967	♂	COLIMA: La Encampanada 7.25 km SE Pueblo Juárez, Mpio. Coquimatlán, 293 m. N 19°7'51.1", W 103°53'13.2".	M	26-nov-2013
CNMA 46968	♂	COLIMA: La Encampanada 7.25 km SE Pueblo Juárez, Mpio. Coquimatlán, 293 m. N 19°7'51.1", W 103°53'13.2".	M	27-nov-2013
CNMA 46969	ND	JALISCO: El Chino 17.5 km WSW Villa Purificación, Mpio. Villa Purificación, 327 m. N 19°40'59.9", W 104°45'59.5".	M	14-mar-2014
CNMA 46970	ND	JALISCO: El Chino 17.5 km WSW Villa Purificación, Mpio. Villa Purificación, 327 m. N 19°40'59.9", W 104°45'59.5".	M	14-mar-2014
CNMA 47387	♂	JALISCO: 0.66 Km NNW El Chino, Mpio. Villa Purificación, 327 m. N 19°40'59.9", W 104°45'59.5".	M	14-sep-2014

(continuación apéndice I)

Muestra	Sexo	Localidad	Tejido	F. colecta
CNAM 47710	♂	JALISCO: 1.25 km WNW El Totole, Mpio. La Huerta, 302 m. N 19°28'53", W 104°37'24.6".	M	25-jul-2015
CNMA 47711	♂	JALISCO: 1.25 km WNW El Totole, Mpio. La Huerta, 302 m. N 19°28'53", W 104°37'24.6".	M	25-jul-2015
CNMA 47718	♀	JALISCO: 0.25 km NW El Totole, Mpio. La Huerta, 324 m. N 19°28'45.9", W 104°36'51.2".	M	24-jul-2015
FAC 4773	♂	COLIMA: La Encampanada 6.75 km SE Pueblo Juárez, Mpio. Coquimatlán, 294 m. N 19°7'40.6", W 103°53'13.5".	O	28-nov-2013
FAC 4774	♀	COLIMA: La Encampanada 6.75 km SE Pueblo Juárez, Mpio. Coquimatlán, 294 m. N 19°7'40.6", W 103°53'13.5".	O	28-nov-2013
FAC 4777	♂	COLIMA: La Encampanada 6.75 Km SE Pueblo Juárez, Mpio. Coquimatlán, 294 m. N 19°7'40.6", W 103°53'13.5".	O	29-nov-2013
FAC 4778	♂	COLIMA: La Encampanada 6.75 Km SE Pueblo Juárez, Mpio. Coquimatlán, 294 m. N 19°7'40.6", W 103°53'13.5".	O	29-nov-2013

APÉNDICE II

Procedimiento de extracción de DNA utilizando el Kit comercial DNA Dneasy Blood and Tissue (QIAGEN™).

- 1.- Cortar aproximadamente 30 mg de tejido y colocarlo en un tubo de 1.5 ml.
- 2.- Agregar 30 μ l de Solución ACL (Animal Cell Lysis Solution) y 20 μ l de Proteinasa K.
- 3.- Incubar a 55°C hasta que el tejido se someta a lisis por completo (se dejó durante toda la noche). Agitar con el vortex ocasionalmente.
- 4.- Dejar de enfriar a temperatura ambiente. Agitar con el vortex durante 20 segundos y centrifugar a 10,000 x g (12,000 rpm) durante 5 minutos.
- 5.- Pipetear 300 μ l de sobrenadante dentro una Columna de centrifugación EZ-10 y agregar 300 μ l de Solución AB. Mezclar ocasionalmente invirtiendo el tubo por 2 minutos.
- 6.- Centrifugar a 2,000 x g (4,000 rpm) durante 2 minutos y desechar el sobrenadante.
- 7.- Agregar 500 μ l de Solución de Lavado (Wash Solution) y centrifugar a 8,000 x g (10,000 rpm) por 2 minutos.
- 8.- Repetir el paso 7.
- 9.- Descargar el fluido a través de un centrifugado a 8,000 x g (10,000 rpm) durante 1 minuto para eliminar los residuos de Solución de Lavado que hayan quedado.
- 10.- Colocar la columna dentro de un tubo Eppendorf de 1.5 ml limpio. Agregar 30-50 μ l de Buffer de Elusión en la parte central de la columna.
- 11.- Centrifugar a 8,000 x g (10,000 rpm) para eluir el DNA de la columna.
- 12.- Para almacenar a largo plazo, mantener las alícuotas de DNA genómico a 20°C.

APÉNDICE III

Concentraciones de DNA, obtenidas a partir de las 15 muestras de tejido congelado de *Hodomys alleni* utilizadas en este trabajo.

Muestra	Concentración ng/ μ l
CNMA 46964	81.9
CNMA 46965	70.4
CNMA 46966	121.1
CNMA 46967	34
CNMA 46968	99.6
CNMA 46969	16.1
CNMA 46970	62
CNMA 47387	108.6
CNMA 47710	69.1
CNMA 47711	39
CNMA 47718	82.9
FAC 4773	27.5
FAC 4774	83.7
FAC 4777	96.1
FAC 4778	65.3

APÉNDICE IV

Datos de colecta del ejemplar voucher, de donde se obtuvieron las secuencias del gen Citocromo Oxidasa c subunidad I (COI) tomadas de la base de datos BOLDSYSTEM y Genbank así como sus ejemplares de referencia.

No. Cat.= número de catálogo; CNMA= Colección Nacional de Mamíferos, Instituto de Biología, UNAM; ROM= Royal Ontario Museum, Toronto, Canadá; PSPU = Penza State Pedagogical University, Rusia; S/D = Sin datos de colecta; NCBI = National Center for Biotechnology Information; S/N = Sin número de acceso.

Taxón	Localidad	Colección y No. Cat.	No. acceso BOLD	No. acceso Genbank
<i>Hodomys alleni vetula</i>	Cosoltepec, Oaxaca, México.	CNMA 45236	FCMUN167-09	HM422246
<i>Hodomys alleni alleni</i>	Coquimatlán, Colima, México.	CNMA 46567	FCMUN303-13	S/N
<i>Hodomys alleni alleni</i>	Coquimatlán, Colima, México.	CNMA 46568	FCMUN304-13	S/N
<i>Hodomys alleni alleni</i>	Coquimatlán, Colima, México.	CNMA 46569	FCMUN305-13	S/N
<i>Neotoma cinerea</i>	Kananaskis, Alberta, Canadá.	ROM 118674	ABMWC020-06	JF456974
<i>Neotoma cinerea</i>	Kananaskis, Alberta, Canadá.	ROM 118677	ABMWC064-06	JF456970
<i>Neotoma cinerea</i>	Kananaskis, Alberta, Canadá.	ROM 118678	ABMWC069-06	JF456975
<i>Xenomys nelsoni</i>	La Huerta, Jalisco, México.	CNMA 42984	FCMUN301-13	S/N
<i>Xenomys nelsoni</i>	La Huerta, Jalisco, México.	CNMA 42985	FCMUN137-09	S/N
<i>Xenomys nelsoni</i>	La Huerta, Jalisco, México.	CNMA 42986	FCMUN138-09	GU686262
<i>Xenomys nelsoni</i>	La Huerta, Jalisco, México.	CNMA 42987	FCMUN302-13	S/N
<i>Xenomys nelsoni</i>	La Huerta, Jalisco, México.	CNMA 42991	FCMUN139-09	GU686264
<i>Habromys lophurus</i>	Huehuetenango, Guatemala.	ROM 98298	ABCSA060-06	JF444497
<i>Habromys lophurus</i>	Huehuetenango, Guatemala.	ROM 98370	ABCSA131-06	JF444492
<i>Habromys lophurus</i>	Huehuetenango, Guatemala.	ROM 98379	ABCSA140-06	JF444496
<i>Neotomodon alstoni</i>	Distrito Federal, Venezuela.	ROM ASK693	ABMXA459-06	JF446037

