



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

## POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

INSTITUTO DE BIOLOGÍA

SISTEMÁTICA

La estructura genética del roedor *Osgoodomys banderanus* corresponde con su  
diversidad citotípica

# TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

**MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

PRESENTA:

**JAIRO ROSAS CARLIN**

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: Dr. Fernando Alfredo Cervantes Reza  
Instituto de Biología, UNAM

COMITÉ TUTOR: Dr. Alejandro Zaldívar Riverón, Instituto de Biología, UNAM  
Dra. Isolda Luna Vega, Facultad de Ciencias, UNAM

MÉXICO, D.F.

NOVIEMBRE, 2014



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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





# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

## POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

INSTITUTO DE BIOLOGÍA

SISTEMÁTICA

La estructura genética del roedor *Osgoodomys banderanus* corresponde con su  
diversidad citotípica

# TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

**MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

PRESENTA:

**JAIRO ROSAS CARLIN**

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: Dr. Fernando Alfredo Cervantes Reza  
Instituto de Biología, UNAM

COMITÉ TUTOR: Dr. Alejandro Zaldívar Riverón, Instituto de Biología, UNAM  
Dra. Isolda Luna Vega, Facultad de Ciencias, UNAM

MÉXICO, D.F.

NOVIEMBRE, 2014



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

Me permito informar a usted que en la reunión del Subcomité por Campo de Conocimiento Biología Evolutiva y Sistemática del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 25 de agosto de 2014, se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** del alumno **ROSAS CARLIN JAIRO** con número de cuenta **302249121** con la tesis titulada "**La estructura genética del roedor *Osgodomys banderanus* corresponde con su diversidad citotípica**", realizada bajo la dirección del **DR. FERNANDO ALFREDO CERVANTES REZA**:

Presidente: DR. JORGE IGNACIO SERVIN MARTINEZ  
Vocal: DRA. LIVIA SOCORRO LEON PANIAGUA  
Secretario: DR. ALEJANDRO ZALDIVAR RIVERON  
Suplente: DR. JOSE MARTIN GARCIA VARELA  
Suplente: DR. DAVID SEBASTIAN GERANDT

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

**ATENTAMENTE**  
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"  
Cd. Universitaria, D.F., a 9 de octubre de 2014.

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

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

### **Agradecimientos**

Al Posgrado en Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), por la oportunidad y la confianza que me otorgó para realizar mis estudios de posgrado.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONAYT) por la beca otorgada para el apoyo de mis estudios de maestría, y sin la cual este trabajo no habría sido posible.

A los miembros del comité tutor: el Dr. Alejandro Zaldívar Riverón, la Dra. Isolda Luna Vega y el Dr. Fernando Cervantes Reza, quienes contribuyeron en el desarrollo de este trabajo mediante sus sugerencias, comentarios, correcciones y enseñanzas.

### **Agradecimientos personales**

A todas las personas que contribuyeron en el desarrollo de este trabajo a través de comentarios, objeciones, cuestionamientos y apoyo en el campo. En particular:

Al Dr. Zaldivar por sus revisiones y sobre todo por la contribución de nuevos enfoques e ideas que enriquecieron el trabajo desde el primer tutorial.

Al Dr. Davit Gernant y al resto del jurado por sus observaciones y correcciones que enriquecieron el trabajo escrito.

A la M. en C. Luz M. Sil Berra por sus revisiones y correcciones que permitieron mejorar mi trabajo.

A la M. en F. P. Ana Isabel Bieler Antolín y al laboratorio de microcine de la Facultad de Ciencias por su apoyo en la toma de fotografías del cariotipo de las muestras de Mochitlán.

A todos los compañeros que compartieron momentos difíciles conmigo en el campo, desde desvelarse para preparar ejemplares hasta aquellos momentos de tensión que jamás olvidaremos.

## **Dedicatoria**

A Carya Elena por ser mi fuente de inspiración, y mi motor que me obliga cada día a tratar de ser mejor.

A todos los organismos colectados por demostrarme nuevamente la belleza, la inocencia y la complejidad de la naturaleza aún en sus detalles más pequeños.



## ÍNDICE

<b>RESUMEN</b>	<b>1</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>2</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>3</b>
<b>ANTECEDENTES</b>	
<i>Historia, taxonomía y sistemática del género Osgoodomys</i>	4
<i>Área de distribución y complejidad geográfica</i>	9
<i>Variación cromosómica y morfología entre poblaciones</i>	14
<b>OBJETIVOS</b>	<b>20</b>
<b>HIPÓTESIS</b>	<b>20</b>
<b>MATERIALES Y MÉTODO</b>	
<i>Muestreo de ejemplares</i>	21
<i>Extracción, amplificación y secuenciación de material genético</i>	22
<i>Edición de secuencias, alineamientos y análisis filogenéticos</i>	23
<i>Características genéticas de los citotipos</i>	25
<i>Sistemas de Información Geográfica, caracterización ambiental y modelado de nicho</i>	26
<b>RESULTADOS</b>	
<i>Muestras procesadas</i>	30
<i>Análisis filogenéticos</i>	31
<i>Características genéticas de los citotipos</i>	37
<i>Análisis ambiental y modelos de nicho ecológico</i>	44
<b>DISCUSIÓN</b>	
<i>Variabilidad cariotípica y patrones filogenéticos</i>	50
<i>Variabilidad y estructura genética</i>	52

<i>Estructura geográfica y ambiental</i>	53
<i>Integración de la evidencia y patrón biogeográfico</i>	54
<b>CONCLUSIONES</b>	58
<b>LITERATURA CITADA</b>	59
<b>ANEXOS</b>	70

## RESUMEN

La variación en los caracteres puede ser un indicio de la presencia de más de un linaje en una especie. El uso de un enfoque integrativo permite la recopilación de diferentes fuentes de información para tener un panorama más exacto de la historia evolutiva de los linajes. En el roedor *Osgoodomys banderanus*, la evidencia previa indica diferenciación genética a nivel cromosómico (citotipos) que sugiere la presencia de más de un linaje evolutivo. El objetivo de esta tesis fue evaluar si los patrones cariotípicos corresponden con historias evolutivas independientes reflejadas a través de marcadores moleculares mitocondriales, así como con características ambientales distinguibles a partir de Modelos de Nicho Ecológico (MNE). Los resultados indicaron que existe relación entre los patrones cariotípicos y los grupos encontrados en los análisis filogenéticos. Se encontraron tres grupos que corresponden a los citotipos A, D y B–C, siendo el citotipo D el de divergencia más antigua y los citotipos B y C los de más reciente divergencia. Los valores de distancia genética fueron altos para el citotipo D (10%) y A (5%) y similares entre los citotipos B y C (1%). La evidencia aportada por los MNE apoya la integridad de estos tres grupos, indicando distribuciones potenciales para el citotipo A en la región de la costa del Pacífico, para el citotipo D en la cuenca del río Balsas, y para citotipos B y C en la región central desde Jalisco hasta Guerrero. Los grupos reconocidos mantienen a su vez patrones de similitud con las subespecies, siendo el citotipo A equivalente a *O. b. banderanus* y los citotipos B–C similares a *O. b. vicinior*. El citotipo D no se asoció a ninguna subespecie, pudiendo representar una especie críptica. Los datos filogenéticos, genéticos, cariotípicos, ambientales y morfológicos apoya la divergencia de los tres grupos, por lo que se propone la reevaluación del estatus taxonómico de éstos, así como la búsqueda de caracteres morfológicos que permitan su diagnosis.

## ABSTRACT

Variation in characters can be a sign of the presence of more than one evolutionary lineage. Using an integrative approach allows the compilation of information from different sources to get a more accurate overview of the evolutionary history of lineages. In the rodent *Osgoodomys banderanus*, previous evidence of genetic differentiation at the chromosomal level (cytotypes) suggest the presence of more than one evolutionary lineage. The aim of this thesis is to evaluate whether the karyotypic patterns correspond to independent evolutionary histories reflected by mitochondrial molecular markers, and that are distinguishable using environmental characteristics of Ecological Niche Models (ENM). A relationship was found between karyotypic patterns and groups recovered in phylogenetic analyses. Three groups corresponding to cytotypes A, D and B-C were found, cytotypes D being the earliest diverging and cytotypes B and C the most recently diverging. Genetic distance values were higher for the cytotypes D (10%) and A (5%), and similar between cytotypes B and C (1%). The evidence from the ENM supports the integrity of these three mitochondrial DNA groups, indicating potential distributions of cytotypes A along the Pacific coast, of cytotypes D in the Balsas River basin, and cytotypes B and C in central Mexico from Jalisco to Guerrero. The three mitochondrial DNA groups correspond with the subspecies, being the equivalent of cytotypes A to *O. b. banderanus* and cytotypes B-C to *O. b. vicinior*. Cytotype D was not associated with any subspecies, and may represent a cryptic species. The phylogenetic, genetic, karyotypic, environmental and morphological data support the divergence of the three groups, so that a reevaluation of the taxonomic status of these is proposed, and the search for morphological characters that allow their diagnosis.

## INTRODUCCIÓN

El conocimiento de las relaciones filogenéticas entre grupos de organismos y su identificación correcta es un reto para la biología. Un punto importante para esta identificación es poder diferenciar claramente poblaciones que presenten atributos biológicos que las distingan y que permitan determinar si estas poblaciones corresponden a una misma unidad evolutiva (Wiley y Liberman, 2011).

Dada la alta diversidad y la complejidad de la historia evolutiva de las poblaciones de organismos, y bajo un enfoque integrador, se puede reconocer la presencia de linajes entre las poblaciones (en particular las que son reconocidas como subespecies o aquellas que presentan diferencias en alguna característica morfológica, genética, ecológica, etc.; Krzywinski y Besansky, 2003). Sin embargo, en el caso de los mamíferos, y en particular en los roedores, existen pocos estudios que intentan esclarecer estas preguntas (Piñero et al., 2008). Este es el caso del ratón endémico de México *Osgoodomys banderanus*, para el que existe evidencia cariotípica y morfológica que indica diferencias entre las poblaciones, sugiriendo que en realidad este pudiera representar un taxón compuesto por varias especies crípticas. Sin embargo, no se ha realizado ningún estudio que analice si estas diferencias entre poblaciones también se dan a nivel de marcadores moleculares específicos que puedan indicar la presencia de diferentes linajes entre estas poblaciones, indicando la presencia de un complejo de especies.

## ANTECEDENTES

### HISTORIA, TAXONOMÍA Y SISTEMÁTICA DEL GÉNERO *OSGOODOMYS*

A pesar del avance en la sistemática de los roedores múridos, varios aspectos, desde la diagnosis de especies hasta la determinación de las relaciones filogenéticas de algunos grupos permanecen poco entendidos (Jansa y Weksler 2003).

*Osgoodomys banderanus* (figura 1) es una especie endémica de México. Este roedor fue descrito inicialmente dentro del género *Peromyscus* por Allen en 1897 (localidad tipo: Valle de Banderas, Nayarit, México). Osgood (1904) reconoció la inclusión de dos subespecies: *Peromyscus banderanus banderanus* y *P. b. viciniior*. Sin embargo, Hall y Kelson (1959) y Ramírez-Pulido et al. (1982) reconocieron cinco subespecies: *P. b. angelensis* (Osgood, 1904), *P. b. banderanus* (J. A. Allen, 1897), *P. b. coatlanensis* (Goodwin, 1956), *P. b. viciniior* (Osgood, 1904) y *P. b. sloeops* (Goodwin, 1956). Posteriormente, *P. b. angelensis*, *P. b. coatlanensis* y *P. b. sloeops* fueron reasignadas dentro de *P. mexicanus* (Musser, 1969). Más tarde Hooper y Musser (1964) reconocieron el subgénero *Osgoodomys* debido a diferencias morfológicas en el *glans penis*. Finalmente, se reconoce un género para esta especie en base a diferencias presentes como la ausencia de glándulas mamarias postaxiales y cinco tubérculos plantares (Carleton, 1980). Todos estos reacomodos taxonómicos se basaron en aspectos morfométricos y en la actualidad se considera al género *Osgoodomys* como monotípico.



Figura 1. El ratón endémico de México *Osgoodomys banderanus*. Vista frontal y trasera (A), lateral (B) y ventral (D) del cráneo. Vistas superior (E) y lateral (F) de la mandíbula. Ejemplar de vida libre (G). Vistas dorsal (H) y lateral (I) de la piel de un ejemplar de museo.

Se puede reconocer fenotípicamente a *Osgoodomys banderanus* por ser una especie de ratón de tamaño mediano de 216 a 245 mm, con un peso aproximado de 30 g. Dorsalmente tiene coloración café-canela a castaño-oscuro y blanco a cremoso ventralmente. La cola es desnuda ventralmente, escamosa y larga, de mayor longitud que el cuerpo y ligeramente bicolor. La superficie plantar es parcial o totalmente desnuda. Se distingue de otras especies, en particular del género *Peromyscus*, por la presencia a nivel craneal de crestas supraorbitales bien desarrolladas como carácter diagnóstico (Arroyo-Cabrales, 2005). Las vibrísas genales son ausentes así como el par postaxial de mamas. El falo es pequeño, con meato urinario terminal y báculo más corto que el pene (Hooper y Musser, 1964; Hall, 1981).

Las dos subespecies presentan diferencias distinguibles en las características morfológicas de tonalidad del pelaje, la cola, y en las proporciones del tamaño del cráneo y la longitud total. *Osgoodomys banderanus banderanus* posee una coloración más clara y acanelada, longitud total mayor y caja craneal ligeramente más ancha; mientras que *O. b. vicinior* tiene una coloración café grisáceo oscuro, longitud total menor y caja craneal ligeramente más angosta (Álvarez, 1968). Estas características se asocian a determinadas poblaciones, que también se diferencian a nivel genético y en las que se presenta variación en las condiciones ambientales. Debido a la falta de estudios, no se sabe si dicha variación en la morfología se debe a la plasticidad de los caracteres (Rezende et al., 2009) por encontrarse en ambientes tan variados o está correlacionada con las características genéticas de cada población.

El género *Osgoodomys* se ha incluido en diversos trabajos de sistemática en los que se analizan las relaciones filogenéticas al interior de la familia Muridae o de la subfamilia Cricetidae. En estos estudios se establece que los grupos taxonómicos a nivel de familia o subfamilia no son monofiléticos. Sin embargo, se reconocen relaciones de cercanía entre el género *Osgoodomys* y el género *Peromyscus* (figura 2; Miller y Engstrom, 2008). En un inicio se



reconoció al género *Osgoodomys* como posible relictos del género *Peromyscus* (Hooper, 1968; Linzey y Layne, 1969; Carleton, 1980). En la mayoría de los trabajos de sistemática molecular que se han realizado se ubica al género *Osgoodomys* dentro de clados que contienen también al género *Peromyscus*, comprobándose su cercanía filogenética (Reeder et al., 2006; Bradley et al., 2004; Bradley et al., 2007). En los trabajos más recientes, Miller y Engstrom (2008) indican que existen relaciones muy cercanas entre los géneros *Osgoodomys* y *Haplomylomys* y también con *P. crinitus*, al utilizar secuencias de dos genes nucleares (Proteína de unión retinoide del interfotoreceptor, IRBP; receptor de la hormona de crecimiento, GHR) y de un gen mitocondrial (Citocromo b). La estrecha relación entre los géneros *Osgoodomys* y *Haplomylomys* también ha sido apoyada por otros estudios (Bradley et al., 2004).

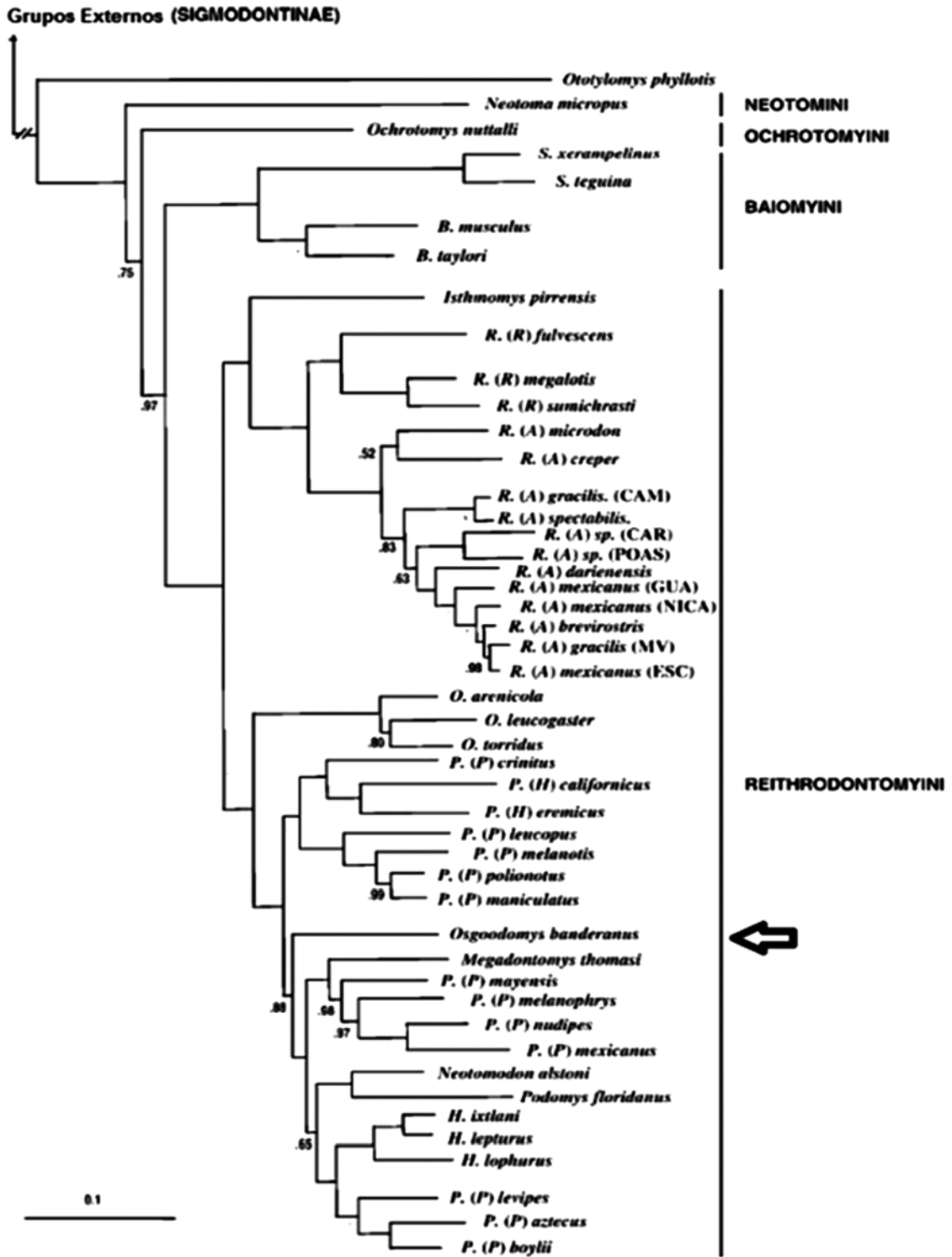


Figura 2. Árbol filogenético construido con el método de Inferencia Bayesiana a partir de datos moleculares de dos genes nucleares (IRBP, GHR) y de un gen mitocondrial (Citocromo B) donde se reporta la posición del género *Osgoodomys* respecto a otros géneros de roedores Peromiscinos (tomado de Miller y Engstrom, 2008).

El estudio del género *Osgoodomys* es importante porque al ser endémico de México tiene gran relevancia tanto filogenética como ecológica (Hall, 1981) y evolutiva (Hooper, 1968). A pesar de su importancia, esta especie no ha sido considerada dentro de ningún cuidado especial, por lo que no se encuentra en la Norma Oficial Mexicana (NOM-ECOL-059-2010), ni en ninguna otra lista de especies protegidas en México, siendo que se conoce que el impacto forestal y otras actividades antropogénicas pudieran afectarla, por lo que son necesarios más estudios.

### ÁREA DE DISTRIBUCIÓN Y COMPLEJIDAD GEOGRÁFICA

*Osgoodomys banderanus* se distribuye en la zona del Pacífico mexicano (figura 3), desde Guerrero hasta Nayarit, desde las zonas costeras hasta la parte media de estos territorios a lo largo de un área con clima, vegetación y orografía contrastantes y con amplia presencia de ríos y barreras climatológicas naturales. A nivel de subespecie, se conoce una distribución disyunta para ambas subespecies. *Osgoodomys b. banderanus* se distribuye a partir del río Balsas hacia el norte llegando hasta el estado de Nayarit; mientras que *O. b. vicinior* se distribuye hacia la parte sur, llegando hasta los límites del estado de Guerrero, y adentrándose hacia los estados de Morelos y México (Hall, 1981; Arroyo-Cabrales, 2005).

Dada la amplia distribución de *O. banderanus* las condiciones ambientales son variables para las diferentes poblaciones. La variación climática a lo largo de la distribución de este ratón cambia entre ambientes con clima templado, cálido, semicálido y semiárido con condiciones húmedas y subhúmedas. En cuanto a las condiciones altitudinales, su distribución puede ir desde el nivel del mar hasta los 1 400 msnm. Debido la orografía tan accidentada a lo largo del área de distribución de *O. banderanus*, esta misma representa barreras geográficas naturales que impiden la interacción entre las poblaciones. Es común encontrar a esta especie en bosque tropical subperennifolio, aunque también se le ha encontrado en ambientes con condiciones tan

contrastantes como el matorral xerófilo, pastizales, bosque de pino-encino y en vegetación riparia y arbustiva a diferentes altitudes, generalmente en ambientes rocosos con hojarasca y ramas, desde el nivel del suelo, hasta a 2.5 m, considerándose semi arborícola (Arroyo-Cabrales, 2005).

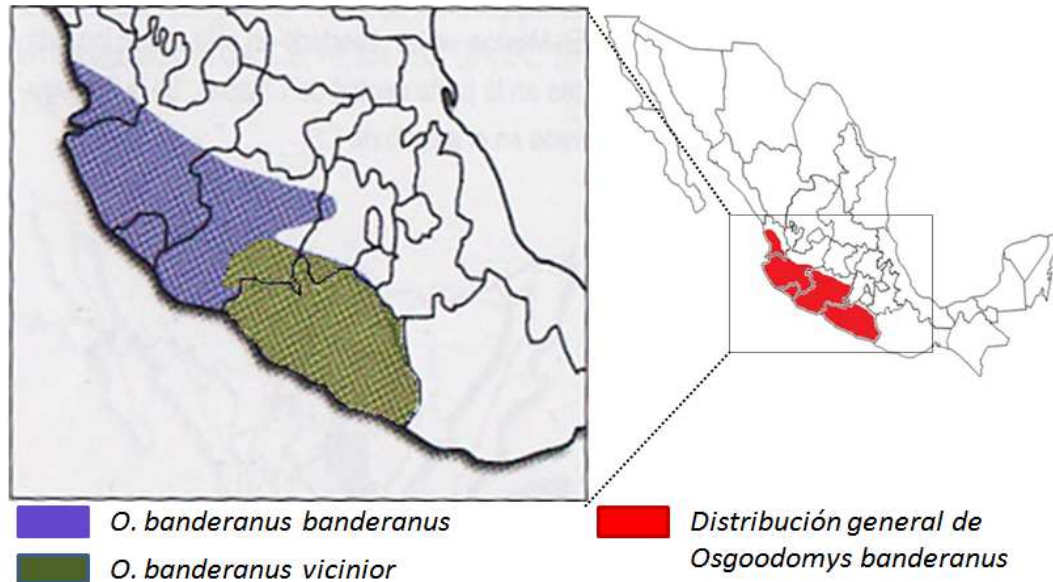


Figura 3. Distribución general (rojo) y de las subespecies de *Osgoodomys banderanus* (verde y azul). Se reconoce la distribución actual de *O. banderanus* desde el estado de Nayarit hasta Guerrero, adentrándose hasta llegar al los estados de Morelos y México. La distribución de las dos subespecies se ve separada por el río Balsas, ubicándose *O. b. banderanus* hacia la parte norte del río Balsas y *O. b. vicinior* hacia la parte sur (modificado de Arroyo-Cabrales, 2005).

