

Informe final* del Proyecto HB029
Código de barras de ejemplares de la Colección Nacional de Mamíferos del Instituto de Biología, UNAM

Responsable: Dr. Fernando Alfredo Cervantes Reza
Institución: Universidad Nacional Autónoma de México
Instituto de Biología
Departamento de Zoología
Colección Nacional de Mamíferos
Dirección: Av. Universidad # 3000, Ciudad Universitaria, Coyoacán, México, D.F., 04510, México
Correo electrónico: fac@ib.unam.mx
Teléfono/Fax: 5622 9143
Fecha de inicio: Agosto 31, 2009.
Fecha de término: Febrero 10, 2015.
Principales resultados: Base de datos, informe final.
Forma de citar el informe final y otros resultados:** Hortelano-Moncada, Y., Cervantes F. A. y J. Vargas Cuenca. 2016. Código de barras de ejemplares de la Colección Nacional de Mamíferos del Instituto de Biología, UNAM. Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto de Biología. **Informe final SNIB-CONABIO, proyecto No. HB029.** México D. F.

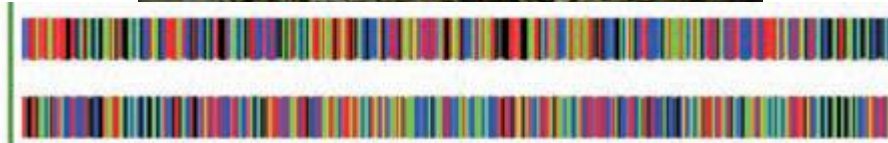
Resumen:

El propósito de este proyecto es contribuir a la obtención de información genética de especies mexicanas de mamíferos que permita su identificación específica y a la construcción del catálogo de código de barras de los mamíferos mexicanos. Estos esfuerzos comprenden los ejemplares de la Colección Nacional de Mamíferos (CNMA) del Instituto de Biología, UNAM, institución miembro de la Red MexBol, de los que se procesarán muestras de tejidos congelados para la secuenciación del gen mitocondrial citocromo oxidasa subunidad I de acuerdo con protocolos estandarizados sugeridos por el IBOL. La muestra a examinar comprende 250 ejemplares de 40 especies de diversas regiones geográficas de México. La extracción de ADN se hará por medio de kits comerciales, la amplificación del fragmento del Citocromo Oxidasa I se efectuará por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) utilizando primer específicos, la purificación de los productos de PCR y la secuenciación de sus nucleótidos en un secuenciador automatizado. Las secuencias serán editadas, alineadas y comparadas con resultados reportados en la literatura. También se producirán fotografías o ilustraciones de los ejemplares secuenciados que se acompañarán de sus datos de colecta. Finalmente, estos resultados con los códigos de barras serán incorporados a la base de datos del Sistema Bold en un período de 12 meses.

-
- * El presente documento no necesariamente contiene los principales resultados del proyecto correspondiente o la descripción de los mismos. Los proyectos apoyados por la CONABIO así como información adicional sobre ellos, pueden consultarse en www.conabio.gob.mx
 - ** El usuario tiene la obligación, de conformidad con el artículo 57 de la LFDA, de citar a los autores de obras individuales, así como a los compiladores. De manera que deberán citarse todos los responsables de los proyectos, que proveyeron datos, así como a la CONABIO como depositaria, compiladora y proveedora de la información. En su caso, el usuario deberá obtener del proveedor la información complementaria sobre la autoría específica de los datos.

INFORME FINAL

“Código de Barras de Ejemplares de La Colección Nacional de Mamíferos del Instituto de Biología, UNAM”



Responsable: Fernando A. Cervantes Reza
Departamento de Zoología
Instituto de Biología, UNAM

Convenio Específico Núm. FB1411/HB029/09 con CONABIO

Mayo 2014

“Código de Barras de Ejemplares de La Colección Nacional de Mamíferos del Instituto de Biología, UNAM”

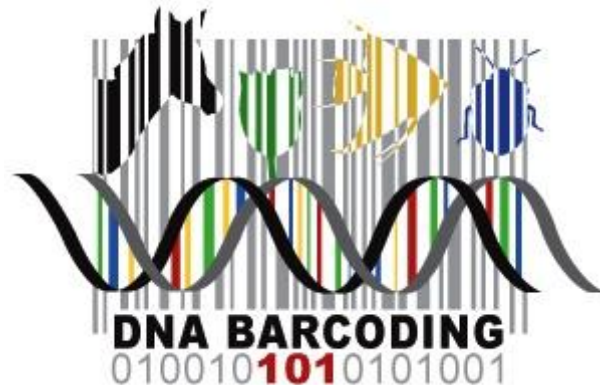
F. A. Cervantes, Y. Hortelano-Moncada y J. Vargas-Cuenca
Colección Nacional de Mamíferos, Instituto de Biología, UNAM
Apdo. Postal. 70-153, México, D. F. 04510

Introducción

Los mamíferos terrestres mexicanos están conformados por aproximadamente 550 especies, lo que representa el componente mastofaunístico más grande dentro de un mismo país, con niveles similares a los de Indonesia, Brasil y China (Ceballos y Arroyo-Cabrales 2012). A pesar del incremento de las investigaciones faunísticas en México, todavía no se conocen apropiadamente las características diagnósticas de muchas especies, inclusive existe controversia sobre la identidad taxonómica de un amplio grupo de especies y de la validez taxonómica desde nivel de género hasta familia y se siguen describiendo nuevas especies no solo en territorio mexicano sino a todo lo largo y ancho de Latinoamérica.

Los marcadores moleculares son de gran utilidad para la identificación de especies crípticas, el conocimiento de la historia evolutiva y reconstrucción de filogenias. El poder identificar y descubrir nuevas especies mediante la diversidad de secuencias cortas de regiones de genes estandarizadas (Código de Barras), como es el caso del fragmento de alrededor de 600 pb del gen COI para vertebrados (Kress and Erickson, 2012), ofrece una herramienta más para ampliar el conocimiento de la biodiversidad de Mamíferos de México.