(continuación apéndice IV)

Taxón	Localidad	Colección y No. Cat.	No. acceso BOLD	No. acceso Genbank
<i>Neotomodon alstoni</i>	Distrito Federal, Venezuela.	ROM ASK705	ABMXA471-06	JF446047
<i>Neotomodon alstoni</i>	Distrito Federal, Venezuela.	ROM ASK747	ABMXA496-06	JF446056
<i>Onychomys leucogaster</i>	Nuevo México, Estados Unidos de América.	ROM ASK848	ABMUS013-06	JF444966
<i>Onychomys leucogaster</i>	Nuevo México, Estados Unidos de América.	ROM ASK851	ABMUS016-06	JF444968
<i>Onychomys leucogaster</i>	Nuevo México, Estados Unidos de América.	ROM ASK857	ABMUS022-06	JF444972
<i>Osgoodomys banderanus</i>	La Huerta, Jalisco, México.	CNMA 42951	FCMUN155-09	GU686238
<i>Osgoodomys banderanus</i>	La Huerta, Jalisco, México.	CNMA 42974	FCMUN156-09	GU686239
<i>Osgoodomys banderanus</i>	La Huerta, Jalisco, México.	CNMA 42976	FCMUN157-09	GU686235
<i>Peromyscus aztecus</i>	Chilpancingo de los Bravos, Guerrero, México.	CNMA 40064	FCMUN148-09	GU686248
<i>Peromyscus aztecus</i>	Chilpancingo de los Bravos, Guerrero, México.	CNMA 40067	FCMUN151-09	GU686245
<i>Peromyscus aztecus</i>	Chilpancingo de los Bravos, Guerrero, México.	CNMA 40070	FCMUN152-09	GU686240
<i>Reithrodontomys sumichrasti</i>	Chilpancingo de los Bravo, Guerrero, México.	CNMA 40160	FCMUN142-09	GU686254
<i>Reithrodontomys sumichrasti</i>	Chilpancingo de los Bravo, Guerrero, México.	CNMA 40164	FCMUN141-09	GU686260
<i>Reithrodontomys sumichrasti</i>	Chilpancingo de los Bravo, Guerrero, México.	CNMA 40167	FCMUN143-09	GU686256

(continuación apéndice IV)

Taxón	Localidad	Colección y No. Cat.	No. acceso BOLD	No. acceso Genbank
<i>Reithrodontomys fulvescens</i>	Tamaulipas, México.	ROM 96109	ABMXC165-06	JF446188
<i>Reithrodontomys fulvescens</i>	Tamaulipas, México.	ROM 96121	ABMXC177-06	JF446187
<i>Reithrodontomys fulvescens</i>	Nayarit, México.	ROM ASK1589	ABMXA597-06	JF446186
<i>Sigmodon hispidus</i>	Campeche, México.	ROM ASK2561	ABMXB556-06	JF492710
<i>Sigmodon hispidus</i>	Campeche, México.	ROM 96334	ABMXC251-06	JF492703
<i>Sigmodon hispidus</i>	Yucatán, México.	ROM 96471	ABMXC306-06	JF492694
<i>Sigmodon mascotensis</i>	Jalisco, México.	ROM ASK1802	ABMXB107-06	JF492742
<i>Sigmodon mascotensis</i>	Jalisco, México.	ROM ASK1803	ABMXB108-06	JF492741
<i>Sigmodon mascotensis</i>	Jalisco, México.	ROM ASK1804	ABMXB109-06	JF492740
<i>Otodylomys phyllotis</i>	El Progreso, Guatemala.	ROM 98525	ABCSA249-06	JQ600870
<i>Otodylomys phyllotis</i>	Alta Verapaz, Guatemala.	ROM 98526	ABCSA250-06	JQ600871
<i>Otodylomys phyllotis</i>	Campeche, México.	ROM 95677	ABMXB742-06	JQ600402
<i>Tylomys nudicaudus</i>	Peten, Guatemala.	ROM 101210	ABCSA676-06	JF444752

(continuación apéndice IV)

Taxón	Localidad	Colección y No. Cat.	No. acceso BOLD	No. acceso Genbank
<i>Tylomys nudicaudus</i>	Chiapas, México.	ROM ASK68	ABMXA056-06	JF446279
<i>Tylomys nudicaudus</i>	Chiapas, México.	ROM ASK69	ABMXA057-06	JF446280
<i>Romerolagus diazi</i>	Estado de México, México.	CNMA 44533	FCMUN184-09	GU686216
<i>Romerolagus diazi</i>	Estado de México, México.	CNMA 44534	FCMUN185-09	GU686215
<i>Lepus californicus</i>	Durango, México	CNMA 40008	FCMUN181-09	GU686218
<i>Lepus californicus</i>	Durango, México	CNMA 40020	FCMUN180-09	GU686236
<i>Lepus callotis</i>	Jalisco, México	CNMA 34849	FCMUN289-13	S/N
<i>Lepus callotis</i>	Jalisco, México	CNMA 34850	FCMUN290-13	S/N
<i>Sylvilagus audubonii</i>	Durango, México	CNMA 39965	FCMUN053-09	GU686116
<i>Sylvilagus audubonii</i>	Durango, México.	CNMA 40042	FCMUN054-09	GU686117
<i>Sylvilagus cunicularius</i>	Guerrero, México.	CNMA 40387	FCMUN056-09	GU686118
<i>Sylvilagus cunicularius</i>	Guerrero, México.	CNMA 40388	FCMUN063-09	GU686119
<i>Sylvilagus floridanus</i>	Oaxaca, México	CNMA 37826	FCMUN061-09	HM902295
<i>Sylvilagus floridanus</i>	Oaxaca, México	CNMA 40194	FCMUN060-09	HM376322
<i>Oryctolagus cuniculus</i>	Exception-Culture	CCL-60	RDATC030-05	S/N
<i>Oryctolagus cuniculus</i>	Exception-Culture	CCL-60(2)	RDATC044-06	S/N

APÉNDICE V

Datos de colecta del ejemplar voucher, de donde se obtuvieron las secuencias nucleotídicas del género *Nelsonia* obtenidas del trabajo de León Tapia (2013).

