

Análisis filogenético de las poblaciones colombianas del género *Tamandua* (Pilosa: Myrmecophagidae)

Phylogenetic analysis of colombian populations of the genus *Tamandua* (Pilosa: Myrmecophagidae)

Sara Alzate-Velásquez^{1*} , Juliana Martínez-Garro¹ , Fabián Mejía-Franco¹ 

Resumen

El género *Tamandua* se encuentra conformado por dos especies de hormigueros, ambas con distribución en Colombia. *Tamandua mexicana* se encuentra en el noroccidente del país, y *T. tetradactyla* en el suroriente. Sin embargo, existe una zona de simpatria en el oriente de la Cordillera Central, colindando con la Amazonía y los Llanos Orientales, extendiéndose hacia el norte en la Cordillera Oriental, en donde se han encontrado individuos con fenotipos intermedios, que han sido clasificados como *T. mexicana*, a pesar de no tener el fenotipo completo de esta especie. En este estudio se realizó una caracterización genética de algunos individuos del género *Tamandua*, mediante una reconstrucción filogenética por máxima verosimilitud y un análisis bayesiano, a partir de los marcadores mitocondriales ARN ribosomal 16S (ARNr 16S), Citocromo Oxidasa I (COI), y la Región Hipervariable de la Mitocondria I. Los resultados evidencian una diferenciación genética entre los individuos de *T. mexicana* y *T. tetradactyla*, lo cual soporta la existencia de dos especies para el género; los individuos con el fenotipo intermedio no muestran ninguna tendencia a formar un clado aislado dentro del grupo de *T. mexicana*. Estos resultados son consistentes con la clasificación taxonómica actual del género.

Palabras clave: fenotipo intermedio, hibridación, marcadores mitocondriales, *Tamandua mexicana*, *Tamandua tetradactyla*

Abstract

The genus *Tamandua* is made up of two species of anteaters, both with distribution in Colombia; *Tamandua mexicana* in the trans-Andean region and *Tamandua tetradactyla* in the Cisandina region, there being a sympatry zone in the center of the country, where individuals with intermediate phenotypes have been found, classified as *Tamandua mexicana*, despite not having the complete phenotype of this species. In this study, a genetic characterization of some individuals of the genus *Tamandua* was carried out, through a phylogenetic reconstruction by maximum likelihood and a Bayesian analysis, based on the mitochondrial markers Ribosomal RNA 16S (rRNA 16S), Cytochrome Oxidase I (COI), and the Hypervariable Region I of Mitochondria. The results show a genetic differentiation between the individuals of *T. mexicana* and *T. tetradactyla*, which supports the existence of two species for the genus, individuals with the intermediate phenotype do not show any tendency to form an isolated clade within the group of *T. mexicana*. These results are consistent with the current taxonomic classification of the genus, and do not support any further evolutionary process.

Keywords: hybridization, intermediate phenotype, mitochondrial markers, *Tamandua mexicana*, *Tamandua tetradactyla*

¹ Programa de Biología, Universidad Centro de Estudios en Salud (CES), Medellín, Colombia.

* Autor de correspondencia: salzatevelasquez@gmail.com

INTRODUCCIÓN

El superorden Xenarthra (Gardner, 2008) está compuesto por los órdenes Cingulata (armadillos) y Pilosa. Pilosa a su vez contiene a los subórdenes Folivora (perezosos) y Vermilingua (hormigueros), este último con Myrmecophagidae como la única familia que conforma el suborden, con los géneros *Cyclopes*, *Myrmecophaga* y *Tamandua*. El género *Tamandua* está conformado por las especies *T. mexicana* (Saussure, 1860) y *T. tetradactyla* (Linnaeus, 1758).

Ambas son especies comunes y de amplia distribución: *T. mexicana* se distribuye desde el sur de México hasta el noroeste de Perú y noroeste de Venezuela, desde cero a 2700 m s. n. m. (Rojano & Plese, 2016); *T. tetradactyla* ocurre en el este de los Andes desde Colombia, Venezuela, Trinidad y las Guayanas (Guyana Francesa, Guyana y Surinam), y en el sur hasta el norte de Uruguay y de Argentina, desde los cero a los 1600 m s. n. m. (Hayssen, 2011).