Las condiciones que se presentan en los diferentes sitios donde se distribuyen las poblaciones de *O. banderanus* podrían explicar la variación genética conocida para esta especie, relacionándose, incluso, los diferentes patrones de variación genética con linajes evolutivos en función de las condiciones ambientales y las barreras geográficas naturales. Resulta necesario tomar en cuenta la influencia que ha tenido el ambiente en las variaciones que se conocen para ciertas poblaciones de *Osgoodomys banderanus*.

La variabilidad en las condiciones climáticas a lo largo de la distribución puede tener impacto en el proceso evolutivo de una especie, derivando en el desarrollo de determinadas características fenotípicas o genotípicas. En el caso de *O. banderanus*, su amplia distribución y la cantidad de ambientes pudieran estar relacionadas con la variedad de formas que se han encontrado para

algunos caracteres como la tonalidad del color en el pelaje o el tamaño particular que se presenta en algunas poblaciones (Núñez, 2000).

Otra característica ambiental de importancia para las especies de roedores es la altitud. Como se expone en diversos trabajos sobre plasticidad fenotípica (Hammond et al., 2001 y 2002; Angilleta et al., 2003; Rezende et al., 2009) la altitud puede tener gran influencia sobre caracteres como el tamaño o la masa corporal. En el caso de *O. banderanus*, no se ha encontrado gran distinción morfológica entre los individuos de diferentes poblaciones, a excepción de las poblaciones de las localidades de Infiernillo y Chorros del Varal distribuidas en el estado de Michoacán, en las que se reconocen diferencias en el tamaño corporal y craneal con sustento estadístico suficiente para distinguir dichas poblaciones del resto (Núñez, 2000). No se conoce si dichas características que diferencian a las poblaciones de Chorros del varal e Infiernillo se deben a componentes genéticos o a plasticidad fenotípica (cambio en los caracteres como respuesta al cambio en las condiciones ambientales) derivada de la altitud o las condiciones climáticas. Sin embargo, las diferencias en estas características junto con otras evidencias genéticas hacen suponer que pudiera haber una historia evolutiva particular para estas poblaciones que ha favorecido la selección de dichas características.

Asimismo, existe variación en el tipo de vegetación presente a lo largo de la distribución de esta especie. Esta característica está involucrada en los aspectos ecológicos, pues la diversidad de vegetación presente se puede relacionar con cantidad y tipos de recursos alimentarios diferentes entre las poblaciones. Sin embargo, no existen datos acerca de los hábitos alimentarios de *O. banderanus*, aunque resulta evidente hipotétizar que esta especie puede tener requerimientos ecológicos poco específicos dada la heterogeneidad de ambientes en los que se ha colectado.

La gran cantidad de ríos (figura 4) que existen a lo largo de la distribución de *O. banderanus* representa una de las principales barreras geográficas que impide la inter-conexión entre las

diferentes poblaciones. De esta forma, para algunas poblaciones como la de Infiernillo en Michoacán, se puede suponer un aislamiento geográfico, pues en este caso la cantidad de vertientes del Río Balsas dificulta la conexión entre las poblaciones adyacentes.

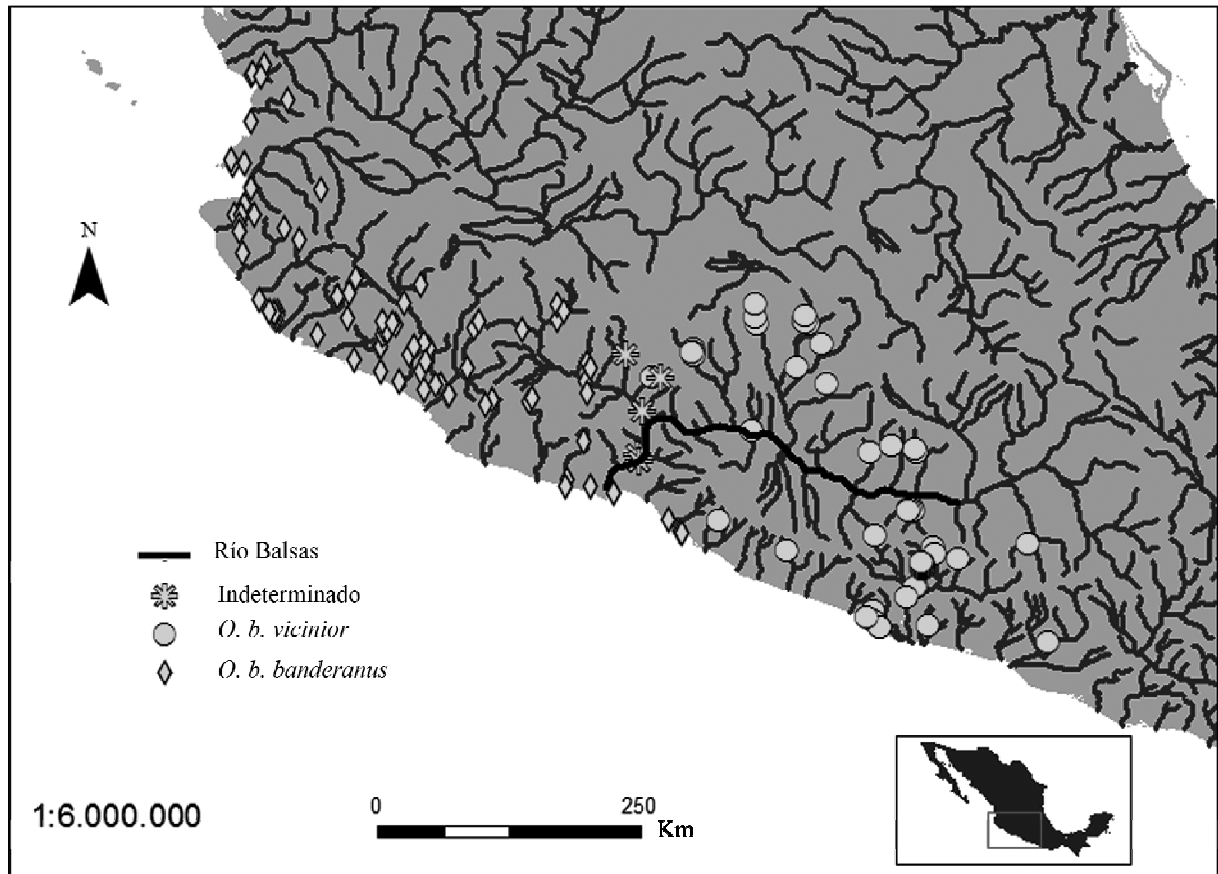


Figura 4. Hidrografía y localidades registradas en el área de distribución para *Osgoodomys banderanus* (Localidades obtenidas de las bases de datos de CNMA, UAMI, UMSNH y MANIS mostrada sobre capa de Hidrografía modificada de Maderey-R y Torres-Ruata, 1990; ver anexo 1 para acrónimos).

A lo largo de la distribución de *O. banderanus* se reconocen cinco regiones diferenciadas, principalmente para Michoacán. la primera es Planicie costera del Pacífico, se presenta como una franja estrecha delimitada por las costas, se extiende desde los 0 a los 200 msnm y se caracteriza por tener un clima subhúmedo y vegetación de selva baja caducifolia, selva mediana subperenifolia, manglares y palmares. La segunda región, la sub provincia de cordilleras y cuevas del Pacífico, tiene una anchura que no sobrepasa los 80 km y una altitud relativamente

constante en sus partes más altas de 2000 msnm, con cuevas inclinadas hacia el Pacífico; está surcada perpendicularmente con ríos cortos, el clima es cálido y templado subhúmedo y la vegetación es de selva baja caducifolia, bosque de encino y coníferas. La tercera región, la depresión del río Balsas, está formada por las tierras bajas de la cuenca hidrológica del río Balsas; tiene una altitud media de 500 msnm, excepto en su parte oeste donde tiene menos de 200 msnm; su clima es cálido subhúmedo, seco y semicálido, y la vegetación es selva baja caducifolia y matorral espinoso y palmares. La cuarta región, la franja volcánica transmexicana, está formada por numerosos valles exorreícos y cuencas endorreícas, como las de Pátzcuaro y Zirahuen; el clima varía de semicálido subhúmedo, templado subhúmedo a templado semifrío; la vegetación en las pendientes sureñas pertenece a selva baja caducifolia, y en las montañas a matorral subtropical, bosque de encinos y coníferas. Finalmente, la altiplanicie mexicana, que está constituida por valles algunos de los cuales se encuentran separados por montañas de diversas altitudes, aunque sin diferencias notables en estas; se caracteriza por que el clima es semicálido subhúmedo y la vegetación es matorral subtropical.

La distribución de *O. banderanus* se encuentra en una zona de alto endemismo (Escalante et al., 2007) por lo que es compartida con otros múridos como *Baiomys musculus*, *Hodomys alleni*, *Megadontomys thomasi*, *Nelsonia goldmani*, *Neotoma leucodon*, *Neotoma mexicana*, *Neotomodon alstoni*, *Nyctomys sumichrasti*, *Oligoryzomys fulvencens*, *Oryzomys couesi*, *O. melanotis*, *O. rostratus*, *Peromyscus aztecus*, *P. gratus*, *P. hylocetes*, *P. levipes*, *P. maniculatus*, *P. megalops*, *P. melanophrys*, *P. melanotis*, *P. perfulvus*, *P. sagax*, *P. simulus*, *P. spicilegus*, *P. winkelmanni*, *Reithrodontomys bakeri*, *R. chrysopsis*, *R. fulvescens*, *R. hirsutus*, *R. megalotis*, *R. mexicanus*, *R. sumichrasti*, *R. zacatecae*, *Sigmodon alleni*, *S. fulviventer*, *S. hispidus*, *S. mascotensis* y *Xenomys nelsoni* (Hall, 1981; Ramírez, 2008).

Toda la variedad de ambientes a lo largo de la distribución de *O. banderanus* puede haber influido en la variabilidad genética y morfológica en las poblaciones que hoy conocemos, siendo que las condiciones ambientales contrastantes pueden servir como barreras naturales que aíslen y permitan el desarrollo de poblaciones de manera independiente. Desde este enfoque, el análisis del nicho ecológico en relación con la heterogeneidad ambiental que se presenta en el área de distribución de la especie, y en particular de las poblaciones genéticamente diferenciadas, podría permitir identificar atributos ecológicos que correspondan a poblaciones o grupos de estas que también se distinguen en otros aspectos y que en realidad pudieran representar especies crípticas.

#### **VARIACIÓN CROMOSÓMICA Y MORFOLÓGICA ENTRE POBLACIONES**

A pesar de que existen pocos estudios enfocados a *O. banderanus*, se conocen algunos aspectos básicos acerca de su genética. Núñez (1999, 2000) encontró que a nivel genético existe diferencia cariotípica entre las poblaciones de *O. banderanus* distribuidas a lo largo de la cuenca del Pacífico mexicano (figura 5), y que se distinguen cuatro citotipos entre las poblaciones, sirviendo como evidencia de polimorfismo cromosómico y de que este taxón pudiera representar un complejo de especies. Las diferencias entre los cuatro citotipos radican principalmente en el número fundamental (definido por el número de brazos cromosómicos presentes en metafase), esto debido a la adición o delección de material genético en los brazos cromosómicos. La distribución de estos citotipos mantiene un patrón particular bien diferenciado, el citotipo A se distribuye a lo largo de la costa del Pacífico; el citotipo B en la parte media de los estados de Jalisco y Michoacán; el citotipo C en el poniente medio de Michoacán, en la región conocida como Chorros del Varal; y por último el citotipo D representado por la localidad de “Infiernillo”, en Michoacán cerca de la desembocadura del río Balsas. Núñez (1999, 2000) indicó que para Guerrero el citotipo A se distribuye cerca de la línea de costa, mientras que el citotipo B se distribuye hacia la zona interior del estado. Sin embargo, debido a que no hay una revisión



detallada de los citotipos para Guerrero, no existe certeza de que exista una distribución espacial acorde a lo mencionado por este autor.

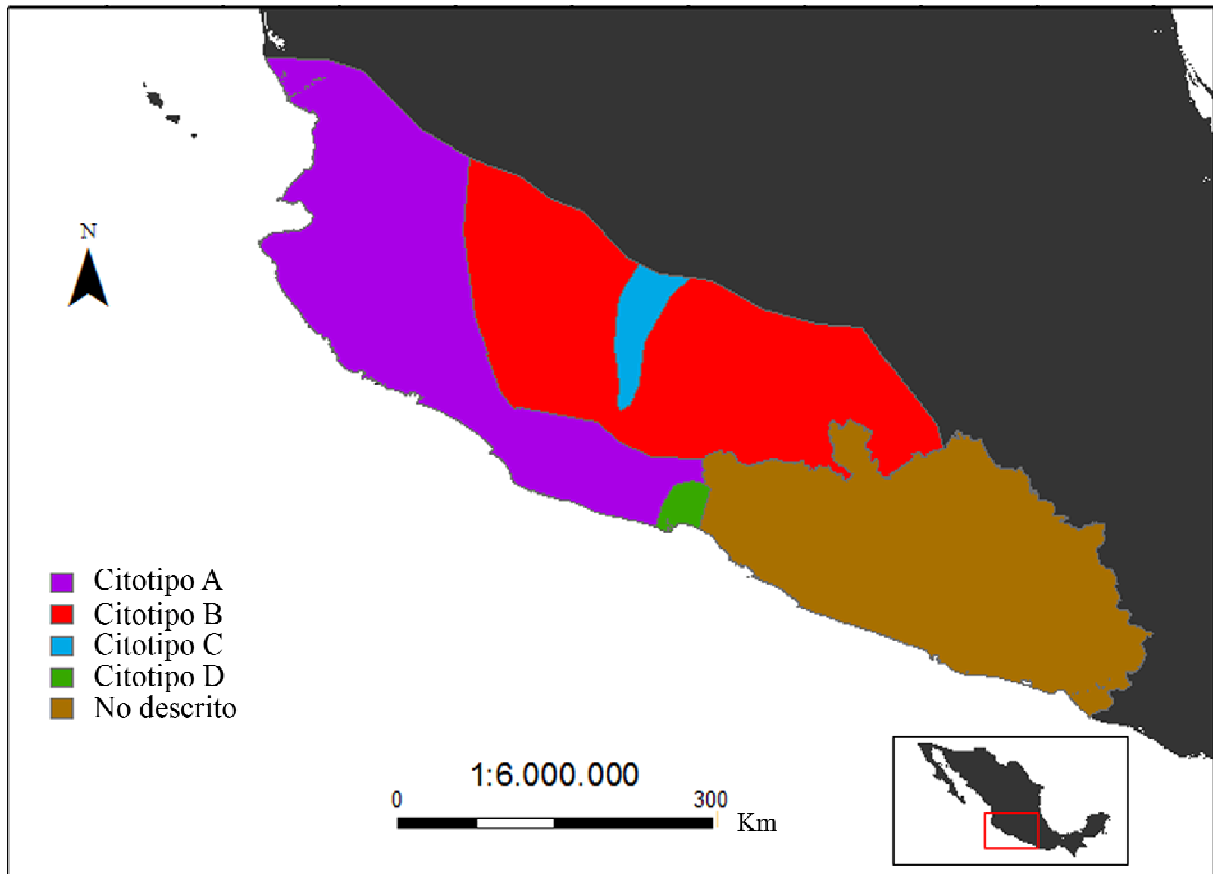


Figura 5. Distribución geográfica de los citotipos de *Osgoodomys banderanus*. La distribución de dichos citotipos se encuentra diferenciada. Geográficamente, el citotipo A se encuentra en la parte costera de los estados de Nayarit, Jalisco, Colima, Michoacán y Guerrero, el citotipo B se localiza en las partes medias de Jalisco, Michoacán, Guerrero y parte de México y Morelos y los citotipos C y D se encuentran en el estado de Michoacán hacia la parte poniente y en las cercanías del Río Balsas, respectivamente (modificado de Núñez, 2000).

La variación en los citotipos (figura 6) está caracterizada de la siguiente manera:

- Citotipo A. Número cromosómico diploide (NC)  $2n=48$ , número fundamental (NF) =52; los cromosomas 1, 22 y 23 birrámeos, el resto son acrocéntricos y el cromosoma X es subtelocéntrico de talla grande; esta modalidad de cariotipo es la que se reportada para *O. banderanus*.

- Citotipo B. NC  $2n=48$ , NF=52; los cromosomas 1, 2 y 23 son birrámeos, el cromosoma X es subtelocéntrico de talla media y el cromosoma Y es acrocéntricos de talla pequeña; no existía registro para este citotipo.
- Citotipo C. NC  $2n=48$ ; NF=62. Los cromosomas birrámeos son los pares 1, 11, 14-16, 20-22 y el cromosoma X es subtelocéntrico de talla grande. Este citotipo también fue reportado como nuevo para *O. banderanus*.
- Citotipo D. NC  $2n=48$ ; NF=78. Los cromosomas birrámeos son los pares 1, 2, 4-9, 11-13, 16-20; el cromosoma X es subtelocéntrico grande y el cromosoma Y es acrocéntricos y pequeño. Igualmente, se reportó como un nuevo citotipo (Núñez, 1999).



Figura 6. Idiograma de los cuatro citotipos encontrados para las poblaciones de *Osgoodomys banderanus*. Los cuatro citotipos tienen un número cromosómico  $2N=48$ , variando en su número fundamental en 52, 52, 62 y 78 respectivamente para los citotipos A, B, C y D (tomado de Núñez, 1999).

El patrón de bandas G difiere entre los citotipos, sugiriendo que desde su origen temprano, el género *Osgoodomys* ha tenido oportunidad de radiación con una posible repercusión en el estatus taxonómico de la especie (Núñez, 2000). El citotipo A es considerado en la literatura como el estado plesiomórfico y el resto de los citotipos son considerados como derivados de este. La proximidad entre las zonas de colecta para los especímenes caracterizados como citotipos B y C y la integridad de cada citotipo apoyan la idea de un aislamiento reproductivo entre estas poblaciones (Núñez, 1999). Como sucede en otros taxones el grado en los rearrreglos en las bandas cromosómicas y en los brazos cromosómicos pueden estar correlacionados con la presencia de distintas especies como sugiere la idea de la evolución cariotípica (Bell, 2001), siendo en algunos casos, que el grado de diferencias cromosómicas refleje un polimorfismo cromosómico o una verdadera historia evolutiva diferente para cada linaje (Gómez-Laverde et al., 1999). Asimismo, la diferencia en los rearrreglos cromosómicos pueden ser, incluso, barreras gaméticas que favorecen la especiación en las poblaciones (Brown y O'Neill, 2010).

Las diferencias a nivel genético también son sustentadas por evidencia morfométrica de 14 características externas y craneales, las cuales mostraron diferencias entre los especímenes colectados en las localidades de Chorros del Varal (localidad ubicada en el poniente medio de Michoacán) e Infiernillo (localidad cercana a la desembocadura del río Balsas), donde también se encontraron patrones de coloración distintos en los ejemplares de cada localidad.

Por lo tanto la variación en la morfometría de *Osgoodomys banderanus* está asociada a los citotipos, siendo que los especímenes de Chorros del Varal (citotipo C) son diferentes por presentar medidas craneales mayores y no presentan coloración ventral blanquecina en los especímenes adultos. Mientras que los de la región de Infiernillo (citotipo D) presentan medidas corporales mayores. La cola ligeramente bicolor es la más frecuente en el total de especímenes, excepto en la Sierra de Coalcomán en donde la marcadamente bicolor es la más común. Sin

embargo, en el resto de caracteres no se presenta un patrón definido de variación geográfica (Núñez, 1999).

Asimismo, las condiciones ambientales tienen una correlación con cada citotipo. El citotipo A está presente en selva baja caducifolia y selva mediana; el citotipo B en selva mediana lejana a la línea de costa y en bosque de encino; el citotipo C en bosque de encino con mucha humedad y vegetación herbácea y arbustiva abundante; citotipo D en matorral espinoso y en pastizal con abundantes cactáceas (Núñez, 1999).

Las diferencias (cuadro 1) que existen entre los cuatro citotipos sugieren que las condiciones y el grado de divergencia de las poblaciones varían de tal forma que las diferencias entre los citotipos pudieran ser resultado de eventos evolutivos independientes. Por lo tanto, también se esperaría encontrar diferencias en marcadores moleculares, y que estas diferencias muestren un patrón relacionado con los citotipos que permita inferir la historia evolutiva de la especie y los eventos evolutivos en sus poblaciones. Asimismo, el análisis de los factores ambientales permitiría distinguir y caracterizar estas poblaciones en función de sus patrones ecológicos, sirviendo como evidencia para determinar la presencia de uno o más linajes, como se ha planteado en otros trabajos, en donde el uso del modelado de nicho ecológico ha aportado evidencia para la reevaluación del estatus taxonómico de una especie (Bond y Stockman, 2008; Hendrixson et al., 2013).

Cuadro 1. Diferencias registradas entre las poblaciones de *Osgoodomys banderanus*. Se describen cuatro aspectos marcados entre las poblaciones: morfometría, cariotipo y habitat, además de la determinación de las posibles subespecies presentes y la proyección del tipo de clima para cada citotipo (modificado de Núñez 1999).

	<i>Citotipo</i>			
	<i>A</i>	<i>B</i>	<i>C</i>	<i>D</i>
Subespecie	<i>O. b. banderanus</i>	<i>O. b. banderanus</i>	<i>Osgoodomys sp.</i>	<i>O. banderanus ssp</i>
Morfología	Coloración café claro a café oscuro con vientre blanco	Coloración más oscura y más grisácea que cafecina	Aspecto externo y coloración dorsal semejantes a <i>O. b. banderanus</i> solo con medidas craneales mayores	Medidas corporales mayores coloración café claro a oscuro con vientre blanco
Cariotipo	Cromosomas 1, 22 y 23 birrámeos, el resto (20) acrocéntricos	Cromosomas 1, 2 y 23 birrámeos, el resto (20) acrocéntricos	Cromosomas 1, 11, 14-16, 20-22 birrámeos, el resto (15) acrocéntricos	Cromosomas 1, 2, 4-9, 11, 13, 16-20 birrámeos, el resto (7) acrocéntricos
Habitad	Selva baja y selva mediana	Selva mediana y bosque de encino	Bosque de encino húmedo, vegetación herbácea y arbustiva abundante	Matorral espinoso, pastizales con abundantes cactáceas
Clima (García, 1998)	Cálido subhúmedo, Aw1, Aw2, Awo Semiárido cálido, BS1(h')w	Semicálido subhúmedo, (A)C(w1) Cálido subhúmedo, Aw1, Aw2, Awo Semiárido cálido, BS1(h')w	Semicalido subhúmedo, (A)C(w1), (A)C(w2) Cálido subhúmedo, Aw1, Awo	Cálido subhúmedo, Awo Semiárido cálido, BS1(h')w Árido, cálido BS0(h')w

### **OBJETIVO GENERAL**

Reconstruir la historia evolutiva de las poblaciones asociadas a los cuatro citotipos de *O. banderanus* y evaluar si dichos citotipos corresponden a linajes independientes.

### **OBJETIVOS PARTICULARES**

Evaluar la evidencia total para determinar si *Osgoodomys banderanus* representa un complejo de especies y las características asociadas a cada una de estas.

Caracterizar las condiciones ambientales asociadas a cada citotipo y su papel en la distinción de linajes.

### **HIPÓTESIS**

Dadas las características morfológicas y citogenéticas descritas para los cuatro citotipos de *O. banderanus*, se espera encontrar diferencias en las secuencias de los genes Citocromo Oxidasa I, Citocromo B y Región Control entre las poblaciones, que permitan confirmar la presencia de más de un linaje evolutivo.

## MATERIALES Y MÉTODO

*Muestreo de ejemplares.* Se colectaron ejemplares en las localidades donde se distribuyen los citotipos descritos por Núñez (2000; figura 7), así como de algunas localidades anexas. Se obtuvieron muestras de tejido fresco de 26 ejemplares de 7 localidades. Como grupos externos, se utilizaron secuencias nucleotídicas obtenidas a partir de ejemplares colectados de *Peromyscus mexicanus* y *Reithrodontomys chrysopsis*. Los grupos externos se seleccionaron a fin de representar los taxones hermanos a nivel de género (*Peromyscus*) y dentro de la tribu (*Reithrodontomys*). Todos los ejemplares colectados fueron preparados en taxidermia y se depositaron en la Colección Nacional de Mamíferos del Instituto de Biología, UNAM.