No. Cat.= número de catálogo; CNMA= Colección Nacional de Mamíferos, Instituto de Biología, UNAM; CIIDIR-Durango-IPN = Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Durango dependiente del Instituto Politécnico Nacional; CRD= Colección Regional de Durango (Mammalia).

Taxón	Localidad	Colección y No. Cat.	Fecha de colecta
<i>Nelsonia neotomodon</i>	El Taray, Suchíl, Durango, México.	CNMA 39038	4-agosto-1995
<i>Nelsonia neotomodon</i>	Guachochi, Durango, México.	CIIDIR-Durango-IPN. CRD3737	12-noviembre-2012
<i>Nelsonia goldmani</i>	Jilotepec, Estado de México, México.	CNMA 46291	16-octubre-2010
<i>Nelsonia goldmani</i>	Jilotepec, Estado de México, México.	CNMA 46292	16-octubre-2010
<i>Nelsonia goldmani cliffoni</i>	Nevado de Colima, Jalisco, México.	CNMA 46290	14-diciembre-2011
<i>Nelsonia goldmani cliffoni</i>	Nevado de Colima, Jalisco, México.	CNMA 46614	17-diciembre-2012
<i>Nelsonia goldmani cliffoni</i>	Nevado de Colima, Jalisco, México.	CNMA 46615	22-diciembre-2012

APÉNDICE VI

Matriz de distancias genéticas de las 81 secuencias nucleotídicas empleadas en el análisis

Secuencia	Distancia genética				
	1	2	3	4	5
-					
1. CNMA 46964 <i>Hodomys alleni alleni</i>	-	-	-	-	-
2. CNMA 46965 <i>Hodomys alleni alleni</i>	0.002	-	-	-	-
3. CNMA 46966 <i>Hodomys alleni alleni</i>	0.000	0.002	-	-	-
4. CNMA 46967 <i>Hodomys alleni alleni</i>	0.000	0.002	0.000	-	-
5. CNMA 46968 <i>Hodomys alleni alleni</i>	0.000	0.002	0.000	0.000	-
6. CNMA 46969 <i>Hodomys alleni alleni</i>	0.004	0.002	0.004	0.004	0.004
7. CNMA 46970 <i>Hodomys alleni alleni</i>	0.004	0.002	0.004	0.004	0.004
8. CNMA 47387 <i>Hodomys alleni alleni</i>	0.005	0.004	0.005	0.005	0.005
9. CNMA 47710 <i>Hodomys alleni alleni</i>	0.004	0.002	0.004	0.004	0.004
10. CNMA 47711 <i>Hodomys alleni alleni</i>	0.002	0.000	0.002	0.002	0.002
11. CNMA 47718 <i>Hodomys alleni alleni</i>	0.000	0.002	0.000	0.000	0.000
12. FAC 4773 <i>Hodomys alleni alleni</i>	0.000	0.002	0.000	0.000	0.000
13. FAC 4774 <i>Hodomys alleni alleni</i>	0.000	0.002	0.000	0.000	0.000
14. FAC 4777 <i>Hodomys alleni alleni</i>	0.000	0.002	0.000	0.000	0.000
15. FAC 4778 <i>Hodomys alleni alleni</i>	0.000	0.002	0.000	0.000	0.000
16. CNMA 46567 <i>Hodomys alleni alleni</i>	0.000	0.002	0.000	0.000	0.000
17. CNMA 46568 <i>Hodomys alleni alleni</i>	0.000	0.002	0.000	0.000	0.000
18. CNMA 46569 <i>Hodomys alleni alleni</i>	0.000	0.002	0.000	0.000	0.000
19. CNMA 45236 <i>Hodomys alleni velutus</i>	0.085	0.087	0.085	0.085	0.085
20. CNMA 39038 <i>Nelsonia neotomodon</i>	0.186	0.183	0.186	0.186	0.186
21. CRD 3737 <i>Nelsonia neotomodon</i>	0.198	0.195	0.198	0.198	0.198
22. CNMA 46291 <i>Nelsonia goldmani</i>	0.181	0.183	0.181	0.181	0.181
23. CNMA 46292 <i>Nelsonia goldmani</i>	0.181	0.183	0.181	0.181	0.181
24. CNMA 46290 <i>Nelsonia goldmani cliftoni</i>	0.219	0.221	0.219	0.219	0.219
25. CNMA 46614 <i>Nelsonia goldmani cliftoni</i>	0.219	0.221	0.219	0.219	0.219
26. CNMA 46615 <i>Nelsonia goldmani cliftoni</i>	0.219	0.221	0.219	0.219	0.219
27. ROM 118674 <i>Neotoma cinerea</i>	0.171	0.171	0.171	0.171	0.171
28. ROM 118677 <i>Neotoma cinerea</i>	0.164	0.164	0.164	0.164	0.164
29. ROM 118678 <i>Neotoma cinerea</i>	0.164	0.164	0.164	0.164	0.164
30. CNMA 42984 <i>Xenomys nelsoni</i>	0.159	0.159	0.159	0.159	0.159
31. CNMA 42985 <i>Xenomys nelsoni</i>	0.161	0.161	0.161	0.161	0.161
32. CNMA 42986 <i>Xenomys nelsoni</i>	0.161	0.161	0.161	0.161	0.161
33. CNMA 42987 <i>Xenomys nelsoni</i>	0.159	0.159	0.159	0.159	0.159
34. CNMA 42991 <i>Xenomys nelsoni</i>	0.159	0.159	0.159	0.159	0.159
35. ROM 98298 <i>Habromys lophurus</i>	0.220	0.218	0.220	0.220	0.220

(continuación apéndice VI)

