

## SISTEMÁTICA MOLECULAR DEL GÉNERO *REITHRODONTOMYS* (RODENTIA: MURIDAE)

ELIZABETH ARELLANO<sup>1</sup>, DUKE S. ROGERS<sup>2</sup>, Y FRANCISCO X. GONZALÉZ-CÓZATL<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Centro de Educación Ambiental e Investigación Sierra de Huautla, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Av. Universidad 1001, Col. Chamilpa, Cuernavaca, Morelos 62210, México;

<sup>2</sup> Department of Zoology and Monte L. Bean Life Science Museum, Brigham Young University, Provo, UT 84602, USA, correos: elisabet@buzon.uaem.mx, Duke\_Rogers@byu.edu, xavier@buzon.uaem.mx

**Resumen**-Aunque los mamíferos representan uno de los grupos faunísticos mejor conocidos, evaluaciones del número potencial de especies en el mundo muestran que la diversidad de dicho taxón podría estar subestimada. En el caso particular de los mamíferos mexicanos, estudios recientes que han utilizado técnicas moleculares y de análisis filogenético, han proporcionado resultados nuevos sobre la delimitación de especies en entidades taxonómicas conocidas. En los últimos cinco años se han descrito 15 nuevas especies de roedores, lo que evidencia el avance en el conocimiento de la mastofauna mexicana y lo mucho que falta por hacer. El presente trabajo evalúa la sistemática del género *Reithrodontomys*, un grupo de roedores peromyscinidos de la familia Sigmodontidae. Actualmente se reconocen 21 especies clasificadas en dos subgéneros (*Reithrodontomys* y *Aporodon*). Hooper (1952) y estudios posteriores han mostrado que hay un solapamiento de caracteres morfológicos y gran diferenciación genética que permiten cuestionar la delimitación de especies. Nosotros estimamos las relaciones evolutivas de 16 especies utilizando secuencias de ADN, analizadas filogenéticamente bajo los criterios de parsimonia, máxima verosimilitud, y análisis bayesiano. Los resultados apoyan la monofilia del género y cada uno de los subgéneros, pero el patrón evolutivo de varias especies muestra mayor divergencia intraespecífica de la esperada, lo que sugiere la existencia de nuevas entidades taxonómicas. Debido a que se han reportado patrones similares para otras especies de roedores mexicanos, creemos que esta tendencia revela que la diversidad de roedores en México es mayor de la estimada y que hay un mayor número de especies endémicas lo que, aunado a los problemas actuales de conservación del país, las hace también más vulnerables.

**Palabras clave:** *Reithrodontomys*, *Aporodon*, citocromo *b*, filogenia, monofilia, roedores

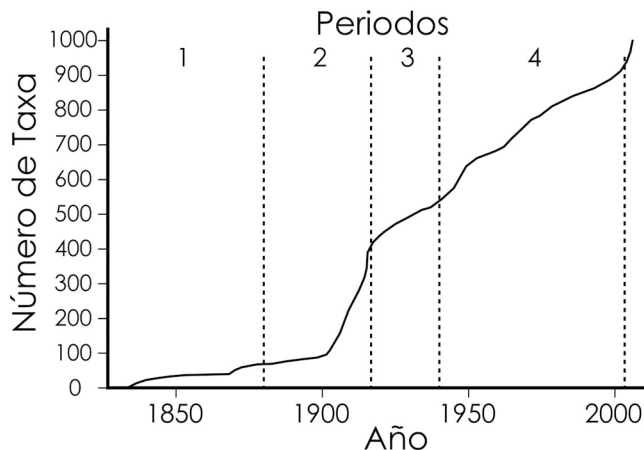
**Abstract**-Even though mammals represent one of the better known animal groups, evaluations of the potential number of species in the world show that diversity in this taxon could be underestimated. In the particular case of Mexican mammals, recent studies using molecular techniques and phylogenetic analyses have provided new results about species delimitations in well known taxonomic groups. In the last five years, 15 new species of rodents have been described, showing the progress in the knowledge of Mexican mammals as well as how much is still to be done. This study evaluates the systematics of the genus *Reithrodontomys*, a group of peromyscine rodents (family Sigmodontidae). At present 21 species are recognized, classified in two subgenera (*Reithrodontomys* and *Aporodon*). Hooper (1952) and others have shown overlapping of morphological characters and high genetic differentiation, which bring into question present species delimitations. We estimated evolutionary relationships of 16 species using DNA sequences, analyzed phylogenetically with parsimony, maximum likelihood, and Bayesian analyses. Results support the monophyly of the genus and each subgenus, however, evolutionary patterns in some species show higher intraspecific divergence than expected and suggest the existence of more than one species. Because similar patterns have been reported for other species of Mexican rodents, we believe that this tendency reveals that the diversity of Mexican rodents is higher than estimated and that there is a higher number of endemic species; given the habitat conservation problems in the country, they are also more vulnerable.

**Key words:** *Reithrodontomys*, *Aporodon*, cytochrome *b*, phylogeny, monophyly, rodents

## INTRODUCCIÓN

La mayoría de las especies que presumiblemente existen en el mundo no han sido aún descritas (Wilson 1988). Actualmente se conocen cerca de 1.8 millones de especies, sin embargo, algunas estimaciones sugieren que el número total podrían llegar a más de 10 millones (propuestas extremas calculan que hasta 100 millones). Con el avance de la tecnología y el acceso a nuevas herramientas científicas, se ha hecho más evidente la imprecisión en las estimaciones actuales de la biodiversidad. De manera general, hay dos posibles explicaciones para este desconocimiento. La primera es que muchas de las especies en la naturaleza no han sido colectadas, estudiadas y formalmente descritas. La segunda es la existencia de formas crípticas, que morfológicamente son similares y por lo tanto consideradas una misma especie, aunque genéticamente sean distintas (Barrowclough 1992, Good 1994). Se podría pensar que la mayoría de las especies que no han sido descritas pertenecen a grupos poco conspicuos como las bacterias o invertebrados, sin embargo, estudios recientes y reportes de nuevas entidades taxonómicas permiten ver que, incluso para organismos de gran tamaño, el conocimiento sobre su diversidad es aún incompleto. Hasta hace no mucho tiempo, los investigadores en el área de la sistemática de diferentes grupos basaban la descripción de especies utilizando principalmente datos morfológicos y de distribución. Sin embargo, el creciente uso de las técnicas moleculares, los avances en métodos de análisis, y los cambios en la filosofía para la identificación de límites de especie utilizados durante las tres últimas décadas, han revelado ejemplos de la existencia de entidades taxonómicas múltiples en aquellas donde inicialmente se había reconocido una sola especie. Estos ejemplos han sido más evidentes y numerosos para grupos que habitan regiones tropicales y subtropicales (Hillis 1988, Highton *et al.* 1989, Myers y Patton 1989, Barrowclough y Gutiérrez 1990, Daugherty *et al.* 1990, Escalante-Pliego 1992, Brownlow 1996). La detección de especies crípticas es con frecuencia accidental y en muchos casos es el resultado de reevaluaciones que incluyen el análisis de poblaciones polimórficas utilizando caracteres diferentes a los tradicionales y métodos de análisis más poderosos.

