

UNA NUEVA ESPECIE DE *Cuniculus* (Rodentia:Cuniculidae) DE LA CORDILLERA CENTRAL DE COLOMBIA

A NEW SPECIES OF *Cuniculus* (Rodentia: Cuniculidae)
CENTRAL MOUNTAINS OF COLOMBIA

José J. Castro^{1*}, Juan Bautista López², Francisco Becerra³

^{1,3} Docente Universidad Distrital Francisco José de Caldas. jjcastro@udistrital.edu.co

² Docente Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín

Recibido: Septiembre 21 de 2009

Aceptado: Marzo 29 de 2010

*Correspondencia del autor: Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín. jjcastro@udistrital.edu.co

RESUMEN

La paca de montaña, es un roedor de color negro con líneas laterales blancas punteadas y su vientre es marfil; Este caviomorfo presenta hábitos solitarios, nocturnos y fosoriales; habita los Altos Andes de Colombia, Venezuela, Ecuador, Perú y Bolivia. La paca de montaña está amenazada por la caza indiscriminada y la destrucción de su hábitat. Dada su importancia hemos estudiado la conducta y la reproducción en cautiverio para contribuir a la conservación de la especie. Para conocer más sobre la biología de la especie se realizó un estudio Cariológico donde se compararon los cariotipos de la población de la cordillera Oriental con la de la cordillera central y se observó que los ejemplares de la cordillera oriental tenían un número $2N = 78$ mientras que los de la Cordillera Central mostraron un número $2N = 72$. Estos hallazgos sugirieron realizar otros estudios comparativos como el del ADN mitocondrial, la morfometría del cráneo y un análisis filogeográfico. Para la morfometría se tuvieron en cuenta 27 caracteres craneales pero solo tres mostraron diferencias significativas; para la comparación molecular se seleccionaron tres genes, Cit b, RPB Y NADH5 y empleando las técnicas de máxima parsimonia, máxima verosimilitud y análisis Bayesiano se encontró que las distancias fluctuaron entre 65 y 85%. Finalmente se puede ver que hay una gran barrera geográfica que impide el flujo de genes entre las dos poblaciones constituyéndose en especies diferentes. La población de la cordillera central ha sido nominada *Cuniculus hernandezii* en honor al Dr. Jorge Hernández Camacho.

Palabras Claves: Paca de Montaña, cariotipo, ADN mitocondrial, Morfometría, Filogeografía.

ABSTRACT

The mountain paca *Cuniculus taczanowskii* inhabits the central and oriental mountain range of Colombia, and high Andes of Venezuela, Ecuador, Perú and Bolivia. A karyotype sampling among several populations of mountain paca from Colombia revealed considerable differences in number and morphology of chromosomes which led us to carry out further comparative studies to understand the taxonomic relationships of such populations.; so far two species of rodents are included in the genus *Cuniculus*, the low land paca *Cuniculus paca* and the mountain paca *Cuniculus taczanowskii*; these species differ from each other in number of chromosomes, range, size and fur color. Despite their range all populations of mountain paca have been treated as a single species.

Besides the comparative study of chromosomes which was performed by the G, R and C banding and which assigned 78 chromosomes to the oriental mountain population and 72 for the central mountain population, a mtDNA comparison was made by selecting three genes, Cyt B, RPB and NADH using the neighbor joining (NJ) maximum parsimony (MP) and maximum likelihood (ML) technique; as a result distances of the genes between the two populations ranged from 65% to 85%. Skull morphometry was included but only three bones

showed significant differences which ranged from 36.6% to 74% out of 27 selected characters; and finally the distribution ranges analysis showed that they live too far apart and therefore gene flow is not possible fostering allopatric speciation. Taking into account the above considerations we feel that the members of the studied populations belong to different species. We have left *Cuniculus taczanowskii* as the nominated species from the eastern range and we agreed to name the new one as *Cuniculus hernandezii* to honor the memory of the late scientist Jorge Hernandez.

Key Words: Mountain paca, Cytogenetics, Karyotipe , Mt. DNA, Morphometry, Phylogeography.

INTRODUCCIÓN

El tinajo, borugo, guagua negra o paca de montaña es uno de los roedores mas grandes de los Altos Andes; tiene aspecto de curí *Cavia porcellus*; su color varia del negro al café, con frecuencia se presentan formas rojizas y ocasionalmente se dan formas albinas; se destacan lateralmente varias líneas punteadas y su vientre es marfil. Sus orejas son anchas pero cortas con bordes ondulados, el hocico es ligeramente achatado y su cola es vestigial . Su peso promedio es de 5 kg; (Figura 1). El dimorfismo sexual no es muy notable y aunque los machos tienen muy prominente los huesos cuadrato-yugales lo cual les confiere mayor volumen a la cabeza esta característica no es confiable pues algunas hembras presentan la cabeza relativamente grande. La genitalia de los machos no es visible externamente y tanto hembras como machos presentan una papila genital que remata en un mechón de pelos y que se ha denominado brocha genital; Por lo cual la forma mas segura de determinar el sexo es mediante la palpación de los genitales Castro (1).