Secuencia	1	2	3	4	5
36. ROM 98370 <i>Habromys lophurus</i>	0.220	0.218	0.220	0.220	0.220
37. ROM 98379 <i>Habromys lophurus</i>	0.230	0.228	0.230	0.230	0.230
38. ASK 693 <i>Neotomodon alstoni</i>	0.195	0.195	0.195	0.195	0.195
39. ASK 705 <i>Neotomodon alstoni</i>	0.198	0.198	0.198	0.198	0.198
40. ASK 747 <i>Neotomodon alstoni</i>	0.198	0.198	0.198	0.198	0.198
41. ASK 848 <i>Onychomys leucogaster</i>	0.204	0.201	0.204	0.204	0.204
42. ASK 851 <i>Onychomys leucogaster</i>	0.204	0.201	0.204	0.204	0.204
43. ASK 857 <i>Onychomys leucogaster</i>	0.224	0.222	0.224	0.224	0.224
44. CNMA 42951 <i>Osgoodomys banderanus</i>	0.207	0.207	0.207	0.207	0.207
45. CNMA 42974 <i>Osgoodomys banderanus</i>	0.205	0.205	0.205	0.205	0.205
46. CNMA 42976 <i>Osgoodomys banderanus</i>	0.207	0.207	0.207	0.207	0.207
47. CNMA 40064 <i>Peromyscus aztecus</i>	0.192	0.192	0.192	0.192	0.192
48. CNMA 40067 <i>Peromyscus aztecus</i>	0.192	0.192	0.192	0.192	0.192
49. CNMA 40070 <i>Peromyscus aztecus</i>	0.192	0.192	0.192	0.192	0.192
50. CNMA 40160 <i>Reithrodontomys sumichrasti</i>	0.214	0.214	0.214	0.214	0.214
51. CNMA 40164 <i>Reithrodontomys sumichrasti</i>	0.211	0.211	0.211	0.211	0.211
52. CNMA 40167 <i>Reithrodontomys sumichrasti</i>	0.214	0.214	0.214	0.214	0.214
53. ROM 96109 <i>Reithrodontomys fulvescens</i>	0.200	0.197	0.200	0.200	0.200
54. ROM 96121 <i>Reithrodontomys fulvescens</i>	0.192	0.190	0.192	0.192	0.192
55. ASK 1589 <i>Reithrodontomys fulvescens</i>	0.217	0.214	0.217	0.217	0.217
56. ASK 2561 <i>Sigmodon hispidus</i>	0.221	0.224	0.221	0.221	0.221
57. ROM 96334 <i>Sigmodon hispidus</i>	0.221	0.224	0.221	0.221	0.221
58. ROM 96471 <i>Sigmodon hispidus</i>	0.221	0.224	0.221	0.221	0.221
59. ASK 1802 <i>Sigmodon mascotensis</i>	0.219	0.216	0.219	0.219	0.219
60. ASK 1803 <i>Sigmodon mascotensis</i>	0.221	0.219	0.221	0.221	0.221
61. ASK 1804 <i>Sigmodon mascotensis</i>	0.221	0.219	0.221	0.221	0.221
62. ROM 98525 <i>Otodylomys phyllotis</i>	0.226	0.224	0.226	0.226	0.226
63. ROM 98526 <i>Otodylomys phyllotis</i>	0.224	0.221	0.224	0.224	0.224
64. ROM 95677 <i>Otodylomys phyllotis</i>	0.237	0.234	0.237	0.237	0.237
65. ROM 101210 <i>Tylomys nudicaudus</i>	0.222	0.224	0.222	0.222	0.222
66. ASK 68 <i>Tylomys nudicaudus</i>	0.232	0.235	0.232	0.232	0.232
67. ASK 69 <i>Tylomys nudicaudus</i>	0.232	0.235	0.232	0.232	0.232
68. CNMA 44533 <i>Romerolagus diazi</i>	0.230	0.232	0.230	0.230	0.230
69. CNMA 44534 <i>Romerolagus diazi</i>	0.232	0.235	0.232	0.232	0.232
70. CNMA 40008 <i>Lepus californicus</i>	0.242	0.244	0.242	0.242	0.242
71. CNMA 40020 <i>Lepus californicus</i>	0.244	0.247	0.244	0.244	0.244
72. CNMA 34849 <i>Lepus callotis</i>	0.245	0.247	0.245	0.245	0.245
73. CNMA 34850 <i>Lepus callotis</i>	0.245	0.247	0.245	0.245	0.245
74. CNMA 39965 <i>Sylvilagus audubonii</i>	0.236	0.236	0.236	0.236	0.236

(continuación apéndice VI)

Secuencia	1	2	3	4	5
75. CNMA 40042 <i>Sylvilagus audubonii</i>	0.239	0.239	0.239	0.239	0.239
76. CNMA 40387 <i>Sylvilagus cunicularius</i>	0.254	0.254	0.254	0.254	0.254
77. CNMA 40388 <i>Sylvilagus cunicularius</i>	0.249	0.249	0.249	0.249	0.249
78. CNMA 37826 <i>Sylvilagus floridanus</i>	0.229	0.229	0.229	0.229	0.229
79. CNMA 40194 <i>Sylvilagus floridanus</i>	0.229	0.229	0.229	0.229	0.229
80. CCL-60 <i>Oryctolagus cuniculus</i>	0.257	0.255	0.257	0.257	0.257
81. CCL-60(2) <i>Oryctolagus cuniculus</i>	0.257	0.255	0.257	0.257	0.257

	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
7	0.000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	0.002	0.002	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	0.000	0.000	0.002	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	0.002	0.002	0.004	0.002	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	0.004	0.004	0.005	0.004	0.002	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	0.004	0.004	0.005	0.004	0.002	0.000	-	-	-	-	-	-	-	-
13	0.004	0.004	0.005	0.004	0.002	0.000	0.000	-	-	-	-	-	-	-
14	0.004	0.004	0.005	0.004	0.002	0.000	0.000	0.000	-	-	-	-	-	-
15	0.004	0.004	0.005	0.004	0.002	0.000	0.000	0.000	0.000	-	-	-	-	-
16	0.004	0.004	0.005	0.004	0.002	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	-	-	-	-
17	0.004	0.004	0.005	0.004	0.002	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	-	-	-
18	0.004	0.004	0.005	0.004	0.002	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	-	-
19	0.089	0.089	0.091	0.089	0.087	0.085	0.085	0.085	0.085	0.085	0.085	0.085	0.085	-
20	0.186	0.186	0.183	0.186	0.183	0.186	0.186	0.186	0.186	0.186	0.186	0.186	0.186	0.193
21	0.198	0.198	0.195	0.198	0.195	0.198	0.198	0.198	0.198	0.198	0.198	0.198	0.198	0.195
22	0.185	0.185	0.183	0.185	0.183	0.181	0.181	0.181	0.181	0.181	0.181	0.181	0.181	0.180
23	0.185	0.185	0.183	0.185	0.183	0.181	0.181	0.181	0.181	0.181	0.181	0.181	0.181	0.180
24	0.224	0.224	0.221	0.224	0.221	0.219	0.219	0.219	0.219	0.219	0.219	0.219	0.219	0.218
25	0.224	0.224	0.221	0.224	0.221	0.219	0.219	0.219	0.219	0.219	0.219	0.219	0.219	0.218
26	0.224	0.224	0.221	0.224	0.221	0.219	0.219	0.219	0.219	0.219	0.219	0.219	0.219	0.218
27	0.173	0.173	0.171	0.173	0.171	0.171	0.171	0.171	0.171	0.171	0.171	0.171	0.171	0.180
28	0.166	0.166	0.164	0.166	0.164	0.164	0.164	0.164	0.164	0.164	0.164	0.164	0.164	0.178
29	0.166	0.166	0.164	0.166	0.164	0.164	0.164	0.164	0.164	0.164	0.164	0.164	0.164	0.178
30	0.161	0.161	0.164	0.161	0.159	0.159	0.159	0.159	0.159	0.159	0.159	0.159	0.159	0.175
31	0.163	0.163	0.166	0.163	0.161	0.161	0.161	0.161	0.161	0.161	0.161	0.161	0.161	0.175
32	0.164	0.164	0.166	0.164	0.161	0.161	0.161	0.161	0.161	0.161	0.161	0.161	0.161	0.177
33	0.161	0.161	0.164	0.161	0.159	0.159	0.159	0.159	0.159	0.159	0.159	0.159	0.159	0.165
34	0.161	0.161	0.164	0.161	0.159	0.159	0.159	0.159	0.159	0.159	0.159	0.159	0.159	0.175
35	0.220	0.220	0.218	0.220	0.218	0.220	0.220	0.220	0.220	0.220	0.220	0.220	0.220	0.222
36	0.220	0.220	0.218	0.220	0.218	0.220	0.220	0.220	0.220	0.220	0.220	0.220	0.220	0.222
37	0.230	0.230	0.228	0.230	0.228	0.230	0.230	0.230	0.230	0.230	0.230	0.230	0.230	0.225