Aunque los mamíferos representan uno de los grupos mejor conocidos, es claro que el conocimiento sobre su diversidad (riqueza de especies) es aún incompleto. La descripción taxonómica de la mastofauna mexicana se ha dado, de manera general, en cuatro periodos relevantes a partir de principios del siglo XIX (Fig. 1). Durante este tiempo las descripciones han sido



**Figura 1.** Periodos históricos de descripciones taxonómicas de mamíferos mexicanos (adaptado de Ramírez-Pulido y Britton 1981 con datos de Ceballos *et al.* 2002).

hechas con base en información de morfología y distribución, y los relativamente abruptos incrementos en la descripción de especies coincide con las grandes expediciones de importantes exploradores tales como Henri de Saussure, Spencer F. Baird, Clinton H. Merriam, E. W. Nelson, y E. A. Goldman. El aumento en descripciones taxonómicas después de los años 1950 se debe a un importante trabajo de síntesis que continúa hasta el día hoy (Ramírez-Pulido y Britton 1981, Ramírez-Pulido *et al.* 1983, 1986, 1996, Cervantes *et al.* 1994, Ceballos *et al.* 2002). A partir de los años 1970, investigadores mexicanos y de otros países han hecho importantes aportaciones a la sistemática de mamíferos utilizando mejores estrategias de colecta, técnicas moleculares modernas, y métodos explícitos de inferencia filogenética, permitiendo tener una mejor aproximación del conocimiento real de la mastofauna y en general de la diversidad biológica. Específicamente para los roedores, que es uno de los grupos de mamíferos más abundantes y con más endemismos en México, el estudio de la sistemática a partir de datos moleculares ha arrojado resultados interesantes en cuanto a la designación de límites de especie en entidades taxonómicas supuestamente conocidas. De esta manera, el resumen de diversos trabajos (Engstrom *et al.* 1981, Arellano 1999, Sullivan *et al.* 2000, Edwards y Bradley 2002, Arellano *et al.* 2003, Amman y Bradley 2004, Bradley *et al.* 2004) sugiere que tan solo en los últimos cinco años se han descubierto 15 nuevas especies; algunas ya se han descrito formalmente y otras están en proceso de serlo. Sin duda alguna, los ejemplos citados anteriormente reflejan un avance en el conocimiento de la diversidad mastofaunística de nuestro país, pero, por otro lado, ponen de manifiesto lo mucho que falta por conocer sobre la sistemática de este grupo de organismos.

Los roedores del género *Reithrodontomys* (Familia Muridae, Subfamilia Sigmodontinae - Musser y Carleton 1993) se agrupan en 21 especies divididas en dos subgéneros (*Reithrodontomys* y *Aporodon*) y cuatro grupos de especies (ver Arellano *et al.* 2003 y Bradley *et al.* 2004 para un resumen taxonómico reciente). Estos son ratones relativamente pequeños, con cola larga y distinguibles de otros peromyscinidos (*sensu* Musser y Carleton 1993, McKenna y Bell 1997, Bradley *et al.* 2004) por la presencia de un surco longitudinal en el centro de los dientes incisivos superiores (Carleton 1980). Los miembros del subgénero *Reithrodontomys* difieren de las especies asignadas al subgénero *Aporodon*, consideradas como más derivadas que las primeras, por características de los dientes molares (Howell 1914, Hooper 1952), distintas características morfológicas resumidas en Carleton (1980), algunas aloenzimas (Nelson *et al.* 1984, Arellano *et al.* 2003), microsátélites (Hamilton *et al.* 1990) y secuencias de ADN (Arellano 1999, Bell *et al.* 2001, Bradley *et al.* 2004).

La sistemática del género ha sido abordada utilizando diferentes marcadores, tanto morfológicos como moleculares. Sin embargo, aunque estos estudios han aportado elementos relevantes sobre la evolución de este grupo, la información de diferentes caracteres no siempre ha sido congruente. Por ejemplo, los resultados basados en datos cromosómicos no coinciden con la organización de especies de acuerdo con la morfología, ya que el cariotipo de las especies del subgénero *Aporodon* sugeriría que éstas son ancestrales con respecto a las del subgénero *Reithrodontomys* (Carleton y Myers 1979, Robbins y Baker 1980, Engstrom *et al.* 1981, Rogers *et al.* 1983). Otros estudios que buscaban establecer relaciones filogenéticas entre algunas de las especies, basados en aloenzimas, han mostrado que el género y los dos subgéneros son monofiléticos (Nelson *et al.* 1984, Arellano *et al.* 2003). Sin embargo, algunas relaciones dentro de los subgéneros no coinciden completamente con la organización propuesta por Hooper (1952). Además, algunas especies presentan patrones de divergencia importantes, lo que sugiere la existencia

de nuevas entidades taxonómicas (Arellano *et al.* 2003). Por otro lado, usando secuencias de ADN, Arellano (1999) y Bradley *et al.* (2004) han estimado las relaciones evolutivas de algunas especies del género. Sus reportes concuerdan con lo anterior y corroboran los altos niveles de divergencia genética dentro de algunas especies. En el presente trabajo analizamos secuencias de ADN del gen mitocondrial citocromo *b* (*cit-b*) de 16 especies, incluyendo una amplia cobertura geográfica, con el objetivo de establecer una hipótesis sobre las relaciones evolutivas del género *Reithrodontomys*.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Especímenes

Se incluyeron 59 especímenes que representan a 16 especies del género *Reithrodontomys* (*R. bakeri*, *R. creper*, *R. gracilis*, *R. mexicanus*, *R. microdon*, *R. spectabilis*, *R. tenuirostris*, *R. chrysopsis*, *R. fulvescens*, *R. hirsutus*, *R. humulis*, *R. megalotis*, *R. montanus*, *R. raviventris*, *R. sumichrasti* y *R. zacatecae*) de 36 diferentes localidades. Adicionalmente se incorporaron ejemplares de dos especies del género *Peromyscus* (*P. maniculatus* y *P. leucopus*) como grupos externos (Watrous y Wheeler 1981; Cuadro 1).

**Cuadro 1.** Localidades de los especímenes de *Reithrodontomys* y de los grupos externos analizados. Las abreviaturas se refieren a NL: número de localidad, TM: tamaño de muestra, CO: Colombia, CR: Costa Rica, EL: El Salvador, GU: Guatemala, MX: México, y EU: Estados Unidos.