El uso de un código de barras como una herramienta taxonómica adicional sería de incalculable valor para comprender mejor la posición taxonómica de los mamíferos mexicanos y de las categorías taxonómicas a las que pertenecen. Este enfoque se usaría además de la información tradicional generada como evaluaciones morfológicas, análisis craneales y dentales y estudios cariotípicos, entre otros.



Entonces, la conjunción de un código de barras de mamíferos puede convertirse en una biblioteca integral de referencia de códigos de barras de ADN para la fauna mastozoológica no solo de México sino del mundo (IBOL, 2009), lo cual demuestra el interés de la comunidad científica y su entusiasta respuesta a la propuesta de colaboración en este proyecto internacional (Weigt *et al.*, 2012). Ejemplos recientes de estos esfuerzos de investigación se ilustran en los reportes sobre la elaboración de códigos de barras para la identificación de especies de mamíferos pequeños de Suriname y de murciélagos de Guyana, incluyendo el hallazgo de nuevos taxa (Borisenko *et al.*, 2008; Clare *et al.*, 2007; Cervantes *et al.*, 2010).

Por lo tanto, el propósito de este proyecto es contribuir con la obtención de información genética de especies de mamíferos silvestres mexicanos que permita complementar su conocimiento biológico, su identificación específica y la construcción del catálogo de código de barras biológico. Esta orientación coincide con las recomendaciones internacionales para incrementar los esfuerzos de

investigación sobre los códigos de barras de DNA y su aplicación al conocimiento de la biodiversidad (Erickson y Kress, 2012):

DNA Barcoding: An Emerging Global Standard for Species Identification

Consortium for the Barcode of Life
National Museum of Natural History

Materiales y métodos

Acopio y organización de muestras

Se utilizaron muestras de hígado, dedos, corazón, riñón, oreja y músculo obtenidas de la colección de tejidos congelados, de ejemplares depositados en la Colección Nacional de Mamíferos, CNMA, o de ejemplares solicitados a colecciones extranjeras (Fig. 1 a b y c; Apéndice 1) y en algunos casos se efectuaron salidas al campo para la colecta de ejemplares y tejidos (Fig. 1d). La colecta se realizó a cabo de acuerdo a los procedimientos recomendados por Deck *et al.* (2012) y aprobados por la Sociedad Americana de Mastozoólogos (Gannon *et al.*, 2007) y con el permiso de colecta FAUT-0002.



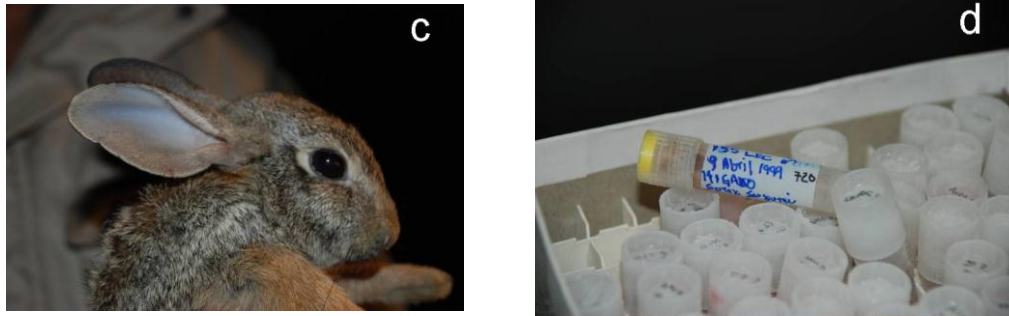


Figura 1. a) Vista de Colección Nacional de Mamíferos donde se encuentran los ejemplares incluidos en este proyecto. b) Ultracongelador en donde se resguarda la Colección de Tejidos de los ejemplares depositados en la CNMA y c) ejemplares colectados de donde se tomaron las muestras para su uso en este proyecto y d) Criotubos en donde se colocan los tejidos congelados.

Los ejemplares depositados en la colección y los tejidos (almacenados en el ultracongelador), están ligados por un identificador que es el número de colector, estos a su vez están ligados al extracto de ADN por el triplete de números de catálogo de la Colección Nacional de Mamíferos, su acrónimo (CNMA) así como la Institución donde está albergada la CNMA que es el Instituto de Biología (IBUNAM).

Extracción de Ácido Desoxirribonucleico (ADN)

Se siguieron los lineamientos establecidos por los protocolos de laboratorio recomendados por el sistema BOLD (Knebelberger y Stöger, 2012; Ivanova y Grainger, 2009; Ivanova *et al.*, 2012). La extracción de ADN de muestras de tejido se llevó a cabo utilizando un kit de extracción comercial DNeasy Tissue Qiagen^{MR} (No. Cat. 69504). Se realizó la electroforesis en gel de agarosa al 1.5%, se

tomaron fotografías con la cámara de luz ultravioleta y la cuantificación del ADN para determinar la cantidad del ADN extraído se realizó con un espectrofotómetro Biomate 3 Thermo Spectronic.

Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

Se usaron los iniciadores específicos (primers en inglés, LepF1_t1-LepR1_t1; Cuadro 1) y iniciadores diseñados en el laboratorio de Biología Molecular de la CNMA, que amplificaron un fragmento de 700 pares de bases (pb) del gen mitocondrial *Citocromo C* subunidad I mediante la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés) en un termociclador Termo Hybaid PCR Sprint. Las condiciones óptimas de reacción fueron modificadas a partir de las originales, de acuerdo a lo recomendado por Fleming y Cook (2002) y por Ivanova *et al.*, (2007; Cuadro 2) las cuales fueron: desnaturalización inicial a 94°C por 1 min, cinco ciclos de 94°C por 30 sec, alineamiento a 45-50°C por 40 sec, y extensión a 72°C por 1 min, seguido por 30-35 ciclos de 94°C por 30 seg, 51-54°C por 40 seg, y 72°C por 1 min, con una extensión final a 72°C por 10 min, seguido por una temperatura sostenida a 4°C (Fleming y Cook, 2002; Ivanova *et al.*, 2007; Ivanova y Grainger 2009, Ivanova *et al.*, 2012; Fig 2; Cuadro 2).