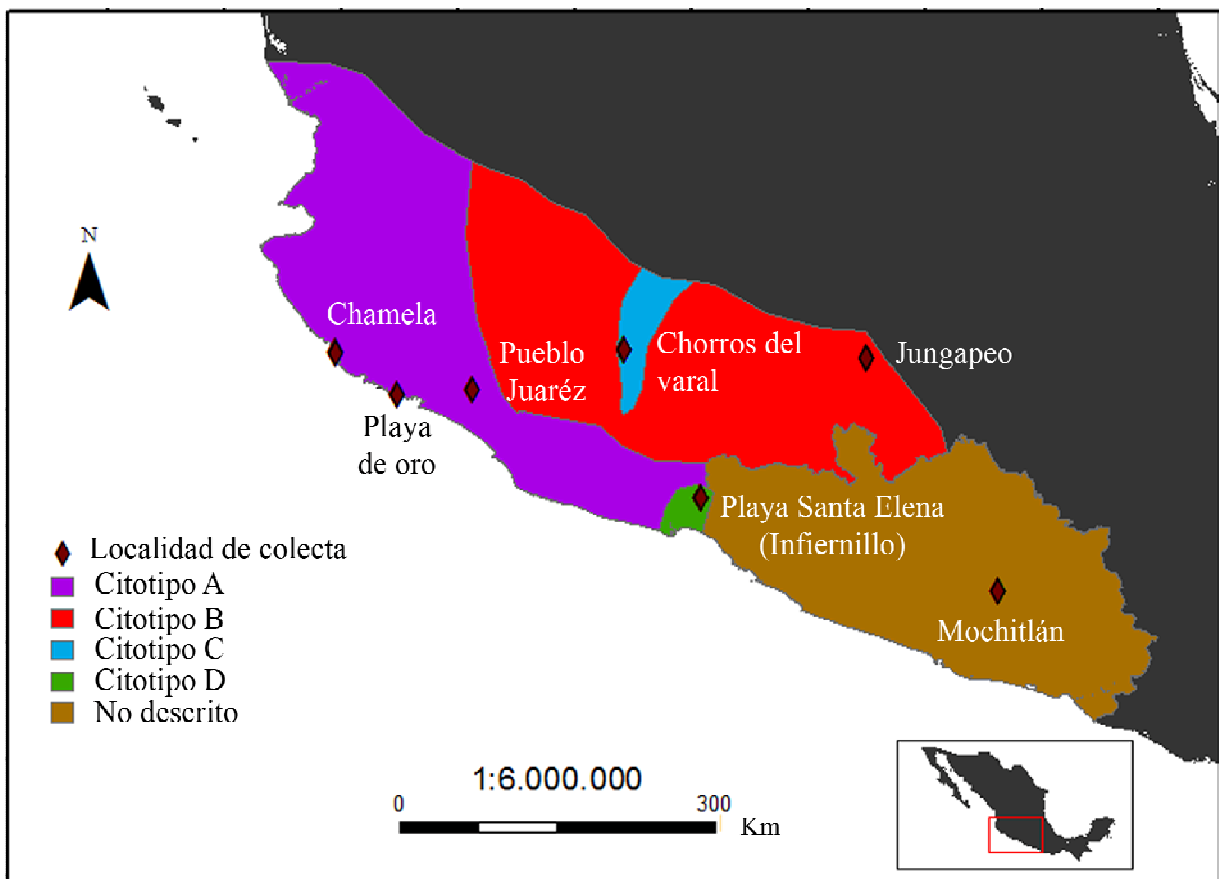


Figura 7. Mapa de localidades muestreadas correspondiente a los citotipos. Se muestran la representación de los citotipos en este estudio según la distribución propuesta por Núñez (1999, 2000).

*Extracción, amplificación y secuenciación de material genético.* El ADN total (ADNt) fue obtenido a partir de muestras de tejido muscular reciente de cada ejemplar utilizando el Kit DNAeasy Tissue (Axygen Inc.). El ADN total fue cuantificado y se utilizó 100 ng por muestra de ADNt para realizar la amplificación de los genes mitocondriales. Los genes mitocondriales (figura 8) Citocromo Oxidasa subunidad I (*COI*), Citocromo B (*Cyt B*) y Región Control (*RC*) fueron amplificados utilizando la reacción en cadena de la polimerasa (PCR por sus siglas en inglés) empleando cebadores (*primers*) específicos. Para la amplificación del gen *COI* se utilizó un cóctel de *primers* que contenía pares de *primers* en ambos sentidos 5' y 3'. Para la amplificación del gen *Cyt B* se utilizaron diferentes parejas de *primers* para mejorar las amplificaciones en las muestras más difíciles. Para la amplificación del gen *RC* se utilizó una pareja de *primers* en ambos sentidos (los parámetros de los programas de amplificación y los *primers* utilizados se muestran en la cuadro 2). Los *primers* se utilizaron a una concentración final de 10mM (*COI* y *Cyt B*) y 0.025mM (*RC*) y el resto de los reactivos se utilizaron a concentraciones de reacción estándar (Buffer 1X, MgCl<sub>2</sub> 1.5mM, dNTPs 1.25mM cada uno, Taq Polimerasa 1 U). Los fragmentos de los genes amplificados se visualizaron en geles de agarosa al 1.5%, teñidos con SYBR®. Los productos de la amplificación obtenidos se purificaron y se cuantificaron. Todos los productos de PCR generados fueron enviados para su secuenciación al secuenciador del Instituto de Biología, UNAM. Las secuencias se obtuvieron por ambos lados utilizando una concentración de 100 ng/μl de producto y los mismos *primers* con los que se amplificó.



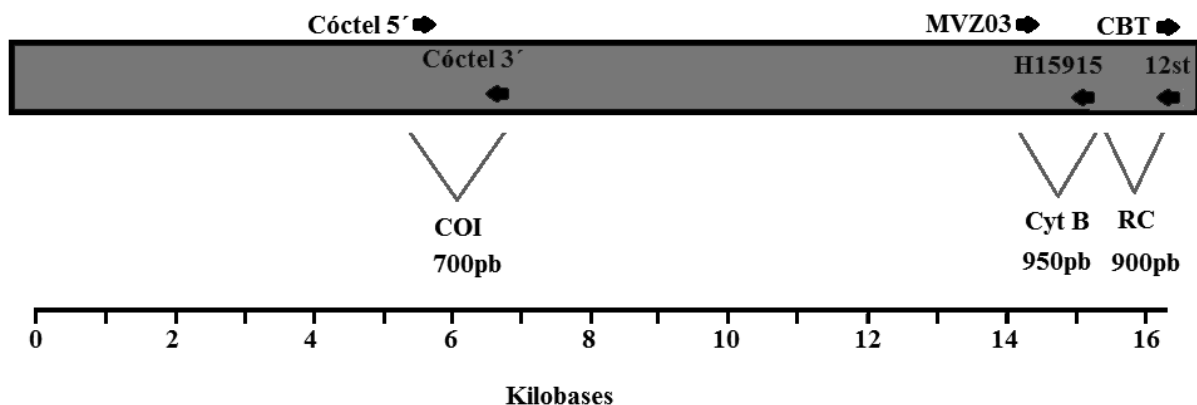


Figura 8. *Primers* utilizados para la amplificación de los genes mitocondriales y su sitio de reconocimiento en el genoma mitocondrial. Para la amplificación del gen COI se utilizó un cóctel de 4 *primers*. Se utilizaron los oligonucleótidos MVZ05 o MVZ03 en combinación con MVZ14 ó H15915 para la amplificación del gen Citocromo B (Smith y Patton, 1993), y CBT con 12ST para la amplificación del gen Región control (Murzunov et al., 1998).

Cuadro 2. *Primers* y programas de temperatura utilizados para la amplificación de los genes mitocondriales Citocromo Oxidasa Subunidad I (COI), Citocromo B (Cyt B) y Región Control (RC). Se citan los *primers forward* (f) y *reverse* (r) utilizados.

<i>Gen</i>	<i>Primers</i> (sentido)	<i>Tamaño de Amplificon</i>	<i>Programa de amplificación</i>				<i>Referencia</i>	
<i>COI</i>	VF2_t1 (f)	~700 pb	94°C	94°C – 55°C – 72°C			72°C	Ivanova et al.. 2007
	FishF2_t1 (f)		4min	30s	40s	1min	10min	
	FishR2_t1 (r)		1ciclo	35ciclos			1ciclo	
	FR1d_t1 (r)							
<i>Cyt B</i>	H15915 (r)	~1000 pb	95°C	95°C – 51°C – 72°C			72°C	Smith y Patton, 1993
	MVZ03 (f)		5min	30s	1min	1min10s	4min	
	MVZ05 (f)		1ciclo	35ciclos			1ciclo	
	MVZ14 (r)							
<i>RC</i>	CBT (f)	~900 pb	95°C	95°C – 54°C – 72°C			72°C	Morzunov et al., 1998
	12ST (r)		5min	30s	1min	1min10s	4min	
			1ciclo	35ciclos			1ciclo	

*Edición de secuencias, alineamientos y análisis filogenéticos.* Los electroferogramas de las secuencias obtenidas en ambas direcciones fueron comparados usando el programa MEGA 5.2.2 (Tamura et al., 2011) y se generaron secuencias consenso a partir de ambos. Se comprobó la correspondencia taxonómica de los ejemplares utilizando los caracteres morfológicos diagnósticos (cresta supraorbital pronunciada) y el alineamiento con la base de datos Genbank (Benson et al., 2013). Las secuencias consenso fueron alineadas utilizando MUSCLE en MEGA 5.2 y el alineamiento se rectificó manualmente.

Se examinó la compatibilidad entre los datos a fin de determinar si los árboles a construir podrían ser construidos a partir de los datos concatenados. Para lo anterior se implementó el análisis de congruencia ILD (incongruence length difference) que evalúa la homoplasia generada al combinar diferentes matrices de datos (Farris et al., 1994). La prueba de ILD se generó en PAUP 4.0b empleando 500 repeticiones para el análisis. Los archivos de datos con los tres genes concatenados y por separado se generaron en el programa Mesquite ver. 2.75 (Maddison y Maddison, 2011).

La genealogía de las poblaciones se reconstruyó a través de árboles filogenéticos aplicando los análisis de máxima parsimonia con el programa PAUP 4.0b (Swofford, 2002), máxima verosimilitud con el software RaxMLGUI ver. 1.3 (Silvestro y Michalak, 2012; Stamatakis, 2014) e inferencia Bayesiana usando el software MrBayes 3.2 (Ronquist et al., 2012). Los datos se evaluaron de dos maneras, utilizando las secuencias de genes por separado o de manera conjunta en archivos de secuencias concatenadas. Para el método de máxima parsimonia se empleó una búsqueda heurística mediante el método *tree bisection-reconnection*, se guardaron los 500 árboles más parsimoniosos y se utilizó un soporte de ramas basado en una búsqueda con el método bootstrap con 10,000 repeticiones. Para los métodos de máxima verosimilitud e inferencia Bayesiana se estimaron los mejores modelos de sustitución de bases utilizando el

software jModeltest 2.1.3 (Darriba et al., 2012), utilizando el criterio de información de Akaike para la selección del mejor modelo para cada gen (ver resultados). En el caso de los genes codificantes de proteínas *COI* y *Cyt b*, se evaluaron los modelos de sustitución para cada una de las tres posiciones codificantes. Para el método de máxima verosimilitud se empleó un apoyo de ramas con el método bootstrap con 30,000 repeticiones y la utilización del modelo evolutivo GTR +I +G, ya que el software RaxMLGUI únicamente permite utilizar el modelo GTR en combinación con las variables I y G.

En el muestreo bajo el criterio de Inferencia Bayesiana se emplearon los modelos de sustitución nucleotídica para cada posición de las bases en genes codificantes de proteínas y se utilizó el método de cadenas de Markov-Montecarlo implementando  $1 \times 10^7$  generaciones en dos corridas paralelas de cuatro cadenas con un muestreo de árboles cada 1,000 generaciones. Las cadenas de Markov-Montecarlo se estabilizaron después de  $1 \times 10^6$  generaciones, por lo que se tomó este criterio (*burn-in*) para la obtención del árbol de consenso de mayoría.

La construcción del reloj molecular se realizó en MrBayes. El reloj molecular se construyó de manera relajada utilizando para la calibración los tiempos de divergencia entre los géneros *Reithrodontomys* y *Peromyscus* citados por Stepan y colaboradores (2004) estimados en 9.8 millones de años. Los parámetros utilizados para el análisis fueron los siguientes: implementación de modelos de sustitución nucleotídica para cada posición en genes codificantes de proteínas, modelo de reloj uniforme y modelo de reloj relajado IGR (independent gamma rates). El análisis se ejecutó implementando  $1 \times 10^7$  generaciones.

*Características genéticas de los citotipos.* Se evaluaron diversas características genéticas de las poblaciones correspondientes a los citotipos a fin de poder comparar y evaluar si existen diferencias a nivel genético entre éstas. Se evaluaron las distancias genéticas (cuadros anexos 2 a 4) a través del método de Kimura de dos parámetros y se construyeron matrices de distancia

genética y árboles de distancia mediante el método de Neighbor-joining en MEGA 5.2 utilizando 10,000 réplicas de bootstrap. Se evaluó la diversidad de haplotipos para cada gen mediante el programa DnaSP ver. 5.10.01 (Librado y Rozas, 2009). La estructura genética de las poblaciones fue analizada mediante una prueba de AMOVA (Análisis de varianza molecular) en el programa Arlequin ver. 3.11 (Excoffier et al., 1992), tomando en cuenta los clados obtenidos en los análisis filogenéticos para definir los grupos de poblaciones. Asimismo, se aplicó la prueba de Mantel en el software Arlequin ver. 3.11 para comparar distancias geográficas y distancias genéticas a fin de evaluar si estas están correlacionadas. Se utilizó un valor de 1,000 permutaciones para la prueba. La matriz de distancias geográficas fue construida en el programa Geographic Distance Matrix Generator v1.2.3 a partir de las localidades georreferenciadas de cada muestra.

*Sistemas de información geográfica, caracterización ambiental y modelado de nicho.* Para evaluar la existencia de diferencias a nivel geográfico entre los grupos correspondientes a los citotipos, se emplearon herramientas de sistemas de información geográfica (SIG). Los análisis se obtuvieron a partir de la construcción de una base de datos donde se reunieron los registros de localidades para la especie de estudio recopilados de diversas colecciones de mamíferos de México de las principales universidades: UNAM (Colección Nacional de Mamíferos), UAMI (Colección de Mamíferos) UMSNH (Colección de Mamíferos; cuadro 3). Adicionalmente, se obtuvieron registros de diversas colecciones de Estados Unidos mediante el portal de información MANIS. Los registros obtenidos corresponden a ejemplares identificados taxonómicamente por expertos, sin embargo, algunos registros fueron eliminados ya que correspondían a subespecies que tuvieron cambios taxonómicos y que no corresponden actualmente a la especie de estudio, así como los registros con localidades que no se pudieron georreferenciar. Las localidades sin datos de coordenadas, pero con datos de localidad se georreferenciaron utilizando el registro de localidades de INEGI y la aplicación libre Geolocate.

Cuadro 3. Datos consultados para la construcción de los análisis geográficos y modelos de nicho ecológico.

<i>Origen de los datos</i>	<i>Colección</i>	<i>Registros Utilizados</i>
MANIS	Diversos museos de universidades	556
Universidad Nacional Autónoma de México	Colección Nacional de Mamíferos	127
Universidad Autónoma Metropolitana unidad Iztapalapa	Colección de Mamíferos	30
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo	Colección de Mamíferos	96

Se obtuvieron las localidades únicas, 169 en total, y se clasificaron los registros correspondientes a las subespecies y a los citotipos. Para la clasificación de las localidades en función de la distribución de citotipos dada por Núñez (2000), los registros fueron analizados con el SIG ArcMap 10 (ESRI, 2010) donde previamente se construyeron polígonos de distribución de los citotipos lo más fielmente posible a lo descrito por este autor. Los registros de museo se clasificaron según los polígonos de distribución de los citotipos para posteriormente generar modelos de nicho ecológico (MNE; Peterson, 2006; Warren y Seifert, 2011). Los registros correspondientes al estado de Guerrero se consideraron como indeterminados para cualquier citotipo por no considerarse para el trabajo original de este autor.

Los modelos de nicho ecológico fueron construidos con el software libre MaxEnt 3.3.3k (Phillips, 2004) utilizando las 19 capas de variables bioclimáticas y un modelo digital de elevación (MDE; cuadro 4) obtenidos de Worldclim (Hijmans et al., 2005) a una resolución de 30 segundos (~1 km) por tratarse del tipo de capa de datos con mayor resolución disponible. La construcción de los MNE se realizó de dos maneras según el manejo de los datos: a) tratamiento

relajado, donde se utilizó la clasificación de los datos correspondiente a lo descrito por Núñez (2000) para los citotipos; b) tratamiento estricto, donde se tomaron los valores climáticos exactos para cada localidad a partir de las capas de 19 variables bioclimáticas y un MDE obtenidos de Worldclim. Dichos valores se analizaron estadísticamente con los software Statistica 7.0 (StatSoft, 2004) y JMP 8.0 (SAS Institute, 2008), aplicando una prueba de normalidad para posteriormente analizar la correlación entre las variables. Las variables más correlacionadas (con valor de correlación mayor del 80%) se evaluaron en un análisis de componentes principales (ACP). Los valores de cargas (loadings) obtenidos del ACP se utilizaron para construir un análisis de agrupamientos (cluster). Los grupos obtenidos en el análisis de agrupamientos fueron clasificados y proyectados geográficamente en ArcMap 10 y se construyeron MNE para estos grupos. Los grupos con sobreposición de localidades y MNE mayor a 50% se consideraron como uno mismo y se reclasificaron. El proceso de reclasificación se repitió de manera iterativa hasta obtener un mínimo de grupos a fin de reducir el número de MNE finales para el tratamiento estricto e identificar las zonas ambientales distintas.

Los MNE correspondientes al tratamiento relajado, donde se incluyó la clasificación de las dos subespecies y a los cuatro citotipos se construyeron empleando un primer análisis con los parámetros estándar en MaxEnt (umbral de convergencia=  $10^{-5}$ , iteraciones máximas= 500, multiplicador de regularización= 1, y selección de auto características). A partir del primer análisis se eligieron las variables más explicativas (porcentaje de contribución al modelo de 95%) y se construyó un modelado definitivo. Para la obtención de los MNE del tratamiento estricto se utilizaron los mismos parámetros en MaxEnt. Las variables climáticas que se utilizaron por tener mayor correlación en los análisis estadísticos fueron Bio 1, 6, 9-11, 17 y MDE (cuadro 4).

---

Cuadro 4. Variables bioclimáticas utilizadas para construir los modelos de nicho ecológico.

*Variables bioclimáticas*

---

---

BIO1 = temperatura media anual

BIO2 = rango medio diurno (media del mes (temp max – temp min))

BIO3 = isothermalidad (BIO2/BIO7) (\* 100)

BIO4 = temperatura estacional (desviación estándar \*100)

BIO5 = temperatura máxima del mes más cálido

BIO6 = temperatura mínima del mes más frío

BIO7 = rango de temperatura anual (BIO5-BIO6)

BIO8 = temperatura media del cuarto más húmedo

BIO9 = temperatura media del cuarto más seco

BIO10 = temperatura media del cuarto más cálido

BIO11 = temperatura media del cuarto más frío

BIO12 = precipitación anual

BIO13 = precipitación del mes más húmedo

BIO14 = precipitación del mes más seco

BIO15 = precipitación estacional (coeficiente de variación)

BIO16 = precipitación del cuarto más húmedo

BIO17 = precipitación del cuarto más seco

BIO18 = precipitación del cuarto más cálido

BIO19 = precipitación del cuarto más frío

MDE = modelo digital de elevación

---

Finalmente, se evaluó la conectividad entre los MNE construidos con el fin de identificar barreras geográficas (climáticas o físicas), a través de la función de análisis de distancia “corridor” (Beier et al., 2009; ESRI, 2010) que evalúa los costos de distancia y los caminos con menor costo. Para dichas evaluaciones se empleó el MDE de bioclim para calcular el menor costo de los caminos en función de esta variable de elevación.

## RESULTADOS

*Muestras procesadas.* Se incluyeron en total 29 ejemplares, 26 de los cuales corresponden a *O. banderanus* y el resto a especies de los géneros de roedores *Peromyscus* y *Reithrodontomys* que fueron empleados como grupos externos. Se amplificaron fragmentos de tres genes mitocondriales para todas las muestras: citocromo oxidasa subunidad I (*COI*;~500pb), citocromo B (*Cyt b*;~ 1100pb) y región control (*RC*;~ 800pb) para todas las muestras empleadas. Los ejemplares colectados de *O. banderanus* corresponden a siete localidades de las cuales se tienen representados los cuatro citotipos descritos por Núñez (2000)(cuadro 5).

Cuadro 5. Ejemplares utilizados en el estudio y representación de éstos respecto a los citotipos. \* El estado de Guerrero no fue muestreado para el estudio original de los cariotipos, por lo que no se consideró el citotipo descrito por Núñez (2000).

<i>Localidad</i>	<i>Muestra</i>	<i>Localidad de correspondencia (Núñez 2000)</i>	<i>Citotipo representante</i>
Chamela, 5.5 Km SE de la Estación biológica IBUNAM, Jalisco	2583		A
Chamela, 7.13 Km SE de la Estación biológica IBUNAM, Jalisco	2589, 2593		A
Chorros del Varal, 3.37 km SSO Los Palillos, Municipio Los Reyes, Michoacán	CV01, CV02, CV09, CV14	Chorros del Varal	C
Chorros del Varal, 2.75 km SW Los Palillos, Municipio Los Reyes, Michoacán	CV05, CV06	Chorros del Varal	C
Playa Santa Elena, 4 km NNW Barranca San Diego, Guerrero	INF25, INF26, INF27 e INF28	1km N el Infiernillo	D
1.25 km SSW de Jungapeo de Juárez, Municipio Jungapeo, Michoacán	JUN18, JUN19, JUN20, JUN21, JUN22, JUN23	3km E la Soledad, 9 km SE Jungapeo 1150m	B
Playa de Oro, Municipio Manzanillo	Ma10, Ma14		A
6 km E Pueblo Juárez, Municipio Coquimatlán	Ma55, Ma56		A
3.3 km SSE de Mochitlán	MOCH30, MOCH31, MOCH32		*No descrito



*Análisis filogenéticos.* Previo a la construcción de los árboles filogenéticos se evaluaron las siguientes características para cada marcador genético: número de posiciones, composición nucleotídica, tasas de transición/transversión y modelos evolutivos por posición nucleotídica en el caso de genes codificantes de proteínas (*COI* y *Cyt b*), y para el gen región control (cuadro 6).

Cuadro 6. Cuadro comparativo de las características de los genes utilizados. Se comparan el número de caracteres y de ellos cuantos fueron informativos para el análisis de parsimonia, los índices de consistencia (IC) y de retención (IR) encontrados para los árboles evaluados por este método, los modelos evolutivos evaluados para cada posición del codón en genes codificantes de proteínas y no codificantes bajo el criterio de información de Akaike, las frecuencias de bases en cada gen y la proporción (R) de transiciones/transversiones encontradas para cada gen.

<i>Gen</i>	<i>Número de caracteres</i>	<i>Caracteres informativos para parsimonia</i>	<i>IC</i>	<i>IR</i>	<i>Modelo Evolutivo (-lnL)</i>	<i>Frecuencias nucleotídicas</i>	<i>Proporción de transiciones / transversiones (R)</i>
<i>COI</i>	514	103	0.740	0.873	<i>1ra posición</i> TIM3ef+G (373.5300) <i>2da posición</i> F81 (221.4631) <i>3ra posición</i> HKY+G (697.6101)	A = 31.22% T = 31.48% C = 22.99% G = 14.31%	4.88
<i>Cyt b</i>	1139	260	0.706	0.858	<i>1ra posición</i> K80+I (1434.5100) <i>2da posición</i> F81+G (1097.3444) <i>3ra posición</i> TIM2+G (2101.7942)	A = 32.24% T = 29.89% C = 24.73% G = 13.15%	4.04
<i>RC</i>	841	163	0.747	0.866	HKY+I+G (3034.6444)	A = 33.64% T = 30.84% C = 23.59% G = 11.93%	1.75
Genes concatenados	2494	526	0.723	0.861			

La reconstrucción de los árboles evaluados por medio de los tres métodos filogenéticos empleados (parsimonia, máxima verosimilitud e inferencia Bayesiana) mostraron topologías similares al analizar los datos de los tres genes por separado. Por lo tanto, se evaluó la concatenación de los tres genes mediante la prueba de congruencia ILD. Los resultados de esta prueba indicaron congruencia al usar los datos de los tres genes ( $p \geq 0.05$ ), pero indicaron

incongruencia significativa al usar únicamente los datos de los gen *RC* y *Cyt b* ( $p \leq 0.05$ ). Esto indica que la homoplasia del árbol resultante de la combinación de los datos es menor o igual a la generada al usar los datos de los genes por separado, por lo que se apoya el uso de los datos combinados (Mickey and Farris, 1981; Wheeler, 1999).