NL	Especie	TM	Localidad
1	<i>R. bakeri</i>	3	MX: Guerrero, Mpio. Chichihualco, Filo de Caballo
2	<i>R. bakeri</i>	2	MX: Guerrero, Mpio. Chilpancingo, Omiltemi
3	<i>R. creper</i>	1	CR: Cartago, Río Birris, 12 km N Potrero Cerrado
4	<i>R. creper</i>	2	CR: Heredia, San José de la Montaña, 2,050 m
5	<i>R. gracilis</i>	1	MX: Yucatán, Laguna Becanchen
6	<i>R. gracilis</i>	1	MX: Campeche, Mpio. Champotón, 5.2 km SW of Champotón
7	<i>R. mexicanus</i>	1	MX: Hidalgo, Mpio. Zacualtipán, Rancho la Mojonera, 6 km S Zacualtipán, 2,010 m
8	<i>R. mexicanus</i>	1	MX: Chiapas, Mpio. Rayón, 6 km E of Rayón
9	<i>R. mexicanus</i>	2	CR: San José, 1 km (by rd.) SW Poás, 1,500 m
10	<i>R. mexicanus</i>	1	GU: Baja Verapaz, 5 km E of Puruhla
11	<i>R. mexicanus</i>	1	GU: Zacapa, 2 km N of San Lorenzo, Sierra de las Minas
12	<i>R. mexicanus</i>	1	EL: Santa Ana, Parque Nacional Montecristo, Los Planes
13a	<i>R. mexicanus</i>	7	MX: Oaxaca, Mpio. Santiago Comaltepec, 11 km SW (by rd.) La Esperanza
13b	<i>R. mexicanus</i>	1	MX: Oaxaca, Mpio. Santiago Comaltepec, 11 km SW (by rd.) La Esperanza
14	<i>R. mexicanus</i>	1	MX: Oaxaca, Mpio. Santiago Comaltepec, 28 km SW (by rd.) La Esperanza
15	<i>R. mexicanus</i>	1	MX: Oaxaca, Mpio. Santiago Comaltepec, 1.4 mi N Llano de las Flores
16	<i>R. mexicanus</i>	1	MX: Veracruz, Mpio. Ixhuacán, 18 km NW Teocelo
17	<i>R. mexicanus</i>	1	MX: Chiapas, Mpio. Unión Juárez, La Providencia, 1,775 m
18	<i>R. mexicanus</i>	1	CO: Risaralda, Mpio. Pereira, Corregimiento La Florida, PRN Ucumar, 2,450 m
19a	<i>R. mexicanus</i>	1	MX: Oaxaca, Mpio. Teotitlán de Flores Magón, 1.5 km S Pto. de la Soledad, 2,600 m
19b	<i>R. mexicanus</i>	6	MX: Oaxaca, Mpio. Teotitlán de Flores Magón, 1.5 km S Pto. de la Soledad, 2,600 m
20	<i>R. mexicanus</i>	1	CR: Cartago, Colima Tapanti, 1.6 km S Tapanti Bridge, Río Grande de Orosi, 1,290 m
21	<i>R. microdon</i>	5	MX: Chiapas, Mpio. Chamula, Cerro Tzontehuitz, 13 km NE San Cristóbal de las Casas, 2,880 m
22	<i>R. microdon</i>	1	GU: Huehuetenango, 12 km NW of Santa Eulalia
23	<i>R. microdon</i>	2	MX: Chiapas, Mpio. El Porvenir, Cerro Mozotal, 2,930 m
24	<i>R. microdon</i>	1	MX: Oaxaca, Mpio. Tlahuitoltepec, Cerro Zempoaltepec, Santa María Yacochi, 2,450 m
25	<i>R. microdon</i>	1	MX: Oaxaca, Mpio. San Juan Lachao, El Polvorín, 5.3 km S Lachao Viejo, 1,735 m
26	<i>R. spectabilis</i>	1	MX: Quintana Roo, Isla Cozumel, 30 km SE San Miguel
27	<i>R. tenuirostris</i>	1	MX: Chiapas, Mpio. Chamula, Cerro Tzontehuitz, 13 km NE San Cristóbal de las Casas, 2,880 m
28	<i>R. chrysopsis</i>	1	MX: D.F., Deleg. Magdalena Contreras, Parque Nacional Los Dinamos, 3,330 m
29	<i>R. fulvescens</i>	1	MX: Chiapas, Mpio. Mazapa de Madero, 5 km NE Mazapa de Madero, 1,100 m
30	<i>R. hirsutus</i>	1	MX: Nayarit, Mpio. Santa María del Oro, 2 km N Chapalilla, 1,020 m.
31	<i>R. humulis</i>	1	EU: Georgia, (unspecified locality)
32	<i>R. megalotis</i>	1	EU: Utah, Utah Co., Lehi
33	<i>R. montanus</i>	1	EU: New Mexico, Roosevelt Co, 9.1 mi S Melrose Bombing Range, Canon Air Force Base
34	<i>R. raviventris</i>	1	EU: California, Solano Co., 2.7 mi W junction of Napa River and Hwy. 37 on Hwy. 37; 10 ft
35	<i>R. sumichrasti</i>	1	MX: Oaxaca, Mpio. Tlahuitoltepec, vicinity Santa Maria Yacochi, 2,300 m
36	<i>R. zacatecae</i>	1	MX: Michoacán, Mpio. Pátzcuaro, 10 km S Pátzcuaro, 2,200 m
37	<i>P. leucopus</i>	1	MX: San Luis Potosí, Mpio. Xilitla, Ejido Aguayo, 6.2 km N Xilitla
38	<i>P. maniculatus</i>	1	EU: Utah, Utah Co., Lehi

### Obtención de Datos

Se extrajo el ADN genómico a partir de hígado siguiendo la metodología descrita en Arellano (1999) o mediante el procedimiento de Qiagen DNeasy Tissue Kit (Cat. No. 69504). Para amplificar el gen *cit-b* completo (1,143 pares de bases) se utilizaron diferentes pares de iniciadores externos e internos cuyas secuencias se pueden consultar en Arellano (1999).

Se amplificó el *cit-b* utilizando la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR por sus siglas en inglés) con una mezcla maestra conteniendo 1.0 µl de ADN genómico, 4 µl de dNTPs (1.25 mM), 2 µl de 10X buffer *Taq*, 0.5 µl de cada iniciador (100 µM), 3 µl de MgCl<sub>2</sub> (25 mM), 14 µl de agua destilada, y 0.25 µl de *Taq* polimerasa (5 u/µl; Promega Corp., Madison, WI). Los parámetros de amplificación para la mayoría de las reacciones fue 2-4 min a 94°C, 35-40 ciclos (1 min a 94°C, 1 min a 50°C y 1 min a 72°C), más 5 min a 72°C. Del producto amplificado se utilizaron 4 µl para hacer electroforesis y visualizar el producto en un gel de agarosa. El volumen restante fue purificado utilizando el protocolo de QIAquick PCR (QIAGEN, Chatsworth, CA), el método de purificación Gene-Clean (Bio 101, La Jolla, CA), o el sistema de filtración Millipore Multiscreen™ PCR 96-Well Filtration System (Cat. No. MANU03050). Las reacciones de secuenciación se realizaron con el protocolo Perkin Elmer ABI PRISM Dye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit (PE Applied Biosystems, Foster City, CA). El exceso de reactivo fue eliminado utilizando columnas de separación con una solución de Sephadex 50G (3g/50 ml H<sub>2</sub>O) o con el protocolo de Millipore Multiscreen™ Filter Plates for High Throughput Separations (Cat. No. MAHVN4510). Las secuencias se leyeron en secuenciadores automáticos (Perkin-Elmer ABI Prism 377 y ABI 3100). Se generaron secuencias para cada individuo en ambas direcciones, lo que permitió verificar la precisión de alineación, editando las secuencias en los casos en que fue necesario con el programa Sequencher versiones 3.1.1 y 4.1.1 (Gene Codes Co., 2000).