Cuadro 1.- Iniciadores específicos utilizados en la amplificación de un fragmento del gen COI en mamíferos (pb = pares de bases).

Secuencia del primer	Gen	Fuente
LepF1_t1 (5'-TGTAACGACGGCCAGTATTCAACCA ATCATAAAGATATTGG-3')	COI 700 pb	Ivanova <i>et al.</i> , 2007. Hebert <i>et al.</i> , 2004;
LepR1_t1 (5'-CAGGAAACAGCTATGACTAACTTCTG		

GATGTCCAAAAAATCA -3')		
-----------------------	--	--



Figura 2. Preparando las muestras de ADN para su amplificación en el termociclador por medio de la Reacción en cadena de la Polimerasa (PCR), en el Laboratorio de Biología Molecular de la Colección Nacional de Mamíferos.

El fragmento amplificado de COI se visualizó por medio de electroforesis en gel de agarosa al 1.5% de la siguiente manera: se pesó 0.53 g de agarosa, se disolvió en una solución con 35ml del amortiguador TBE 1x y una gota de bromuro de etidio (100mg/ml), posteriormente se calentó en el horno de microondas hasta que se disolvió la agarosa y se vertió en un molde de gel, se acomodó el peine para que se formaran los pozos y se esperaron 30 minutos para que solidificara. Se llenó la cámara de electroforesis con amortiguador y se colocaron 3µl de ADN y 2 µl de los marcadores de peso molecular (escalera de 100 pb) en cada uno de los pozos del gel. Se conectaron los electrodos a la fuente de poder y se corrió a 80V (50mA) durante una hora. Finalmente se visualizaron las bandas de ADN con la lámpara de luz UV y se tomaron fotografías.

Cuadro 2. Condiciones óptimas de reacción para la amplificación del gen citocromo b (Fleming y Cook, 2002) y el gen COI (Ivanova *et al.*, 2007). por medio de la Reacción en cadena de la Polimerasa (PCR).

Gen	Ciclos	Proceso	Temperatura (°C)	Tiempo (s)
COI	1	Desnaturalizar	94	60
	5	Desnaturalización	94	30
		Alineación	50	40
		Extensión	72	60
	35	Desnaturalización	94	30
		Alineación	68	40
		Extensión	72	60
	1	Extensión final	72	600

El ADN amplificado se purificó utilizando un kit de purificación QIAquick de Qiagen (No. Cat. 28104). El ADN purificado se visualizó con el programa Molecular Imaging Software en una cámara Kodak EDAS 290 para confirmar el tamaño de fragmento. La secuenciación del ADN purificado se realizó en uno de los secuenciadores automáticos (ABI Prism 310) del Laboratorio de Biología Molecular perteneciente al posgrado en Ciencias Biológicas del Instituto de Biología de la UNAM.

Para la alineación y la edición de las secuencias de ADN obtenidas se utilizó el programa Bioedit 7.0 (Hall, 1999). La verificación de las secuencias de ADN obtenidas y su calidad se está realizando en el sistema BOLD ya que tiene sus propias funciones de acuerdo a los electroferogramas obtenidos (Spouge y Mariño-Ramírez, 2012).

Se tomaron fotografías de todos los ejemplares de donde se tomó la muestra para la secuenciación de su ADN. Se tomaron cráneos, mandíbulas o pieles. (Figura 3). Para cada una de las fotografías se incluyen los datos de

colecta del nombre científico, nombre común, descripción de la imagen, localidad, fecha de la toma así como el autor de la imagen. Las secuencias, ilustraciones y datos de colecta se encuentran capturados en la base de datos del sistema BOLD.



Figura 4. Para cada uno de los ejemplares de la especie secuenciada se tomaron fotografías. De izquierda a derecha: vista lateral del cráneo del tlacuache *Didelphis virginiana*, vista lateral de la mandíbula de la musaraña *Cryptotis mayensis* y vista dorsal de la piel del zorrillo *Conepatus semistriatus*.

Resultados

Los resultados obtenidos para este segundo informe final se presentan siguiendo el orden de los Indicadores de Avance Cuantificados:

Se ha hecho una revisión de la literatura para cada uno de los grupos examinados. Se seleccionaron 339 ejemplares de los cuales se obtuvieron los tejidos para analizar que corresponde a más del 100% de lo comprometido en el proyecto. Sin embargo solamente se obtuvieron secuencias para 303 y las comprometidas para el proyecto de CONABIO que fueron 300 (100%) ejemplares que corresponden a seis órdenes 13 familias, 39 géneros y 74 especies. Se tuvieron problemas en la amplificación o extracción en 47 muestras. Que corresponden a las siguientes especies: *Cryptotis parva*, *Carollia sowelli*, *Microtus oaxacensis*, *Vulpes macrotis*, *Cryptotis obscura*, *Tylomys nudicaudus*, *Neotoma mexicana*, *Peromyscus eremicus*, *Myodes rutilus*, *Microtus ochrogaster*,

Leopardus wiedii, *Panthera onca*, *Mephitis macroura*, *Cryptotis griseoventris* y *Sorex oreopolus*. De varias de estas especies la CNMA sólo se tenía una muestra y probablemente no era de buena calidad, en algunas se logró la extracción y amplificación sin embargo no se logró obtener la secuencia aún después de varios intentos. Varios ejemplares después, si se pudieron obtener las secuencias mismas que ya se encuentran ya en el sistema BoldSystems (Figura 5; Apéndice 1).

Es importante aclarar que se incluyeron especies que no se tenían contempladas en el proyecto presentado originalmente, los cambios se deben a que estas especies son de gran interés para algunos proyectos de licenciatura y maestría que se realizaron en la Colección Nacional de Mamíferos y que son de gran relevancia para el conocimiento y conservación de estas especies (marcados con el superíndice ^b en el Apéndice 1). Las especies que se agregaron y no estaban contempladas en el proyecto original fueron: *Baiomys musculus*, *Lepus alleni*, *Tylomys nudicaudus*, *Microtus mexicanus*, *Peromyscus eremicus*, *Mephitis macroura*, *Nelsonia neotomodon*, *Neotoma lepida*, *Xenomys nelsoni*, *Hodomys alleni*, *Peromyscus aztecus*, *P. gratus*, *P. levipes*, *P. melanophrys*, *Reithrodontomys fulvescens*, *R. mexicanus*, *R. sumichrasti*, *R. chrysopsis*, *Osgoodomys banderanus*, *Cratogeomys zinseri*, *Mustela frenata*, *M. vison*, *Taxidea taxus*, *Spilogale putorius*, *S. gracilis*, *Conepatus leuconotus*, *C. semistriatus*, *Bassariscus astutus*, *Procyon lotor*, *Cryptotis magna*, *C. peregrina*, *Sorex veraecrucis* y *Myotis occultus*. Por lo tanto, se agregaron 15 géneros y 28 especies diferentes a lo comprometido (Apéndice 1).