El árbol de consenso estricto (figura 9) obtenido a partir de los datos concatenados con el método de parsimonia tuvo una longitud de 1,279 pasos, y un índice de consistencia y de retención de 0.745 y 0.862, respectivamente. Se recuperaron los clados correspondientes a los citotipos A, B, C y D con valores de soporte de bootstrap mayores al 70%, considerados como adecuados (Hillis y Bull, 1993). El clado I corresponde al citotipo D, mientras el clado II se relacionó con las muestras correspondientes al citotipo A, y los clados III y IV mantienen relación con los citotipos B y C, respectivamente. El clado I conformado por las muestras de Infiernillo y Mochitlán representó el grupo hermano de los clados II, III y IV, conformados por muestras de Chamela-Colima, Jungapeo y Chorros del Varal. Los valores de soporte mayores a 90% para los clados principales indican la validez de estos grupos.

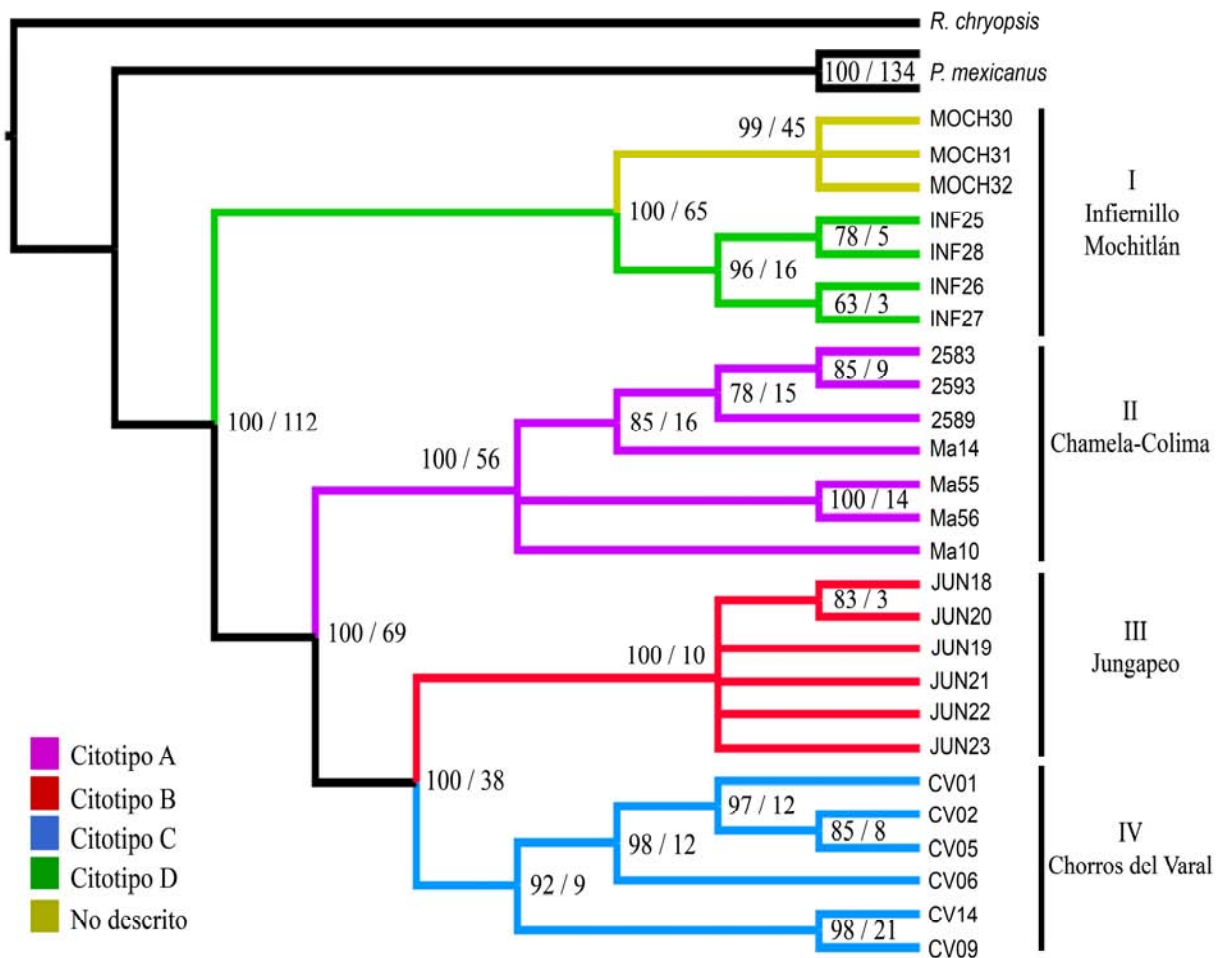


Figura 9. Árbol de consenso estricto obtenido a partir de los árboles más parsimoniosos resultantes del análisis de parsimonia construido con datos concatenados de los genes mitocondriales *COI*, *Cyt b* y *RC*. Los números en los nodos del árbol indican valores de bootstrap / valores de soporte de Bremer. Los grupos externos incluyen secuencias de los géneros *Peromyscus* y *Reithrodontomys*. Se indican en números romanos los clados obtenidos y las localidades correspondientes.

En el método de máxima verosimilitud utilizado para los datos concatenados (figura 10) se manejó un único modelo evolutivo (GTR +I +G) debido a que el software RaxMLGUI (Silvestro y Michalak, 2012), en el que se implementó el análisis, solo acepta un único modelo para diferentes particiones o posiciones en un codón. El árbol recuperado por este método presentó una topología muy similar al obtenido por el método de parsimonia. Se identificaron los cuatro clados correspondientes a los citotipos: clado I que corresponde al citotipo D, clado II que corresponde al citotipo A, y clados III y IV que corresponden a los citotipos B y C

respectivamente. Los valores de soporte de ramas fueron adecuados, reafirmando la validez de la topología y la clara distinción entre los grupos obtenidos. La divergencia genética evaluada para los tres genes (cuadro 7) fue alta en particular para el citotipo D (14-15%). Los valores más bajos de divergencia se obtuvieron entre los citotipo B y C (1%).

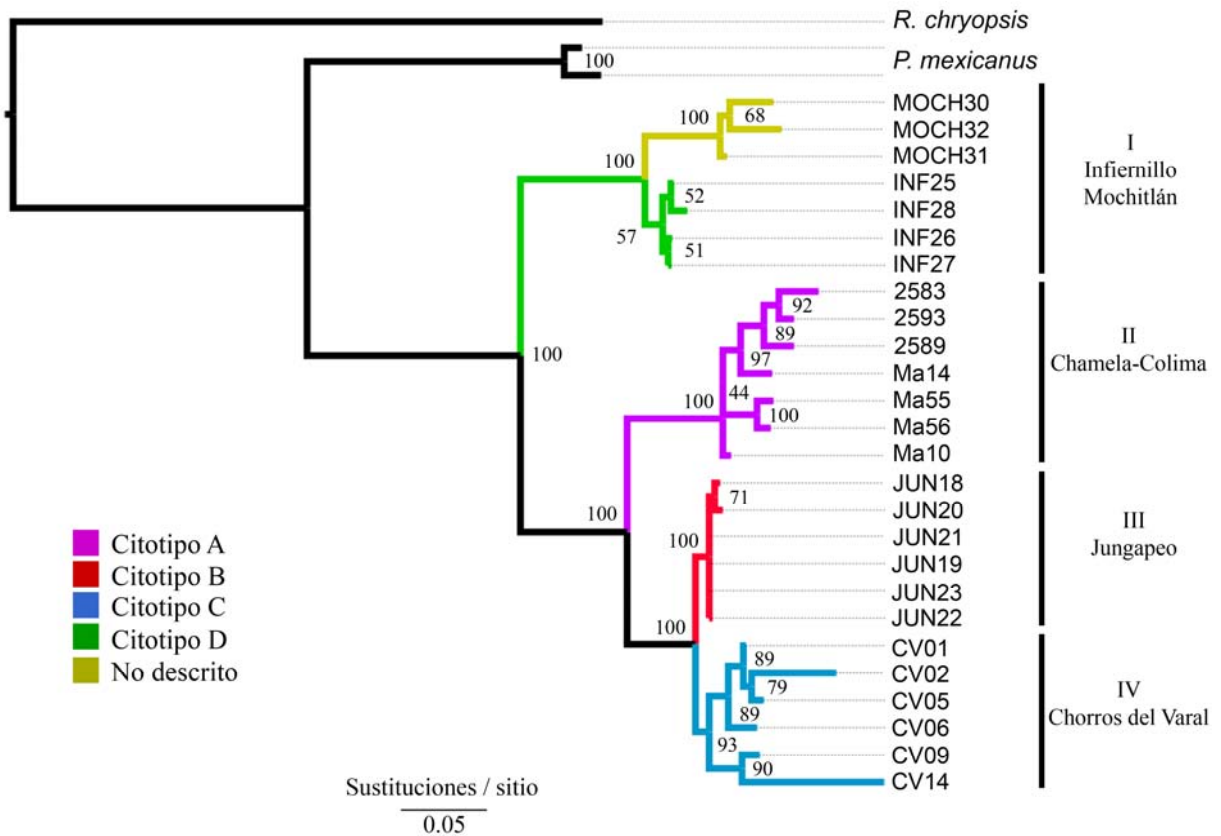


Figura 10. Árbol de máxima verosimilitud calculado a partir de caracteres obtenidos de secuencias de ADN mitocondrial. Los números de los nodos indican el valor de bootstrap. Los grupos externos incluyen secuencias de los géneros *Peromyscus* y *Reithrodontomys*. Los números romanos indican los clados obtenidos y sus localidades correspondientes.

Cuadro 7. Valores de divergencia genética obtenidos a partir de los datos concatenados de los genes *Cyt b*, *COI* y *RC* por medio del análisis de máxima verosimilitud.

Citotipo	A	B	C	D
A	-			
B	0.083	-		
C	0.083	0.013	-	
D	0.152	0.146	0.146	-

Utilizando el método de inferencia Bayesiana se obtuvo el árbol de consenso de mayoría (figura 11). En el filograma obtenido, nuevamente, el clado I conformado por las muestras de Infiernillo y Mochitlán aparecen como el grupo hermano de las muestras correspondientes a Chamela-Colima (II), Jungapeo (III) y Chorros del Varal (IV). Los valores de probabilidades posteriores para los clados (100%) indican la validez de los grupos obtenidos (Huelsenbeck et al., 2002; Alfaro et al., 2003). Los valores más altos de divergencia genética (cuadro 8) obtenidos a través de este método se presentaron en el citotipo D (10%). Los valores de divergencia más bajos se presentaron entre los citotipos B y C (0.9%).

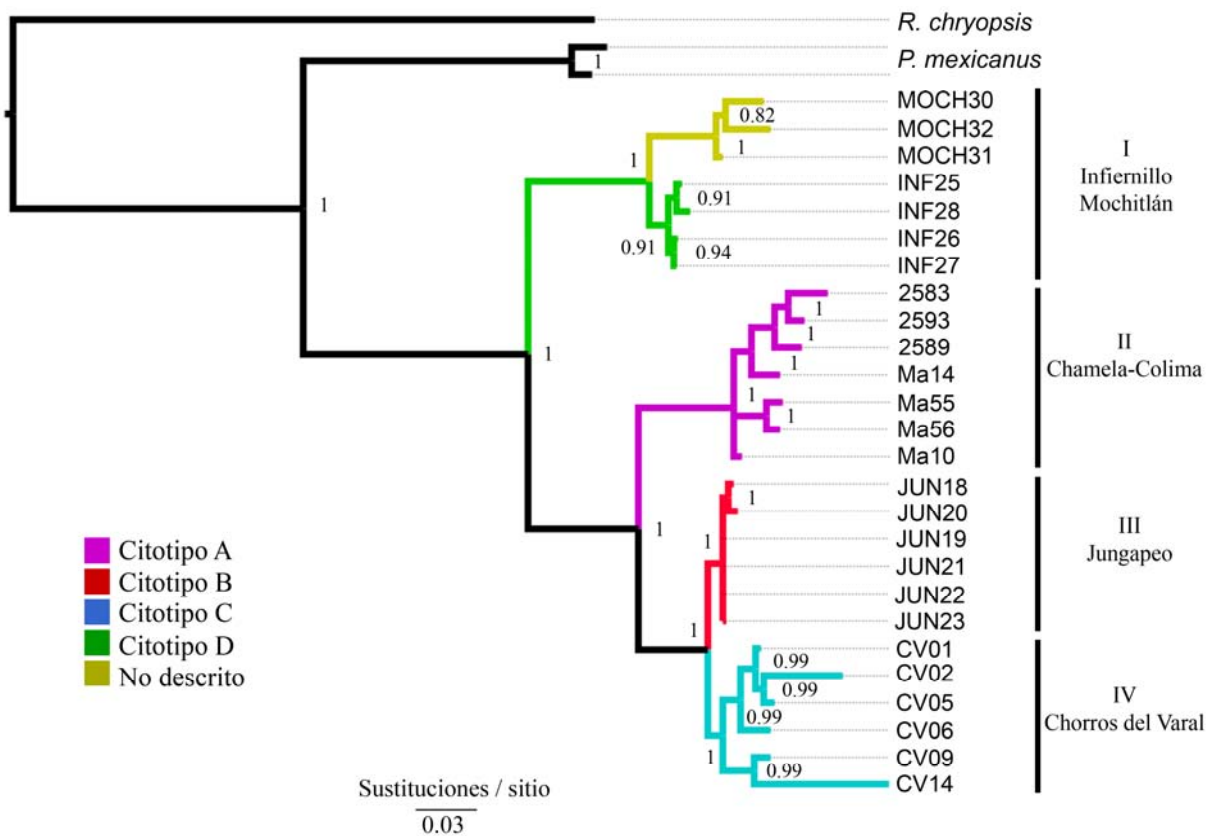


Figura 11. Árbol de consenso de mayoría recuperado del análisis de inferencia Bayesiana utilizando datos moleculares de los genes *COI*, *Cyt b* y *RC* con distintos modelos de evolución molecular. Se muestran los valores de probabilidades posteriores sobre los nodos. Los grupos externos incluyen secuencias de los géneros *Peromyscus* y *Reithrodontomys*. Los clados reconocidos se marcan con números romanos y su correspondencia con las localidades.

Cuadro 8. Valores de divergencia genética obtenidos a partir de los datos concatenados de los genes *Cyt b*, *COI* y *RC* por medio del análisis de inferencia Bayesiana.

Citotipo	A	B	C	D
A	-			
B	0.058	-		
C	0.058	0.009	-	
D	0.107	0.103	0.103	-

Las topologías obtenidas de los análisis con los tres métodos de reconstrucción filogenética indican congruencia respecto a los citotipos reportados para la especie. Estas topologías presentan tres clados principales que también son distinguibles geográficamente: el clado I que corresponde a la zona de la cuenca del río Balsas y al sur de Guerrero (poblaciones de Infiernillo y Mochitlán); el clado II correspondiente a la zona de la región costera de Jalisco y Colima (poblaciones de Chamela y Manzanillo); y los clados hermanos III y IV que corresponden a la zona central de Michoacán (poblaciones de Jungapeo y Chorros del Varal). A pesar de la clara separación de las muestras y su correspondencia con los cuatro citotipos descrito por Núñez (2000), también existe una separación de los clados principales I respecto a II, III y IV que se asocia geográficamente a la cuenca del río Balsas.

Los tiempos de divergencia calculados a través del análisis de reloj molecular relajado (figura 12), calibrado mediante el uso de los tiempos de divergencia reportados por Stepan y colaboradores para la divergencia de los géneros *Reithrodontomys* y *Peromyscus* (2004), indicaron divergencia de los grupos correspondientes a los citotipos a finales del mioceno. La edad promedio de separación del clado I correspondiente al citotipo D fue de 5.2 (con un límite de confianza de 95% de  $\pm 0.6$ ) millones de años (Mda), siendo el clado de divergencia más antigua. La edad promedio de divergencia del clado II (citotipo A) se estimó en 3.4 ( $\pm 0.5$ ) Mda. En los clados III y IV que corresponden a los citotipos B y C, respectivamente, se estimó un tiempo de divergencia hace 1.8 ( $\pm 0.3$ ) Mda.

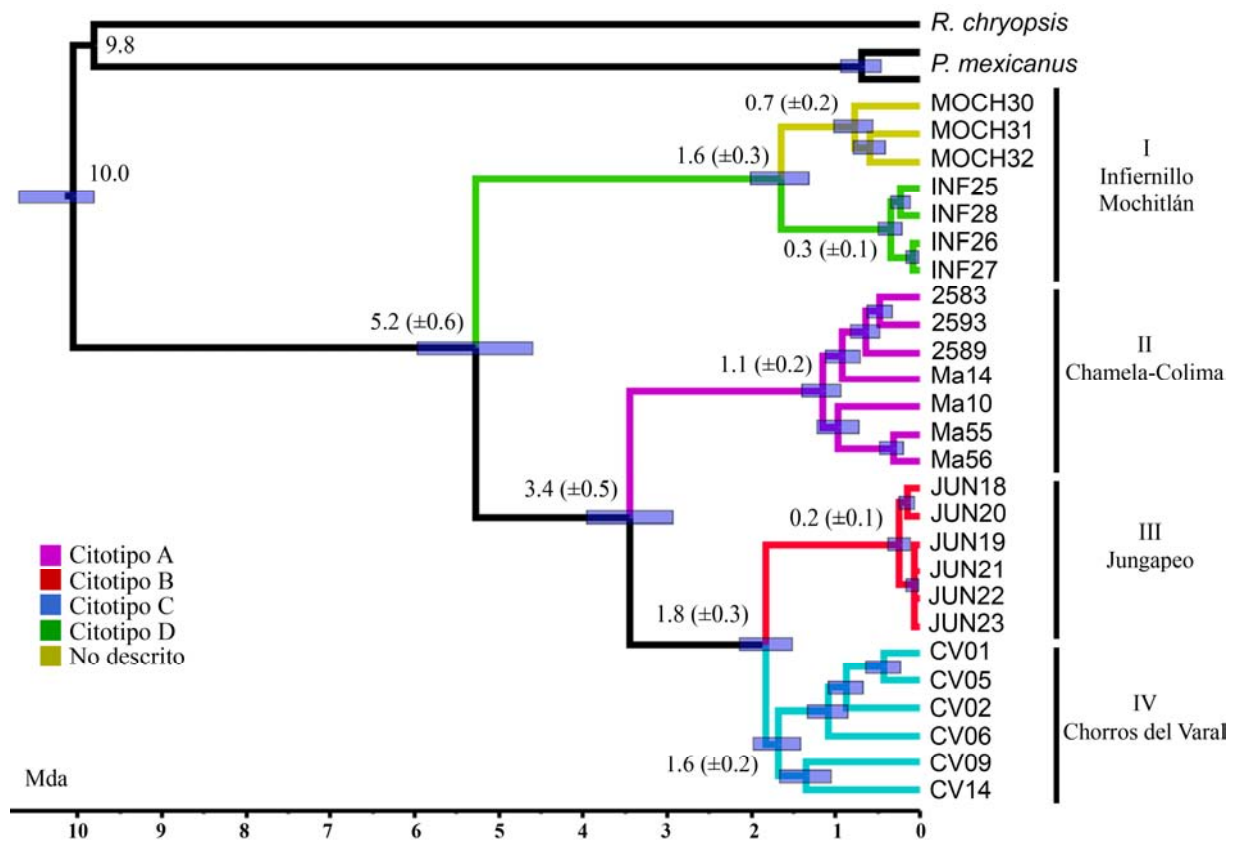


Figura 12. Análisis de reloj molecular relajado calibrado a partir de los tiempos de divergencia para los géneros *Peromyscus* y *Reithrodontomys* (9.8 Millones de años; Stepan et al. 2004). Se muestran los tiempos promedio de divergencia para los clados principales I (5.2 Mda), II (3.4 Mda), III y IV (1.8 Mda) y el límite de confianza del 95% representado por las barras y entre paréntesis.

*Características genéticas de los citotipos.* Se evaluó la diversidad genética y de haplotipos para cada gen mitocondrial (cuadro 7). Los haplotipos encontrados fueron únicos para cada grupo, repitiéndose únicamente al interior de estos. La diversidad haplotípica fue alta en el caso de los tres genes evaluados con valores de diversidad haplotípica de alrededor de 0.9.

Cuadro 7. Características genéticas encontradas para los genes Citocromo Oxidasa subunidad I (*COI*), Citocromo B (*Cyt B*) y Región Control (*RC*). Las distancias genéticas se implementaron utilizando el modelo de dos parámetros de Kimura y 1000 réplicas de bootstrap. Los grupos utilizados para medir las distancias genéticas se construyeron en base a los clados obtenidos en los análisis filogenéticos.

<i>Gen</i>	<i>Numero de Haplotipos (h)</i>	<i>Diversidad Haplotípica (Hd)</i>	<i>Distancia genética por grupos</i>					
<i>COI</i>	13	0.9354	1	2	3	4	5	
			<i>1. R. chrysopsis</i>					
			<i>2. P. mexicanus</i>	0.203				
			3. I	0.189	0.164			
			4. II	0.195	0.185	0.066		
			5. III	0.202	0.175	0.066	0.049	
			6. IV	0.207	0.174	0.067	0.051	0.015
<i>Cyt B</i>	17	0.9631	<i>1. R. chrysopsis</i>					
			<i>2. P. mexicanus</i>	0.191				
			3. I	0.193	0.166			
			4. II	0.176	0.165	0.102		
			5. III	0.189	0.169	0.095	0.046	
			6. IV	0.190	0.179	0.098	0.051	0.018
			<i>RC</i>	18	0.9538	<i>1. R. chrysopsis</i>		
			<i>2. P. mexicanus</i>	0.142				
			3. I	0.167	0.080			
			4. II	0.169	0.084	0.048		
			5. III	0.173	0.087	0.050	0.030	
			6. IV	0.174	0.091	0.056	0.036	0.010



Los árboles de distancias obtenidos a partir de los datos (figura 13) mostraron tendencias similares a las obtenidas con los métodos filogenéticos. El grupo con mayor distancia genética fue el conformado por las localidades de Mochitlán e Infiernillo con diferenciación genética de entre 4.8 y 10.2% (clado I). El segundo grupo que presentó las distancias genéticas mayores fue el conformado por las muestras de Chamela y Manzanillo, donde las distancias genéticas fueron alrededor de 4.9 a 6.6% para el gen *COI*, para el gen *Cyt B* 4.6 a 9.5%, y para el gen *RC* 3.0 a 4.8%. Las distancias genéticas menores se presentaron en las muestras de Jungapeo (clado III) y Chorros del Varal (clado IV), encontrándose distancias genéticas de aproximadamente 1% entre ambos. No se encontraron sub grupos bien definidos dentro de este grupo, por lo que se puede considerar que estas muestras pertenecen a un mismo grupo con características genéticas similares. Las distancias genéticas respecto a los grupos externos variaron de 8 a 20% en función del clado o el marcador molecular que se tome en cuenta.