### Análisis Filogenético

Las filogenias fueron estimadas utilizando los criterios Máxima Parsimonia (MP), Máxima Verosimilitud (MV) y Análisis Bayesiano (AB). Los análisis de MP y MV y la obtención de distancias genéticas fueron realizados en el programa PAUP\* 4.0b10 (Swofford 2002). Los análisis de MP se llevaron al cabo con pesos iguales y 10,000 adiciones aleatorias de secuencias con permutación global de ramas (TBR, por sus siglas en inglés). Para los árboles obtenidos se evaluó la veracidad de los nodos usando la prueba de bootstrap no paramétrico (Felsenstein 1985) con 1,000 réplicas de 100 adiciones aleatorias de secuencias. Los valores de bootstrap mayores al 70% fueron considerados como veraces (Hillis y Bull 1993). Debido a que los métodos de muestreo son sensibles a problemas de independencia y distribución de caracteres (Page y Holmes 1998), también calculamos los valores de apoyo de Bremer (Bremer 1994) para cada nodo del árbol utilizando el programa TreeRot (Sorensen 1999); los valores mayores de cinco fueron considerados como indicativos de veracidad de las relaciones.

Bajo el criterio de MV, se seleccionó el modelo evolutivo más apropiado para nuestros datos con el programa Modeltest v3.6 (Posada y Crandall 1998). El modelo GTR con sitios invariables y tasa heterogénea de cambio (GTR +Γ+I) resultó el más adecuado; dicho modelo se utilizó en las búsquedas de MV que consistieron en 100 adiciones aleatorias de secuencias con permutación global de ramas (TBR, por sus siglas en inglés).

La inferencia bayesiana se realizó usando el programa MrBayes 3.0b4. Bajo esta metodología se elige la filogenia con la mejor probabilidad posterior muestreando los árboles de toda la distribución de probabilidades posteriores usando Metropolis-

coupled Markov Chain Monte Carlo (MCMC; Huelsenbeck y Ronquist 2001, Ronquist y Huelsenbeck 2003). El análisis se realizó cuatro veces (Nylander *et al.* 2004), cada uno empezando en un árbol diferente seleccionado al azar; se corrieron cuatro cadenas calientes simultáneas por 5 x 10<sup>6</sup> generaciones con muestreo cada 1,000 generaciones. Para asegurar que las cadenas de Markov se habían estabilizado, se graficaron los valores logarítmicos de la probabilidad contra las generaciones. Se descartaron (quemaron) todos los puntos existentes antes de alcanzar la estabilización (de manera conservativa los primeros 150 de 5,001 árboles) y se compararon las probabilidades posteriores de los análisis independientes para evaluar si había congruencia (Huelsenbeck e Imennov 2002, Huelsenbeck *et al.* 2002, Nylander *et al.* 2004). Finalmente, se estimaron los valores de distancia genética, en porcentajes, para reportar divergencia entre poblaciones y especies.

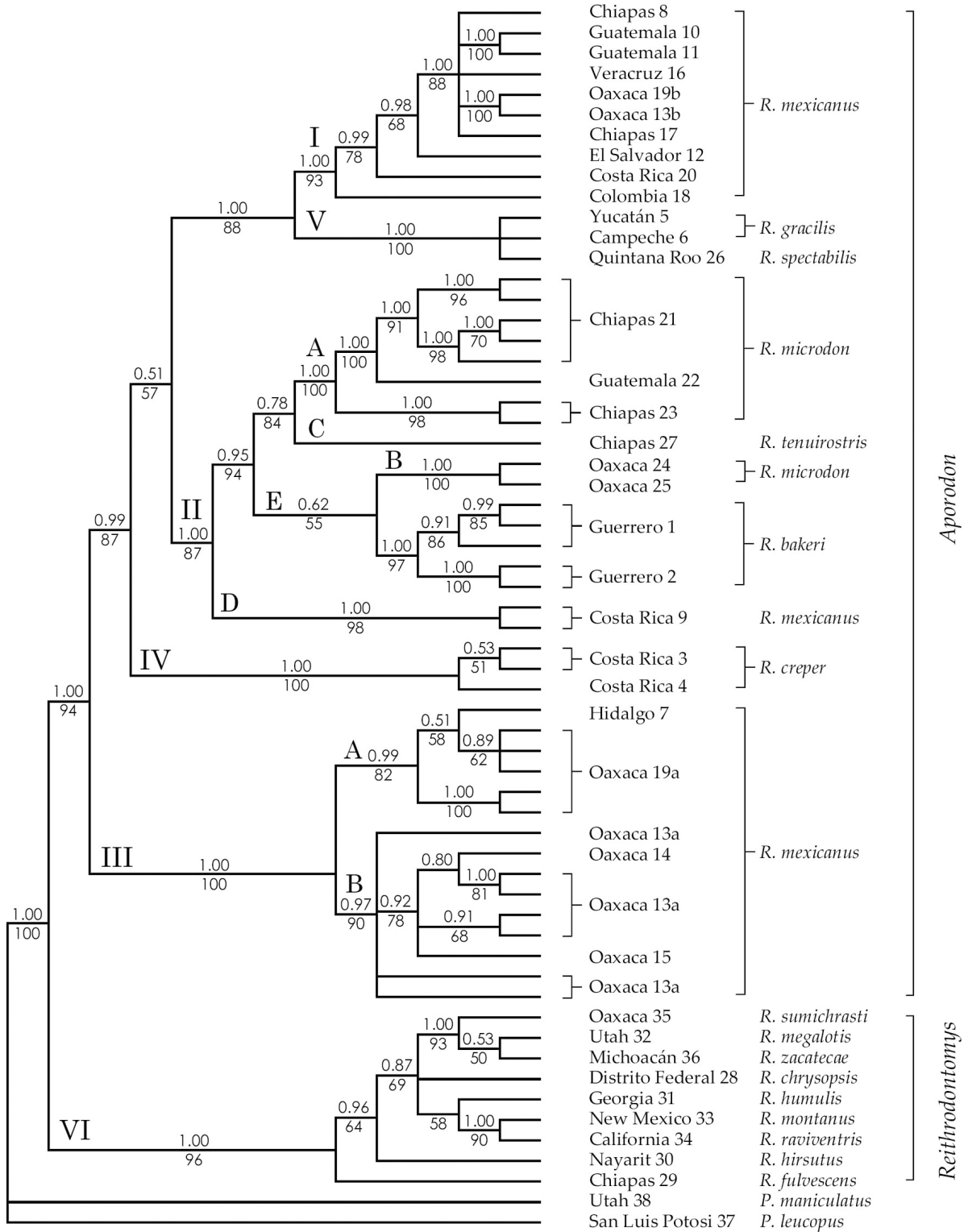
## RESULTADOS

Se obtuvieron secuencias completas (1,143 pares de bases) del *cit-b* para 59 individuos pertenecientes a 18 taxa. La matriz de datos mostró un número considerable de sitios variables y potencialmente informativos aún excluyendo a los grupos externos. La composición nucleotídica fue similar a la reportada para la mayoría de los mamíferos (Irwin *et al.*, 1991). En este estudio guaninas fueron menos frecuentes (12.73%) con respecto a adeninas, citosina, y timina (30.84%, 27.13% y 29.60%, respectivamente). Las distancias genéticas entre miembros del género estuvieron en el rango de 0.5 a 15%, dentro del subgénero *Aporodon* el rango fue de 0.8 a 13%, mientras que dentro del subgénero *Reithrodontomys* fue de 0.5 a 15%. En el Cuadro 2 se reportan comparaciones relevantes entre algunos taxa.