(continuación apéndice VI)

	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
38	0.198	0.198	0.195	0.198	0.195	0.195	0.195	0.195	0.195	0.195	0.195	0.195	0.195	0.187
39	0.200	0.200	0.198	0.200	0.198	0.198	0.198	0.198	0.198	0.198	0.198	0.198	0.198	0.190
40	0.200	0.200	0.198	0.200	0.198	0.198	0.198	0.198	0.198	0.198	0.198	0.198	0.198	0.190
41	0.204	0.204	0.201	0.204	0.201	0.204	0.204	0.204	0.204	0.204	0.204	0.204	0.204	0.211
42	0.204	0.204	0.201	0.204	0.201	0.204	0.204	0.204	0.204	0.204	0.204	0.204	0.204	0.211
43	0.224	0.224	0.222	0.224	0.222	0.224	0.224	0.224	0.224	0.224	0.224	0.224	0.224	0.223
44	0.207	0.207	0.205	0.207	0.207	0.207	0.207	0.207	0.207	0.207	0.207	0.207	0.207	0.214
45	0.205	0.205	0.202	0.205	0.205	0.205	0.205	0.205	0.205	0.205	0.205	0.205	0.205	0.212
46	0.207	0.207	0.205	0.207	0.207	0.207	0.207	0.207	0.207	0.207	0.207	0.207	0.207	0.214
47	0.192	0.192	0.190	0.192	0.192	0.192	0.192	0.192	0.192	0.192	0.192	0.192	0.192	0.197
48	0.192	0.192	0.190	0.192	0.192	0.192	0.192	0.192	0.192	0.192	0.192	0.192	0.192	0.197
49	0.192	0.192	0.190	0.192	0.192	0.192	0.192	0.192	0.192	0.192	0.192	0.192	0.192	0.197
50	0.217	0.217	0.214	0.217	0.214	0.214	0.214	0.214	0.214	0.214	0.214	0.214	0.214	0.196
51	0.214	0.214	0.211	0.214	0.211	0.211	0.211	0.211	0.211	0.211	0.211	0.211	0.211	0.198
52	0.217	0.217	0.214	0.217	0.214	0.214	0.214	0.214	0.214	0.214	0.214	0.214	0.214	0.196
53	0.200	0.200	0.197	0.200	0.197	0.200	0.200	0.200	0.200	0.200	0.200	0.200	0.200	0.214
54	0.192	0.192	0.190	0.192	0.190	0.192	0.192	0.192	0.192	0.192	0.192	0.192	0.192	0.211
55	0.217	0.217	0.214	0.217	0.214	0.217	0.217	0.217	0.217	0.217	0.217	0.217	0.217	0.226
56	0.226	0.226	0.224	0.226	0.224	0.221	0.221	0.221	0.221	0.221	0.221	0.221	0.221	0.243
57	0.226	0.226	0.224	0.226	0.224	0.221	0.221	0.221	0.221	0.221	0.221	0.221	0.221	0.243
58	0.226	0.226	0.224	0.226	0.224	0.221	0.221	0.221	0.221	0.221	0.221	0.221	0.221	0.243
59	0.219	0.219	0.216	0.219	0.216	0.219	0.219	0.219	0.219	0.219	0.219	0.219	0.219	0.228
60	0.221	0.221	0.219	0.221	0.219	0.221	0.221	0.221	0.221	0.221	0.221	0.221	0.221	0.231
61	0.221	0.221	0.219	0.221	0.219	0.221	0.221	0.221	0.221	0.221	0.221	0.221	0.221	0.231
62	0.224	0.224	0.221	0.224	0.224	0.226	0.226	0.226	0.226	0.226	0.226	0.226	0.226	0.245
63	0.221	0.221	0.219	0.221	0.221	0.224	0.224	0.224	0.224	0.224	0.224	0.224	0.224	0.222
64	0.234	0.234	0.232	0.234	0.234	0.237	0.237	0.237	0.237	0.237	0.237	0.237	0.237	0.229
65	0.222	0.222	0.219	0.222	0.224	0.222	0.222	0.222	0.222	0.222	0.222	0.222	0.222	0.252
66	0.232	0.232	0.229	0.232	0.235	0.232	0.232	0.232	0.232	0.232	0.232	0.232	0.232	0.224
67	0.232	0.232	0.229	0.232	0.235	0.232	0.232	0.232	0.232	0.232	0.232	0.232	0.232	0.224
68	0.235	0.235	0.237	0.235	0.232	0.230	0.230	0.230	0.230	0.230	0.230	0.230	0.230	0.240
69	0.237	0.237	0.240	0.237	0.235	0.232	0.232	0.232	0.232	0.232	0.232	0.232	0.232	0.242
70	0.242	0.242	0.244	0.242	0.244	0.242	0.242	0.242	0.242	0.242	0.242	0.242	0.242	0.231
71	0.244	0.244	0.247	0.244	0.247	0.244	0.244	0.244	0.244	0.244	0.244	0.244	0.244	0.234
72	0.245	0.245	0.247	0.245	0.247	0.245	0.245	0.245	0.245	0.245	0.245	0.245	0.245	0.239
73	0.245	0.245	0.247	0.245	0.247	0.245	0.245	0.245	0.245	0.245	0.245	0.245	0.245	0.239
74	0.239	0.239	0.241	0.239	0.236	0.236	0.236	0.236	0.236	0.236	0.236	0.236	0.236	0.233
75	0.241	0.241	0.244	0.241	0.239	0.239	0.239	0.239	0.239	0.239	0.239	0.239	0.239	0.231
76	0.257	0.257	0.260	0.257	0.254	0.254	0.254	0.254	0.254	0.254	0.254	0.254	0.254	0.238
77	0.251	0.251	0.254	0.251	0.249	0.249	0.249	0.249	0.249	0.249	0.249	0.249	0.249	0.233
78	0.231	0.231	0.234	0.231	0.229	0.229	0.229	0.229	0.229	0.229	0.229	0.229	0.229	0.224

(continuación apéndice VI)

	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
79	0.231	0.231	0.234	0.231	0.229	0.229	0.229	0.229	0.229	0.229	0.229	0.229	0.229	0.224
80	0.257	0.257	0.260	0.257	0.255	0.257	0.257	0.257	0.257	0.257	0.257	0.257	0.257	0.254
81	0.257	0.257	0.260	0.257	0.255	0.257	0.257	0.257	0.257	0.257	0.257	0.257	0.257	0.254