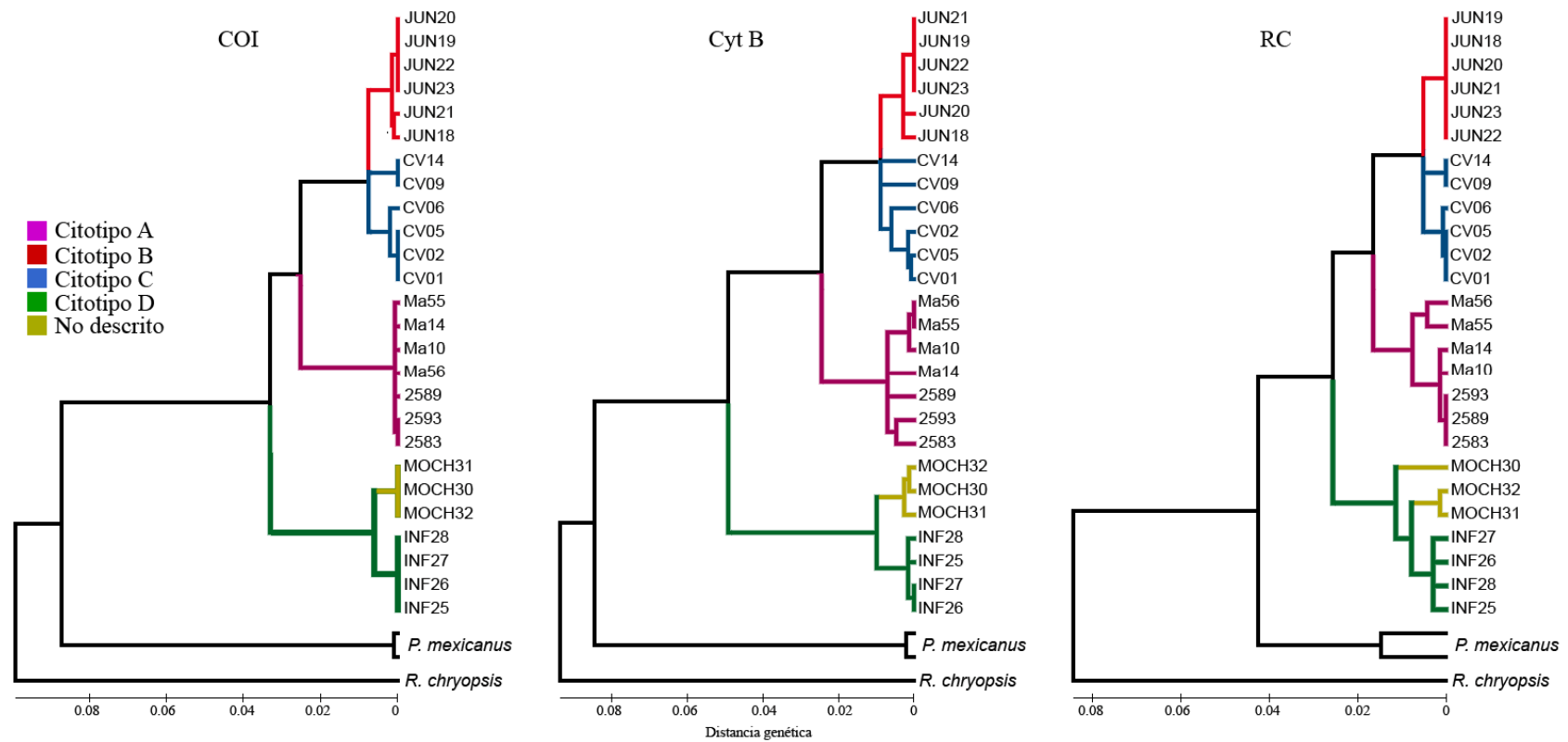


Figura 13. Se muestran los dendogramas obtenidos a partir de las distancias genéticas de los genes mitocondriales Citocromo Oxidasa subunidad I (COI) Citocromo B (CytB) y Región Control (RC) mediante el método de Neighbor-joining utilizando el modelo Kimura de dos parámetros. Las distancias genéticas se muestran en la barra horizontal.

La prueba de AMOVA indico que existe estructura genética en los grupos correspondientes a los citotipos (cuadro 8). Se utilizaron los clados principales (I-IV) obtenidos de los análisis filogenéticos para definir los grupos problema o regiones. Los valores del estadístico F de Wright  $F_{st}$ ,  $F_{ct}$  y  $F_{sc}$  (definidos como la correlación de los haplotipos entre poblaciones, dentro de las poblaciones por grupos y entre grupos, respectivamente; Excoffier et al., 1992) demostraron diferencias en los tres genes. En los tres genes se encontraron índices de fijación bajos al comparar los grupos (clados), siendo que para el gen *COI* se encontró un  $F_{sc} = 0.39$ , para *Cyt b* = 0.19 y para *RC* = 0.07, sin embargo, para los genes *Cyt b* y *RC* no se encontró significancia estadística ( $P > 0.5$ ). Estos resultados indican que los haplotipos entre los clados están poco correlacionados y se sustenta la hipótesis de independencia genética aportada por los análisis filogenéticos.

Cuadro 8. Resultados de la prueba de AMOVA realizada para los genes mitocondriales Citocromo Oxidasa subunidad I, Citocromo B y Región Control. g. l. grados de libertad, \* valores de P no significativos estadísticamente.

<i>Gen</i>	<i>Variación</i>	<i>g.l.</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Componente de la varianza</i>	<i>Porcentaje de la varianza</i>	<i>Índices de fijación</i>	<i>Valor de P</i>
<i>COI</i>	Grupos	3	3.930	0.06236	12.48	$F_{sc} = 0.39453$	<0.05
	Poblaciones / grupos	5	3.264	0.17248	34.53	$F_{ct} = 0.12484$	0.05
	Poblaciones	17	4.500	0.26471	52.99	$F_{st} = 0.47011$	<0.001
	<i>Total</i>	25	11.692	0.49955			
<i>Cyt b</i>	Grupos	3	2.943	0.04324	8.64	$F_{sc} = 0.19597$	*
	Poblaciones / grupos	5	2.845	0.08961	17.90	$F_{ct} = 0.08639$	<0.05
	Poblaciones	17	6.250	0.36765	73.46	$F_{st} = 0.26543$	<0.001
	<i>Total</i>	25	12.038	0.50049			
<i>RC</i>	Grupos	3	3.399	0.10053	20.02	$F_{sc} = 0.07260$	*
	Poblaciones / grupos	5	2.190	0.02916	5.81	$F_{ct} = 0.20017$	<0.001
	Poblaciones	17	6.333	0.37255	74.18	$F_{st} = 0.25823$	<0.001
	<i>Total</i>	25	11.923	0.50225			

Para analizar la correlación entre la distancia genética y la distancia geográfica, se implementó la prueba de Mantel. Para el caso de los tres genes se encontraron índices de correlación bajos (figura 14), indicando que el aislamiento por distancia no es el factor determinante de la diferenciación genética. Los valores de  $r$  (coeficiente de correlación) para el caso del gen *COI* fueron de 0.59, indicando baja correlación entre la distancia geográfica y genética; sin embargo, en los genes restantes los valores fueron inferiores (*Cyt b* = 0.53, *RC* = 0.49), por lo que en conjunto se puede determinar que el aislamiento por distancia tiene poca correlación con la diversidad genética encontrada para las poblaciones.

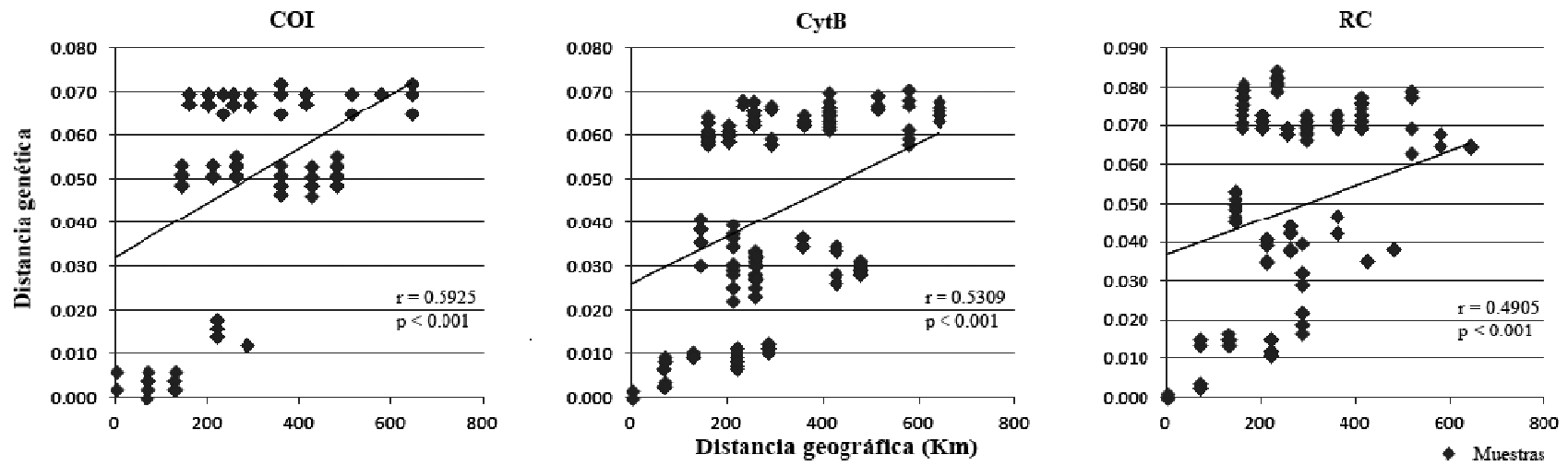


Figura 14. Prueba de Mantel construida para evaluar la relación entre la distancia genética y la distancia geográfica para los genes mitocondriales Citocromo Oxidasa subunidad I (*COI*), Citocromo b (*Cyt b*) y Región Control (*RC*). Se muestra la relación entre las distancias genéticas (eje Y) y las distancias geográficas (eje X). Los valores de correlación ( $r$ ) muestran una baja correlación entre las variables a excepción del gen *COI*. Los valores de P son estadísticamente significativos.

*Análisis ambiental y modelado de nicho ecológico.* Con la finalidad de analizar si se presentan diferencias en cuanto a las condiciones ambientales y requerimientos de nicho ecológico fundamental en los grupos correspondientes a los citotipos, se evaluaron variables ambientales para los datos de registros obtenidos de diferentes museos y colecciones mastozoológicas. Los registros extrapolados a partir de los polígonos de los citotipos dieron un total de 86 localidades para el citotipo A, 29 para el citotipo B, 6 para el citotipo C y 4 para el citotipo D y 44 registros que no fueron determinados por distribuirse en Guerrero y no tener descripción del citotipo en esta área. En el caso de la clasificación de los registros por subespecie se obtuvieron un total de 108 registros correspondientes a *Osgoodomys banderanus banderanus* y 55 para *O. b. vicinior*. Seis registros adicionales permanecieron como indeterminados debido a la falta de datos sobre subespecie y a que por encontrarse en la zona límite entre ambas subespecies no fue clara su caracterización dentro de alguna de ellas.

El análisis de agrupamiento se obtuvo 28 grupos iniciales (figura anexa 1), los cuales se reclasificaron en función de su similitud ambiental. Se obtuvieron cuatro grupos finales con distribución espacial definida y poca sobreposición. El grupo I corresponde a la zona costera que abarca los estados de Colima, Jalisco y Nayarit. El grupo II se distribuye hacia el interior de la cuenca del río Balsas en los límites de los estados de Michoacán y Guerrero. El grupo III tiene una distribución en la parte de la costa correspondiente a los límites sur de Michoacán y Guerrero. Finalmente, el grupo IV corresponde a la zona de los estados de Guerrero, Michoacán y Jalisco que circunda al grupo II, es decir adyacente a las cercanías del río Balsas.

Los modelos de nicho ecológico fueron implementados como una herramienta para comparar los requerimientos ecológicos de la especie. En los modelos de nicho ecológico construidos para los cuatro citotipos (figura 15 a-d) se encontró que el citotipo A presenta distribución potencial que lo ubica cerca de la línea de costa desde Michoacán y hasta Nayarit. El citotipo B y C presentaron distribución potencial asociada a la región centro de Jalisco, Guerrero y Michoacán. Finalmente, para el citotipo D se encontró una distribución potencial que lo ubica en la región de la cuenca del río Balsas hasta su desembocadura y hacia la región costera sur del Pacífico. Los modelos de nicho construidos para las subespecies indican una distribución para *O. b. banderanus* similar a la del citotipo A ubicada en la región costera desde Michoacán hasta Nayarit; mientras la distribución de *O. b. vicinior* se asemeja a la obtenida para el citotipo B.

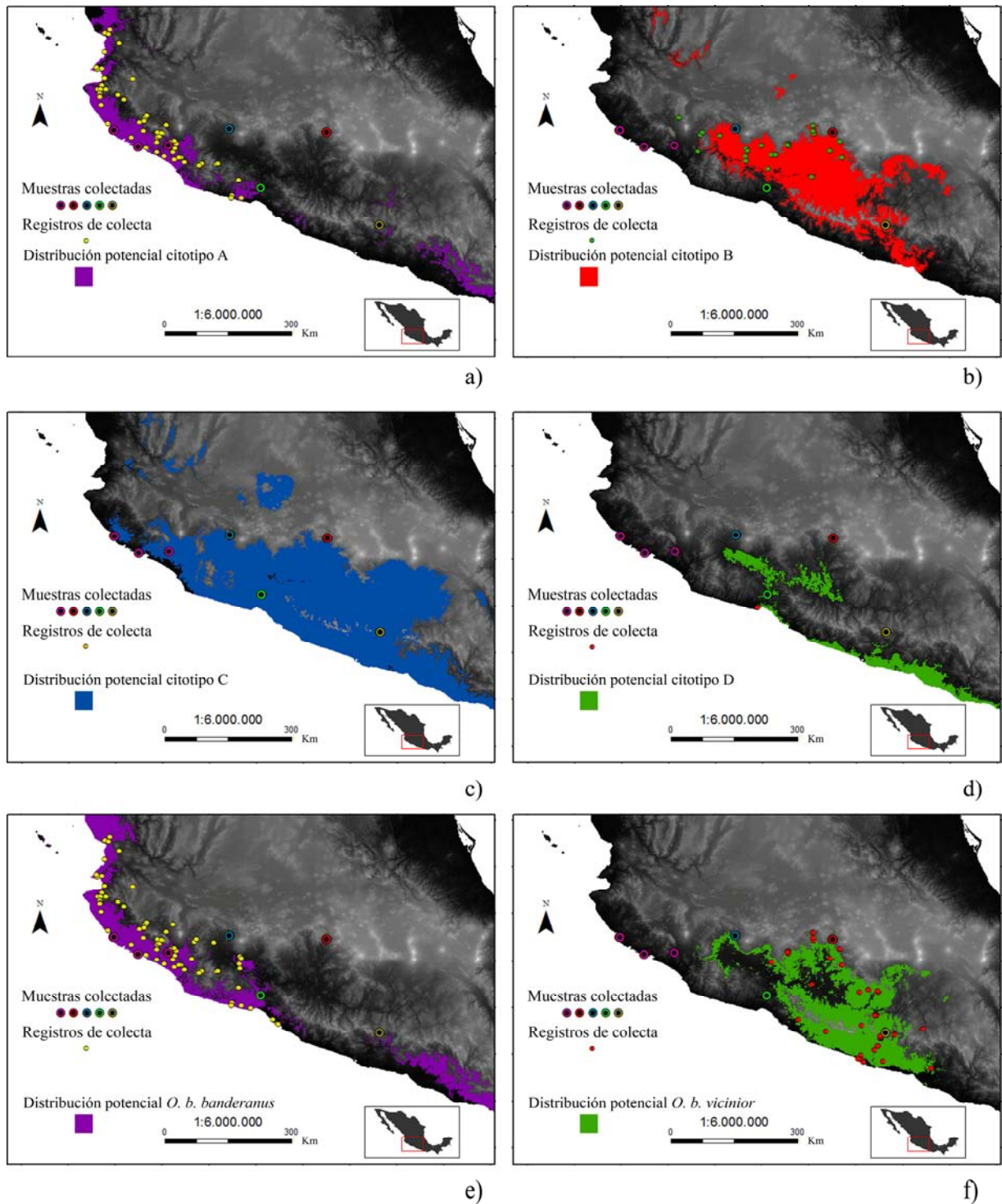


Figura 15. Modelos de nicho ecológico (MNE) construidos para los cuatro citotipos descritos en la literatura (figuras a-d) y para las dos subespecies *O. b. banderanus* y *O. b. vicinior* (e-f) a partir de los registros clasificados correspondientes a 169 localidades.



Los MNE construidos para los grupos resultantes del análisis de agrupamientos (figura 16) presentaron una distribución espacial separada. Los MNE fueron similares espacialmente a los construidos a partir de la clasificación de los registros en función de los citotipos. De esta manera, el grupo I resultó equivalente al citotipo A, el grupo II y III al citotipo D, y el grupo IV fue equivalente a los citotipos B y C. La distribución potencial encontrada a partir de los MNE indica una similitud con la distribución potencial encontrada para las subespecies, siendo que en el grupo I fue similar a *O. b. banderanus* y en el grupo IV fue similar a *O. b. vicinior*.

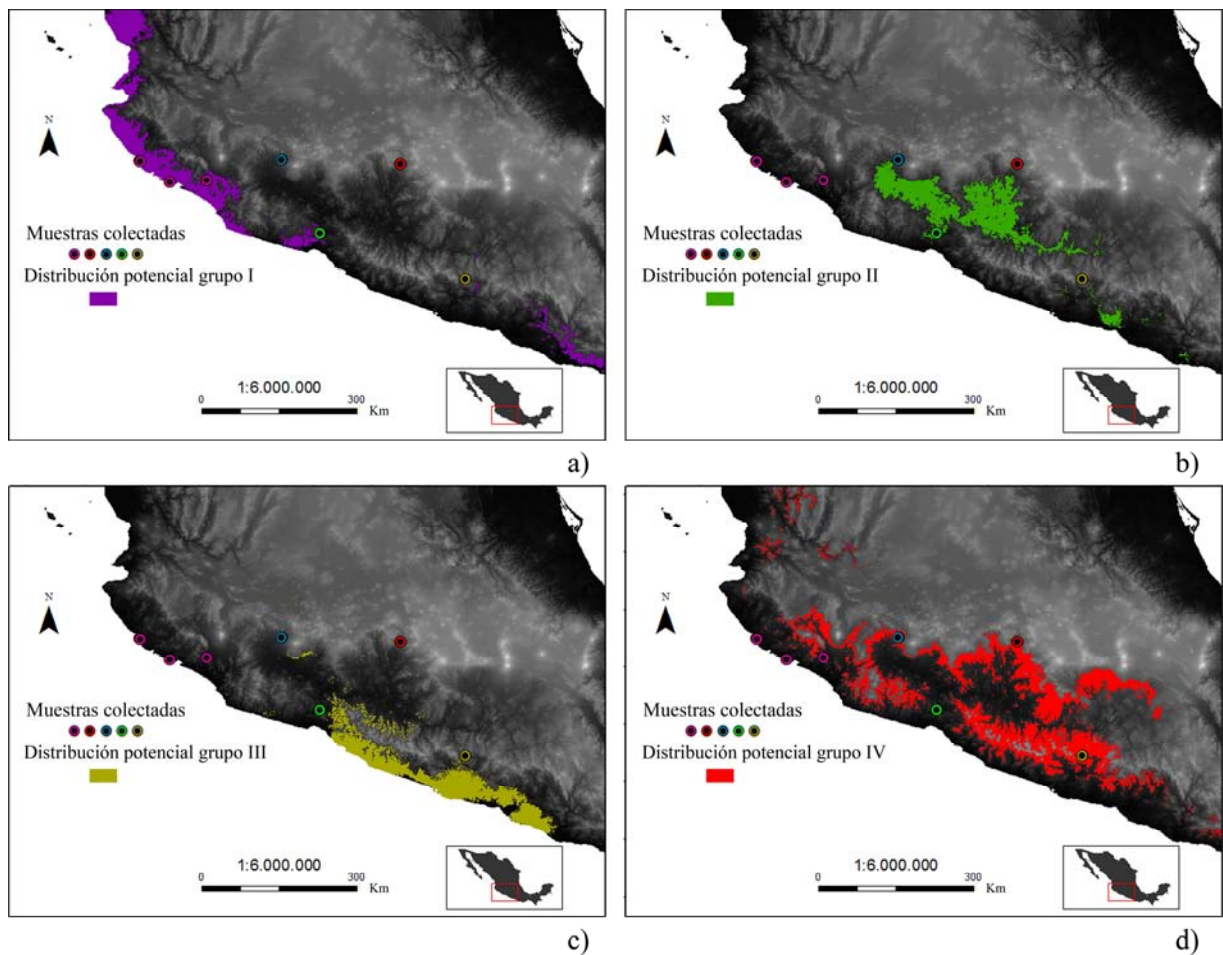


Figura 16. Distribución potencial obtenida a partir de los Modelos de Nicho Ecológico (MNE) construidos para los cuatro grupos resultantes del análisis de agrupamiento a partir de la clasificación de 169 registros de localidades. Los MNE se distinguen en cuatro regiones diferenciadas: costa norte del Pacífico (a), cuenca del río Balsas (b), costa sur del Pacífico (c) y región central de Jalisco, Michoacán y Guerrero (d).

Finalmente, se evaluó la sobreposición geográfica y la conectividad de los MNE (figura 17) construidos para determinar si los citotipos se encuentran separados e identificar barreras geográficas, respectivamente. Los MNE construidos para los citotipos tuvieron gran sobreposición para los citotipos B y C, lo cual reafirma la poca diferenciación entre estos citotipos. La sobreposición en los citotipos A y D fue baja en comparación con el citotipo B, sin embargo, fue afectada en gran medida por la distribución potencial del citotipo C, pues el modelo correspondiente a este citotipo ocupó gran parte de la distribución de la especie. La mayor conectividad se obtuvo en la zona costera desde el estado de Nayarit hasta Guerrero y esta zona a su vez con la cuenca del río Balsas. La conectividad entre la región costera y la zona centro de Jalisco, Michoacán y Guerrero fue baja, indicando que estas zonas probablemente se encuentran separadas o únicamente conectadas a través de la cuenca del río Balsas. En los MNE construidos para las subespecies se encontró sobreposición para los registros indeterminados, pues estos representan la zona donde se encuentran ambas subespecies. La conectividad en las subespecies reflejó patrones similares, con mayor conectividad a lo largo de la costa, sirviendo la región de la cuenca del río Balsas como conexión entre las partes centrales de Jalisco, Michoacán y Guerrero con la región de la costa. Finalmente, los modelos construidos para los grupos resultantes del análisis de agrupamiento tuvieron poca sobreposición, permitiendo diferenciar zonas con valores ambientales característicos, que nuevamente hacen relación con los citotipos encontrados. La conectividad entre los grupos del Clúster nuevamente relacionó las zonas de la costa con la cuenca del río Balsas, siendo ésta la zona de conexión con la región central de Jalisco, Michoacán y Guerrero. Sin embargo, en todos los análisis de corredores se reconoció la presencia de la Sierra Madre del Sur como una zona con baja o nula conectividad, lo que indica que pudiera representar una barrera geográfica que impide la conexión entre la región central y la costa de Guerrero para esta especie.