### Análisis Filogenético

Las estimaciones filogenéticas bajo los tres criterios utilizados convergieron en topologías esencialmente idénticas, aunque los árboles de parsimonia presentaron más relaciones no resueltas. El soporte a los nodos varió ligeramente en cada topología obtenida, pero estas diferencias se limitaron a la parte terminal de los árboles (entre individuos de la misma población). Para fines prácticos, los resultados aquí descritos se basan en la filogenia obtenida del análisis Bayesiano (Fig. 2). Los miembros de los subgéneros *Aporodon* (clados I-V) y *Reithrodontomys* (clado VI) se agruparon de forma monofilética, respectivamente, con fuerte apoyo para ambas ramas. Los seis clados indicados con números romanos y letras mayúsculas fueron consistentemente encontrados en las filogenias de todos los análisis. Los clados I y III y el grupo D del clado II corresponden a ratones originalmente determinados como *R. mexicanus*, sin embargo, estos linajes no se agruparon monofiléticamente. No obstante, cada uno de estos clados siempre mostró altos valores de apoyo. El clado II comprende cinco linajes pertenecientes a cuatro especies y cuyos valores de apoyo son altos con excepción del linaje E que une las poblaciones de Oaxaca de *R. microdon* con las muestras de *R. bakeri*. En este mismo linaje se observa que *R. microdon* es polifilético siendo que las muestras 21, 22 y 23 de *R. m. microdon* forman un linaje con *R. tenuirostris* aunque el apoyo para este nodo no es fuerte. De igual manera las muestras 24 y 25 de *R. m. albilabris* se agrupan con *R. bakeri*, pero el apoyo es débil. Las muestras de *R. creper* forman el linaje IV, mientras el clado V está formado por *R. gracilis* y *R. spectabilis* que se relacionan de manera parafilética. Ambos clados (IV y V) tienen los valores más altos de probabilidad posterior.

Dentro del subgénero *Reithrodontomys* (clado VI) la mayoría de las ramas internas muestran valores significativos de apoyo. En este grupo, *R. fulvicens* se ubica en posición basal mientras



**Figura 2.** Filogenia resultante del análisis Bayesiano (50% regla de mayoría) para el género *Reithrodontomys* (subgénero *Aporodon* y *Reithrodontomys*) utilizando secuencias del gen citocromo *b* y el modelo evolutivo (GTR +  $\Gamma$  + I). Los números a la derecha indican la localidad de la muestra (Cuadro 1). Los valores en cada nodo se refieren a la probabilidad posterior (arriba) y los valores de bootstrap (abajo).

que *R. hirsutus* se ubica como grupo hermano del resto de las especies. El valor de apoyo para el nodo formado por *R. megalotis*, *R. sumichrasti* y *R. zacatacae* es alto, aunque la relación entre *R. megalotis* y *R. zacatecae* está débilmente apoyada. *Reithrodontomys raviventris* y *R. montanus* forman un grupo bien apoyado y se

disponen como el grupo hermano de *R. humulis*, pero con valores bajos de apoyo. Aunque *R. chrysopsis* se agrupa con los linajes *R. megalotis*-*R. sumichrasti*-*R. zacatacae* y *R. humulis*-*R. raviventris*-*R. montanus*, no se resolvió la relación hacia estos dos linajes.

## DISCUSIÓN

### Relaciones entre Especies del Género *Reithrodontomys*

El resultado más sorprendente fue que *R. mexicanus*, de acuerdo con su definición actual, es polifilético y consiste en tres clados altamente diferenciados (valores de distancia genética de 12.12 a 12.86%; Cuadro 2). El primer linaje comprende ratones de la Sierra Madre Oriental en México (clado III, Fig. 2), mientras que el segundo linaje está formado por muestras obtenidas dentro de la distribución "clásica" de *R. mexicanus*, la cual se extiende del sur de México hasta la parte norte de Suramérica (clado I). El tercer linaje, inicialmente identificado como *R. mexicanus* (grupo D en clado II), está más cercanamente relacionado a *R. microdon*, *R. tenuirostris* y *R. bakeri*. La polifilia encontrada dentro de *R. mexicanus* es consistente con evidencia reportada por Arellano *et al.* (2003), quienes evaluaron las relaciones dentro del subgénero *Aporodon* usando aloenzimas, y por Bradley *et al.* (2004) con base en secuencias del gen *cit-b*. Ambos estudios concluyeron que las muestras de la Sierra Madre Oriental que originalmente se habían reconocido como *R. mexicanus* realmente constituyen un linaje que es basal a todos los otros taxa de *Aporodon* incluidos en sus análisis. Sin embargo, sus muestreos eran limitados a un solo individuo en ambos trabajos. Nuestro estudio incluye individuos y localidades adicionales y documenta además que los ratones del clado III ocurren en simpatria con *R. mexicanus sensu stricto* (clado I) en dos localidades en Oaxaca (13 y 19). En cuanto al linaje D (clado II), Arellano *et al.* (2003) sugirió que *R. mexicanus cherrii* de Costa Rica posiblemente representaba una taxón a nivel de especie cuyas afinidades son más cercanas al grupo de especies de *R. tenuirostris* (*sensu* Hooper 1952) y nuestros datos apoyan esta propuesta.

Nuestro estudio también demuestra que *R. microdon* es polifilético. Estos resultados son congruentes con los de Arellano *et al.* (2003) quienes encontraron que *R. microdon* era parafilético con respecto a *R. tenuirostris* (*R. bakeri* no fue incluido en su análisis). Estos dos linajes de *R. microdon* difieren por una distancia genética de 6.47% (Cuadro 2) y representan poblaciones alopátricas separadas por el Istmo de Tehuantepec, al sur de

**Cuadro 2.** Distancias genéticas promedio, en porcentajes, dentro y entre algunas de las especies de *Reithrodontomys*. Los clados y grupos son de acuerdo con la Figura 2.