Estas dos especies se diferencian principalmente por su distribución, considerándose *T. mexicana* de Centroamérica y *T. tetradactyla* de Suramérica (Hayssen, 2011), aunque en algunas zonas de Colombia, ambas ocurren en simpatria (Navarrete & Ortega, 2011). Morfológicamente, su principal

diferencia es que *T. mexicana* presenta un patrón de “chaleco negro” en el dorso, los flancos y el vientre, contra un fondo amarillo pálido (figura 1), mientras que *T. tetradactyla* presenta una coloración uniforme amarillo pálido o dorado, sin el patrón de “chaleco”, o negra uniforme (Rojano & Plese, 2016). Sin embargo, se han reportado morfotipos, considerados subespecies de *T. tetradactyla* que presentan una coloración negra dorsal, como es el caso de *T. tetradactyla quichua* (Thomas, 1927) y *T. tetradactyla nigra* (Geoffroy St.-Hilaire, 1803), distribuidas en Perú (Rojano et al., 2014). Otras diferencias morfológicas son: el tamaño de las orejas, que miden entre 40 y 46 mm (milímetros) en *T. mexicana*, y entre 50 y 54 mm en *T. tetradactyla*, además de algunas características craneales, como la forma del agujero infraorbital y el número de agujeros orbitarios (Hayssen, 2011).

En Colombia, *T. mexicana* se distribuye en el norte, centro y occidente; *T. tetradactyla* se encuentra en el sureste del país. Las zonas de simpatria para estas especies se encuentran en el centro del país, finalizando la región Andina, en los departamentos de Huila, Cundinamarca, Caldas, Quindío y Valle del Cauca. Adicionalmente, se han encontrado individuos con un fenotipo intermedio en su patrón de coloración, el cual hace difícil su identificación taxonómica como alguna de las especies de *Tamandua* (Alzate-Gaviria et al., 2016; T. Plese, comunicación personal, 2019). Este fenotipo



Figura 1. Individuo de *Tamandua mexicana* con fenotipo común.
Fotografía: Tinka Plese, Fundación AIUNAU, Colombia.

consiste en una coloración jaspeada-amarillenta del patrón de chaleco; en ocasiones sólo se presenta la forma del chaleco en la base de la piel, y el pelaje es amarillento (figura 2). Esto sugiere que puede estar ocurriendo un fenómeno de hibridación entre las dos especies de *Tamandua*, que los individuos con fenotipos intermedios pertenecen a una especie no descrita previamente, o que en realidad solo existe una especie para el género (Katiehutchin, 2021). En Colombia, la mayoría de los estudios que se realizan con tamandúas tienen que ver con su dieta o ectoparásitos (Alzate-Gaviria et al., 2016), también se han realizado estudios genéticos dentro de la familia Myrmecophagidae (Ruiz-García, 2021), y recientemente se publicó en Brasil

un estudio de la variación en la coloración dentro del género (Cotts et al., 2023).

En este sentido, es necesario ampliar el estado de conocimiento de estas especies, dado que es indispensable contar con información certera sobre el estado actual de las poblaciones, ya que los esfuerzos de conservación se pueden ver afectados por falta de información (DeSalle & Amato, 2004). Así, el propósito de este estudio fue realizar un análisis filogenético de algunos individuos provenientes de poblaciones colombianas del género *Tamandua*, para contribuir en su caracterización taxonómica, y así ampliar el estado de conocimiento en torno a ellas.



Figura 2. Individuo de *Tamandua* sp. con fenotipo intermedio.
Fotografía: Tinka Plese, Fundación AIUNAU, Colombia.

MATERIALES Y MÉTODOS

El cubrimiento geográfico del estudio se tomó a nivel departamental, ya que no se contó con la ubicación precisa o georreferenciada del origen de los individuos muestreados (figura 3). Se analizaron un total de 24 muestras, distribuidas de la siguiente manera: 22 pertenecían a *T. mexicana* (de las cuales, cinco presentaban un fenotipo intermedio) y 2 a *T. tetradactyla*. En cuanto a su procedencia, cinco de ellas fueron suministradas por las Colecciones Biológicas de la Universidad CES (CBUCES)-sub colección de tejidos animales; 17 por la fundación AIUNAU, derivadas de animales rescatados en diferentes partes del territorio de Colombia con procedencia conocida; y dos muestras fueron muestreadas en el bioparque Los Ocarros. De estas 24 muestras,

22 provenían de hisopados bucales y dos de músculo. El muestreo de mucosa oral fue realizado por personal experimentado. Este procedimiento consistió en introducir un aplicador estéril en la boca del animal en ayunas, permitiendo que lo masticara (Gallina & López, 2011; Moscoso et al., 2021), procurando tener el mínimo contacto con el individuo. Las muestras de músculo se obtuvieron de animales que fallecieron durante el proceso de rehabilitación.