La paca de montaña habita los páramos y subpáramos de Colombia, Venezuela, Ecuador, Perú Borrero (2) y recientemente se ha reportado en Bolivia Wallace et al (3); Su distribución vertical va de los 2500 hasta los 4500 .m..s.n.m.Osbhar (4). Este roedor es nocturno, solitario y fosorial ; la guagua negra es estrictamente vegetariana y en el medio silvestre las plantas de mayor consumo son el frailejón, *Espeletia grandiflora*, el cardón *Puya sp.*, el helecho arborecente *Ciatea sp.*, hierba colorada *Poligonium sp.*, tubérculos de orquídeas y brotes de chusque *Chasquea sp.*

La guagua negra es una especie que se considera amenazada debido por una parte a la exquisitez de su carne por lo cual se le caza incansablemente sin respetar periodos de veda ni edad de de los animales; de otro lado la contaminación y la destrucción de su ultimo refugio, Los Páramos , los cuales son quemados en la estación seca para convertirlos en tierras de pastoreo o de labranza reduciendo y eliminando los corredores ecológicos propiciando la fragmentacion del habitat lo cual impide el flujo de genes dando lugar a una endogamia que podría afectar el futuro de la especie. La rápida expan-



Figura 1. Características externas y comparación morfológica de las poblaciones de Cundinamarca y Antioquia .

sión de las urbanizaciones y la creciente demanda de tierras para la agricultura y la ganadería han eliminado al borugo de la parte baja de su rango de distribución Castro (5). La cría en cautiverio como una contribución al conocimiento y conservación de la especie ha develado algunos aspectos fisiológicos notables como la alta resistencia a las infecciones en las heridas que se causan mutuamente, la gran capacidad de regeneración de los tejidos lesionados y la rápida cicatrización hacen pensar que este roedor además de ser una especie de gran valor gastronómico también podría llegar a ser muy valioso como un biomodelo para estudios de laboratorio. El número de cromosomas es $2N=78$ para la población de la cordillera oriental, (páramo de Chingaza, páramo de Guasca y Sumapaz). Los ejemplares de la cordillera Central presentaron un número $2N=72$ López y Ramírez (2000) y Gardener (1971) reportó un número $2N=42$ para esta especie en el Perú. Estas discrepancias condujeron a realizar estudios comparativos más avanzados que pudieran esclarecer el estatus taxonómico de estas poblaciones para corroborar la posible existencia de un complejo de especies gemelas.

La especie fue descrita por Stolzman en 1885. Honacki, Kinman y Koepel reportan en su libro MAMMALS OF THE WORLD en 1982 la siguiente información ISIS NUMBER 5301410022002001001 registrado como *Stictomys taczanowskii* con una distribución en las montañas de Ecuador, Colombia, Noreste de Venezuela y Perú. Cabrera (1961) coloca esta especie en el género *Stictomys* pero Handley y Gardner (1971) lo ubican en el género *Agouti*; este último autor afirma que existen tres subespecies. Mares y Ojeda (1981) citados por Negret (1984) colocan a la paca y al borugo en la familia Agoutidae y reconoce a *Agouti taczanowskii* como el nombre oficial; la paca y el tinajo estaban ubicados en la familia Dasyproctidae junto con los ñeques o guatines *Dasyprocta sp.* En una opinión reciente publicada por la Comisión Internacional de Nomenclatura Zoológica (ICZN, 1998) se considera que *Cuniculus* Brisson (1762) es el nombre genérico válido más viejo y por lo tanto debe reemplazar al nombre *Agouti* Lacepede (1799).

MATERIALES Y MÉTODOS

Citogenética.

El estudio citogenético se realizó sobre cromosomas metafísicos obtenidos a partir de cultivos de linfocitos de sangre periférica, según la técnica de hungerford

(1960) modificada para estos ejemplares, se utilizó el medio de cultivo RPMI 1640 con suero bovino fetal al 20%, adicionado con favina como mitógeno. Los cultivos se incubaron a 36.5 grados centígrados durante 64 y 68 horas y fueron cosechados previa adición de colchicina. Los cromosomas fueron estudiados siguiendo la técnica de bandas sobre metafases previamente identificadas con bandas Q, secuenciadas en pares así: (Q-R), (Q-G) y (Q-C); también se aplicaron las técnicas R, G y C sin identificación previa. Se siguieron las técnicas con algunos ajustes para los cromosomas de estos animales así: QFQ (Caspersonet al.1970), GTG, (Seabright 1971), GII (Wyandt et al 1976), RBHG (Goto et al. 1975, Camargo y Cervencia 1982) y CBG (Arrigí & Hsu 1971, Summer 1972).

Los cariotipos se organizaron tomando en consideración: 1 La morfología según la posición del centrómero; 2 la naturaleza heterocromática de los brazos de acuerdo con sus respuesta a las bandas C; 3 el tamaño relativo; 4 el patrón de bandas. Combinando los dos primeros criterios, los cromosomas se clasificaron en dos grupos y en cada grupo se siguió un orden decreciente de tamaño y patrón de bandas cuando aquel fue similar.