Comparación	Distancia Genética
<i>R. mexicanus</i> : dentro del Clado I	4.77
<i>R. mexicanus</i> : dentro del Clado III	1.23
<i>R. mexicanus</i> : dentro del grupo II-D	0.44
<i>R. mexicanus</i> : entre Clados I, III y grupo II-D	12.12 – 12.51
entre <i>R. mexicanus</i> y <i>R. gracilis</i>	11.45 – 12.68
entre <i>R. gracilis</i> y <i>R. spectabilis</i>	1.27
<i>R. microdon</i> : dentro de grupos II-A y II-B	0.52 – 4.88
<i>R. microdon</i> : entre grupos II-A y II-B	6.47
entre <i>R. microdon</i> y <i>R. tenuirostris</i>	8.21 – 9.08
entre <i>R. sumichrasti</i> y <i>R. megalotis</i>	8.48
entre <i>R. fulvescens</i> y <i>R. hirsutus</i>	12.25

México. El istmo posiblemente representa una barrera de baja elevación a la dispersión de roedores de tierras altas cuyo rango de distribución se extiende a ambos lados del mismo. Sullivan *et al.* (2000) evaluó la concordancia filogeográfica entre las filogenias de dos especies de roedores con similar distribución geográfica (*Peromyscus aztecus* y *R. sumichrasti*) en Mesoamérica, usando datos del gen *cit-b*. Las poblaciones de ambas especies al sur del istmo formaron el clado más basal. Por otro lado, los niveles de divergencia genética documentados por Sullivan *et al.* (2000) son consistentes con la idea de que las poblaciones de *P. aztecus* y *R. sumichrasti* a ambos lados del Istmo de Tehuantepec probablemente representan diferentes especies. El patrón de divergencia en las secuencias de ADN exhibido por *R. microdon* es esencialmente idéntico al observado por Sullivan *et al.* (2000).

Los datos presentados por Arellano *et al.* (2003) son imprecisos con respecto a las afinidades filogenéticas de *R. creper*. La misma imprecisión fue evidente en nuestro estudio siendo que, bajo el análisis de MP, las afinidades de esta especie no se resuelven y en los otros análisis (MV y AB) forma un linaje que es basal en el subgénero *Aporodon* con excepción de *R. mexicanus* de la Sierra Madre Oriental.

Nuestro estudio mostró que *R. gracilis* y *R. spectabilis* están cercanamente relacionadas y la divergencia genética entre ellas es muy pequeña (Cuadro 2). Arellano *et al.* (2003) también demostraron esta relación estrecha con base en diferencia de frecuencia o presencia de alelos autapomórficos en ocho loci genéticos. De acuerdo con las relaciones filéticas entre estos taxa y su distancia genética pequeña, es claro que *R. spectabilis* representa una forma relativamente reciente derivada de *R. gracilis*.

Dentro del subgénero *Reithrodontomys*, nuestros datos apoyan la relación de *R. montanus* y *R. raioventris* como taxa hermanos, lo cual es consistente con propuestas de estudios previos. De igual manera, nuestros resultados apoyan una estrecha relación entre (*R. megalotis*, *R. zacatecae*) y (*R. sumichrasti*), con altos valores de apoyo. Estos resultados son congruentes con los datos presentados por Nelson *et al.* (1984) y Bell *et al.* (2001). Además, la cercana relación entre estas tres especies también es apoyada por estudios de tinción diferencial de cromosomas (Hood *et al.* 1984).

Bell *et al.* (2001) no tuvieron suficiente evidencia para resolver las afinidades entre *R. humulis* y *R. fulvescens* con respecto a otros miembros del subgénero, mientras que Nelson *et al.* (1984) sugirió que estas especies eran hermanas. Sin embargo, encontramos de manera consistente a *R. fulvescens* como el miembro basal del subgénero, lo cual coincide con lo propuesto por Arellano *et al.* (2003). A pesar de esto, nosotros no pudimos resolver las relaciones de *R. humulis* con certeza. En nuestro estudio también se incluyeron dos especies adicionales (*R. hirsutus* y *R. chrysopsis*), sin embargo, no se pudo determinar con certeza la posición filogenética de las mismas. No obstante, se apoyó la hipótesis de que *R. hirsutus* es basal al clado incluyente de todos los taxa, con excepción de *R. fulvescens*.

### Delimitación de Especies

El concepto filogenético de especie define a una especie como el grupo más pequeño de organismos delimitado por una combinación única de estados de carácter dentro del cual hay un patrón de ancestría y descendencia (Cracraft 1983, Nixon y Wheeler 1990). Las propuestas que hacemos respecto a la delimitación de especies en este trabajo se basan en este concepto. Asimismo, debido a que la estricta aplicación de este concepto de especie podría resultar en el reconocimiento temporal de demos aislados como especies, también seguimos la propuesta de Wiens y Penkrot (2002) para delimitar especies. De acuerdo con estos

autores, la delimitación de especies requiere de la concordancia entre dos o más grupos de datos independientes y puede involucrar métodos basados o no en árboles filogenéticos (Sites y Marshall 2003).

En el caso de *R. spectabilis*, nuestros resultados no permiten definir su estatus taxonómico. Este taxón fue descrito con base en su tamaño corporal grande (Jones y Lawler 1965) y representa la única especie de este género encontrada en Isla Cozumel, México. Datos de aloenzimas (Arellano *et al.* 2003) documentaron que *R. spectabilis* presentaba sólo un carácter apomórfico, pero con base en el grupo completo de datos, *R. gracilis* era parafilética con respecto a *R. spectabilis*. Nuestros datos del cit-*b* fallan en resolver con veracidad las relaciones entre estas dos especies. Aunque *R. spectabilis* es morfológicamente distinta, datos de aloenzimas y ADN indican que este linaje no ha alcanzado la monofilia recíproca con *R. gracilis*. Por lo tanto, concluimos que *R. spectabilis* es un derivado relativamente reciente de *R. gracilis* y que, dada la novedad morfológica que presenta, brinda una interesante pregunta con respecto a la evolución del tamaño corporal grande debido a un efecto de aislamiento.

Con respecto a la situación del linaje representado por el clado III, consideramos que es un candidato a especie. Este linaje tiene seis diferencias aloenzimáticas fijadas con respecto a otros grupos dentro de *Reithrodontomys* (Arellano *et al.* 2003), posee un complemento cromosómico diferente (Urbina *et al.* datos no publicados), difiere substancialmente de otros taxa dentro de *Aporodon* con base en secuencias del cit-*b*, y especímenes que representan este clado son simpátricos con ejemplares de *R. mexicanus* (*sensu stricto*) en dos localidades de Oaxaca, México. La asignación de un nombre a esta potencial nueva especie se decidirá después de hacer una evaluación de la existencia de posibles sinonimias taxonómicas.

Este estudio, junto con el de Arellano *et al.* (2003), demuestra que *R. microdon* no es monofilético. *Reithrodontomys m. albilabris* y *R. m. microdon* muestran afinidad con *R. bakeri* y *R. tenuirostris*, respectivamente. *Reithrodontomys m. albilabris* se distingue de *R. m. microdon* por dos alelos diferentes fijados; el análisis para forzar la monofilia de estos linajes en nuestros datos de cit-*b* resulta en árboles significativamente más largos (criterio de MV). Por lo tanto, proponemos que *R. m. microdon* de Chiapas y de Guatemala sea considerado como *R. microdon* (*sensu stricto*) y *R. m. albilabris* de Oaxaca debería ser reconocido como *R. albilabris* de acuerdo con los nombres originales correspondientes.