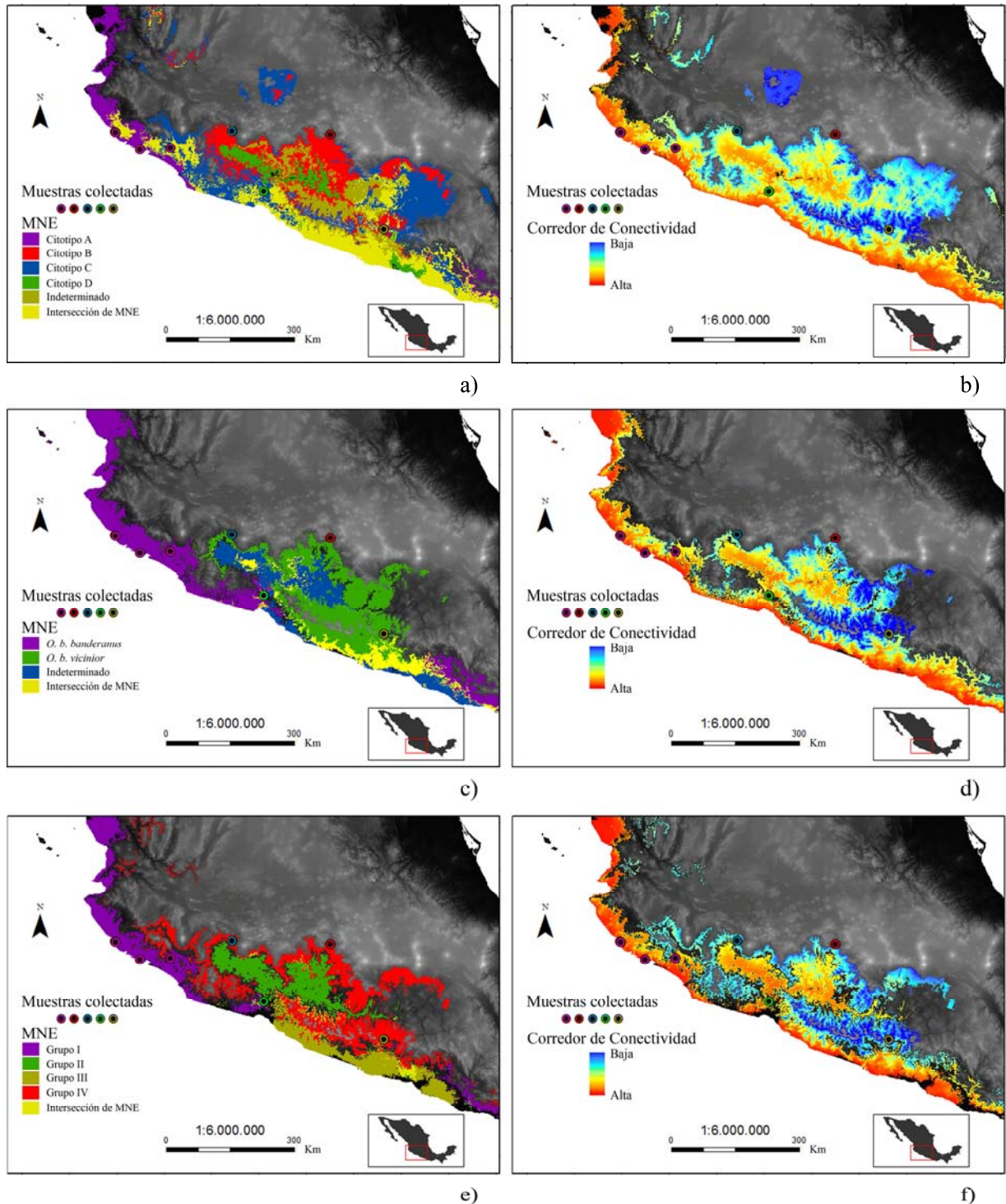


Figura 17. Sobreposición espacial de los modelos de nicho ecológico evaluados para los citotipos descritos (a), las subespecies (c) y los grupos resultantes del análisis de agrupamiento (e). Se muestra la conectividad entre los modelos a partir de los corredores de conectividad construidos para los citotipos (b), las subespecies (d) y los grupos resultantes del análisis de agrupamiento (f).

## DISCUSIÓN

### *Variabilidad cariotípica y patrones filogenéticos*

La evidencia proporcionada por los genes mitocondriales muestra diferenciación filogenética entre las poblaciones correspondientes a los citotipos. La consistencia entre los árboles obtenidos por diferentes métodos es evidencia de diferencia en la historia evolutiva de los citotipos y de que algunos de estos pueden en realidad representar especies crípticas. La variación cromosómica puede ser baja, como es el caso de varias especies de roedores múridos, los cuales pueden tener morfología similar y poseer poca variación en el número fundamental (NF) o cromosómico (Hsu y Benirschke, 1967; Lee y Elder, 1977; Yates et al., 1979; Rogers et al., 1984; Stangl y Baker, 1984; Ordóñez-Garza et al., 2013). Esta variación en el NF es suficiente para considerar la presencia de más de un linaje, pues los cambios cromosómicos pueden servir como barrera reproductiva (Patton y Sherwood, 1983), por lo que la variación cromosómica es un punto de partida válido para intuir la presencia de linajes crípticos.

Los datos obtenidos indican que el grado de diferenciación cromosómica aparentemente no se relaciona de manera directa con el grado de diferenciación en los marcadores mitocondriales. Los citotipos con NF mayores (citotipos C y D; NF= 62 y 78, respectivamente) están menos relacionados evolutivamente que los citotipos con menores cambios cromosómicos (citotipos A y B; NF= 52). La evolución cromosómica conocida para los roedores no indica un patrón claro, pues en algunos grupos la tendencia es la reducción del NF, mientras en otros no sucede así. Sin embargo, la posición filogenética del citotipo D como grupo hermano del resto de los citotipos puede indicar una tendencia a la reducción del NF. Este supuesto es contrario a lo planteado por Núñez (1999, 2000), quien indica que el citotipo que conserva la mayor similitud con el ancestro es el A, bajo el argumento de que fue el primero en ser descrito.

La presencia del citotipo C como un grupo más reciente a pesar de tener un NF mayor (NF = 62) puede explicarse a través de los mecanismos de la variación cromosómica. Los mecanismos más frecuentes pueden alterar el número cromosómico mediante fisiones o fusiones Robertsonianas o el NF por medio de inversiones pericéntricas y por la incorporación de heterocromatina (Patton y Sherwood, 1983). En el caso del citotipo C, los estudios previos no dejan claro si la variación tan alta en su NF está relacionada a inversiones pericéntricas o a la incorporación de heterocromatina. Esto es de gran interés, pues se sabe que el cambio en el NF derivado de inversiones pericéntricas sirve como una barrera reproductiva más efectiva que la adición de heterocromatina (Patton y Sherwood, 1983). A pesar de las diferencias en el NF, los citotipos B y C mantienen patrones que los asocian como la cercanía filogenética, la distancia genética (aproximadamente 1%), la cercanía geográfica y la similitud ambiental. Con base en esto, se puede argumentar que la diferencia entre los NF pudiera deberse a la adición de heterocromatina, sin embargo es necesario comprobar el cariotipo de ambas localidades y otros aspectos de los ejemplares como el aislamiento reproductivo.

La estructura de los árboles resultantes de los análisis filogenéticos muestra un patrón principal que indica la separación de los citotipos en tres grupos correspondientes a los citotipos D, A, y B-C. Este patrón mantiene relación con las subespecies descritas. El clado correlacionado con el citotipo A representa a la subespecie *Osgodomys banderanus banderanus*, mientras que los clados correlacionados con los citotipos B y C se relacionan con la distribución geográfica de *O. b. vicinior*. El citotipo D no se asocia de manera clara a ningún citotipo. Esta separación de las muestras en tres grupos principales se asocia a elementos geográficos como la cuenca del río Balsas. Se han encontrado patrones similares para filogrupos o linajes filogenéticamente relacionados de diferente taxones que indican separación entre las regiones norte y sur de la

cuenca del río Balsas (Amman y Bradley, 2004; Zaldivar-Riveron et al., 2004; Devitt, 2006; Ortega et al., 2009).

Los ejemplares colectados en la localidad de Mochitlán en Guerrero, los cuales no tenían un citotipo asociado, fueron analizados. Se encontró una similitud del cariotipo con el citotipo D, indicando valores de NF similares al citotipo D (NF= 78), lo que queda conformado a través de los análisis filogenéticos. Esto proporciona indicios de que probablemente la zona centro y quizá sur de Guerrero tenga una distribución del citotipo D.

### ***Variabilidad y estructura genética***

Los análisis genéticos de las poblaciones indican diferencias, principalmente entre las muestras correspondientes al citotipo D y el resto de las muestras. Los valores de diferenciación genética de estas muestras y su relación con los valores encontrados para los grupos externos indican la presencia de linajes genéticamente diferentes (Baker y Bradley, 2006). En la comparación de las distancias genéticas por grupos correspondientes a los clados obtenidos se presentan valores de distancia genética, con los datos de los genes separados, más cercanos entre el taxón hermano inmediato del género (*Peromyscus mexicanus*) y el grupo correspondiente al citotipo D (Infiernillo-Mochitlán), que entre dicho taxón y el resto de los grupos. Los valores de divergencia genética del clado correspondiente al citotipo D (10% con datos concatenados bajo el criterio de inferencia bayesiana) se relacionan con valores reportados para especies hermanas de taxones filogenéticamente relacionados (Amman y Bradley, 2004; Durish et al., 2004; Arellano et al., 2005; Ordóñez et al., 2010;).

Los patrones aportados por los análisis filogenéticos y la diversidad genética son congruentes con los datos del AMOVA. Los valores de *F* encontrados en la comparación entre grupos indican estructuración entre los clados encontrados.

### ***Estructura geográfica y ambiental***

La importancia de la distancia geográfica en la diferenciación genética entre los citotipos indica que la distancia geográfica no es un factor determinante en la variabilidad genética. Por lo tanto, la presencia barreras geográficas (ambientales o físicas) puede ser un factor importante que ha permitido el desarrollo de la variabilidad genética. De esta manera, los modelos de nicho ecológico permiten distinguir aspectos ambientales asociados a cada citotipo.

Los modelos de nicho construidos a partir de los métodos utilizados en este trabajo presentaron similitud entre ellos, indicando patrones espaciales definidos. Sin embargo, la clasificación de los datos en función de los citotipos puede sobreestimar la distribución espacial real de cada citotipo (como puede suceder en el modelo correspondiente al citotipo C), pues la clasificación a *priori* de las localidades puede ser inexacta. Por otra parte, la construcción de análisis de agrupamientos a partir de las variables climáticas exactas para cada localidad no presenta este inconveniente, pues el análisis no requiere suposiciones a *priori* y los grupos se forman a partir de los valores ambientales y la correlación entre ellos.

La distinción de los patrones que indican áreas no separadas geográficamente puede servir de evidencia para apoyar un mismo linaje (Wiens y Graham, 2005), por otra parte, las áreas aisladas pueden ser indicativo de la presencia de más de un linaje o incluso de divergencia de nicho (Graham et al., 2004; Raxworthy et al., 2007; Rissler y Apodaca, 2007). En este caso, los datos apoyan el aislamiento para los citotipos A y D, respecto a B. En los modelos correspondientes a las subespecies pudiera presentarse el mismo caso, y se puede considerar que existe aislamiento entre ellas. Finalmente, el análisis de agrupamiento presenta poca sobreposición, indicando, nuevamente que las zonas identificadas pueden estar aisladas. En general, los modelos de nicho presentan una separación asociada a la presencia del río Balsas, lo que indica que este funciona como una barrera geográfica. Otros elementos como la Sierra Madre del Sur y la complejidad

orográfica de la zona centro de Jalisco también se reconocen como barreras geográficas de importancia a través del análisis de conectividad.

### ***Integración de la evidencia y patrón biogeográfico***

Los resultados obtenidos muestran diferencias genéticas, filogenéticas, ambientales y ecológicas entre ciertas poblaciones de *Osgoodomys banderanus* que se suman a las diferencias citotípicas y morfológicas descritas previamente (Núñez, 2000). De esta manera, la evidencia total (figura 18) permite distinguir el patrón asociado a la historia evolutiva de esta especie.

Los datos indican la presencia de tres grupos altamente diferenciados. El primero corresponde al citotipo D, que presentó número fundamental alto en su cariotipo (NF=78), separación filogenética clara, divergencia genética alta (10%) y un modelo de nicho ecológico característico que lo ubica geográficamente desde la cuenca del río Balsas hasta la parte media de Guerrero. Este grupo aparentemente tiene relación con la distribución descrita por otros autores (Hall, 1981; Arroyo-Cabrales, 2005) para la subespecie *O. b. vicinior*, sin embargo los modelos de nicho ecológico construidos en este trabajo indican que la distribución potencial de dicha subespecie pudiera no ser exacta.

El segundo grupo, corresponde al citotipo A. Este grupo presenta NF=52 y divergencia genética menor que el citotipo D (aproximadamente 5%). Sin embargo, el modelo de nicho ecológico indica posible aislamiento geográfico del resto, lo cual pudiera relacionarse con divergencia de nicho ecológico, como se ha observado en otros taxones que tienen poca divergencia genética y poca sobreposición de nicho (Raxworthy et al., 2007). Sin embargo, son necesarios análisis adicionales para determinar si este grupo presenta divergencia o conservadurismo de nicho ecológico. Por otra parte, este grupo se relaciona con la distribución potencial construida y reportada (Hall, 1981) para *O. b. banderanus*, por lo que este grupo



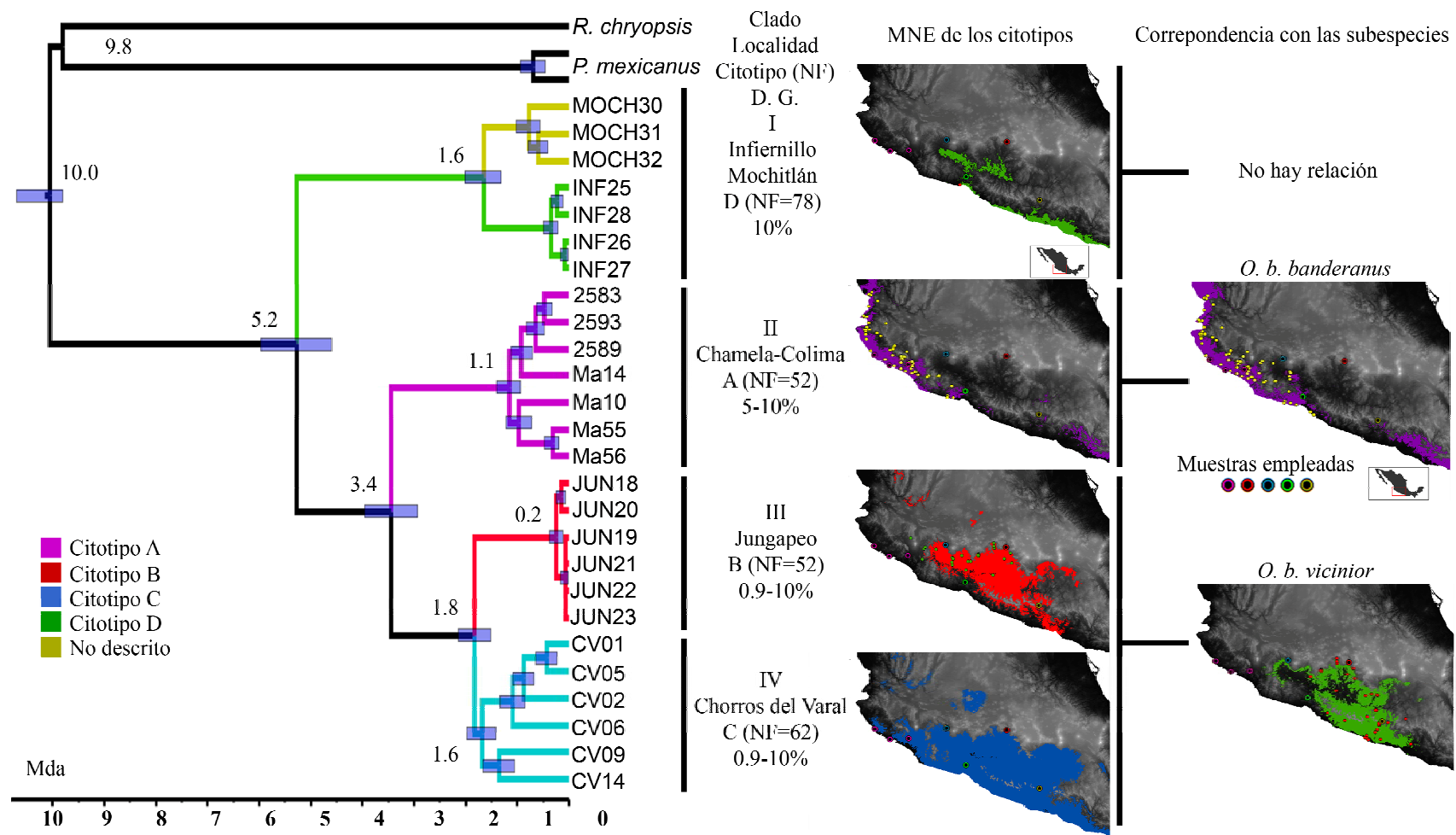


Figura 18. Integración de evidencia. Se recopila la evidencia de los análisis filogenéticos, la estructura cariotípica, la diversidad genética (D. G.) y los MNE. Los clados obtenidos se correlacionan a los citotipos y subespecies descritas.

puede ser representante de dicha subespecie. Las diferencias morfológicas asociadas a esta subespecie indican coloración más clara, longitud total mayor y caja craneal más ancha (Alvarez, 1968).

El tercer grupo con diferencias marcadas corresponde a los citotipos B y C. Como se mencionó previamente, estos citotipos mantienen una estructura cromosómica diferente (NF=52 y 62, respectivamente), sin embargo, su posición filogenética, la divergencia genética entre ellos (aproximadamente 1%) y los modelos de distribución espacial indican que este grupo conforma un mismo linaje o un linaje en proceso de divergencia. Por otra parte, la similitud de la distribución potencial de este grupo y la subespecie *O. b. vicinior* indica que este grupo es representante de dicha subespecie. La subespecie, se caracteriza por tener coloración café grisáceo oscuro, longitud total menor y caja craneal más angosta que *O. b. banderanus* (Álvarez, 1968).

La hipótesis biogeográfica que se propone para la divergencia de los tres grupos encontrados supone eventos vicariantes entre las poblaciones correspondientes a los citotipos. El grupo correspondiente al citotipo D mantiene gran relación con la cuenca del río Balsas. Históricamente, los tiempos de divergencia de este grupo (5.2 Mda.) coinciden con eventos geológicos que aislaron las poblaciones de la cuenca respecto a otros sitios durante el plioceno-pleistoceno, este patrón también ha sido reportado para otros taxones como el género *Bursera* (Becerra y Venable, 1999). La cuenca del río Balsas ha sido reconocida como un elemento importante para la diversificación de varios taxones (Becerra y Venable, 1999; Amman y Bradley, 2004; Becerra, 2005; Devitt, 2006; Espinosa et al., 2006; Sotuyo et al. 2010), por lo tanto, se propone el proceso de vicarianza como la hipótesis que explica la diversificación del grupo correspondiente al citotipo D. En el caso del grupo correspondiente al citotipo A no se relacionan patrones geológicos claros que pudieran explicar su origen biogeográfico, pues

durante el Mioceno-Plioceno sucedieron varios eventos geológicos que generaron la complejidad orográfica que hoy conocemos. No es claro si la separación de éste está relacionada con la complejidad orográfica de la zona o con barreras climáticas, o ambas, en cuyo caso también puede relacionarse con procesos de vicarianza. Finalmente, el grupo correspondiente a los citotipos B – C representa el grupo de más reciente divergencia cuyo origen puede estar asociado al aislamiento de la cuenca del río Balsas.

Asimismo, el conservadurismo o la divergencia del nicho ecológico son aspectos que pueden ser de gran interés para determinar los mecanismos de divergencia (Weins, 2004; Wiens y Graham, 2005; Losos, 2008). En particular, se ha asociado el conservadurismo de nicho en linajes cercanamente relacionados con procesos de vicarianza (Weins, 2004; Wiens y Graham, 2005), aunque algunos autores indican que el proceso de divergencia en el nicho ecológico pudiera suceder incluso antes de la divergencia genética o morfológica y por lo tanto presentarse en linajes cercanos filogenéticamente (Raxworthy et al., 2007; Rissler y Apodaca, 2007).

En función de los patrones mencionados anteriormente, se propone elevar a nivel de especie las subespecies *Osgoodomys banderanus banderanus* y *O. b. vicinior*, así como la integración de una tercer especie correspondiente al citotipo D. Finalmente, se propone la revisión de caracteres morfológicos y la integración de más muestras para analizar los límites entre los linajes propuestos.

## CONCLUSIONES

- La estructura genética de las poblaciones, la historia evolutiva reconstruida a partir de marcadores moleculares específicos y la distinción de los MNE están correlacionadas con los citotipos descritos por otros autores.
- La historia evolutiva reconstruida a partir de marcadores moleculares mitocondriales indicó una relación de los eventos evolutivos asociada a la presencia del río Balsas como principal elemento geográfico, así como la presencia de la Sierra Madre del Sur y de algunas otras barreras climáticas de importancia.
- La estructura filogenética, la divergencia genética, los patrones ambientales, la estructura citotípica y las diferencias morfológicas indica al menos tres especies asociados a los citotipos A, B-C y D, con correspondencias geográficas diferenciadas para la región costera de Michoacán, Jalisco, Colima y Nayarit, zona centro de Jalisco, Michoacán y Guerrero, y la cuenca del río Balsas, por lo que se recomienda una revisión taxonómica de los caracteres morfológicos de los ejemplares de estas regiones y la búsqueda de caracteres morfológicos diagnósticos que permitan definir morfotipos para ambas regiones.
- Se propone elevar a nivel de especie los grupos correspondientes a *O. b. banderanus*, *O. b. vicinior* y el grupo correspondiente al citotipo D.

## LITERATURA CITADA

- ADKINS, R. M., E. L. GELKE, D. ROWE Y R. L. HONEYCUTT. 2001. Molecular phylogeny and divergence time estimates for major rodent groups: evidence from multiple genes. *Molecular Biology and Evolution* 18(5): 777–791.
- ALLEN, J. A. 1897. Further notes on mammals collected in Mexico by Dr. Audley C. Buller, with descriptions of new species. *Bulletin of the American Museum of Natural History* 9: 47–58.
- ALFARO, M. E., S. ZOLLER, Y F. LUTZONI. 2003. Bayes or Bootstrap? A Simulation Study Comparing the Performance of Bayesian Markov Chain Monte Carlo Sampling and Bootstrapping in Assessing Phylogenetic Confidence. *Molecular biology and Evolution* 20(2): 255–266.
- ALVAREZ, T. 1968. Notas sobre una colección de mamíferos de la región costera del río Balsas entre Michoacán y Guerrero. *Revista de la Sociedad Mexicana de Historia Natural* 29: 21–32.
- AMMAN, B. R. Y R. D. BRADLEY. 2004. Molecular evolution in *Baiomys* (Rodentia: Sigmodontinae): evidence for a genetic subdivision in *B. musculus*. *Journal of Mammalogy* 85(1): 162–166.
- ANGILLETTA, M. J., WILSON R. S., NAVAS C. A. Y JAMES R. S. 2003. Tradeoffs and the evolution of thermal reaction norms. *Trends in Ecology and Evolution* 18 (5): 234–240.
- ARELLANO, E., F. X. GONZÁLEZ-COZÁTL Y D. S. ROGERS. 2005. Molecular systematics of middle American harvest mice *Reithrodontomys* (Muridae), estimated from mitochondrial cytochrome b genes sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 37: 529–540.
- ARROYO-CABRALES, J. 2005. *Osgoodomys banderanus*. En: Los mamíferos silvestres de México. (Ceballos, G. y G. Oliva, coords.). Fondo de Cultura Económica y CONABIO. Pp. 717-718
- BAKER, J. R. Y BRADLEY R. D. 2006. Speciation in mammals and the genetic species concept. *Journal of Mammalogy* 87(4): 643–662.
- BEIER, P., D. R. MAJKA Y S. L. NEWELL. 2009. Uncertainty analysis of least-cost modeling for designing wildlife linkages. *Ecological Applications* 19(8): 2067–2077.