Comparación Molecular

La comparación molecular se realizó a partir de muestras de sangre periférica, en los zocriaderos de la Caledonia y la Universidad Nacional en Medellín. En pieles de colección se obtuvieron muestras de los museos Instituto de Ciencias Naturales U.N, Museo de Historia la extracción del ADN mitocondrial se llevó a cabo con la técnica de sales. Posterior a la extracción se realizó una amplificación de los genes *Cyt b*, *RPB* y *NADH5* luego de verificada la amplificación en geles de agarosa al 5% se realizó una amplificación de 800 pb para cada gen. Los análisis filogenéticos se iniciaron con los alineamientos de las secuencias, se eliminaron las secuencias de los iniciadores y se formaron 2 juegos de datos para cada gen. Se realizó un análisis de la tasa de divergencia de transiciones y transversiones, para cada posición del codón, en los segmentos de los genes, para estimar la divergencia de sustitución de nucleótidos se asignó un modelo matemático de evolución molecular, seleccionando el criterio de máxima verosimilitud y su respectivo Chi cuadrado con grados de libertad proporcionales a los parámetros de cada modelo evaluado. El modelo evolutivo más apropiado se halló empleando el programa Mr Modeltest versión 2.2. Para posteriormente ejecutarse en el programa

PAUP 4.0b10.

Para el análisis filogenético de los set de datos de los segmentos de los genes se tuvo en cuenta la inferencia usando máxima parsimonia (MP), máxima verosimilitud (ML) y análisis Bayesiano. Para MP y ML se utilizo PAUP 4.0b10 y para el análisis Bayesiano el portal de Bioinformática Cipres <http://www.phylo.org>. En los 3 tipos de análisis se utilizó el programa Modeltest 3.05 con el fin de escoger el mejor modelo evolutivo de cada set de datos.

El análisis de MP se basó en búsqueda heurística (1000 replicas) de árboles con bisección-reconexión de ramas al azar (TBR) y optimización de la aceleración de transformación de los caracteres (ACCTRAN). El soporte interno de los nodos se realizó con análisis no paramétricos de bootstrap con 1000 réplicas. Para una mejor resolución de la topología del árbol se utilizo el índice de retención y el índice de consistencia IC/IR.

El método Bayesiano de probabilidad posterior usando las Cadenas de Markov Monte Carlo MCMC utilizó los siguientes parámetros: (Nst = 6, tasa de distribución gamma, número de Generaciones 50.000, frecuencia de reemplazo de 5000, cadenas de reemplazo generadas cada 4 análisis.). Con este método se obtuvieron 10000 árboles y con éstos se obtuvo uno que representó el mejor consenso y ajuste de los datos así como la recuperación de nodos.

Las topologías finales de todos los análisis utilizados fueron visualizadas utilizando el programa TreeView versión 1.6.6 y editadas finalmente en la Suite para filogenia Mesquite: A modular system for evolutionary analysis, version 2.5

Morfometría

Para hacer la comparación morfométrica se tomaron los caracteres convencionales: longitud total del cuerpo, dimensiones de las orejas, los miembros posteriores, longitud de la cola y el peso. La comparación craneana se baso en las dimensiones de 27 Caracteres craneales considerados como puntos importantes para este propósito. Las medidas fueron tomadas en mm. utilizando un calibrador digital. Los análisis estadísticos se llevaron a cabo utilizando el software SPSS 15

Filogeografía

Se realizó mediante la comparación se las distancias

genéticas con la ubicación geográfica de los especímenes e interpretando el significado evolutivo de esta relación. Se calculó la diversidad y varianza según el estimador no sesgado dado por NEI 1987 $D = n(1 - \sum \pi_i^2) / (n-1)$. Donde n es el tamaño de la muestra y π_i es la frecuencia en la que se presenta cada haplogrupo dentro de cada población. Se usó el software ARLEQUIN 3.1 Excoffier et al, 2005.

El índice de estructura genética GST se calculó y es un indicador de la diversidad distribuida en la población. Los valores oscilan entre cero, si no hay divergencia genética entre dos poblaciones y uno, cuando se ha perdido o fijado un alelo para determinar el locus. Este estimador es importante debido a que la deriva genética es el principal factor en la diferenciación genética entre poblaciones muy relacionadas.

Test matel

Se estimaron los FST para cada par de muestras. Como el FST está estrechamente relacionado con la distancia genética se comparó con otras variables como las matrices de distancias geográficas calculándose así la existencia de correlación entre ambas. Esta prueba se aplica al azar porque las distancias genéticas calculadas para cada par de subpoblación son independientes entre sí. Para estimar el nivel de significación el de Matel se realizaron 100 000 permutaciones

RESULTADOS

Citogenética

Los especímenes de la cordillera Oriental estudiados presentaron un numero diploide de de 78 cromosomas mientras que los de la cordillera Central presentaron un numero diploide de 72. (Figura 2).

Los cariotipos se organizaron separando los cromosomas en dos grupos:

Grupo 1. Metacéntricos y submetacéntricos, sin brazos totalmente heterocromaticos, Constituidos por dos pares de autosomas y el par de cromosomas sexuales. El cromosoma X Es metacéntrico y el cromosoma Y es submetacentrico.