Los géneros y las especies que originalmente se propusieron pero que no se analizaron fueron 12: *Peromyscus mexicanus*, *P. spicilegus*, *Oligoryzomys fulvescens*, *Oryzomys alfaroi*, *Liomys irroratus*, *Liomys pictus*, *Heteromys desmanestianus*, *Dipodomys merriami*, *D. ordii*, *D. phillipsi*, *Leopardus wiedii* y *Artibeus jamaicensis* (Apéndice 1). Estos cambios, con los resultados obtenidos hasta el momento han aumentado la representación taxonómica propuesta en familias, géneros y especies, mientras que el número de órdenes permanece sin

cambio. Sin duda, esto benefició en gran medida la aportación de la CNMA al conocimiento y conservación de mamíferos mexicanos. Las especies analizadas se presentan ordenadas en el Apéndice 1 de acuerdo con la clasificación proporcionada por Ramírez-Pulido *et al.* (2008), en donde se indica los taxa analizados, el número de individuos por especie y los ejemplares de los cuales se obtuvo su secuencia.

Figura 5. Página principal del proyecto de la CNMA en BoldSystems mostrando resultados obtenidos en el proyecto HB029.



Se obtuvieron 333 fotografías de 339 ejemplares que se ingresaron a la base de datos de BOLD 100% de los ejemplares propuestos en CONABIO están cumplidos. Dichas fotografías fueron proporcionadas a CONABIO, con su respectivo archivo de datos en Excel de acuerdo con los lineamiento requeridos en BoldSystems y que cumple también con los "Lineamientos para la entrega de fotografías e ilustraciones digitales 2009" de CONABIO (Figura 6; Anexo 2 y 3). Estas últimas imágenes fueron enviadas al sistema BoldSystems y ya se encuentran disponibles para su consulta.



Figura 6. Ejemplo de una fotografía publicada en BoldSystems que pertenece a un cráneo de lobo mexicano *Canis lupus* del cual ya se ha obtenido su secuencia del gen COI.

Se ha hecho la validación de todas las especies incluidas en el presente trabajo por parte del Dr. Fernando A. Cervantes, M. en C. Yolanda Hortelano Moncada y M. en C. Julieta Vargas Cuenca.

La preparación de geles, amplificación, purificación/presecuenciación, secuenciación, alineación, análisis de secuencias, obtención de electroferogramas se ha completado. Se tienen 303 registros con secuencias disponibles en el sistema BoldSystems que corresponden a 74 especies (Fig. 7).

UNAM Mammals of Mexico [FCMUN]

Barcode Identifiers

Barcode ID :	FCMUN071-09	Sample ID :	IBUNAM 35209
Identified As :	Canis lupus		

COI-5P

Marker :	COI-5P	GenBank Accession :	
Last Updated :	2009-09-18	Translation Matrix :	Vertebrate Mitochondrial

Sequencing Runs

Run Date	Run Site	Direction	Trace File	PCR primers	Seq Primer	Status
<input type="checkbox"/> 2009-09-15 02:15:18	Biodiversity Institute of Ontario	Reverse	FCMUN071-09 [LepF1,LepR1]_R.ab1	LepF1/LepR1	LepR1	med qual
<input type="checkbox"/> 2009-09-14 21:57:58	Biodiversity Institute of Ontario	Forward	FCMUN071-09 [LepF1,LepR1]_F.ab1	LepF1/LepR1	LepF1	low qual

[View Trace Files](#) [Download](#)

Nucleotide Sequence

Residues : 657	ACTTTATANTTACTATTTGGAGCATGAGCCGGTATAGTAGGCACTGCCTTGAGCCTCCTCATCCGAGCCGAACTA
Comp. A : 169	GGTCAGCCCGGTACTTTACTAGGTGACGATCAAATTTATAATGTCATCGTAACCGCCCATGCTTTCGTAATAATC
Comp. G : 116	TTCTTCATAGTCATGCCCATCATAAATGGGGGCTTTGGAACTGACTAGTGCCGTTAATAATTTGGTGCCTCCGGAC
Comp. C : 172	ATGGCATTCCCCGAATAAATAACATGAGCTTCTGACTCCTTCCTCCATCCTTTCTTCTACTATTAGCATCTTCT
Comp. T : 199	ATGGTAGAAGCAGGTGCAGGAACGGGATGAACCGTATACCCCCACTGGCTGGCAATCTGGCCCATGCAGGAGCA
Ambiguous : 1	TCCGTTGACCTTACAATTTTCTCCTTACACTTAGCCGGAGTCTTCTATTTTAGGGGCAATTAATTTTCATCACT
	ACTATTATCAACATAAAACCCCTGCAATATCCCAAGTATCAAACCTCCCTGTTTGTATGATCAGTACTAATTACA
	GCAGTTCTACTCTTACTATCCCTGCCTGCTACTGGCTGCTGGAATTACAATACTTTTAAACAGACCCGGAATCTTAAT
	ACAACATTTTGTATCCCGCTGGAGGAGGACCTATCCTATATCAACACCTATTC

Identify Sequence Using : [Full Database](#) [Species Database](#) [Ref Database](#)

Amino Acid Sequence

Residues : 232	TLXLLFGAWAGMVGTALSLLIRAE LGQPGTL LGGDDQIYNVIVTAHAFVMIFFMVPIMIGGFNWL VPLMIGAPD
	MAFPRMNMNSFWLLPPSFLLLASSMVEAGAGTGWTVYPLAGNLAHAGASVDLTI FSLHLAGVSSILGAINFIT
	TIINMKPPAMSQYQTPLFVWSVLITAVLLLLSLPVLAAGITMLLIDRNLNTTFDPAGGGDPILYQHFLF