Nuestros resultados demuestran que *R. mexicanus cherrii* forma un clado relacionado con taxa de México y Guatemala (*R. microdon* y *R. tenuirostris*) y no a poblaciones de *R. mexicanus* de Costa Rica. Este taxón también es distinto con base en marcadores nucleares ya que Arellano *et al.* (2003) encontraron dos diferencias aloenzimáticas fijadas y cuatro alelos autapomórficos que distinguen esta población de todas las otras muestras de *Reithrodontomys*. Finalmente, nuestra prueba para forzar monofilia resultó también en árboles significativamente más largos. Hooper (1952:153) puntualizó que *R. mexicanus* de Costa Rica (subespecie *cherrii*) es una de las "más grandes y brillantes de las subespecies de *R. mexicanus*." Con base en estas evidencias, proponemos que *R. m. cherrii* (*Reithrodontomys* sp. *sensu* Arellano *et al.* 2003) de Costa Rica debería ser reconocida como una especie diferente. El nombre apropiado y disponible sería *Reithrodontomys cherrii* Allen. Esta nueva especie reconocida se ajusta a los parámetros morfológicos y de distribución dados en la descripción original (Allen 1891).

### Conclusiones y Prospecciones

En este estudio hemos tratado de ser conservadores en cuanto al reconocimiento de nuevas especies, adoptando la hipótesis nula de que los linajes eran coespecíficos a menos que

hubiera fuerte evidencia en contra. Consideramos que las delimitaciones de especies propuestas tienen evidencia sólida. Es recomendable obtener muestras geográficas y datos independientes para resolver las relaciones adicionales que se mostraron débiles en este trabajo tales como *R. chrysopsis*, *R. hirsutus*, y *R. spectabilis*, y en general para tener un mejor panorama de las relaciones filogenéticas del subgénero *Reithrodontomys*.

Además de las aportaciones sobre la historia evolutiva del género *Reithrodontomys* que este estudio ha generado, es importante destacar que también constituye un ejemplo de las bondades que puede brindar el uso de datos moleculares y el análisis filogenético en el mejor conocimiento de nuestra biodiversidad, particularmente de la mastofauna. Lo anterior es apoyado por trabajos similares que en los últimos cinco años han reportado la existencia de más de 15 nuevas especies de roedores para nuestro país. Desafortunadamente, el área de distribución de muchas de estas especies que han sido crípticas es muy reducida, en parte por la heterogeneidad del hábitat en nuestro país. Esta situación hace que su grado de vulnerabilidad a la extinción sea alto. Indudablemente, trabajos de este tipo redundarán en un mejor conocimiento de la diversidad biológica y, paralelamente, para el establecimiento de mejores estrategias para conservarla.

### AGRADECIMIENTOS

Los permisos de colecta en México y Estados Unidos fueron expedidos por la Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT) y la Utah Division of Wildlife Resources (UDWR), respectivamente. El financiamiento fue provisto por la National Science Foundation Grant DBI-0139501, Brigham Young University (Professional Development Grants, Departments of Zoology and Integrative Biology, y el M.L. Bean Life Science Museum, a D.S.R.), el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), la Fullbright Foundation, y el Theodore Roosevelt Memorial Fund of the American Museum of Natural History (a E.A.). Agradecemos a los siguientes colegas: M.D. Engstrom (Royal Ontario Museum), F.A. Cervantes (Universidad Nacional Autónoma de México), M.S. Hafner (Louisiana State University), R.J. Baker (Texas Tech University), R.C. Dowler (Angelo State University), J.L. Patton (University of California, Berkeley) y T.L. Yates (University of New Mexico). También agradecemos a: R. González, D.J. Harris, Y. Hortelano, N. Lewis-Rogers, J. Martínez, R. Mercado, E. Ríos y Q.R. Shurtliff por su asistencia en el campo y a M. Pérez-Losada, N. Lewis-Rogers, D.A. McClellan, y G. Svenson por su ayuda con el análisis de datos. M. Pérez-Losada y N. Lewis-Rogers brindaron valiosos comentarios en versiones anteriores del manuscrito.

### LITERATURA CITADA

- Allen, J.A. 1891. Notes on a collection of mammals from Costa Rica. *Bulletin of the American Museum of Natural History* 3: 203-218.
- Amman, B.R., R.D. Bradley. 2004. Molecular evolution in *Baiomys* (Rodentia: Sigmodontinae): evidence for a genetic subdivision in *B. musculus*. *Journal of Mammalogy* 85: 162-166.
- Arellano, E. 1999. *Molecular phylogeny of the genus Reithrodontomys (Rodentia: Muridae)*. Unpublished Ph.D. dissertation, Brigham Young University, Provo.
- Arellano, E., D.S. Rogers, F.A. Cervantes. 2003. Genic differentiation and phylogenetic relationships among tropical harvest mice (*Reithrodontomys*: subgenus *Aporodon*). *Journal of Mammalogy* 84: 129-143.
- Barrowclough, G.F. 1992. Systematics, biodiversity and conservation biology. En: *Systematics, ecology, and the biodiversity cri-*