Grupo 2: Acrocéntricos, telocéntricos y otros con el brazo corto totalmente heterocromático formado por 36 pares de cromosomas, incluidos uno o dos pares hetero-

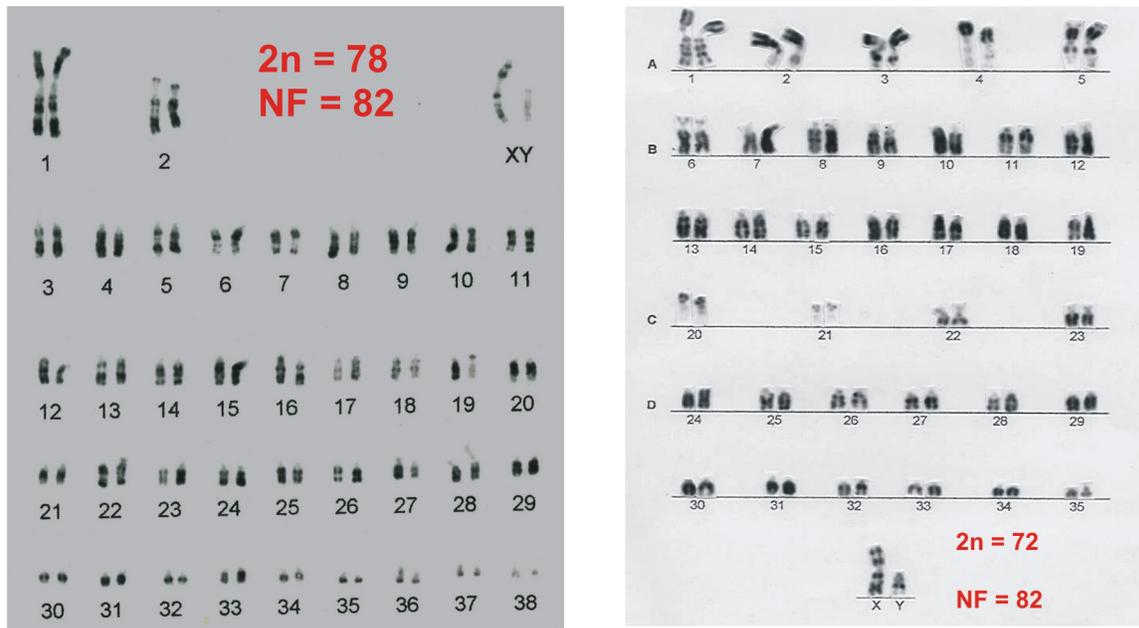


Figura 2. A cariotipo Individuo Cordillera Oriental numero diploide de de 78 cromosomas. B Cordillera Central numero diploide de 72.

morfitos en el cual uno de los homólogos es metacéntrico, con uno de sus brazos totalmente heterocromático.

Bandas G. En términos generales las bandas GTG revelaron un patrón correspondiente al patrón de bandas (QFQ) e inverso al patrón de bandas R, como es lo usual: esta técnica permite la identificación de la mayoría de los cromosomas, pero se observan varios pares muy similares. Los especímenes de la cordillera Central presentaron un número diploide de 72 cromosomas donde 10 pares autosómicos tienen más heterocromatina constitutiva que los de la cordillera oriental.

Comparación Molecular

Se obtuvieron 30 secuencias, en promedio de 760pb en DNAmT para cada uno de los genes de estudio. La gran homología observada entre los alineamientos del segmento de los genes en estudio del genoma mitocondrial de las (Figura 3) confirman que este genoma es un excelente marcador molecular para estudios evolutivos al ser muy estable por ser heredado por vía materna y no presentar procesos de recombinación (Shields & Wilson 1987), indicando que las sustituciones y las deleciones puntuales observadas en estos alineamientos son verdaderos cambios evolutivos que presentan las especies en estudio, específicamente en el gen Citb, en los genes RPB y NADH se encontraron amplias diferencias entre

los alineamientos de las muestra trabajadas y los previamente reportados para otras especies. Para los resultados de saturación de nucleótidos y frecuencia de cambios y distancias Se realizaron regresiones lineales con distancias no corregidas (p) (La distancias p se obtiene dividiendo el numero de diferencias en el total de sitios comparados) vs. Distancias corregidas según el modelo de Tamura-Nei (1993), con el objetivo de ver el grado de saturación para cada sustitución y posición del codón de los dos segmentos de los genes estudiados.

El modelo evolutivo de Tamura-Nei (1993) asume frecuencias nucleotídicas diferentes a 0.25%, e integra el contenido de más citocinas, así, como la discriminación entre las tasas de transiciones de purinas y pirimidinas, ofreciendo un mejor análisis de saturación de cada una de las posiciones de los codones frente a otros modelos evolutivos.

La saturación de nucleótidos se evalúa por múltiple hits en donde en una misma posición es posible que haya ocurrido más de una sustitución; En este caso las terceras posiciones del codón presentan dicho cambio frecuentemente (ver Figuras 4); siendo esto normal, al ser una posición variable para cada uno de los codones El árbol de Máxima Parsimonia para la matriz general de análisis con genes combinados arroja un árbol parafilético, en el que se observan 3 clados bien definidos,