	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32
21	0.043	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22	0.154	0.135	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
23	0.154	0.135	0.000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24	0.147	0.145	0.111	0.111	-	-	-	-	-	-	-	-	-
25	0.145	0.147	0.113	0.113	0.002	-	-	-	-	-	-	-	-
26	0.145	0.147	0.113	0.113	0.002	0.000	-	-	-	-	-	-	-
27	0.200	0.209	0.199	0.199	0.242	0.242	0.242	-	-	-	-	-	-
28	0.202	0.212	0.204	0.204	0.242	0.242	0.242	0.007	-	-	-	-	-
29	0.202	0.212	0.204	0.204	0.242	0.242	0.242	0.007	0.000	-	-	-	-
30	0.190	0.194	0.200	0.200	0.231	0.231	0.231	0.158	0.158	0.158	-	-	-
31	0.187	0.192	0.197	0.197	0.229	0.229	0.229	0.160	0.160	0.160	0.002	-	-
32	0.190	0.199	0.205	0.205	0.234	0.234	0.234	0.161	0.161	0.161	0.005	0.007	-
33	0.187	0.187	0.195	0.195	0.224	0.224	0.224	0.149	0.149	0.149	0.022	0.024	0.027
34	0.190	0.194	0.200	0.200	0.231	0.231	0.231	0.158	0.158	0.158	0.000	0.002	0.005
35	0.197	0.193	0.191	0.191	0.192	0.192	0.192	0.188	0.188	0.188	0.228	0.226	0.236
36	0.197	0.193	0.191	0.191	0.192	0.192	0.192	0.188	0.188	0.188	0.228	0.226	0.236
37	0.199	0.195	0.201	0.201	0.194	0.194	0.194	0.195	0.195	0.195	0.225	0.226	0.233
38	0.212	0.210	0.169	0.169	0.183	0.183	0.183	0.197	0.197	0.197	0.187	0.185	0.195
39	0.215	0.213	0.167	0.167	0.180	0.180	0.180	0.194	0.194	0.194	0.185	0.183	0.192
40	0.215	0.213	0.167	0.167	0.180	0.180	0.180	0.194	0.194	0.194	0.185	0.183	0.192
41	0.171	0.179	0.171	0.171	0.187	0.190	0.190	0.229	0.221	0.221	0.237	0.234	0.237
42	0.171	0.179	0.171	0.171	0.187	0.190	0.190	0.229	0.221	0.221	0.237	0.234	0.237
43	0.173	0.168	0.190	0.190	0.199	0.196	0.196	0.204	0.207	0.207	0.216	0.214	0.221
44	0.180	0.168	0.173	0.173	0.188	0.191	0.191	0.197	0.197	0.197	0.186	0.184	0.194
45	0.177	0.166	0.170	0.170	0.186	0.188	0.188	0.195	0.195	0.195	0.184	0.182	0.191
46	0.180	0.168	0.168	0.168	0.184	0.186	0.186	0.192	0.192	0.192	0.182	0.180	0.189
47	0.202	0.190	0.192	0.192	0.210	0.210	0.210	0.194	0.189	0.189	0.197	0.197	0.204
48	0.202	0.195	0.197	0.197	0.215	0.215	0.215	0.189	0.184	0.184	0.192	0.192	0.199
49	0.202	0.190	0.192	0.192	0.210	0.210	0.210	0.194	0.189	0.189	0.197	0.197	0.204
50	0.166	0.168	0.164	0.164	0.200	0.202	0.202	0.194	0.199	0.199	0.178	0.180	0.185
51	0.161	0.168	0.167	0.167	0.200	0.202	0.202	0.191	0.196	0.196	0.175	0.178	0.182
52	0.166	0.168	0.164	0.164	0.200	0.202	0.202	0.194	0.199	0.199	0.178	0.180	0.185
53	0.194	0.196	0.204	0.204	0.220	0.220	0.220	0.181	0.179	0.179	0.186	0.189	0.194

(continuación apéndice VI)

	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32
54	0.189	0.191	0.204	0.204	0.215	0.215	0.215	0.184	0.181	0.181	0.189	0.191	0.196
55	0.208	0.206	0.208	0.208	0.220	0.220	0.220	0.191	0.189	0.189	0.199	0.201	0.206
56	0.209	0.216	0.234	0.234	0.244	0.244	0.244	0.232	0.232	0.232	0.226	0.228	0.231
57	0.209	0.216	0.234	0.234	0.244	0.244	0.244	0.232	0.232	0.232	0.226	0.228	0.231
58	0.209	0.216	0.234	0.234	0.244	0.244	0.244	0.232	0.232	0.232	0.226	0.228	0.231
59	0.221	0.219	0.222	0.222	0.235	0.235	0.235	0.214	0.214	0.214	0.203	0.205	0.210
60	0.223	0.218	0.217	0.217	0.232	0.232	0.232	0.219	0.219	0.219	0.196	0.198	0.203
61	0.223	0.218	0.217	0.217	0.232	0.232	0.232	0.219	0.219	0.219	0.196	0.198	0.203
62	0.207	0.214	0.198	0.198	0.224	0.224	0.224	0.193	0.190	0.190	0.206	0.208	0.211
63	0.205	0.207	0.196	0.196	0.222	0.222	0.222	0.210	0.207	0.207	0.199	0.201	0.204
64	0.200	0.202	0.191	0.191	0.224	0.224	0.224	0.200	0.197	0.197	0.204	0.206	0.209
65	0.226	0.219	0.217	0.217	0.239	0.239	0.239	0.221	0.223	0.223	0.201	0.203	0.206
66	0.220	0.220	0.245	0.245	0.238	0.238	0.238	0.229	0.231	0.231	0.213	0.213	0.213
67	0.220	0.220	0.245	0.245	0.238	0.238	0.238	0.229	0.231	0.231	0.213	0.213	0.213
68	0.205	0.217	0.231	0.231	0.212	0.209	0.209	0.243	0.246	0.246	0.203	0.200	0.208
69	0.202	0.220	0.234	0.234	0.214	0.212	0.212	0.241	0.243	0.243	0.205	0.203	0.210
70	0.211	0.237	0.258	0.258	0.214	0.214	0.214	0.249	0.244	0.244	0.237	0.237	0.243
71	0.209	0.234	0.255	0.255	0.217	0.217	0.217	0.252	0.246	0.246	0.235	0.235	0.240
72	0.224	0.250	0.250	0.250	0.220	0.220	0.220	0.241	0.236	0.236	0.232	0.232	0.238
73	0.224	0.250	0.250	0.250	0.220	0.220	0.220	0.241	0.236	0.236	0.232	0.232	0.238
74	0.228	0.231	0.257	0.257	0.237	0.237	0.237	0.239	0.233	0.233	0.217	0.217	0.225
75	0.226	0.226	0.260	0.260	0.235	0.235	0.235	0.244	0.238	0.238	0.212	0.212	0.220
76	0.238	0.252	0.262	0.262	0.232	0.232	0.232	0.234	0.229	0.229	0.220	0.220	0.227
77	0.233	0.244	0.252	0.252	0.212	0.212	0.212	0.228	0.223	0.223	0.219	0.220	0.227
78	0.242	0.256	0.239	0.239	0.227	0.227	0.227	0.238	0.233	0.233	0.232	0.233	0.232
79	0.242	0.256	0.239	0.239	0.227	0.227	0.227	0.238	0.233	0.233	0.232	0.233	0.232
80	0.229	0.239	0.228	0.228	0.240	0.240	0.240	0.247	0.252	0.252	0.225	0.223	0.230
81	0.229	0.239	0.228	0.228	0.240	0.240	0.240	0.247	0.252	0.252	0.225	0.223	0.230