- BECERRA, J. X. Y D. L. VENABLE. 1999. Molecular evolution of insect-plant associations: the relevance of host biogeography to host affiliation. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 96(22): 12626–12631.
- BECERRA, J. X. 2005. Timing the origin and expansion of the Mexican tropical dry forest. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 102(31): 10919–10923.
- BELL, D.M., HAMILTON M. J., EDWARDS C. W., WIGGINS L. E., MARTINEZ R. M., STRAUSS R. E, BRADLEY R. D. y BAKER R. J. 2001. Patterns of karyotypic megaevolution in *Reithrodontomys*: evidence from a cytochrome-b phylogenetic hypothesis. *Journal of Mammalogy* 82(1): 81-91.
- BENSON, D. A., M. CAVANAUGH, K. CLARK, I. KARSCH-MIZRACHI, D. J. LIPMAN, J. OSTELL Y E. W. SAYERS. 2013. GenBank. *Nucleic Acids Research* 41: D36–D42.
- BLAIR, S. H., 1994. Molecular evidence for the origin of birds, *Proceedings of the National Academy of Sciences* 91: 2621–2624.
- BOND, J. E. Y A. K. STOCKMAN. 2008. An integrative method for delimiting cohesion species: finding the population-species interface in a group of californian Trapdoor spiders with extreme genetic divergence and geographic structuring. *Systematic Biology* 57(4): 628–646.
- BRADLEY R. D., C. W. EDWARDS, D. S. CARROLL, Y C. W. KILPATRICK. 2004. Phylogenetic relationships of Neotomine-Peromyscine rodents: based on DNA sequences from the mitochondrial Cytochrome-b gene. *Journal of Mammalogy* 85: 389–395.
- BRADLEY R. D., N. D. DURISH, D. S. ROGERS, J. R. MILLER, M. D. ENGSTROM, Y C. W. KILPATRICK. 2007. Toward a molecular phylogeny for *Peromyscus*: evidence from mitochondrial cytochrome-b sequences. *Journal of Mammalogy* 88: 1146–1159.
- BRYSON, R. W., R. W. MURPHY, A. LATHROP y D. LAZCANO-VILLAREA. 2011. Evolutionary drivers of phylogeographical diversity in the highlands of Mexico: a case study of the *Crotalus triseriatus* species group of montane rattlesnakes. *Journal of Biogeography* 38: 697–710

- BROWN, J. D. Y O'NEILL R. J. 2010. Chromosomes, conflict, and epigenetics: chromosomal speciation revisited. *Annual Reviews in Genomics Human Genetics*. 11: 291–316.
- BUCKLIN, A., D. STEINKE Y L. BLANCO-BERCIAL. 2011. DNA barcoding of marine Metazoa. *Annual Review of Marine Science* 3: 471–508.
- CARLETON, M. D. 1980. Phylogentic relationships in neotomine-peromyscine rodents (Muridae) and a reappraisal of the dichotomy within New World cricetinae. *Miscellaneous Publications of University Michigan Museum of Zoology* 157: 1–146.
- CASTRO-ARELLANO, I., Y E. VÁZQUEZ. 2008. *Osgoodomys banderanus*. En: IUCN 2011. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2011.1. <[www.iucnredlist.org](http://www.iucnredlist.org)>. Descargado el 12 septiembre de 2011.
- DARRIBA, D., TABOADA G.L., DOALLO R. y POSADA D. 2012. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods* 9(8): 772.
- DEVITT, T. J. 2006. Phylogeography of the western Lyresnake (*Trimorphodon biscutatus*): testing aridland biogeographical hypotheses across the Nearctic–Neotropical transition. *Molecular Ecology* 15: 4387–4407.
- DURISH, N. D., K. E. HALCOMB, C. W. KILPATRICK Y R. D. BRADLEY. 2004. Molecular systematic of the *Peromyscus truei* species group. *Journal of Mammalogy* 85(6): 1160–1169.
- ESRI INC. 2010. ArcGis para Windows. versión 10.0.
- ESCALANTE, T., C. SZUMIK Y J. J. MORRONE. 2007. Áreas de endemismo de los mamíferos de México: reanálisis y comparación con estudios previos. *Darwiniana* 45 (suplemento): 41–43.
- ESPINOSA, D., J. LLORENTE Y J. J. MORRONE. 2006. Historical biogeographical patterns of the species of *Bursera* (Burseraceae) and their taxonomic implications. *Journal of Biogeography* 33: 1945–1958.

- EXCOFFIER L., P. E. SMOUSE Y J. M. QUATTRO. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics* 131: 479–491.
- FARRIS, J. S., M. KALLERSJO, A. G. KLUGE Y C. BULT. 1994. Testing significance of incongruence. *Cladistics* 10(3): 315–320.
- FRYE, M. S., Y S. B. HEDGES. 1995. Monophyly of the Order Rodentia inferred from mitochondrial DNA sequences of the genes for 12S rRNA, 16S rRNA, and tRNA-valine. *Molecular Biology and Evolution* 12(1): 168–176.
- GARCÍA, E. 1998. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO), “Climas” (clasificación de Koppen modificado por García). Escala 1:1 000 000. México.
- GÓMEZ-LAVERDE, M., BUENO M. L. y LÓPEZ-ARÉVALO H. 1999. Descripción cariológica y morfológica de *Nectomys magdalenae* (Rodentia: Muridae: Sigmodontinae). *Revista Académica Colombiana de Ciencias* 23(supl.): 631–640.
- GRAHAM, C.H., S. R. RON, J. C. SANTOS, C. J. SCHNEIDER Y C. MORITZ. 2004. Integrating phylogenetics and environmental niche models to explore speciation mechanisms in dendrobatid frogs. *Evolution* 58(8): 1781–1793.
- HALL, E. R. 1981. *The mammals of North America*. 2nd ed. John Wiley & Sons, Inc., New York.
- HALL, T. A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nuclear Acids Symposium Series* 41: 95–98.
- HAMMOND, A. K., SZEWCZAK J. y KRÓL E. 2001. Effects of altitude and temperature on organ phenotypic plasticity along an altitudinal gradient. *The Journal of Experimental Biology* 204: 1991–2000.



- HAMMOND, K. A., CHAPPELL M. A. y KRISTAN D. M. 2002. Developmental plasticity in aerobic performance in deer mice (*Peromyscus maniculatus*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A* 133: 213–224.
- HEISE, P.J, L. R. MAXSON, H. G. DOWLING, S. B. HEDGES. 1995. Higher-Level Snake Phylogeny Inferred from Mitochondrial DNA Sequences of 12s rRNA and 16s rRNA Genes. *Molecular Biology and Evolution* 12(2): 259–265.
- HENDRIXSON, B. E., B. M. DERUSSY, C. A. HAMILTON, J. E. BOND. 2013. An exploration of species boundaries in turret-building tarantulas of the Mojave Desert (*Araneae, Mygalomorphae, Theraphosidae, Aphonopelma*). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 66(1): 327–340.
- HUIJMANS, R.J., S.E. CAMERON, J.L. PARRA, P.G. JONES Y A. JARVIS. 2005. Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. *International Journal of Climatology* 25: 1965–1978.
- HOOPER, E. T. y MUSSER G. G. 1964. Notes on classification on the rodent genus *Peromyscus*. *Occasional Papers Museum of Zoology Michigan University* 635: 1–13
- HOOPER, E. T. 1968. Classification 27–74. En *Biology of Peromyscus (Rodentia)*. ed. King, J. A. publicación especial 2. American Society of Mammalogy.
- HSU, T. C. Y K. BENIRSCHKE. 1967. *Baiomys taylori* subater (northern pygmy mouse). En *Atlas of Mammalian Chromosomes*. volumen I, Folio 12, Springer-Verlag, New York.
- HUELSENBECK, J. P., B. LARGET, R. E. MILLER, y F. RONQUIST. 2002. Potential applications and pitfalls of Bayesian inference of phylogeny. *Systematic Biology* 51(5): 673–688.
- IVANOVA, N. V., T. S. ZEMLAK, R. H. HANNER Y P. D. HEBERT. 2007. Universal primer cocktails for fish DNA barcoding. *Molecular Ecology Notes* 7: 544–548.
- JANSA, S. A. y WEKSLER M. 2004. Phylogeny of muroid rodents: relationships within and among major lineages as determined by IRBP gene sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 31: 256–276.

- KIMURA, M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rate of base substitution through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution* 16: 111–120.
- KRZYWINSKY, J. Y N. J. BESANSKY. 2003. Molecular systematics of *Anopheles*: from subgenera to subpopulations, *Annual Review of Entomology* 48: 111–139.
- LANE, D. J. 1991. 16S/23S rRNA sequencing, en *Nucleic acid techniques in bacterial systematic*. ed. John Wiley and Sons, New York, pp. 115–175.
- LEE, M. R. Y F. F. B. ELDER. 1977. karyotypes of eight species of Mexican rodents (muridae). *Journal of Mammalogy* 58: 479–487.
- LIBRADO, P. Y J. ROZAS. 2009. DnaSP v5: A software for comprehensible analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics* 25: 1451–1452
- LINZEY, A. V. Y J. N. LAYNE. 1974. Comparative morphology of spermatozoa of the rodents genus *Peromyscus* (Muridae). *American Museum Novitates* 2532: 1–20.
- LUGO-HUPB, J., VIDAL Z. R., FERNÁNDEZ-EQUIARTE A., GALLEGOS-GARCÍA A., ZAVALA-H J., Y COL. 1990. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI). “Hipsometría” extraído de Hipsometría y Batimetría, I.1.1. Atlas nacional de México Vol. 1. Escala 1:4 000 000. Instituto de Geografía, UNAM. México.
- LOSOS, J. B. 2008. Phylogenetic niche conservatism, phylogenetic signal and the relationship between phylogenetic relatedness and ecological similarity among species. *Ecology Letters* 11: 995–1007.
- MADEREY-R, L. E. Y C. TORRES-RUATA. 1990. “Hidrografía” extraído de Hidrografía e Hidrometría, IV.6.1 (A). Atlas Nacional de México Vol. II. Escala 1:4 000 000. Instituto de Geografía, UNAM. México.
- MADDISON, W. P. Y D.R. MADDISON. 2011. Mesquite: a modular system for evolutionary analysis. Version 2.75. <http://mesquiteproject.org>.

- MICKEVICH, M. F. y FARRIS, S. J. 1981. The implications of congruence in Menidia. *Systematic Zoology* 30: 351–370.
- MILLER, J. R. Y M. D. ENGSTROM. 2008. The relationships of major lineages within peromyscine rodents: a molecular phylogenetic hypothesis and systematic reappraisal. *Journal of Mammalogy* 89:1279–1295.
- MINDELL, P. D. Y C. E. THACKER. Rates of molecular evolution: Phylogenetic Issues and Applications. *Annual Review of Ecology and Systematics* 27: 279–303.
- MORZUNOV, S.P., J. E. ROWE , T. G. KSIAZEK, C. J. PETERS, S. C. JEOR. Y S. T. NICHOL. 1998. Genetic Analysis of the Diversity and Origin of Hantaviruses in *Peromyscus leucopus* Mice in North America. *Journal of Virology* 72(1):57.
- NORMA OFICIAL MEXICANA -059-SEMARNAT-2010.
- NUÑEZ, G. A. 1993. Sistemática y distribución del género *Peromyscus* (Rodentia: Cricetidae) en el estado de Michoacán, México. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias, UNAM.
- NUÑEZ, G. A., R. LOPEZ-WILCHIS Y F. A. CERVANTES. 1999. Chromosomal variation of *Osgodoomys banderanus* (Rodentia: Muridae). *Cytology* 64: 319–326.
- NUÑEZ, G. A. 2000. La variación morfométrica y cariotípica y los ácaros parásitos de *Osgodoomys banderanus* (Rodentia: Muridae) e implicaciones en la taxonomía intraespecífica, Tesis de doctorado, Universidad Autónoma Metropolitana unidad Iztapalapa, México D. F.
- ORDÓÑEZ-GARZA N., J. O. MATSON, R. E. STRAUSS, R. D. BRADLEY Y J. SALAZAR-BRAVO. 2010. Patterns of phenotypic and genetic variation in three species of endemic Mesoamerican *Peromyscus* (Rodentia: Cricetidae). *Journal of Mammalogy* 91(4): 848–859.
- ORDÓÑEZ-GARZA N., V. J. SWIER, J. D. HANSON, C. G. SOTERO-CAIO Y R. D. BRADLEY. 2013. The karyotype of *Peromyscus grandis* (Rodentia: Cricetidae). *THERYA* 4(3): 575–580.

- ORTEGA, J., M. TSCHAPKA, T. P. GONZÁLEZ-TERRAZAS, G. SUZÁN, y R. A. MEDELLÍN. 2009. Phylogeography of *Musonycteris harrisoni* along the Pacific coast of Mexico. *Acta Chiropterologica* 11(2): 259–269.
- PALUMBI, S., A. MARTIN, S. ROMANO, W. O. MCMILLAN, L. STICE Y G. GRABOWSKI. 2002. Simple fool's guide to PCR. Department of zoology and Kewalo Marine Laboratory. University of Hawaii, version 2.0.
- PATTON, J. L. Y S. W. SHERWOOD. 1983. Chromosome evolution and speciation in rodents. *Annual Review in Ecology and Systematics* 14: 139–58
- PETERSON, A. T. 2006. Uses and requirements of ecological niche models and related distributional models. *Biodiversity Informatics* 3: 59–72.
- PHILLIPS, J. S. 2004. A Maximum Entropy Approach to Species Distribution Modeling. *Proceedings of the Twenty-First International Conference on Machine Learning*, pp. 655–662.
- PIÑERO, D. 2008. La diversidad genética como instrumento para la conservación y el aprovechamiento de la biodiversidad: estudios en especies mexicanas, en *Capital natural de México*, vol. I: Conocimiento actual de la biodiversidad. CONABIO, México, pp. 437–494.
- RAMÍREZ, P. J., J. ARROYO Y N. GONZÁLEZ. 2008. Mamíferos. En S. Ocegueda y J. Llorente-Bousquets (coords.). *Catálogo taxonómico de especies de México*. En *Capital natural de México*. vol. I: Conocimiento actual de la biodiversidad. CONABIO. México. CD1.
- RAXWORTHY, C. J., C. M. INGRAM, N. RABISOA Y R. G. PEARSON. 2007. Applications of ecological niche modeling for species delimitation: a review and empirical evaluation using day geckos (*Phelsuma*) from Madagascar. *Systematic Biology* 56(6): 907–923.
- REEDER, S. A., D. S. CARROLL, C. W. EDWARDS, C. W. KILPATRICK, R. D. BRADLEY. 2006. Neotomine–peromyscine rodent systematics based on combined analyses of nuclear and mitochondrial DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 40: 251–258

- REZENDE, E. L., HAMMOND K. A. Y CHAPPELL M. A. 2009. Cold acclimation in *Peromyscus*: individual variation and sex effects in maximum and daily metabolism, organ mass and body composition. *The Journal of Experimental Biology* 212: 2795–2802.
- RISSLER, L. J. Y J. J. APODACA. 2007. Adding more ecology into species delimitation: ecological niche models and phylogeography help define cryptic species in the black salamander (*Aneides flavipunctatus*). *Systematic Biology* 56(6): 924–942.
- ROGERS, D. S., I. F. GREENBAUM, S. J. GUNN Y M. D. ENGSTROM. 1984. Cytosystematic value of chromosomal inversion data in the genus *Peromyscus* (Rodentia: Cricetidae). *Journal of Mammalogy* 65(3): 457–465.
- RONQUIST, F., M. TESLENKO, P. VAN DER MARK, D. AYRES, A. DARLING, S. HÖFNA, B. LARGET, L. LIU, M. A. SUCHARD, J. P. HUELSENBECK, 2012. MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choices across a large model space. *Systematic Biology* 61: 539–542.
- RZEDOWSKI, J. 1990. “Vegetación potencial”. IV. 8.2. Atlas Nacional de México Vol. II. Escala 1:4 000 000. Instituto de Geografía, UNAM. México.
- SAS INSTITUTE INC. 2008. JMP para Windows. Version 8.0.
- SILVESTRO, D. Y I. MICHALAK. 2012. RAXMLGUI: a graphical front-end for RAXML. *Organisms Diversity & Evolution* 12: 335–337.
- SMITH, M. F. Y PATTON J. L. 1993. The diversification of South American murid rodents: evidence from mitochondrial DNA sequence data for the Akodontine tribe. *Biology Journal of the Linnean Society* 50: 149–177.
- SOTUYO, S., A. DELGADO-SALINAS, G. P. LEWIS, M. W. CHASE, L. FERRARI Y K. OYAMA. 2010. Phylogeography of the *Casalpinia hintonii* complex (Leguminosae: Caesalpinioideae: Poincianella). *Revista Mexicana de Biodiversidad* 81: 883–894.

- STAMATAKIS, A. 2014. RAxML Version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. en *Bioinformatics*.
- STANGL, F. B. Y R. J. BAKER. 1984. Evolutionary relationships in *Peromyscus*: congruence in chromosomal, genic, and classical data sets. *Journal of Mammalogy* 65(4): 643–654.
- STATSOFT INC. 2004. STATISTICA para Windows. Versión 7.0. StatSoft Inc. Tilda, Oklahoma.
- STEPPAN, S.J., ADKINS R. M. y ANDERSON J. 2004. Phylogeny and divergence-date estimates of rapid radiations in muroid rodents based on multiple nuclear genes. *Syst. Biol.* 53(4): 533–553.
- SWOFFORD, D. L. 2002. PAUP\*: Phylogenetic analysis using parsimony (\*and other methods). Version 4.0b10. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- TAMURA, K., D. PETERSON, N. PETERSON, G. STECHER, M. NEI Y S. KUMAR. 2011. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Molecular Biology and Evolution* 28: 2731–2739.
- WARREN, D. L. Y S. N. SEIFERT. 2011. Ecological niche modeling in Maxent: the importance of model complexity and the performance of model selection criteria. *Ecological Applications* 21(2): 335–342.
- WHEELER, W. 1999. Measuring topological congruence by extending character techniques. *Cladistics* 15: 131–135.
- WIENS, J.J. 1999. Polymorphism in systematics and comparative biology. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 30: 327–62.
- WEINS, J. J. 2004. Speciation and ecology revisited: phylogenetic niche conservatism and the origin of species. *Evolution* 58(1):193–197.
- WIENS, J. J. Y C. H. GRAHAM. 2005. Niche conservatism: integrating evolution, ecology, and conservation biology. *Annual review of Ecology, Evolution, and Systematics* 36: 519–539

- WILEY, E. O. Y B. S. LIBERMAN. 2011. Species and Speciation. En Phylogenetics: Theory and Practice of Phylogenetic Systematics. 2nd ed. John Wiley & Sons, Inc., New York.
- YATES, T. L., R. J. BAKER Y R. K. BARNETT. 1979. Phylogenetic analysis of kariological variation in three genera of *Peromyscine* rodents. Systematic zoology 28(1): 40–48.
- ZALDIVAR-RIVERON, A., V. LEÓN-REGAGNON Y A. NIETO-MONTES DE OCA. 2004. Phylogeny of the Mexican costal leopard frogs of the *Rana berlandieri* group base don mtDNA sequences. Molecular Phylogenetics and Evolution 30: 38–49.

## *Anexos*

---



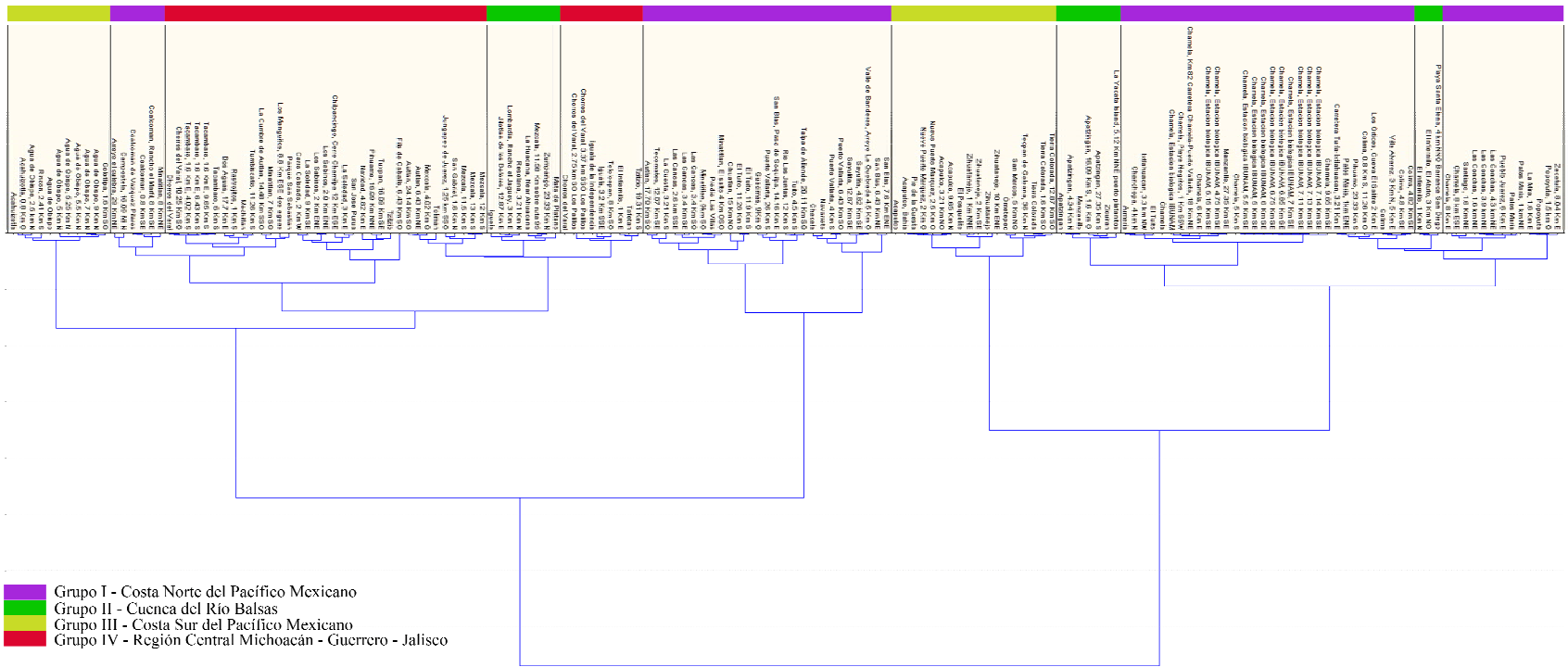


Figura anexa 1. Grupos finales obtenidos del análisis de agrupamiento. Se muestran los cuatro grupos obtenidos del análisis de agrupamiento y del proceso iterativo para reducir los grupos. Los grupos finales se clasificaron en los correspondientes a la costa Norte del Pacífico (localidades de Colima, Jalisco y Nayarit), la cuenca del Río Balsas, la costa sur del Pacífico (Michoacán y Guerrero) y la región central de Michoacán, Guerrero y Jalisco.