Publication

Illustrative Barcode

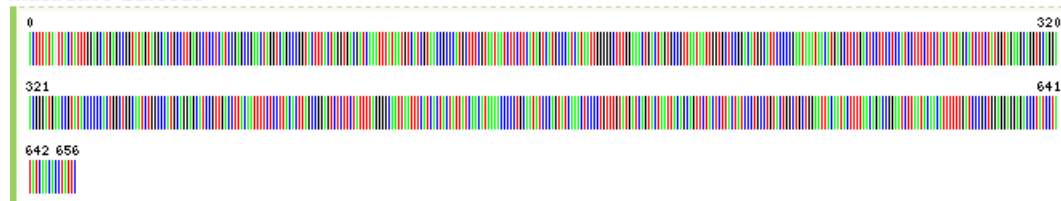


Figura 7. Código de barras de uno de los ejemplares analizados en el presente proyecto y que corresponde al ejemplar de la CNMA35209 de lobo mexicano (*Canis lupus*).

Asimismo, casi 325 ejemplares están georreferenciados en BoldSystems, con excepción de 14 (11 de ellos carecen de datos ya que son ejemplares obtenidos de zoológico, 2 de colecciones extranjeras y un tejido recibido a donación a la CNMA en cual tampoco fue posible recuperar sus datos de colecta Figura 8).



Figura 8. Distribución geográfica de algunas de las especies propuestas para obtención de código de barras.

Como productos generados en este trabajo están 2 tesis de licenciatura y 4 de maestría concluidas, 6 trabajos presentados en congresos o reuniones y un trabajo publicado (Fig. 9 y 10).

Tesis de maestría

- M. en C. Jérica Arcangeli Álvarez. Tesis de maestría: “Comparación molecular de dos especies de tlacuache *Didelphis virginiana* y *D. marsupialis* (Mammalia: Didelphimorphia)”. Fecha de examen: 8-0ctubre-2010.
- M. en C. Miguel Ángel León Tapia. Tesis de maestría: “Ubicación filogenética con datos moleculares de la rata de Monte (*Nelsonia goldmani*) endémica del Eje Neovolcánico Transversal”. Fecha de examen: 31-0ctubre-2014
- M. en C.. Anahí Guadalupe Mejía Puente. Tesis de maestría: “Identificación de felinos mexicanos utilizando ADN de muestras fecales”. Fecha de examen: Enero 2014.
- M. en C. Paula Vargas Pellicer. Tesis de maestría: “Análisis filogeográfico del zorrillo pigmeo (*Spilogale pygmaea*) endémico de la vertiente del Pacífico Mexicano”. Fecha de examen: 14-Marzo-14

Tesis de licenciatura

- Biól. Alejandra Breña Ochoa. Facultad de Ciencias, UNAM. “Variación geográfica del ADN mitocondrial de la musaraña endémica *Megasorex gigas* (Mammalia: Soricomorpha) al oeste de México”. Fecha de examen: 15-marzo-2011.
-
- Biól. Martha Laura Ruiz Vega. Facultad de Ciencias, UNAM. “Identificación molecular de tres especies de conejos silvestres mexicanos (*Sylvilagus*)”. Fecha de examen: 17-marzo-2011.

Trabajos presentados en congresos, simposios, reuniones:

- Fernando A. Cervantes, Yolanda Hortelano, Julieta Vargas, Miguel A. León, Jérica Arcangeli, Alejandra Breña, Paula Vargas, Laura Ruiz y Lázaro Guevara. "Código de barras de ejemplares de la Colección

Nacional de Mamíferos del Instituto de Biología, UNAM" Cartel presentado en la X Exhibición de carteles "El Instituto de Biología a través de sus carteles y publicaciones". Instituto de Biología, UNAM. 10 de diciembre 2009.

- M. A. León, Y. Hortelano Moncada, F. A. Cervantes, J. Arcangeli, J. Vargas, A. Breña, P. Vargas, L. Ruiz y L. Guevara. Código de Barras de ADN de Mamíferos Mexicanos. X Congreso Nacional y I Congreso Latinoamericano de Mastozoología, Guanajuato, Guanajuato. México. Asociación Mexicana de Mastozoología, A.C. (AMMAC) y la Universidad de Guanajuato. 20 al 24 de septiembre del 2010.
- Jéssica Arcangeli y Fernando A. Cervantes. Comparación molecular de dos especies de tlacuache *Didelphis virginiana* y *D. marsupialis* (Mammalia: Didelphimorphia). Cartel. Concurso de carteles. Instituto de Biología, UNAM. Diciembre 2010.
- Jéssica Arcangeli y Fernando A. Cervantes. El análisis de las secuencias de ADN distingue a dos tlacuaches morfológicamente muy similares, *Didelphis virginiana* y *D. marsupialis* (Mammalia: Didelphimorphia). Ponencia. 59a. Reunión anual SWAN. Valle de Bravo, Estado de México, México. 19-22 de abril 2012.
- Jéssica Arcangeli y Fernando A. Cervantes. Comparación molecular de dos especies de tlacuache *Didelphis virginiana* y *D. marsupialis* (Mammalia: Didelphimorphia). Ponencia. XI Congreso Nacional de Mastozoología, Asociación Mexicana de Mastozoología y el Área Biológico Agropecuaria de la Universidad Veracruzana. Xalapa, Veracruz. 22 al 26 de Octubre de 2012.
- Paula Vargas Pellicer y Fernando A. Cervantes. Estudio filogenético de las especies mexicanas de la familia Mephitidae. Ponencia. XI

Congreso Nacional de Mastozoología, Asociación Mexicana de Mastozoología y el Área Biológico Agropecuaria de la Universidad Veracruzana. Xalapa, Veracruz. 22 al 26 de Octubre de 2012.