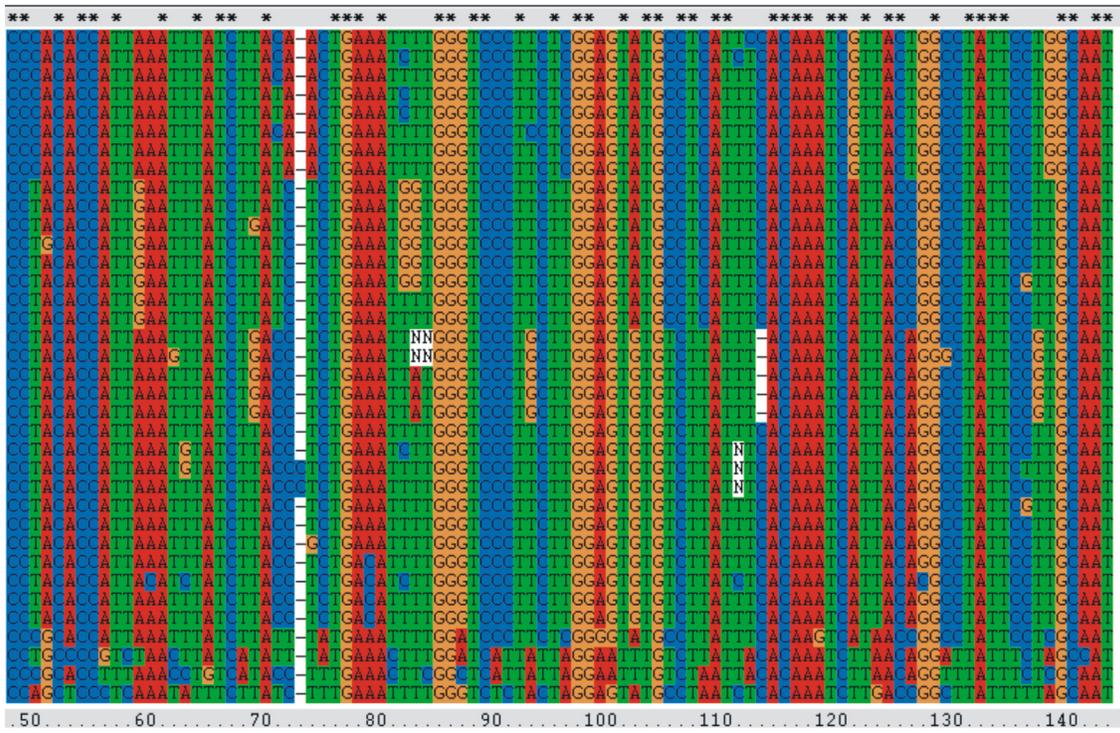


Figura 3. Homología observada para los alineamientos de un segmento del gen Citb.

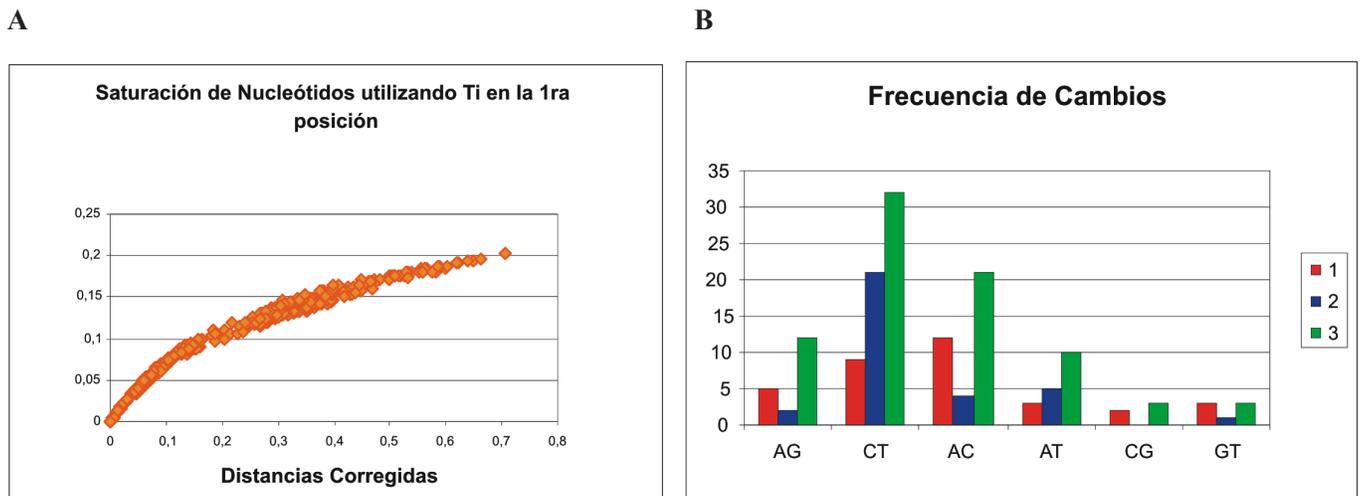


Figura 4. **A** saturación de nucleótidos, para la primera posición del codón. **B** frecuencia de cambios en cada una de las posiciones del codón bien sean del tipo transición o transversions.

con soporte del 100% para cada uno de estos.

En este árbol se separan con un soporte del 78 % las poblaciones de la región oriental que corresponden a la región cundiboyacense y las poblaciones de la región central que corresponde a los municipios de los departamentos de Antioquia y Tolima

El clado 1, Es el clado más ancestral y hace referencia

a los grupos externos del análisis compuesto por tres ejemplares *Agouti paca* y *Dinomys branickii* ejemplares con procedencia de Medellín

El clado 2, esta formado por siete muestras que se agrupan en dos subclados monofiléticos; el primer subclados con tres muestras de la Calera de y el segundo con dos ejemplares de Boyacá y municipio de Cundinamarca (Chingaza y Tena).

Este clado tiene una relación parafilética con el clado 3 que se describe a continuación.

El clado 3, Está compuesto por 7 especímenes de Antioquia más dos especímenes del Tolima. En este clado se observan pequeños clados monofiléticos, que se relacionan entre sí, a partir de la formación de clados monofiléticos superiores o parafiléticos bien soportados. (Figura 5).