Para la realización de este estudio, se contó con el permiso del Comité Institucional para el Cuidado y Uso de los Animales – CICUA de la Universidad CES, además del Permiso Marco de Recolección de Especímenes de las Colecciones Biológicas de la Universidad CES – CBUCES, otorgado mediante la Resolución de la Autoridad Nacional de

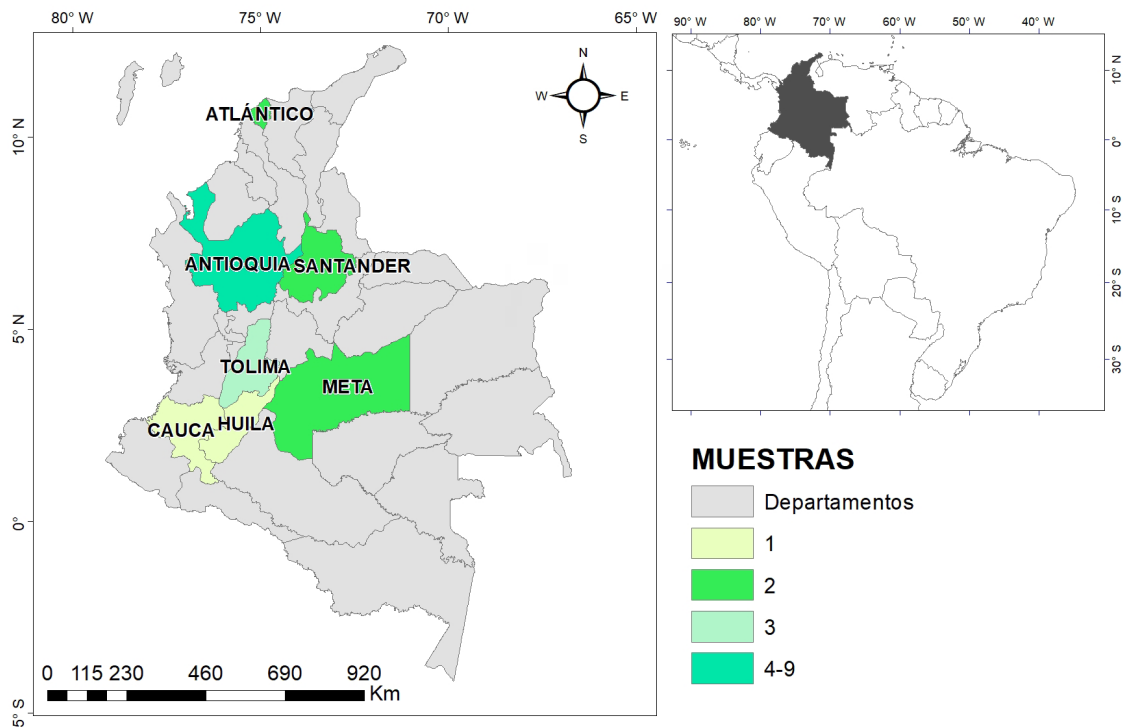


Figura 3. Mapa de procedencia departamental de las muestras de *Tamandua* sp. utilizadas para este estudio.

Licencias Ambientales – ANLA No. 0790 de 2014, modificada por la Resolución No. 01510 de 2021.

Las muestras provenientes de la fundación AIUNAU y bioparque Los Ocarros fueron sometidas a un proceso de extracción de ADN mediante el kit de purificación de ADN genómico GeneJET™ (cat. K0722) (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA), siguiendo las recomendaciones del fabricante. El material genético de las muestras de las colecciones biológicas CBUCES ya se había extraído anteriormente, utilizando el kit de purificación GeneJET™ y PrepFiler™ (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA).

Posteriormente, se determinó la cantidad y pureza del material genético a través de espectrofotometría utilizando un Nanodrop 2000 (Thermo Fisher Scientific Inc., USA). Las muestras a las que se realizó un proceso de extracción de ADN para este proyecto, fueron ingresadas a las colecciones biológicas CBUCES.