Publicaciones:

- Cervantes, F. A., J. Arcangeli y Y. Hortelano-Moncada. 2010. "DNA barcodes effectively identify the morphologically similar Common Opossum (*Didelphis marsupialis*) and Virginia Opossum (*Didelphis virginiana*) from areas of sympatry in México". Mitochondrial DNA. GDNA Mitochondrial DNA. 21(S1):44-50.

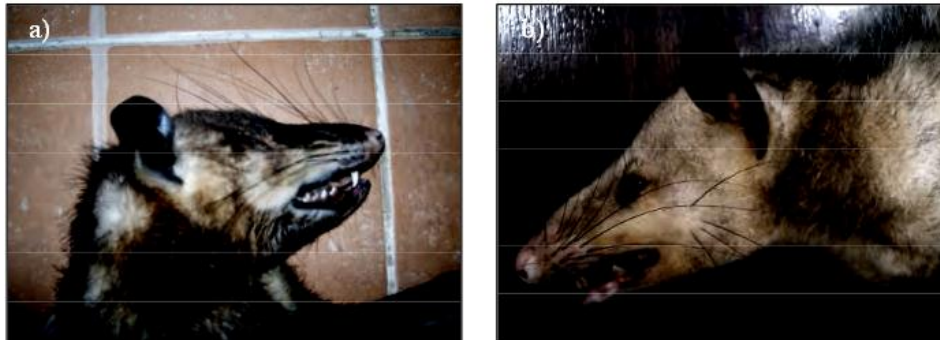


Figura 9. Variación intraespecífica de la coloración del cachete en tlacuaches del género *Didelphis*: a) Macho de la especie *D. virginiana* colectado en Coyuca de Benítez, Guerrero con cachete de color amarillo pálido (CNMA 45117); b) Macho de la especie *D. marsupialis* colectado en la Estación de Biología Tropical “Los Tuxtles”, Veracruz con cachete de color amarillo pálido (CNMA 45110; fotografías: J. Arcangeli).

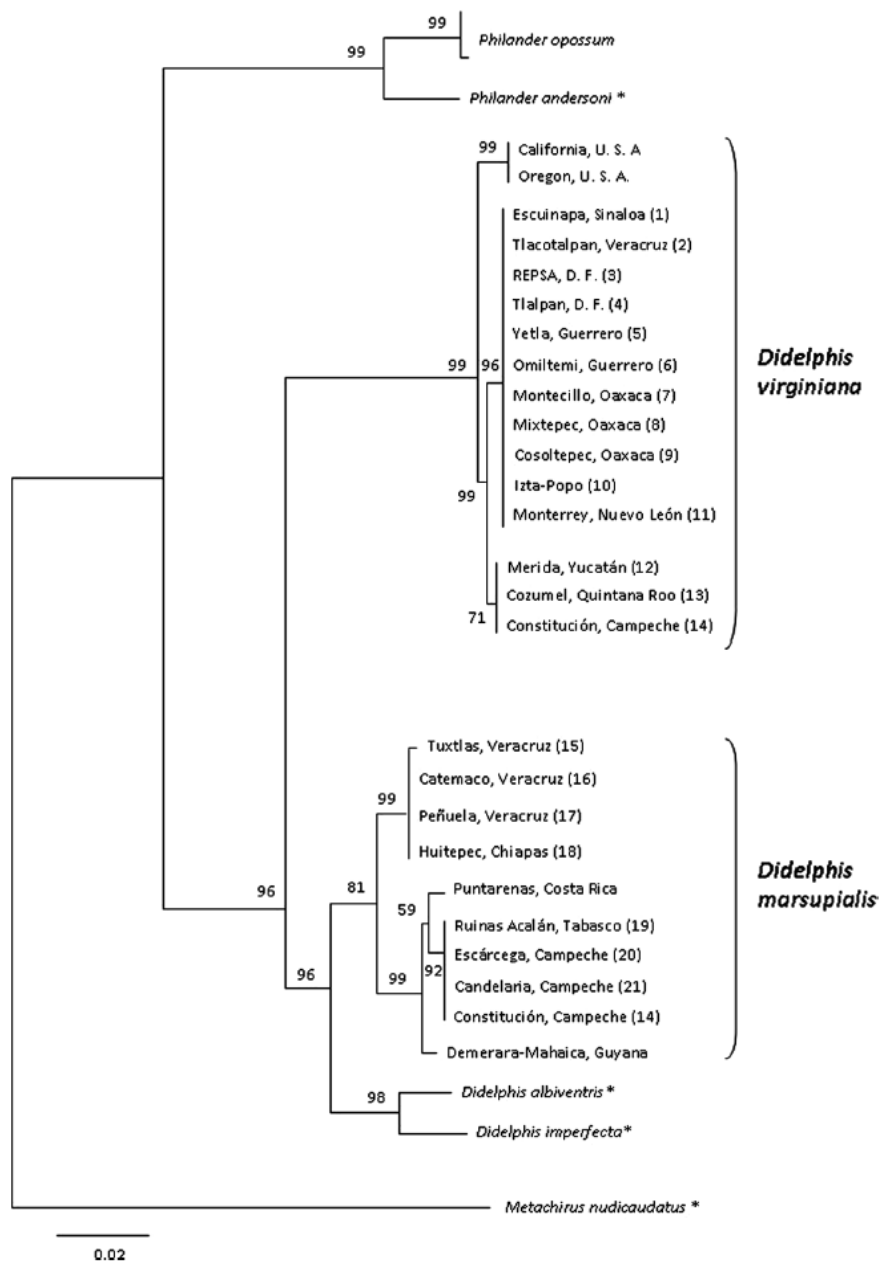


Figura 10. Ejemplo de los resultados obtenidos por uno de los tesis de Maestría que colaboran en el proyecto de Código de Barras. El árbol de neighbor-joining separa a dos especies de tlacuaches en diferentes clados lo que ayuda a la identificación de estos tlacuaches ya que es difícil distinguirlos utilizando caracteres morfológicos.