Morfometría

La comparación morfológica y morfométrica entre los cráneos de la cordillera central y oriental revela una diferencia significativa a simple vista en lo que se refiere al tamaño del hueso interparietal. (Figura 6)

Filogeografía

“A medida que van penetrando en el país, los Andes se

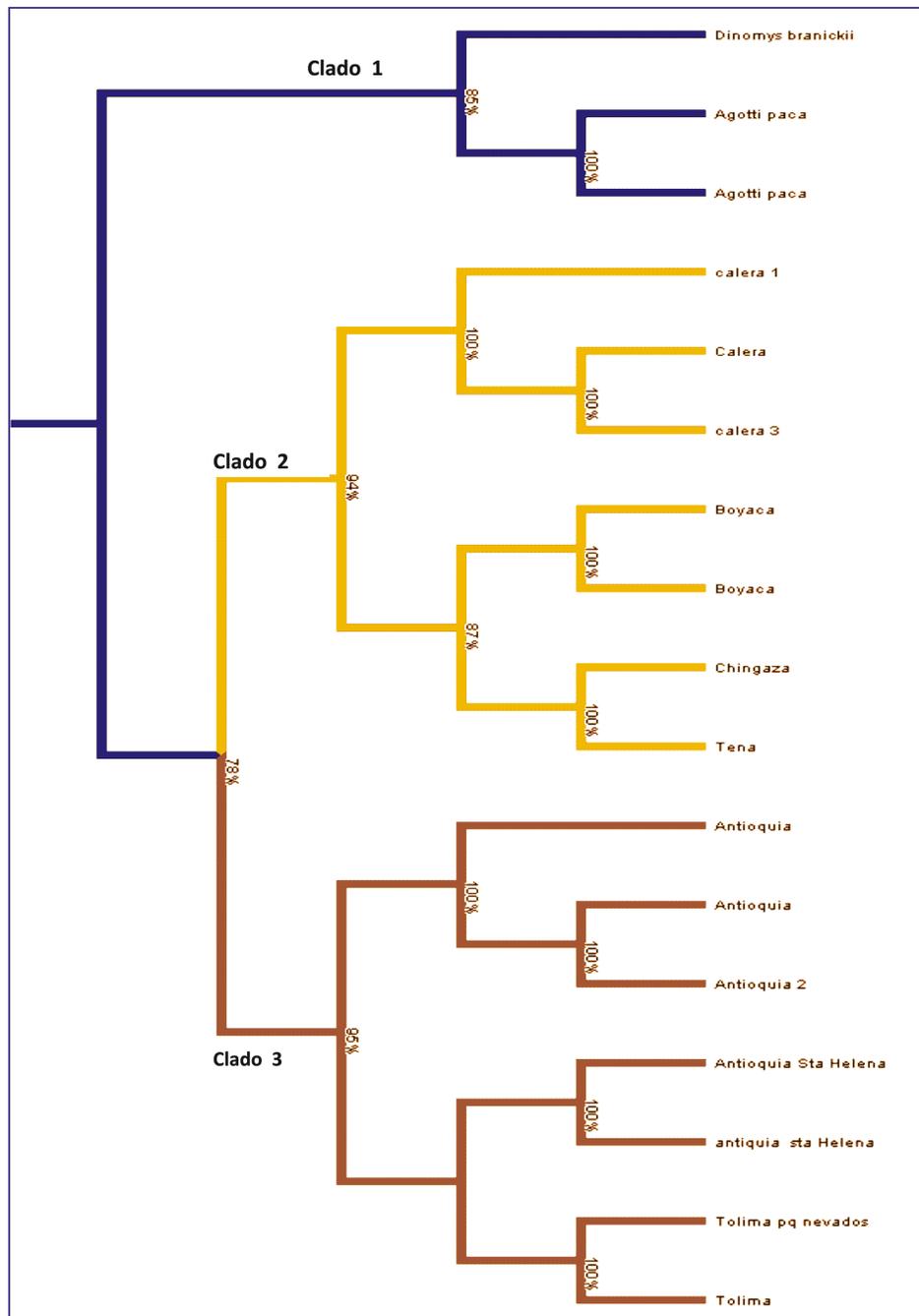


Figura 5. Árbol de máxima parsimonia

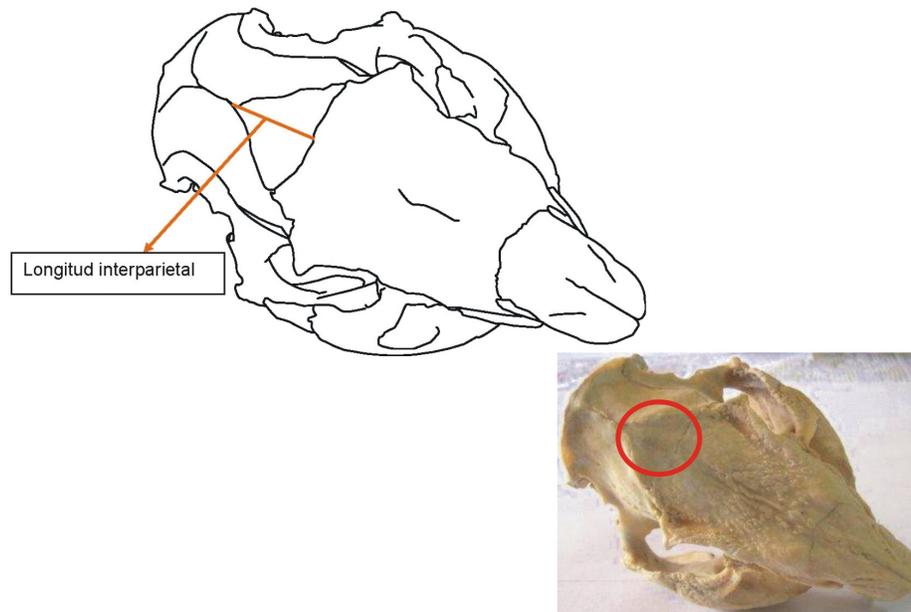


Figura 6. Comparación morfometría craneal. Medida Longitud Interparietal

dividen en tres ramales bien diferenciados: las cordilleras Occidental y Central, ambas de origen metamórfico y formadas por rocas graníticas y la cordillera Oriental constituida fundamentalmente por rocas y sedimentos cretáceo-terciarios” La ubicación de las dos cordilleras en cuestión forma dos regiones separadas por una gran distancia ocupada por el valle del río Magdalena sin ningún corredor Ecológico, escasa altitud sobre el nivel mar y temperaturas hasta de 38 C.

Teniendo en cuenta los procesos geológicos y la distribución geográfica con distancias representativas en cada población en estudio se obtuvieron los siguientes haplotipos y medidas de diversidad génica. Tabla 1.

Tabla 1. Haplotipos y medidas de diversidad genética.

Población	Nº	A	B	C	D	E	F
Antioquia	25	0.4	0.4	78.4	0,0	77.2	0.4
Cundinamarca	25	94,3	0.4	0.2	0,0	0.4	0.6
TOTAL	50	93.2	0.4	78.4	0.0	76.2	0-6

Se obtuvieron 6 haplotipos dos son propios de las poblaciones de Antioquia (C, E) y aparecen en muy baja frecuencia en los Individuos de la población de Cundinamarca, para la población de Cundinamarca el haplotipo A sugiere una alta tasa de fijación de este polimorfismo.

En cuanto a Diversidad génica Obtuvimos para las poblaciones.

De Oriente 0.6 Hs y de Occidente 0.7 Hs HT de = 0.7

Las medidas de diversidad genética se usan para cuantificar la variabilidad genética total (Ht) y la variabilidad genética intrapoblacional (Hs), Los resultados de diversidad genética (h) entre las poblaciones de la cordillera oriental y la cordillera central estudiadas presentan una buena heterogeneidad. Se muestran un valor que en la mayoría de las comunidades supera el 0.4, no se encuentra baja diversidad aunque se presente el aislamiento territorial

Se evidencia de la acción diferencial de deriva genética y flujo genético en poblaciones del Oriente y zona

central occidente.

DISCUSIÓN