Después, las muestras se amplificaron de manera específica para los genes COI y ARNr 16S, además de la región hipervariable de la mitocondria (HVI, del inglés *Hypervariable Region I of Mitochondria*). Para esto se realizó un diseño de cebadores *in*

silico utilizando el programa Primer3 versión 4.1.0 (Kõressaar et al., 2018; Untergasser et al., 2012). La estandarización de la temperatura de hibridación para cada cebador se llevó a cabo mediante un gradiente de PCR, utilizando una temperatura entre 50 °C y 60 °C. A través de una verificación por electroforesis en gel de agarosa al 1,5%, se identificó la temperatura que produjo la mayor cantidad de producto amplificado, la cual se utilizó en todos los ensayos de PCR. Este proceso de estandarización se realizó de manera independiente para cada uno de los marcadores. La temperatura de hibridación y demás condiciones de los cebadores se muestran en la tabla 1.

Respecto a las condiciones de amplificación, para todos los ensayos se utilizaron 35 ciclos térmicos, con una fase de desnaturalización inicial a 95 °C durante dos minutos, seguida por una fase de desnaturalización a 95 °C durante 30 segundos; la fase de extensión fue a 72 °C durante un minuto y la extensión final a 72 °C durante diez minutos. La temperatura de hibridación fue específica para cada gen y se muestra en la tabla 1. La concentración de ADN utilizada en todos los ensayos de PCR fue de 5 a 10 ng/uL.

La amplificación por PCR se verificó a través de electroforesis en gel de agarosa a una concentración

Tabla 1. Condiciones fisicoquímicas de los cebadores diseñados para la amplificación de los marcadores seleccionados para este estudio.

Condiciones de cebadores diseñados para PCR

Nombre cebador	Secuencia	Tamaño cebador (pb)	Tamaño amplicón (pb)	% G-C	T. hibridación (°C)
T16S-F	ACCTTTCTCTCCACgCACAAgT	20	931	50	59,77
T16S-R	ggCTCTCTgCCACCTTAACAAA	20		50	60,25
TCOI-F	CCCggggTAAGCTTAACCTACTACTCTC	24	1.000	50	58,89
TCOI-R	CTCAAACgATAAAgCCCAAg	20		45	57,52
THVI-F	TTCCgACCACACTAAgCCAACCT	20	804	50	59,73
THVI-R	CCATAgCTgAgTCgATgCAACCATAgCTgAgTCgATgCAA	20		50	59,97

pb: pares de bases; %G-C: porcentaje de guanina-citosina; T. hibridación (°C): temperatura de hibridación en grados centígrados.

de 1,5% y con un marcador de peso molecular de 100 pb.

Los genes fueron secuenciados por la empresa MACROGEN (Seúl, Corea del Sur), mediante la metodología de Sanger (Sanger et al., 1977). Se utilizaron controles positivos y negativos para todos los ensayos de PCR. Para el control positivo, se utilizó la muestra TS012 (*T. mexicana* TOLIMA 2), ya que había sido exitosa su amplificación en todos los ensayos de gradiente de PCR, por lo que se estandarizó como muestra control. Esto permitió comparar y verificar la eficiencia de la amplificación en las demás muestras. Para el control negativo, se utilizaron todos los componentes de la PCR sin una secuencia blanco, lo cual serviría para

detectar posibles contaminaciones en los reactivos o muestras.

Para el análisis de los datos genéticos, se realizaron los alineamientos para cada gen usando los parámetros del algoritmo MAFFT (Kato & Standley, 2013). Luego, se obtuvo una matriz concatenada con los tres alineamientos con el programa Mesquite® (Maddison & Maddison 2021). Mediante el criterio de información bayesiano (Nei & Kumar et al., 2000; Tamura et al., 2021), se seleccionó el modelo de sustitución nucleotídica para cada uno de los alineamientos. Por último, se hicieron las reconstrucciones filogenéticas usando el método de máxima verosimilitud por el algoritmo RaxML y mediante el método de inferencia bayesiana, ambos