Referencias bibliográficas

- Borisenko, A. V., B. K. Lim, N. V. Ivanova, R. H. Hanner y P. D. N. Hebert. 2008. DNA barcoding in surveys of small mammal communities: a field study in Suriname. *Molecular Ecology Resources*, 8:471-479.
- Ceballos, J. y J. Arroyo-Cabrales. 2012. Lista actualizada de los mamíferos de México 2012. *Revista Mexicana de Mastozoología Nueva Época* 2(2):29-80.
- Cervantes, F. A., J. Arcangeli, Y. Hortelano-Moncada y A. J. Borisenko. 2010. DNA barcodes effectively identify the morphologically similar Common Opossum (*Didelphis marsupialis*) and Virginia Opossum (*Didelphis virginiana*) from areas of sympatry in Mexico. *Mitochondrial DNA*, 21 Suppl 1:44-50.
- Clare, E. L., B. K. Lim, M. D. Engstrom, J. L. Eger y P. D. N. Hebert. 2007. DNA barcoding of neotropical bats: species identification and discovery within Guyana. *Molecular Ecology Notes*, 7:184-190.
- Deck J., J. Gross, S. Stones-Havas, N. Davies, R. Shapley y C. Meyer. 2012. Field information management systems for DNA barcoding. Chapter 12. Pp. 256-267 in *DNA barcodes. Methods and protocols* (W. J. Kress y D. L. Erickson, eds.). National Museum of Natural History, Smithsonian Institution, Washington, D. C. 470 pp.
- Erickson, D. L. y W. J. Kress. 2012. Future directions. Chapter 23. Pp. 459-465 in *DNA barcodes. Methods and protocols* (W. J. Kress y D. L. Erickson, eds.). National Museum of Natural History, Smithsonian Institution, Washington, D. C. 470 pp.
- Fleming, M. A. and J. A. Cook. 2002. Phylogeography of endemic ermine (*Mustela erminea*) in southeast Alaska. *Molecular Ecology*, 11:795-808.
- Gannon, W. L., R. S. Sikes, and the Animal Care and Use Committee of the American Society of Mammalogists Guidelines of the American Society of Mammalogists for the Use of Wild Mammals in Research. 2007. *Journal of Mammalogy*, 88(3):809–823.
- Hall, T. A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium, Series*, 41: 95-98.

- Hebert, P. D. N., E. H. Penton, J. M. Burns, D. H. Janzen y W. Halluachs. 2004. Ten species in one: DNA barcoding reveals cryptic species in the neotropical skipper butterfly *Astraptes fulgerator*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States, 101 (41):14812-14817.
- IBOL. 2009. International Bar Code Of Life web site. Downloaded on 5 January. <http://www.ibolproject.org/home.html>.
- Ivanova, N. V. y C. Grainger. 2009. Protocols for amplification. Canadian Centre for DNA Barcoding. www.dnabarcoding.ca. Consultado: 3 de agosto de 2009.
- Ivanova, N. V., T. S. Zemlak, R. H. Hanner y P. D. N. Hebert. 2007. Universal primer cocktail for fish DNA bar coding. Molecular Ecology Notes, 7:544-548.
- Ivanova, N. V., E. L. Clare y A. L. Borisenko. 2012. DNA barcoding in mammals. Chapter 8. Pp. 153-182 in DNA barcodes. Methods and protocolos (W. J. Kress y D. L. Erickson, eds.). National Museum of Natural History, Smithsonian Institution, Washington, D. C. 470 pp.
- Knebelsberger, T. y I. Stöger. 2012. DNA barcoding in mammals. Chapter 14. Pp. 311-338 in DNA barcodes. Methods and protocolos (W. J. Kress y D. L. Erickson, eds.). National Museum of Natural History, Smithsonian Institution, Washington, D. C. 470 pp.
- Kress, W.J. y D. L. Erickson. 2012. DNA barcodes: methods and protocolos. Chapter 1. Pp. 3-8 in DNA barcodes. Methods and protocolos (W. J. Kress y D. L. Erickson, eds.). National Museum of Natural History, Smithsonian Institution, Washington, D. C. 470 pp.
- Parker, M., S. Stones-Havas, C. Starger y C. Meyer. 2012. Laboratory information management systems for DNA barcoding. Chapter 13. Pp. 269-310 in DNA barcodes. Methods and protocolos (W. J. Kress y D. L. Erickson, eds.). National Museum of Natural History, Smithsonian Institution, Washington, D. C. 470 pp.

- Ramírez-Pulido, J., J. Arroyo-Cabrales y A. Castro-Campillo. 2005. Estado actual y relación nomenclatural de los mamíferos terrestres de México. *Acta Zoológica Mexicana*, 21(1):21-82.
- Spouge, J. L. y L. Mariño-Ramírez. 2012. Chapter 17. Pp. 365-377 in *DNA barcodes. Methods and protocolos* (W. J. Kress y D. L. Erickson, eds.). National Museum of Natural History, Smithsonian Institution, Washington, D. C. 470 pp.
- Weigt, L. A, A. C. Driskell, A. Ormos, C. Meyer y C. Collins. 2012. Introduction to animal DNA barcoding protocols. Chapter 2. Pp. 11-16 in *DNA barcodes. Methods and protocolos* (W. J. Kress y D. L. Erickson, eds.). National Museum of Natural History, Smithsonian Institution, Washington, D. C. 470 pp.

Apéndice 1. Especies y ejemplares de los mamíferos cuyas secuencias del gen Citocromo Oxidasa Subunidad 1 (COI) fueron generadas a partir de ejemplares depositados en la Colección Nacional de Mamíferos del Instituto de Biología UNAM. a= Taxa originalmente propuestos en el proyecto, b= Nuevos taxa incluidos. c= Número de ejemplares propuestos, d = Número de ejemplares secuenciados, e = Número de ejemplares que presentaron problemas para su extracción de ADN (* = se obtuvo su secuencia, pero no es confiable por probable contaminación de la muestra). Las especies marcadas en amarillo, fueron especies propuestas en el proyecto pero que no se sometió a ningún análisis