Al realizar el análisis comparativo de los cariotipos de las dos poblaciones en cuanto al número cromosómico, número fundamental, estructura y calidad de la cromatina, se pueden ver evidencias citogenéticas muy dicientes que permiten afirmar que a pesar de las semejanzas morfológicas las dos poblaciones están constituidas por especies diferentes.

El solo estudio cariológico sustenta la hipótesis de que los borugos de la cordillera Oriental y los de la cordillera central son especies diferentes; sin embargo para poner a prueba dicha hipótesis se llevó a cabo el estudio comparativo a través del ADN mitocondrial y las diferencias que esta prueba arrojó son altamente significativas y corroboran mas allá de cualquier duda la hipótesis propuesta.

Las mutaciones halladas presentaron un 68% de variabilidad, estas fueron obtenidas a través de substituciones (puntuales: transiciones y transversiones). Dichas mutaciones demuestran la variabilidad entre las poblaciones de las dos localidades de estudio. No obstante al hallar mutaciones, se conserva con una tasa de composición para cada uno de los genes en el DNAm que es muy similar entre individuos analizados y otras especies de las cuales se tiene reportes en el genbank.

Al estimar la tasa de divergencias mediante el uso del modelo de de evolución se confirmó la gran variabilidad genética entre poblaciones distantes (Antioquia y Cundinamarca). Según los resultados, se sugiere que la fragmentación del hábitat ha generado cambios relevantes entre las poblaciones se confirma con el análisis de clados anidados, en el cual las poblaciones no mantienen una constancia en los flujos de eventos de migración.

Esto para las poblaciones estudiadas representa un buen acervo en el piso y flujo genético para cada una de ellas lo cual permite establecer haplogrupos geográficos. Claramente se observa una asociación entre poblaciones distantes geográficamente que comparten haplotipos conservados en diferentes periodos cronológicos.

Si bien la comparación morfométrica no podría catalogarse como determinante se puede afirmar que refuerza

las evidencias anteriores porque el análisis de los componentes principales mostraron una representatividad del 74% de la varianza total de la muestra. Al examinar la medida que representó la varianza máxima encontramos que es la longitud interparietal la cual exhibió un 94%. De acuerdo al análisis estadístico se puede afirmar que hay un distanciamiento evolutivo medianamente marcado entre las dos poblaciones comparadas.