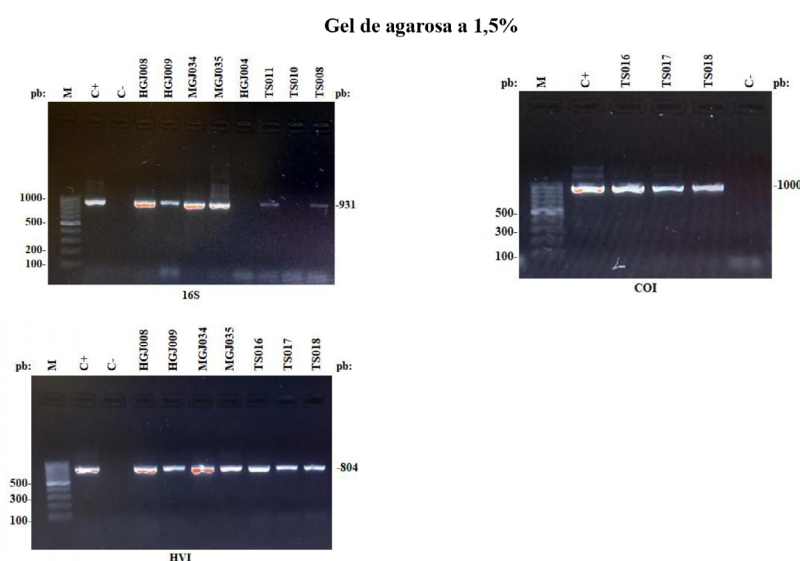


Figura 4. Resultado de electroforesis en geles de agarosa al 1,5% para visualizar la amplificación por PCR de los marcadores mitocondriales ARNr 16S, COI y HVI. M: marcador de peso molecular de 100 pb. C+: control positivo. C-: control negativo.

Tabla 2. Resultados de cada muestra de los procesos de extracción de ADN y los ensayos de PCR para los marcadores rRNA 16S, COI y HVI

Resultados de ensayos de PCR para extractos de ADN						
Código muestra	Código Colección CBUCEs	Localidad	Resultado extracción ADN	Resultado ensayo PCR		
				rRNA 16S	COI	HVI
TS001	CBUCESL1004	Antioquia	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
TS003	CBUCESL1006	Antioquia	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
TS004	CBUCESL1007	Antioquia	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
TS005	CBUCESL1008	Chocó	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
TS008	CBUCESL1011	Antioquia	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
TS009	CBUCESL1012	Tolima	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
TS012	CBUCESL1015	Tolima	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
TS011-2	CBUCESL1014	Antioquia	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
TS013	CBUCESL1016	Antioquia	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
TS014	CBUCESL1017	Antioquia	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
TS015	CBUCESL1018	Huila	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
TS016	CBUCESL1019	Antioquia	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
TS017	CBUCESL1020	Antioquia	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
TS018	CBUCESL1021	Atlantic	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
HGJ008	CBUCESHGJ008	Santander	No aplica	Positivo	Positivo	Positivo
HGJ009	CBUCESHGJ009	Santander	No aplica	Positivo	Positivo	Positivo
MGJ034	CBUCESMGJ034	Tolima	No aplica	Positivo	Positivo	Positivo
MGJ035	CBUCESMGJ035	Atlantic	No aplica	Positivo	Positivo	Positivo
N01	CBUCESL1024	Cauca	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
N02	CBUCESL1022	Goal	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
N03	CBUCESL1023	Goal	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
TS002	CBUCESL1005	Tolima	Positivo	Negativo	Negativo	Negativo
TS010	CBUCESL1013	Quindío	Positivo	Negativo	Negativo	Positivo
HGJ004	CBUCESHGJ004	Santander	No aplica	Negativo	Negativo	Negativo

Las muestras HGJ008, HGJ009, MGJ034 y MGJ035 no fueron sometidas a extracción de ADN en este estudio, pues dicho proceso ya se había realizado previamente.

implementados en el portal CIPRES versión 3,3 (Miller et al., 2010).

RESULTADOS

El proceso de extracción de ADN fue exitoso para las 19 muestras de hisopados bucales. Considerando que ya se disponía de cinco muestras previamente sometidas a extracción, se contó con un total de 24 ADN para los ensayos por PCR. Después de realizar la electroforesis para verificar la amplificación por PCR de los marcadores ARNr 16S, COI y HVI, se descartaron tres muestras

debido a que no se logró la amplificación para algunos de los genes (Tabla 2). Los demás productos amplificados fueron del tamaño esperado (figura 4). El mejor modelo de sustitución nucleotídica para el marcador ARNr 16S fue HKY (modelo propuesto por Hasegawa, Kishino y Yano), con un valor de CIB (Criterio de Información Bayesiano) de 2490,53; para los genes COI y HVI, el mejor modelo fue HKY+I (HKY + sitios invariantes), con un CIB de 2210,35 para ambos.