	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
34	0.022	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
35	0.226	0.228	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
36	0.226	0.228	0.000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
37	0.223	0.225	0.011	0.011	-	-	-	-	-	-	-	-	-
38	0.180	0.187	0.148	0.148	0.150	-	-	-	-	-	-	-	-
39	0.178	0.185	0.146	0.146	0.148	0.002	-	-	-	-	-	-	-
40	0.178	0.185	0.146	0.146	0.148	0.002	0.000	-	-	-	-	-	-
41	0.231	0.237	0.160	0.160	0.167	0.158	0.156	0.156	-	-	-	-	-
42	0.231	0.237	0.160	0.160	0.167	0.158	0.156	0.156	0.000	-	-	-	-

(continuación apéndice VI)

	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
43	0.208	0.216	0.161	0.161	0.165	0.155	0.153	0.153	0.108	0.108	-	-	-
44	0.182	0.186	0.162	0.162	0.162	0.152	0.155	0.155	0.160	0.160	0.186	-	-
45	0.179	0.184	0.162	0.162	0.162	0.150	0.152	0.152	0.159	0.159	0.188	0.004	-
46	0.177	0.182	0.160	0.160	0.160	0.153	0.150	0.150	0.157	0.157	0.186	0.004	0.004
47	0.199	0.197	0.173	0.173	0.170	0.129	0.127	0.127	0.171	0.171	0.198	0.143	0.141
48	0.194	0.192	0.168	0.168	0.165	0.129	0.127	0.127	0.171	0.171	0.198	0.148	0.145
49	0.199	0.197	0.173	0.173	0.170	0.129	0.127	0.127	0.171	0.171	0.198	0.143	0.141
50	0.168	0.178	0.188	0.188	0.185	0.169	0.167	0.167	0.188	0.188	0.189	0.162	0.164
51	0.166	0.175	0.185	0.185	0.182	0.169	0.167	0.167	0.184	0.184	0.189	0.162	0.164
52	0.168	0.178	0.183	0.183	0.180	0.169	0.167	0.167	0.188	0.188	0.189	0.162	0.164
53	0.179	0.186	0.145	0.145	0.149	0.169	0.167	0.167	0.161	0.161	0.176	0.150	0.150
54	0.182	0.189	0.145	0.145	0.149	0.174	0.171	0.171	0.157	0.157	0.176	0.146	0.146
55	0.191	0.199	0.154	0.154	0.158	0.181	0.179	0.179	0.185	0.185	0.180	0.157	0.157
56	0.226	0.226	0.241	0.241	0.246	0.220	0.217	0.217	0.229	0.229	0.236	0.221	0.224
57	0.226	0.226	0.241	0.241	0.246	0.220	0.217	0.217	0.229	0.229	0.236	0.221	0.224
58	0.226	0.226	0.241	0.241	0.246	0.220	0.217	0.217	0.229	0.229	0.236	0.221	0.224
59	0.205	0.203	0.201	0.201	0.213	0.202	0.205	0.205	0.210	0.210	0.203	0.224	0.224
60	0.205	0.196	0.201	0.201	0.208	0.198	0.200	0.200	0.208	0.208	0.198	0.222	0.221
61	0.205	0.196	0.201	0.201	0.208	0.198	0.200	0.200	0.208	0.208	0.198	0.222	0.221
62	0.199	0.206	0.237	0.237	0.237	0.211	0.209	0.209	0.227	0.227	0.240	0.211	0.209
63	0.201	0.199	0.230	0.230	0.230	0.224	0.221	0.221	0.230	0.230	0.238	0.218	0.216
64	0.196	0.204	0.233	0.233	0.233	0.226	0.224	0.224	0.232	0.232	0.230	0.216	0.214
65	0.206	0.201	0.236	0.236	0.230	0.215	0.217	0.217	0.222	0.222	0.245	0.201	0.199
66	0.220	0.213	0.230	0.230	0.227	0.237	0.239	0.239	0.237	0.237	0.219	0.206	0.206
67	0.220	0.213	0.230	0.230	0.227	0.237	0.239	0.239	0.237	0.237	0.219	0.206	0.206
68	0.200	0.203	0.209	0.209	0.207	0.229	0.227	0.227	0.217	0.217	0.210	0.202	0.206
69	0.203	0.205	0.211	0.211	0.209	0.232	0.229	0.229	0.219	0.219	0.212	0.204	0.209
70	0.243	0.237	0.237	0.237	0.232	0.224	0.227	0.227	0.227	0.227	0.217	0.260	0.257
71	0.240	0.235	0.235	0.235	0.230	0.227	0.229	0.229	0.224	0.224	0.215	0.257	0.255
72	0.235	0.232	0.247	0.247	0.240	0.231	0.229	0.229	0.227	0.227	0.225	0.278	0.276
73	0.235	0.232	0.247	0.247	0.240	0.231	0.229	0.229	0.227	0.227	0.225	0.278	0.276
74	0.212	0.217	0.227	0.227	0.217	0.227	0.229	0.229	0.239	0.239	0.217	0.233	0.237
75	0.207	0.212	0.224	0.224	0.214	0.226	0.229	0.229	0.242	0.242	0.214	0.233	0.237
76	0.205	0.220	0.224	0.224	0.220	0.219	0.222	0.222	0.227	0.227	0.212	0.258	0.261
77	0.205	0.219	0.219	0.219	0.214	0.214	0.217	0.217	0.229	0.229	0.211	0.251	0.253
78	0.222	0.232	0.219	0.219	0.212	0.234	0.231	0.231	0.219	0.219	0.237	0.248	0.253
79	0.222	0.232	0.219	0.219	0.212	0.234	0.231	0.231	0.219	0.219	0.237	0.248	0.253
80	0.225	0.225	0.226	0.226	0.236	0.219	0.222	0.222	0.224	0.224	0.220	0.228	0.230
81	0.225	0.225	0.226	0.226	0.236	0.219	0.222	0.222	0.224	0.224	0.220	0.228	0.230

(continuación apéndice VI)