ORDEN	FAMILIA	GÉNERO	EJEMPLARES		
			c	d	e
DIDELPHIMORPHIA					
	DIDELPHIDAE				
		<i>Marmosa mexicana</i> ^a	6	6	
		<i>Tlacuatzin canescens</i> ^a	5	4	1
		<i>Philander opossum</i> ^a	4	4	
		<i>Didelphis marsupialis</i> ^a	12	12	
		<i>Didelphis virginiana</i> ^a	30	29	1
LAGOMORPHA					
	LEPORIDAE				
		<i>Romerolagus diazi</i> ^a	4	3	1
		<i>Lepus alleni</i>	1	1	
		<i>Lepus californicus</i> ^a	5	5	
		<i>Lepus callotis</i> ^a	3	3	
		<i>Lepus flavigularis</i> ^a	3	3	
		<i>Lepus insularis</i> ^a	3	3	
		<i>Sylvilagus audubonii</i> ^a	4	4	
		<i>Sylvilagus cunicularius</i> ^a	5	2	3
		<i>Sylvilagus floridanus</i> ^a	11	10	1
		<i>Sylvilagus mansuetus</i> ^a	4	3	1

RODENTIA					
	MURIDAE				
		<i>Baiomys musculus</i> ^b	2	1	1
		<i>Tylomys nudicaudus</i> ^b	1		1
		<i>Nelsonia neotomodori</i> ^b	1	1	
		<i>Neotoma lepida</i> ^b	5	2	3
		<i>Neotoma mexicana</i> ^b	1		1
		<i>Xenomys nelsoni</i> ^p	5	5	
		<i>Hodomys allenii</i> ^p	4	4	
		<i>Peromyscus aztecus</i> ^b	5	5	
		<i>Peromyscus gratus</i> ^b	5	4	1
		<i>Peromyscus eremicus</i> ^b	1		1
		<i>Peromyscus levipes</i> ^b	1	1	
		<i>Peromyscus melanophrys</i> ^b	3	2	1
		<i>Peromyscus mexicanus</i> ^a			
		<i>Peromyscus spicilegus</i> ^a			
		<i>Reithrodontomys chrysopsis</i>	2	2	
		<i>Reithrodontomys fulvescens</i> ^b	2	1(585)	1
		<i>Reithrodontomys mexicanus</i> ^b	1	1(594)	
		<i>Reithrodontomys sumichrasti</i> ^p	5	5	
		<i>Osgoodomys banderanus</i> ^b	5	5	
		<i>Oligoryzomys fulvescens</i> ^a			
		<i>Oryzomys alfaroi</i> ^p			
		<i>Rheomys mexicanus</i> ^a	1	1	
		<i>Myodes (Clethrionomys) rutilus</i> ^a	1		1*
		<i>Microtus mexicanus</i> ^a	32	30	2

		<i>Microtus oaxacensis</i> ^a	9	7	2*
		<i>Microtus ochrogaster</i> ^a	1		1
		<i>Microtus quasiater</i> ^a	7	4	3
		<i>Microtus umbrosus</i> ^a	4	4	
	GEOMYIDAE ²				
		<i>Cratogeomys zinseri</i> ^b	2	2	
	HETEROMYIDAE				
		<i>Liomys irroratus</i> ^a			
		<i>Liomys pictus</i> ^a			
		<i>Heteromys desmarestianus</i> ^a			
		<i>Dipodomys merriami</i> ^a			
		<i>Dipodomys ordii</i> ^a			
		<i>Dipodomys phillipsii</i> ^a			
CARNIVORA					
	FELIDAE				
		<i>Lynx rufus</i> ^a	2	2	
		<i>Puma concolor</i> ^a	1	1	
		<i>Puma yagouaroundi</i> ^a	2	2	
		<i>Leopardus pardalis</i> ^a	3	3	
		<i>Leopardus wiedii</i> ^a			
		<i>Panthera onca</i> ^a	1		1
		<i>Felis catus</i> ^a	2	2	
	CANIDAE				
		<i>Vulpes macrotis</i> ^a	1		1
		<i>Canis lupus</i> ^a	2	1	1
	URSIDAE				
		<i>Ursus americanus</i> ^a	2	2	
	MUSTELIDAE				
		<i>Mustela frenata</i>	3	3	
		<i>Mustela vison</i>	2	2	

		<i>Taxidea taxus</i> ^a	1	1	
	MEPHITIDAE ²				
		<i>Mephitis macroura</i> ^b	1		1
		<i>Spilogale gracilis</i>	3	3	
		<i>Spilogale putorius</i> ^b	4	4	
		<i>Conepatus leuconotus</i> ^b	5	5	
		<i>Conepatus semistriatus</i> ^b	1	1	
	PROCYONIDAE ^b				
		<i>Bassariscus astutus</i> ^b	6	5	1
		<i>Procyon lotor</i> ^b	1	1	
SORICOMORPHA					
	SORICIDAE				
		<i>Cryptotis alticola</i> ^a	5	4	1
		<i>Cryptotis goldmani</i> ^a	5	5	
		<i>Cryptotis goodwini</i> ^a	1	1	
		<i>Cryptotis griseoventris</i> ^b	1		1
		<i>Cryptotis magna</i> ^b	3	3	
		<i>Cryptotis mayensis</i> ^a	5	4	1
		<i>Cryptotis mexicana</i> ^a	5	5	
		<i>Cryptotis nelsoni</i> ^a	5	5	
		<i>Cryptotis obscura</i> ^a	5	4	1
		<i>Cryptotis parva</i> ^a	7	5	2*
		<i>Cryptotis peregrina</i> ^b	5	5	
		<i>Cryptotis phillipsi</i> ^a	5	5	
		<i>Notiosorex crawfordi</i> ^b	3	3	
		<i>Megasorex gigas</i> ^a	9	9	
		<i>Sorex oreopolus</i> ^b	3		3*
		<i>Sorex saussurei</i> ^a	9	7	2
		<i>Sorex veraecrucis</i> ^b	5	4	1
		<i>Sorex veraepacis</i> ^a	3	3	

CHIROPTERA					
	PHYLLOSTOMIDAE				
		<i>Carollia sowell</i> ^a	3		3
		<i>Sturnira lilium</i> ^a	1	1	
		<i>Artibeus jamaicensis</i> ^a			
	VESPERTILIONIDAE ^b				
		<i>Myotis occultus</i> ^b	5	5	