Los árboles por máxima verosimilitud y bayes arrojaron resultados similares (figuras 5 y 6).

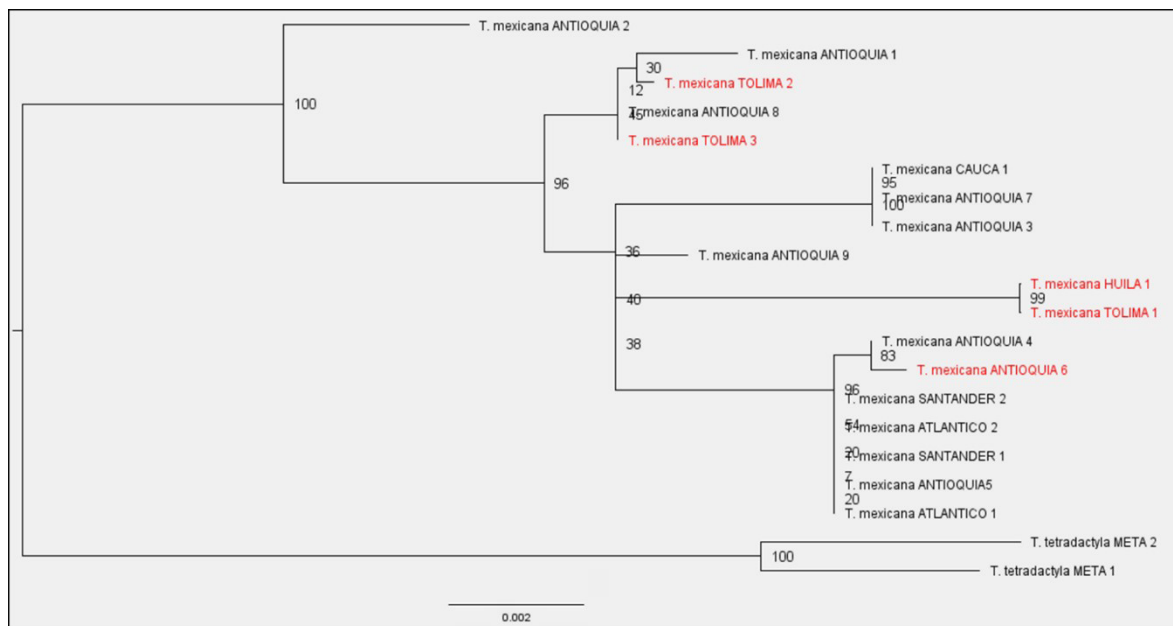


Figura 5. Reconstrucción filogenética por máxima verosimilitud con soportes de Bootstrap. Los taxones marcados con color rojo fueron reportados como individuos con fenotipo intermedio o posibles híbridos.

Ambos recuperan dos principales grupos, uno compuesto por los ejemplares de *T. mexicana* y el otro por los de *T. tetradactyla*. También se muestra una diferenciación entre el ejemplar de *T. mexicana* nombrado como ANTIOQUIA 2 y los demás de esta especie. No se evidencia una agrupación clara entre los taxones dentro del grupo de *T. mexicana*.

Las secuencias de nucleótidos se publicaron en el banco genético GenBank con los números de acceso

que van desde PP929896 hasta PP929914, desde PP930407 hasta PP930423, y desde PP946328 hasta PP946345.