Finalmente al considerar el hábitat de cada población, se puede ver que este representa un factor adicional que aporta mas evidencias para afirmar que las despoblaciones están físicamente distanciadas y separadas por el valle del Río Magdalena cuyas características climáticas (altitud y temperatura) han impedido completamente el flujo genético y han propiciado la evolución independiente de los miembros de las dos poblaciones en cuestión.

CONCLUSIONES

Teniendo en cuenta los resultados de los diferentes estudios comparativos podemos afirmar con un alto grado de confianza que las poblaciones de borugos de la Cordillera Oriental y los de la Cordillera Central pertenecen a especies diferentes; en consecuencia hemos acordado dejar a los tinajos de la Cordillera Oriental como la especie nominada *Cuniculus taczanowskii* y considerar los borugos de la Cordillera Central como la especie nueva. Esta es *Cuniculus hernandezi* sp. Nov. En honor al Dr. Jorge Hernández Camacho eminente científico colombiano recientemente fallecido.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan su agradecimiento a

Centro de Investigaciones y desarrollo Científico Universidad Distrital F.J.C

Consejo Curricular de Biología, Departamento de Biología Universidad Distrital por su interés constante en el proyecto ;así mismo queremos agradecer la cooperación de la Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín, Universidad de Caldas, Museo Historia Natural e Instituto de Ciencias Naturales ICN Universidad Nacional sede Bogota. Finalmente queremos reconocer nuestra gratitud a Yenny Salazar García, auxiliar del Laboratorio de Biología por su ayuda desinteresada en diversas etapas del proyecto.

BIBLIOGRAFÍA

1. Arrighi, F & S.Hsu. 1971. Localization of heterochromatin in human chromatin in human chromosomes. *Cytogenetics* 10: 81-86
2. Borrero J. 1976. Mamíferos neotropicales. Cali. Pp. 66.
3. Caspersson et al. 1970. Differential binding of alkylating fluorochromes in human chromosomes. *Experimental Cell Research* 60: 315-319.
4. Castro, Jose.Joaquin. 1992. Aspectos ecológicos y reproductivos del Tinajo o Guagua Negra *Agouti taczanowskii* (Rodentia: Agoutidae) en cautiverio. *Revista de la Asociación Colombiana de Ciencias Biológicas de Bogotá* pags7-13
5. Castro, Jose.Joaquin. 2003. El tinajo o borugo *Agouti taczanowskii*. Especie altoandina para conservar. Universidad Francisco José de Caldas, Bogotá.
6. Carleton y Musser . 1989. Systematic studies of oryzoimyine rodents (Muridae, Sigmodontitinae) : a synopsis of *Microrhizomys*. *Bulletin of the American Museum of Natural History* Pág. 65
7. Hall R,E y KR Kelson .1959. The mammals of North America. The Ronald Press Company. New York. Vol 1
8. Maddison, W. P. y Maddison D.R. (2008). Mesquite: a modular system for evolutionary analysis. Version 2.5 <http://mesquiteproject.org>
9. Mares, M. A. y Ojeda. R. A. Patterns of diversity and adaptation in south American hystricognath rodents. *Mammalian biology in south America* Vol. 6 Spec.Publ. ser.Pymatuning labor Ecology. Univ. Pittsburg.
10. Musser GG, MD Carleton.1993 Familia Muridae pag 501-755 REIG O A 1977. A proposed unified nomenclature for the enamelled components of the molar teeth of Cricetidae (*Journal of Zoology London* 181 pag 227-241.
11. Negret, R. 1984. Ecología y manejo de fauna silvestre. Edición Departamento Administrativo de intendencias y comisarias. Bogotá, Colombia.
12. Osbarhr K 1996. Contribución al conocimiento de los hábitos alimenticios del tinajo de paramo (*Agouti Taczanowskii*) en vida libre en memorias Seminario Internacional sobre la investigación, conservación y manejo de *Agouti paca* y *Agouti taczanowskii* . Santa Marta. Colombia
13. Posada, D; Crandall, KA (1998) modeltest: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics*, 14, 817-818.
14. Seabright, M. 1971. A rapid banding technique for human chromosomes. *Lancet* 2: 971.
15. Shields, G. F., A. C. Wilson. (1987) Calibration of the mitochondrial DNA evolution in geese. *J. Mol. Evol.* 24:212-217.
16. Summer, A. 1972. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. *Experimental Cell Research* 75: 304-306.
17. Swofford DL. (2002) PAUP*: Phylogenetic Analysis Using Parsimony (*and Other Methods). Version 4.0b10.
18. Thompson JD, Gibson TJ, Plewniak F, Jeanmougin F, Higgins DG. (1997). The CLUSTAL_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools.
19. Wallace Robert B, Ríos -Uzeda Boris, Y Vargas Julieta. 2004. La jayupa de la altura *Cuniculus taczanowskii*, Rodentia, Cuniculidae), un nuevo registro de mamífero para la fauna de Bolivia. *Mastozoología Neotropical J. Neotrop. Mammal.*; 11(1):109-114
20. Wilson E D, Reeder.1993 *Mammal species of the World: a taxonomic and geographic reference* 2 ed, Smithsonian Institution Press Washington D,C Pag73
21. Wyandt, H. D. et al. 1976. Mechanism of Gimsa Banding of Chromosomes I. Gimsa 11 banding with azure and eosin. *Experimental Cell research* 102:85-94.