**Cuadro anexo 1. Muestras utilizadas para los análisis**

<i>Identificador</i>	<i>Voucher</i>	<i>Localidad</i>	<i>Estado</i>	<i>Altitud (m)</i>	<i>Coordenadas Norte</i>	<i>Coordenadas Oeste</i>	<i>Citotipo (equivalencia)</i>	<i>Año de la muestra</i>	<i>Especie en BLAST (COI)</i>
2583	CNMA 42951	Chamela, Estación biológica IBUNAM, 5.5 Km SE	Jalisco	66	19.49847222	-105.04188889	A	2004	<i>O. banderanus</i>
2589	CNMA 42976	Chamela, Estación biológica IBUNAM, 7.13 Km SE	Jalisco	66	19.48944444	-105.03791667	A	2004	<i>O. banderanus</i>
2593	CNMA 42979	Chamela, Estación biológica IBUNAM, 7.13 Km SE	Jalisco	66	19.48944444	-105.03791667	A	2004	<i>O. banderanus</i>
CV01		Chorros del Varal, 3.37 km SSO Los Palillos, Municipio Los Reyes, Michoacán, 991m	Michoacán	991	19.51691667	-102.57088889	C	2012	<i>O. banderanus</i>
CV02		Chorros del Varal, 3.37 km SSO Los Palillos, Municipio Los Reyes, Michoacán, 991m	Michoacán	991	19.51691667	-102.57088889	C	2012	<i>O. banderanus</i>
CV05		Chorros del Varal, 2.75 km SW Los Palillos, Municipio Los Reyes, Michoacán, 1031m	Michoacán	1031	19.52252778	-102.57261111	C	2012	<i>O. banderanus</i>
CV06		Chorros del Varal, 2.75 km SW Los Palillos, Municipio Los Reyes, Michoacán, 1031m	Michoacán	1031	19.52252778	-102.57261111	C	2012	<i>O. banderanus</i>
CV09		Chorros del Varal, 3.37 km SSO Los Palillos, Municipio Los Reyes, Michoacán, 991m	Michoacán	879	19.51758333	-102.56986111	C	2012	<i>O. banderanus</i>
CV14		Chorros del Varal, 3.37 km SSO Los Palillos, Municipio Los Reyes, Michoacán, 991m	Michoacán	892	19.51702778	-102.57166667	C	2012	<i>O. banderanus</i>
INF25		Playa Santa Elena, 4 km NNW Barranca San Diego, 84m	Michoacán	84	18.24328333	-101.90641944	D	2013	<i>O. banderanus</i>
INF26		Playa Santa Elena, 4 km NNW Barranca San Diego, 84m	Michoacán	84	18.24328333	-101.90641944	D	2013	<i>O. banderanus</i>
INF27		Playa Santa Elena, 4 km NNW Barranca San Diego, 84m	Michoacán	84	18.24328333	-101.90641944	D	2013	<i>O. banderanus</i>
INF28		Playa Santa Elena, 4 km NNW Barranca San Diego, 84m	Michoacán	85	18.24328333	-101.90641944	D	2013	<i>O. banderanus</i>
JUN18		1.25 km SSW de Jungapeo de Juárez, Municipio Jungapeo, 1230m	Michoacán	1230	19.44869722	-100.49954722	B	2013	<i>O. banderanus</i>
JUN19		1.25 km SSW de Jungapeo de Juárez, Municipio Jungapeo, 1230m	Michoacán	1230	19.44869722	-100.49954722	B	2013	<i>O. banderanus</i>
JUN20		1.25 km SSW de Jungapeo de Juárez, Municipio Jungapeo, 1230m	Michoacán	1230	19.44869722	-100.49954722	B	2013	<i>O. banderanus</i>
JUN21		1.25 km SSW de Jungapeo de Juárez, Municipio Jungapeo, 1230m	Michoacán	1230	19.44869722	-100.49954722	B	2013	<i>O. banderanus</i>
JUN22		1.25 km SSW de Jungapeo de Juárez, Municipio Jungapeo, 1230m	Michoacán	1241	19.44706389	-100.49935833	B	2013	<i>O. banderanus</i>
JUN23		1.25 km SSW de Jungapeo de Juárez, Municipio Jungapeo, 1230m	Michoacán	1241	19.44706389	-100.49935833	B	2013	<i>O. banderanus</i>
Ma10		Playa de Oro, Municipio Manzanillo	Colima	10	19.13216667	-104.51386111	A	2013	<i>O. banderanus</i>
Ma14		Playa de Oro, Municipio Manzanillo	Colima	10	19.13216667	-104.51386111	A	2013	<i>O. banderanus</i>
Ma55		6 km E Pueblo Juárez, Mun. Coquimatlán	Colima	245	19.16669444	-103.87522222	A	2013	<i>O. banderanus</i>

Ma56	6 km E Pueblo Juárez, Mun. Coquimatlán	Colima	245	19.16669444	-103.87522222	A	2013	<i>O. banderanus</i>
MOCH30	3.3 km SSE de Mochitlán	Guerrero	1158	17.44238000	-99.36706000		2013	<i>O. banderanus</i>
MOCH31	3.3 km SSE de Mochitlán	Guerrero	1158	17.44238000	-99.36706000		2013	<i>O. banderanus</i>
MOCH32	3.3 km SSE de Mochitlán	Guerrero	1158	17.44238000	-99.36706000		2013	<i>O. banderanus</i>

---

**Grupos externos**

<b>Identificador</b>	<b>Voucher</b>	<b>Especie</b>
<i>R. chrysopsis</i> 8		<i>Reithrodontomys chrysopsis</i>
<i>P. mexicanus</i> 33		<i>Peromyscus mexicanus</i>
<i>P. mexicanus</i> 34		<i>Peromyscus mexicanus</i>

---

**Cuadro Anexo 2. Matriz de distancias genéticas para el gen COI. La matriz se implementó con el método de Kimura de dos parámetros aplicando 1000 réplicas de bootstrap en el software Mega 5.2**

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28
1 <i>R. chrysopsis</i> 8																												
2 <i>P. mexicanus</i> 34	0.205																											
3 <i>P. mexicanus</i> 33	0.205	0.002																										
4 MOCH32	0.190	0.163	0.163																									
5 MOCH31	0.190	0.163	0.163	0.000																								
6 MOCH30	0.190	0.163	0.163	0.000	0.000																							
7 Ma56	0.200	0.185	0.185	0.070	0.070	0.070																						
8 Ma55	0.195	0.183	0.183	0.065	0.065	0.065	0.002																					
9 Ma14	0.194	0.185	0.185	0.070	0.070	0.070	0.004	0.000																				
10 Ma10	0.196	0.179	0.179	0.070	0.070	0.070	0.004	0.002	0.004																			
11 JUN23	0.203	0.172	0.175	0.067	0.067	0.067	0.049	0.047	0.049	0.049																		
12 JUN22	0.203	0.172	0.175	0.067	0.067	0.067	0.049	0.047	0.049	0.049	0.000																	
13 JUN21	0.206	0.175	0.178	0.070	0.070	0.070	0.051	0.049	0.051	0.051	0.002	0.002																
14 JUN20	0.200	0.175	0.178	0.070	0.070	0.070	0.051	0.047	0.046	0.051	0.002	0.002	0.004															
15 JUN19	0.203	0.172	0.175	0.067	0.067	0.067	0.049	0.047	0.049	0.049	0.000	0.000	0.002	0.002														
16 JUN18	0.206	0.171	0.175	0.067	0.067	0.067	0.053	0.051	0.053	0.053	0.004	0.004	0.002	0.006	0.004													
17 INF28	0.196	0.169	0.169	0.012	0.012	0.012	0.070	0.065	0.070	0.067	0.067	0.067	0.070	0.070	0.067	0.067												
18 INF27	0.196	0.169	0.169	0.012	0.012	0.012	0.070	0.065	0.070	0.067	0.067	0.067	0.070	0.070	0.067	0.067	0.000											
19 INF26	0.196	0.169	0.169	0.012	0.012	0.012	0.070	0.065	0.070	0.067	0.067	0.067	0.070	0.070	0.067	0.067	0.000	0.000										
20 INF25	0.196	0.169	0.169	0.012	0.012	0.012	0.070	0.065	0.070	0.067	0.067	0.067	0.070	0.070	0.067	0.067	0.000	0.000	0.000									
21 CV14	0.210	0.175	0.172	0.067	0.067	0.067	0.053	0.051	0.053	0.053	0.014	0.014	0.016	0.016	0.014	0.018	0.067	0.067	0.067	0.067								
22 CV09	0.210	0.175	0.172	0.067	0.067	0.067	0.053	0.051	0.053	0.053	0.014	0.014	0.016	0.016	0.014	0.018	0.067	0.067	0.067	0.067	0.067	0.000						
23 CV06	0.203	0.165	0.169	0.070	0.070	0.070	0.051	0.049	0.051	0.051	0.014	0.014	0.016	0.016	0.014	0.018	0.070	0.070	0.070	0.070	0.070	0.016	0.016					
24 CV05	0.209	0.171	0.175	0.070	0.070	0.070	0.051	0.049	0.051	0.051	0.014	0.014	0.016	0.016	0.014	0.018	0.070	0.070	0.070	0.070	0.070	0.016	0.016	0.004				
25 CV02	0.209	0.171	0.175	0.070	0.070	0.070	0.051	0.049	0.051	0.051	0.014	0.014	0.016	0.016	0.014	0.018	0.070	0.070	0.070	0.070	0.070	0.016	0.016	0.004	0.000			
26 CV01	0.209	0.171	0.175	0.070	0.070	0.070	0.051	0.049	0.051	0.051	0.014	0.014	0.016	0.016	0.014	0.018	0.070	0.070	0.070	0.070	0.070	0.016	0.016	0.004	0.000	0.000		
27 2593	0.194	0.185	0.185	0.070	0.070	0.070	0.004	0.002	0.004	0.004	0.049	0.049	0.051	0.051	0.049	0.053	0.070	0.070	0.070	0.070	0.053	0.053	0.051	0.051	0.051	0.051		
28 2589	0.200	0.185	0.185	0.065	0.065	0.065	0.004	0.002	0.004	0.004	0.049	0.049	0.051	0.051	0.049	0.053	0.065	0.065	0.065	0.065	0.053	0.053	0.051	0.051	0.051	0.051	0.004	
29 2583	0.191	0.188	0.188	0.072	0.072	0.072	0.006	0.002	0.002	0.006	0.051	0.051	0.053	0.049	0.051	0.055	0.072	0.072	0.072	0.072	0.055	0.055	0.053	0.053	0.053	0.053	0.002	0.006

**Cuadro Anexo 3. Matriz de distancias genéticas para el gen Cyt B. La matriz se implementó con el método de Kimura de dos parámetros aplicando 1000 réplicas de bootstrap en el software Mega 5.2**

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28
1 <i>R. chrysopsis</i> 8																												
2 <i>P. mexicanus</i> 34	0.174																											
3 <i>P. mexicanus</i> 33	0.173	0.002																										
4 MOCH32	0.172	0.149	0.151																									
5 MOCH31	0.172	0.150	0.152	0.003																								
6 MOCH30	0.174	0.151	0.152	0.000	0.003																							
7 Ma56	0.159	0.147	0.145	0.066	0.069	0.067																						
8 Ma55	0.159	0.147	0.145	0.066	0.069	0.067	0.000																					
9 Ma14	0.155	0.142	0.140	0.058	0.062	0.059	0.007	0.007																				
10 Ma10	0.156	0.145	0.144	0.067	0.071	0.068	0.003	0.003	0.007																			
11 JUN23	0.162	0.148	0.148	0.063	0.066	0.064	0.035	0.035	0.027	0.034																		
12 JUN22	0.162	0.148	0.148	0.063	0.066	0.064	0.035	0.035	0.027	0.034	0.000																	
13 JUN21	0.162	0.148	0.148	0.063	0.066	0.064	0.035	0.035	0.027	0.034	0.000	0.000																
14 JUN20	0.165	0.151	0.151	0.065	0.068	0.066	0.037	0.037	0.029	0.035	0.002	0.002	0.002															
15 JUN19	0.162	0.148	0.148	0.063	0.066	0.064	0.035	0.035	0.027	0.034	0.000	0.000	0.000	0.002														
16 JUN18	0.165	0.151	0.151	0.065	0.068	0.066	0.037	0.037	0.029	0.035	0.002	0.002	0.002	0.000	0.002													
17 INF28	0.164	0.142	0.143	0.012	0.012	0.012	0.067	0.067	0.058	0.066	0.059	0.059	0.059	0.061	0.059	0.061												
18 INF27	0.164	0.142	0.143	0.012	0.012	0.012	0.067	0.067	0.058	0.066	0.059	0.059	0.059	0.061	0.059	0.061	0.002											
19 INF26	0.164	0.142	0.143	0.012	0.012	0.012	0.067	0.067	0.058	0.066	0.059	0.059	0.059	0.061	0.059	0.061	0.002	0.000										
20 INF25	0.166	0.143	0.145	0.011	0.012	0.011	0.068	0.068	0.059	0.067	0.060	0.060	0.060	0.062	0.060	0.062	0.001	0.001	0.001									
21 CV14	0.160	0.156	0.156	0.065	0.067	0.066	0.041	0.041	0.031	0.040	0.010	0.010	0.010	0.011	0.010	0.011	0.060	0.060	0.060	0.061								
22 CV09	0.158	0.153	0.153	0.062	0.066	0.063	0.039	0.039	0.031	0.038	0.008	0.008	0.008	0.010	0.008	0.010	0.059	0.059	0.059	0.060	0.006							
23 CV06	0.159	0.146	0.146	0.062	0.065	0.063	0.031	0.031	0.023	0.030	0.007	0.007	0.007	0.009	0.007	0.009	0.058	0.058	0.058	0.059	0.010	0.008						
24 CV05	0.164	0.153	0.154	0.064	0.067	0.065	0.036	0.036	0.026	0.035	0.009	0.009	0.009	0.011	0.009	0.011	0.060	0.060	0.060	0.061	0.011	0.010	0.004					
25 CV02	0.169	0.158	0.158	0.067	0.070	0.068	0.039	0.039	0.029	0.037	0.011	0.011	0.011	0.011	0.011	0.011	0.063	0.063	0.063	0.065	0.012	0.013	0.007	0.003				
26 CV01	0.164	0.153	0.154	0.064	0.067	0.065	0.036	0.036	0.026	0.035	0.009	0.009	0.009	0.011	0.009	0.011	0.060	0.060	0.060	0.061	0.011	0.010	0.004	0.000	0.003			
27 2593	0.155	0.145	0.144	0.065	0.068	0.066	0.010	0.010	0.004	0.010	0.030	0.030	0.030	0.032	0.030	0.032	0.064	0.064	0.064	0.065	0.034	0.034	0.026	0.029	0.032	0.029		
28 2589	0.154	0.145	0.144	0.064	0.067	0.065	0.010	0.010	0.003	0.009	0.028	0.028	0.028	0.031	0.028	0.031	0.062	0.062	0.062	0.064	0.033	0.033	0.023	0.027	0.031	0.027	0.002	
29 2583	0.154	0.145	0.144	0.064	0.067	0.065	0.010	0.010	0.003	0.009	0.028	0.028	0.028	0.031	0.028	0.031	0.062	0.062	0.062	0.064	0.033	0.033	0.023	0.027	0.031	0.027	0.002	0.000

**Cuadro Anexo 4. Matriz de distancias genéticas para el gen RC. La matriz se implementó con el método de Kimura de dos parámetros aplicando 1000 réplicas de bootstrap en el software Mega 5.2**

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	
1 <i>R. chrysopsis</i> 8																														
2 <i>P. mexicanus</i> 34	0.145																													
3 <i>P. mexicanus</i> 33	0.168	0.032																												
4 MOCH32	0.193	0.100	0.088																											
5 MOCH31	0.188	0.100	0.088	0.003																										
6 MOCH30	0.191	0.109	0.105	0.019	0.017																									
7 Ma56	0.197	0.120	0.114	0.078	0.078	0.063																								
8 Ma55	0.191	0.119	0.116	0.079	0.079	0.070	0.008																							
9 Ma14	0.186	0.101	0.098	0.065	0.065	0.065	0.014	0.015																						
10 Ma10	0.182	0.105	0.101	0.068	0.068	0.068	0.014	0.015	0.003																					
11 JUN23	0.188	0.116	0.101	0.070	0.070	0.068	0.043	0.047	0.035	0.035																				
12 JUN22	0.188	0.116	0.101	0.070	0.070	0.068	0.043	0.047	0.035	0.035	0.000																			
13 JUN21	0.188	0.116	0.101	0.070	0.070	0.068	0.043	0.047	0.035	0.035	0.000	0.000																		
14 JUN20	0.188	0.116	0.101	0.070	0.070	0.068	0.043	0.047	0.035	0.035	0.000	0.000	0.000																	
15 JUN19	0.188	0.116	0.101	0.070	0.070	0.068	0.043	0.047	0.035	0.035	0.000	0.000	0.000	0.000																
16 JUN18	0.188	0.116	0.101	0.070	0.070	0.068	0.043	0.047	0.035	0.035	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000															
17 INF28	0.184	0.113	0.096	0.032	0.029	0.040	0.081	0.083	0.068	0.072	0.070	0.070	0.070	0.070	0.070	0.070														
18 INF27	0.182	0.105	0.093	0.019	0.017	0.029	0.081	0.083	0.068	0.071	0.071	0.071	0.071	0.071	0.071	0.071	0.017													
19 INF26	0.182	0.107	0.094	0.022	0.019	0.032	0.083	0.084	0.070	0.073	0.073	0.073	0.073	0.073	0.073	0.073	0.014	0.003												
20 INF25	0.184	0.105	0.094	0.022	0.022	0.032	0.079	0.081	0.066	0.070	0.070	0.070	0.070	0.070	0.070	0.070	0.011	0.011	0.014											
21 CV14	0.186	0.116	0.105	0.070	0.070	0.071	0.046	0.050	0.035	0.035	0.015	0.015	0.015	0.015	0.015	0.015	0.075	0.071	0.073	0.069										
22 CV09	0.186	0.116	0.105	0.070	0.070	0.071	0.046	0.050	0.035	0.035	0.015	0.015	0.015	0.015	0.015	0.015	0.075	0.071	0.073	0.069	0.000									
23 CV06	0.190	0.122	0.108	0.078	0.078	0.075	0.047	0.052	0.040	0.040	0.012	0.012	0.012	0.012	0.012	0.080	0.080	0.081	0.078	0.014	0.014									
24 CV05	0.193	0.120	0.107	0.076	0.076	0.073	0.049	0.053	0.041	0.041	0.011	0.011	0.011	0.011	0.011	0.078	0.078	0.080	0.076	0.015	0.015	0.001								
25 CV02	0.193	0.120	0.107	0.076	0.076	0.073	0.049	0.053	0.041	0.041	0.011	0.011	0.011	0.011	0.011	0.078	0.078	0.080	0.076	0.015	0.015	0.001	0.000							
26 CV01	0.193	0.120	0.107	0.076	0.076	0.073	0.049	0.053	0.041	0.041	0.011	0.011	0.011	0.011	0.011	0.078	0.078	0.080	0.076	0.015	0.015	0.001	0.000	0.000						
27 2593	0.186	0.103	0.101	0.065	0.065	0.065	0.014	0.015	0.003	0.003	0.038	0.038	0.038	0.038	0.038	0.072	0.071	0.073	0.070	0.038	0.038	0.043	0.044	0.044	0.044					
28 2589	0.186	0.103	0.100	0.065	0.065	0.065	0.015	0.016	0.004	0.004	0.038	0.038	0.038	0.038	0.038	0.072	0.071	0.073	0.070	0.038	0.038	0.043	0.044	0.044	0.044	0.001				
29 2583	0.186	0.103	0.101	0.065	0.065	0.065	0.014	0.015	0.003	0.003	0.038	0.038	0.038	0.038	0.038	0.072	0.071	0.073	0.070	0.038	0.038	0.043	0.044	0.044	0.044	0.000	0.001			

**Cuadro anexo 5. Características ambientales de los registros de *Osgoodomys banderanus* obtenidas de colecciones y clasificados según los citotipos conocidos (Núñez 2000) y las subespecies.**

Ciotipos	Tipo de vegetación	% de registros	Altitud msnm	% de registros	Clima	% de registros	Características Climáticas	Características de precipitación	
A	Bosque de coníferas y encinos	21.3	0 a 200	46.6	(A)C(w1)	0	Semicálido subhúmedo del grupo C, temperatura media anual mayor de 18°C, temperatura del mes más frío menor de 18°C, temperatura del mes más caliente mayor de 22°C.	Precipitación del mes más seco menor de 40 mm; lluvias de verano con índice P/T entre 43.2 y 55 y porcentaje de lluvia invernal del 5% al 10.2% del total anual.	
	Bosque espinoso	1.9	200 a 500	29.1	(A)C(w2)	2.9	Semicálido subhúmedo del grupo C, temperatura media anual mayor de 18°C, temperatura del mes más frío menor de 18°C, temperatura del mes más caliente mayor de 22°C.	Precipitación del mes más seco menor a 40 mm; lluvias de verano con índice P/T mayor de 55 y porcentaje de lluvia invernal del 5% al 10.2% del total anual.	
	Bosque tropical caducifolio	50.4	500 a 1000	13.5	(A)C(wo)	0.9	Semicálido subhúmedo del grupo C, temperatura media anual mayor de 18°C, temperatura del mes más frío menor de 18°C, temperatura del mes más caliente mayor de 22°C.	Precipitación del mes más seco menor de 40 mm; lluvias de verano con índice P/T menor de 43.2, y porcentaje de lluvia invernal del 5% al 10.2% del total anual.	
	Bosque tropical subcaducifolio		26.2	1000 a 1500	9.7	Aw1	25.2	Cálido subhúmedo, temperatura media anual mayor de 22°C y temperatura del mes más frío mayor de 18°C.	Precipitación del mes más seco menor de 60 mm; lluvias de verano con índice P/T entre 43.2 y 55.3 y porcentaje de lluvia invernal del 5% al 10.2% del total anual.
				1500 a 2000	0.9	Aw2	23.	Cálido subhúmedo, temperatura media anual mayor de 22°C y temperatura del mes más frío mayor de 18°C.	Precipitación del mes más seco entre 0 y 60 mm; lluvias de verano con índice P/T mayor de 55.3 y porcentaje de lluvia invernal del 5% al 10.2% del total anual.
						Awo	27.1	Cálido subhúmedo, temperatura media anual mayor de 22°C y temperatura del mes más frío mayor de 18°C.	Precipitación del mes más seco entre 0 y 60 mm; lluvias de verano con índice P/T menor de 43.2 y porcentaje de lluvia invernal del 5% al 10.2% del total anual.
						BS1(h')w	19.4	Semiárido cálido, temperatura media anual mayor de 22°C, temperatura del mes más frío mayor de 18°C.	Lluvias de verano y porcentaje de lluvia invernal del 5% al 10.2% del total anual.
						BSo(h')w	0	Árido, cálido, temperatura media anual mayor de 22°C, temperatura del mes más frío mayor de 18°C.	Lluvias de verano y porcentaje de lluvia invernal del 5% al 10.2% del total anual.
					C(w2)	0.9	Templado, subhúmedo, temperatura media anual entre 12°C y 18°C, temperatura del mes más frío entre -3°C y 18°C y temperatura del mes más caliente bajo 22°C.	Precipitación en el mes más seco menor de 40 mm; lluvias de verano con índice P/T mayor de 55 y porcentaje de lluvia invernal del 5 al 10.2% del total anual.	
B	bosque de coníferas y encinos	19.6	0 a 200	0	(A)C(w1)	21.4			
	bosque espinoso	8.9	200 a 500	23.2	(A)C(w2)	5.3			
	bosque tropical caducifolio	58.9	500 a 1000	17.8	(A)C(wo)	0			
	bosque tropical subcaducifolio		12.5	1000 a 1500	44.6	Aw1	19.6		
				1500 a 2000	14.2	Aw2	12.5		
						Awo	12.5		
						BS1(h')w	26.7		
						BSo(h')w	1.7		
					C(w2)	0			
C	bosque de coníferas y encinos	0	0 a 200	0	(A)C(w1)	14.2			
	bosque espinoso	0	200 a 500	0	(A)C(w2)	14.2			

bosque tropical caducifolio	100	500 a 1000	14.2	(A)C(wo)	0
bosque tropical subcaducifolio	0	1000 a 1500	71.4	Aw1	28.5
		1500 a 2000	14.2	Aw2	0
				Awo	42.8
				BS1(h')w	0
				BSo(h')w	0
				C(w2)	0

D	bosque de coníferas y encinos	0	0 a 200	80	(A)C(w1)	0
	bosque espinoso	0	200 a 500	20	(A)C(w2)	0
	bosque tropical caducifolio	100	500 a 1000	0	(A)C(wo)	0
	bosque tropical subcaducifolio	0	1000 a 1500	0	Aw1	0
			1500 a 2000	0	Aw2	0
					Awo	40
					BS1(h')w	20
					BSo(h')w	40
					C(w2)	0

Indeterminados	bosque de coníferas y encinos	0	0 a 200	0	(A)C(w1)	0
	bosque espinoso	0	200 a 500	0	(A)C(w2)	0
	bosque tropical caducifolio	100	500 a 1000	0	(A)C(wo)	0
	bosque tropical subcaducifolio	0	1000 a 1500	100	Aw1	0
			1500 a 2000	0	Aw2	0
					Awo	100
					BS1(h')w	0
					BSo(h')w	0
					C(w2)	0



<i>O. b. banderanus</i>	bosque de coníferas y encinos	21.3	0 a 200	(A)C(w1)	2.9
	bosque espinoso	4.8	200 a 500	(A)C(w2)	4.9
	bosque tropical caducifolio	57.2	500 a 1000	(A)C(wo)	1.0
	bosque tropical subcaducifolio	16.5	1000 a 1500	Aw1	18.4
			1500 a 2000	Aw2	23.3
				Awo	24.3
				BS1(h')w	24.3
				BSo(h')w	0.0
				C(w2)	1.0
<i>O. b. vicinior</i>	bosque de coníferas y encinos	16.9	0 a 200	(A)C(w1)	10.2
	bosque espinoso	1.7	200 a 500	(A)C(w2)	3.4
	bosque tropical caducifolio	52.5	500 a 1000	(A)C(wo)	0.0
	bosque tropical subcaducifolio	28.8	1000 a 1500	Aw1	32.2
			1500 a 2000	Aw2	11.9
				Awo	23.7
				BS1(h')w	15.3
				BSo(h')w	3.4
				C(w2)	0.0