DISCUSIÓN

El uso de marcadores moleculares en la genética de la conservación ha permitido la realización de estudios para evaluar el grado de aislamiento genético entre especies (Ripperger et al., 2012); además de que sirven tanto para reconocer las

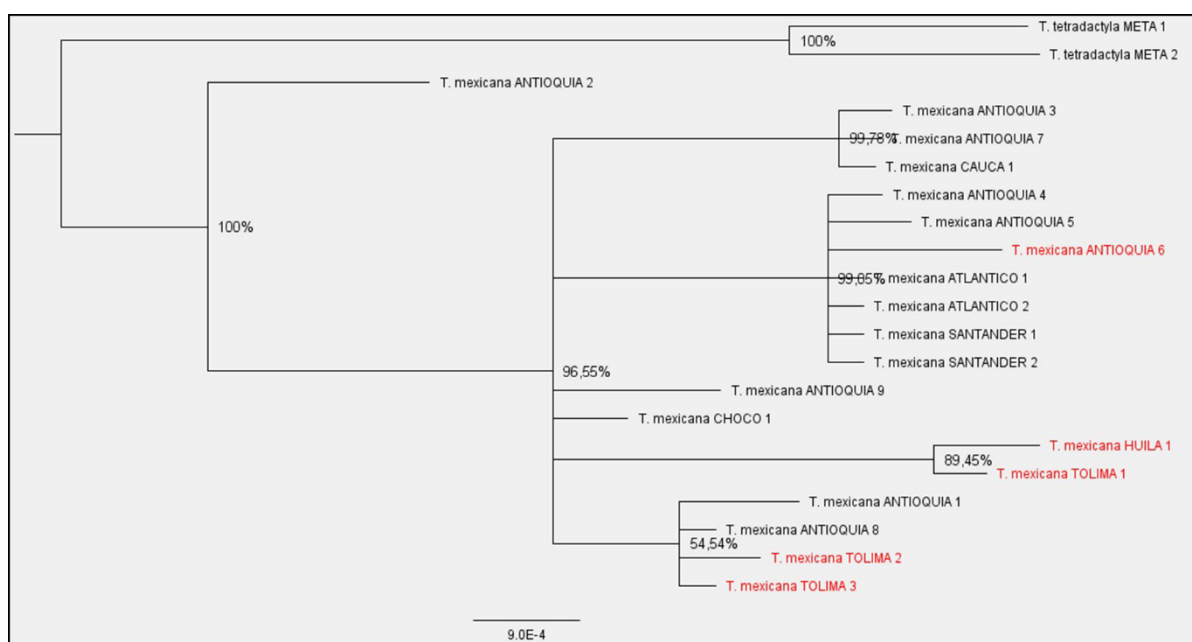


Figura 6. Reconstrucción filogenética por inferencia bayesiana. Los taxones marcados con color rojo fueron reportados como individuos con fenotipo intermedio o posibles híbridos.

regiones de procedencia de individuos rescatados, como para considerar su aplicación en la reintroducción de los mismos (Ruiz-García et al., 2009).

Las filogenias obtenidas mediante este estudio muestran una clara diferenciación entre *T. mexicana* y *T. tetradactyla*, lo cual soporta la taxonomía actual del género (figuras 5 y 6). Sin embargo, en el año 2021, se publicó un estudio mitogenómico realizado en Myrmecophagidae, con el fin de resolver el número de taxones dentro de la familia (Ruiz-García et al., 2021), para lo cual, se analizaron 74 muestras de *Tamandua* sp., provenientes de especímenes de varios países de Centroamérica y Suramérica. En este estudio, la longitud de las secuencias de ADN mitocondrial fue de 16.543 pb, donde se detectaron tres haplogrupos para el género *Tamandua*, todos entremezclados con ejemplares tanto de *T. mexicana* como de *T. tetradactyla*, lo que sugiere que sólo se debería considerar una especie dentro del género (Ruiz-García et al., 2021). Es importante resaltar que los individuos que se encuentran entremezclados, por los cuales se sugiere que solo debe considerarse una especie para el género, tienen una distribución correspondiente a una zona potencialmente simpátrica, por lo cual pudo darse una mala identificación del ejemplar, por lo que no hay evidencia suficiente para afirmar que solo existe una especie. Además, cabe resaltar que, a diferencia de Ruiz-García et al. (2021), quienes usaron el genoma mitocondrial completo y tuvieron un mayor cubrimiento geográfico, en esta investigación sólo se analizaron tres marcadores (COI, 16S y HVI), y se utilizaron muestras únicamente de Colombia, con diferentes metodologías de análisis que generan diferencia en los hallazgos.