- sis (N. Eldredge, ed.). Pp. 121-143. Columbia University Press, Nueva York.
- Barrowclough, G., R.J. Gutierrez. 1990. Genetic variation and differentiation in the spotted owl (*Strix occidentalis*). *Auk* 107: 737-744.
- Bradley, R.D., F. Mendez-Harclerode, M.J. Hamilton, G. Ceballos. 2004. A new species of *Reithrodontomys* from Guerrero, Mexico. *Occasional Papers, The Museum, Texas Tech University* 231: 1-12.
- Bell, D.M., M.J. Hamilton, C.W. Edwards, L.E. Wiggins, R. Muniz Martinez, R.E. Strauss, R.D. Bradley, R.J. Baker. 2001. Patterns of karyotypic megaevolution in *Reithrodontomys*: evidence from a cytochrome-*b* phylogenetic hypothesis. *Journal of Mammalogy* 82: 81-91.
- Bremer, K. 1994. Branch support and tree stability. *Cladistics* 10: 295-304.
- Brownlow, C.A. 1996. Molecular taxonomy and the conservation of the red wolf and other endangered carnivores. *Conservation Biology* 10: 390-396.
- Carleton, M.D. 1980. Phylogenetic relationships in neotomine-peromyscine rodents (Muroidea) and a reappraisal of the dichotomy within the New World Cricetinae. *Miscellaneous Publications of the Museum of Zoology, University of Michigan* 157: 1-146.
- Carleton, M.D., P. Myers. 1979. Karyotypes of some harvest mice, genus *Reithrodontomys*. *Journal of Mammalogy* 60: 307-313.
- Ceballos, G., J. Arroyo-Cabrales, R.A. Medellín. 2002. The mammals of Mexico: composition, distribution, and conservation status. *Occasional Papers, The Museum, Texas Tech University* 218: 1-28.
- Cervantes, F.A., A. Castro-C., J. Ramírez-P. 1994. Mamíferos terrestres nativos de México. *Anales del Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México, Serie Zoología* 65: 177-190.
- Cracraft, J. 1983. Species concepts and speciation analysis. En: *Current Ornithology* (R.F. Johnston, ed.) Pp. 153-187. Plenum Press, Nueva York.
- Daugherty, C.H., A. Cree, J.M. Hay, M.B. Thompson. 1990. Neglected taxonomy and continuing extinctions of tuatara (*Sphenodon*). *Nature* 34: 177-179.
- Edwards, C.W., R.D. Bradley. 2002. Molecular systematics of the genus *Neotoma*. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 25: 489-500.
- Engstrom, M.D., R.C. Dowler, D.S. Rogers, D.J. Schmidly, J.W. Bickham. 1981. Chromosomal variation within four species of harvest mice (*Reithrodontomys*). *Journal of Mammalogy* 62: 159-162.
- Escalante-Pliego, B.P. 1992. Genetic differentiation in yellowthroats (Parulinae: *Geothlypis*). En: *Acta XX Congressus Internationalis Ornithologici*. (B.D. Bell, ed.) New Zealand Ornithological Congress, Wellington, Nueva Zelanda.
- Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: and approach using the bootstrap. *Evolution* 39: 783-791.
- Good, D.A. 1994. Species limits in the genus *Gerrhonotus* (Squamata: Anguillidae). *Herpetological Monographs* 8: 180-202.
- Hamilton, M.J., R.L. Honeycutt, R.J. Baker. 1990. Intragenomic movement, sequence amplification and concerted evolution in satellite DNA in harvest mice, *Reithrodontomys*: evidence from in situ hybridization. *Chromosoma* 99: 321-329.
- Highton, R., G.C. Maha, L.R. Maxson. 1989. Biochemical evolution in the slimy salamanders of the *Plethodon glutinosus* complex in the eastern United States. *Illinois Biological Monographs* 57: 1-153.
- Hillis, D.M. 1988. Systematics of the *Rana pipiens* complex: puzzle and paradigm. *Annual Review of Ecology and Systematics* 19: 39-63.
- Hillis, D.M., J.J. Bull. 1993. An empirical test of bootstrapping as a method for assessing confidence in phylogenetic analysis. *Systematic Biology* 42: 182-192.
- Hood, C.S., L.W. Robbins, R.J. Baker, H.S. Shellhammer. 1984. Chromosomal studies and evolutionary relationships of an endangered species, *Reithrodontomys raviventris*. *Journal of Mammalogy* 65: 655-667.
- Hooper, E.T. 1952. A systematic review of harvest mice (Genus *Reithrodontomys*) of Latin America. *Miscellaneous Publications of the Museum of Zoology, University of Michigan* 77: 1-255.
- Howell, A.H. 1914. Revision of the American harvest mice (Genus *Reithrodontomys*). *North American Fauna* 36: 1-97.
- Huelsenbeck, J.P., N.S. Imennov. 2002. Geographic origin of human mitochondrial DNA: accommodating phylogenetic uncertainty and model comparison. *Systematic Biology* 51: 155-165.
- Huelsenbeck, J.P., F. Ronquist. 2001. Mr Bayes: Bayesian inference of phylogeny. *Bioinformatics* 17:754-755.
- Huelsenbeck, J.P., B. Larget, R.E. Miller, F. Ronquist. 2002. Potential applications and pitfalls of Bayesian inference of phylogeny. *Systematic Biology*, 51: 673-688.
- Irwin, D.M., T.D. Kocher, A.C. Wilson. 1991. Evolution of the cytochrome *b* gene in mammals. *Journal of Molecular Evolution* 2: 37-55.
- Jones, J.K., Jr., T.E. Lawler. 1965. Mammals from Isla Cozumel, Mexico, with description of a new species of harvest mouse. *University of Kansas Publications, Museum of Natural History* 16: 409-419.
- McKenna, M.C., S.K. Bell. 1997. *Classification of mammals above the species level*. Columbia University Press, Nueva York.
- Musser, G.G., M.D. Carleton. 1993. Family Muridae. En: *Mammal species of the world: a taxonomic and geographic reference* (D.E. Wilson, D.M. Reeder, eds.). Pp. 501-756. Smithsonian Institution Press, Washington, D.C.
- Nelson, K., R.J. Baker, H.S. Shellhammer, R.K. Chesser. 1984. Test of alternative hypotheses concerning the origin of *Reithrodontomys raviventris*: genetic analysis. *Journal of Mammalogy* 65: 668-673.
- Nixon, K.C., Q.D. Wheeler. 1990. An amplification of the phylogenetic species concept. *Cladistics* 6: 211-223.
- Nylander, J.A.A., F. Ronquist, J.P. Huelsenbeck, J.L. Nieves-Aldrey. 2004. Bayesian phylogenetic analysis of combined data. *Systematic Biology* 53: 47-67.
- Page, R.D.M., E.C. Holmes. 1998. *Molecular evolution: a phylogenetic approach*. Blackwell Publishing. Oxford, Inglaterra.
- Posada, D., K.A. Crandall. 1998. Modeltest: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics* 14: 817-818.
- Ramírez-Pulido, J., M.C. Britton. 1981. An historical synthesis of Mexican mammalian taxonomy. *Proceedings of the Biological Society of Washington* 94: 1-17.
- Ramírez-Pulido, J., J.R. López-Wilchis, C. Müdspacher, I. Lira. 1983. *Catálogo de los mamíferos terrestres nativos de México*. Editorial Trillas, México, D.F.
- Ramírez-Pulido, J., M.C. Britton, A. Perdomo, A. Castro. 1986. *Guía de los mamíferos de México, referencias hasta 1983*. Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa, México, D.F.
- Ramírez-Pulido, J., A. Castro-Campillo, J. Arroyo-Cabrales, F.A. Cervantes. 1996. Lista taxonómica de los mamíferos de México. *Occasional Papers, The Museum, Texas Tech University* 158: 1-62.
- Robbins, L.W., R.J. Baker. 1980. G- and C-band studies on the primitive karyotype for *Reithrodontomys*. *Journal of Mammalogy* 61: 708-714.
- Rogers, D.S., E.J. Heske, D.A. Good. 1983. Karyotypes and range extension of *Reithrodontomys* (Cricetidae: subgenus *Aporodon*) from Mexico. *The Southwestern Naturalist* 28: 372-374.



- Ronquist, F., J.P. Huelsenbeck. 2003. MrBAYES 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19: 1572-1574.
- Sites, J.W., Marshall, J.C. 2003. Delimiting species: a Renaissance issue in systematic biology. *Trends in Ecology and Evolution* 18: 462-470.
- Sorensen, M.D. 1999. *TreeRot*, 2. Boston University, Boston, MA.
- Sullivan, J., E. Arellano, D.S. Rogers. 2000. Comparative phylogeography of Mesoamerican highland rodents: concerted versus independent response to past climatic fluctuations. *American Naturalist* 155: 755-786.
- Swofford, D.L. 2002. *PAUP\* 4.0b10. Phylogenetic analysis using parsimony*. Sinauer, Sunderland, MA.
- Watrous, L.E., Q.D. Wheeler. 1981. The outgroup comparison method of character analysis. *Systematic Zoology* 30: 1-11.
- Wiens, J.J., T.A. Penkrot. 2002. Delimiting species using DNA and morphological variation and discordant species limits in spiny lizards (*Sceloporus*). *Systematic Biology* 51: 69-91.
- Wilson, E.O. 1988. *Biodiversity*. National Academy Press, Washington D.C.