-	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59
47	0.139	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
48	0.143	0.004	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
49	0.139	0.000	0.004	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
50	0.162	0.178	0.178	0.178	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
51	0.162	0.174	0.174	0.174	0.007	-	-	-	-	-	-	-	-	-
52	0.162	0.178	0.178	0.178	0.004	0.004	-	-	-	-	-	-	-	-
53	0.148	0.164	0.160	0.164	0.121	0.116	0.117	-	-	-	-	-	-	-
54	0.144	0.164	0.160	0.164	0.125	0.121	0.121	0.005	-	-	-	-	-	-
55	0.155	0.183	0.183	0.183	0.141	0.141	0.141	0.024	0.027	-	-	-	-	-
56	0.219	0.237	0.237	0.237	0.219	0.214	0.214	0.206	0.201	0.219	-	-	-	-
57	0.219	0.237	0.237	0.237	0.219	0.214	0.214	0.206	0.201	0.219	0.000	-	-	-
58	0.219	0.237	0.237	0.237	0.219	0.214	0.214	0.206	0.201	0.219	0.000	0.000	-	-
59	0.226	0.219	0.214	0.219	0.209	0.209	0.209	0.200	0.200	0.196	0.147	0.147	0.147	-
60	0.224	0.215	0.210	0.215	0.207	0.207	0.207	0.198	0.198	0.194	0.151	0.151	0.151	0.007
61	0.224	0.215	0.210	0.215	0.207	0.207	0.207	0.198	0.198	0.194	0.151	0.151	0.151	0.007
62	0.206	0.210	0.210	0.210	0.196	0.194	0.196	0.191	0.193	0.200	0.225	0.225	0.225	0.220
63	0.214	0.225	0.225	0.225	0.208	0.206	0.208	0.206	0.208	0.206	0.218	0.218	0.218	0.215
64	0.211	0.225	0.225	0.225	0.201	0.199	0.201	0.194	0.201	0.196	0.218	0.218	0.218	0.218
65	0.201	0.207	0.212	0.207	0.240	0.235	0.240	0.225	0.225	0.218	0.210	0.210	0.210	0.219
66	0.206	0.222	0.222	0.222	0.227	0.227	0.227	0.223	0.223	0.226	0.208	0.208	0.208	0.232
67	0.206	0.222	0.222	0.222	0.227	0.227	0.227	0.223	0.223	0.226	0.208	0.208	0.208	0.232
68	0.202	0.249	0.244	0.249	0.222	0.221	0.222	0.195	0.193	0.205	0.217	0.217	0.217	0.222
69	0.204	0.252	0.247	0.252	0.219	0.219	0.219	0.193	0.190	0.202	0.220	0.220	0.220	0.224
70	0.260	0.239	0.239	0.239	0.222	0.217	0.222	0.232	0.237	0.237	0.243	0.243	0.243	0.237
71	0.258	0.236	0.236	0.236	0.219	0.214	0.219	0.229	0.234	0.235	0.246	0.246	0.246	0.235
72	0.273	0.241	0.241	0.241	0.224	0.219	0.224	0.234	0.239	0.235	0.267	0.267	0.267	0.255
73	0.273	0.241	0.241	0.241	0.224	0.219	0.224	0.234	0.239	0.235	0.267	0.267	0.267	0.255
74	0.238	0.244	0.244	0.244	0.241	0.241	0.241	0.234	0.229	0.234	0.205	0.205	0.205	0.213
75	0.237	0.244	0.244	0.244	0.234	0.234	0.234	0.231	0.226	0.237	0.205	0.205	0.205	0.208
76	0.263	0.249	0.249	0.249	0.232	0.231	0.232	0.234	0.239	0.240	0.223	0.223	0.223	0.206
77	0.256	0.242	0.242	0.242	0.224	0.224	0.224	0.233	0.233	0.239	0.213	0.213	0.213	0.198
78	0.248	0.239	0.234	0.239	0.236	0.233	0.236	0.228	0.228	0.229	0.233	0.233	0.233	0.230
79	0.248	0.239	0.234	0.239	0.236	0.233	0.236	0.228	0.228	0.229	0.233	0.233	0.233	0.230
80	0.233	0.247	0.247	0.247	0.229	0.229	0.229	0.214	0.219	0.219	0.231	0.231	0.231	0.197
81	0.233	0.247	0.247	0.247	0.229	0.229	0.229	0.214	0.219	0.219	0.231	0.231	0.231	0.197

(continuación apéndice VI)

-	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73
61	0.000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
62	0.222	0.222	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
63	0.217	0.217	0.066	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
64	0.220	0.220	0.070	0.024	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
65	0.214	0.214	0.170	0.186	0.193	-	-	-	-	-	-	-	-	-
66	0.231	0.231	0.186	0.191	0.189	0.123	-	-	-	-	-	-	-	-
67	0.231	0.231	0.186	0.191	0.189	0.123	0.000	-	-	-	-	-	-	-
68	0.227	0.227	0.221	0.232	0.239	0.239	0.227	0.227	-	-	-	-	-	-
69	0.229	0.229	0.224	0.234	0.242	0.241	0.229	0.229	0.002	-	-	-	-	-
70	0.237	0.237	0.256	0.232	0.243	0.231	0.223	0.223	0.172	0.170	-	-	-	-
71	0.234	0.234	0.259	0.235	0.245	0.229	0.221	0.221	0.170	0.167	0.002	-	-	-
72	0.255	0.255	0.253	0.230	0.235	0.240	0.245	0.245	0.187	0.184	0.026	0.027	-	-
73	0.255	0.255	0.253	0.230	0.235	0.240	0.245	0.245	0.187	0.184	0.026	0.027	0.000	-
74	0.215	0.215	0.239	0.235	0.232	0.224	0.234	0.234	0.187	0.184	0.173	0.171	0.186	0.186
75	0.211	0.211	0.242	0.237	0.235	0.227	0.234	0.234	0.184	0.182	0.171	0.169	0.188	0.188
76	0.208	0.208	0.250	0.248	0.235	0.237	0.236	0.236	0.203	0.201	0.182	0.180	0.200	0.200
77	0.205	0.205	0.243	0.248	0.240	0.239	0.226	0.226	0.191	0.188	0.182	0.180	0.200	0.200
78	0.232	0.232	0.229	0.248	0.240	0.237	0.247	0.247	0.192	0.190	0.188	0.191	0.206	0.206
79	0.232	0.232	0.229	0.248	0.240	0.237	0.247	0.247	0.192	0.190	0.188	0.191	0.206	0.206
80	0.199	0.199	0.217	0.227	0.222	0.237	0.258	0.258	0.167	0.169	0.178	0.175	0.190	0.190
81	0.199	0.199	0.217	0.227	0.222	0.237	0.258	0.258	0.167	0.169	0.178	0.175	0.190	0.190

	74	75	76	77	78	79	80
75	0.007	-	-	-	-	-	-
76	0.070	0.070	-	-	-	-	-
77	0.076	0.072	0.024	-	-	-	-
78	0.119	0.119	0.120	0.118	-	-	-
79	0.119	0.119	0.120	0.118	0.000	-	-
80	0.189	0.187	0.189	0.196	0.189	0.189	-
81	0.189	0.187	0.189	0.196	0.189	0.189	0.000