Con los presentes resultados, no hay evidencias de estructuración genética en las poblaciones colombianas de *T. mexicana*, pues se muestra una politomía, la cual no es clara en cuanto a la agrupación de los taxones. Lo anterior, puede ser debido a los procesos de liberación de fauna, dado que en muchas ocasiones los centros de atención a la fauna silvestre (CAV) realizan reintroducción de individuos en poblaciones naturales, pero no en la misma zona de donde provienen, lo cual influye en las poblaciones generando mezcla entre ellas como consecuencia de la actividad antrópica.

Los ejemplares de Huila, Tolima, y el nombrado como Antioquia 6, presentaron un fenotipo intermedio en el patrón de coloración de “chaleco”, pero no se evidenció una tendencia de estos individuos a agruparse (figuras 5 y 6), por lo que se puede inferir que el fenotipo descrito no tiene la suficiente resolución para indicar un proceso de especiación, y que esto es una variación fenotípica dentro de *T. mexicana*. En concordancia con estos resultados, Ruiz-García et al. (2021) concluyeron que los patrones de coloración en las especies de *Tamandua*, además del tamaño del cuerpo y de otras características morfológicas, pueden ser variables entre las poblaciones, por lo tanto, no tienen valor filogeográfico o sistemático.

Para futuros estudios, se recomienda la inclusión de marcadores nucleares, la ampliación del muestreo y la identificación más precisa del origen de los individuos. Esto podría proporcionar indicios sobre las tendencias microevolutivas de estas especies a nivel de población.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la Dirección de Investigación e Innovación de la Universidad CES, por la financiación de los recursos para la realización de este proyecto. También agradecemos a la Universidad CES por su apoyo administrativo y por propiciar los espacios para la ejecución de la investigación, y al personal de laboratorio por el constante acompañamiento. Igualmente, a la Fundación AIUNAU y al Bioparque Los Ocarros por el suministro de las muestras biológicas. Por último, agradecemos al docente Juan Camilo Arredondo por las observaciones para el mejoramiento del manuscrito y al biólogo Esteban Restrepo por su ayuda con la elaboración del mapa de distribución.

CONTRIBUCIÓN DE AUTORÍA

Juliana Martínez-Garro contribuyó en la elaboración de la idea de investigación, orientación metodológica y análisis de los resultados, además de la gestión administrativa para la obtención de los recursos financieros para la ejecución del proyecto. El autor Fabián Mejía-Franco acompañó todo el proceso metodológico, análisis de los datos e interpretación de los resultados. Sara

Alzate-Velázquez realizó los experimentos, editó las secuencias, corrió los análisis de los datos y escribió el manuscrito. Todos los autores revisaron y aprobaron la versión final del manuscrito.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

REFERENCIAS

- Alzate-Gaviria, M., González-Maya, J. & Botero-Botero, A. (2016). Distribución geográfica y estado de conocimiento de las especies del género *Tamandua* (Xenarthra: myrmecophagidae) en Colombia. *Edentata: the newsletter of the IUCN/SSC anteater, sloth and armadillo specialist group*, 17, 8-16. <https://doi.org/10.2305/iucn.ch.2016.edentata-17-1.3.en>
- Cotts, L., Slifkin, J. P., Moratelli, R., Da Silva, L. G. & Rocha-Barbosa, O. (2023). Multiple colors in anteaters: review and description of chromatic disorders in *Tamandua* (Xenarthra: Pilosa) with reports of new and rare coat colorations. *Zoologia (Curitiba)*, 40, 1-17. <https://doi.org/10.1590/s1984-4689.v40.e22034>
- DeSalle, R. & Amato, G. (2004). The expansion of conservation genetics. *Nature Reviews Genetics*, 5(9), 702-712. <https://doi.org/10.1038/nrg1425>
- Gallina, S. & López-González, C. (2011). *Manual de técnicas para el estudio de la fauna, Volumen 1*. Universidad Autónoma de Querétaro-Instituto de Ecología, A. C. <https://www.uaq.mx>
- Gardner, A. L. (2008). *Mammals of South America, Volume 1: Marsupials, xenarthrans, shrews, and bats*. University of Chicago Press. <https://doi.org/10.7208/chicago/9780226282428.001.0001>
- Geoffroy St.-Hilaire, E. (1803). *Catalogue des mammiferes du Museum National d'Histoire Naturelle*. Museum National d'His-toire Naturelle, Paris, France.
- Hayssen, V. (2011). *Tamandua tetradactyla* (Pilosa: Myrmecophagidae). *Mammalian Species*, 43, 64-74. <https://doi.org/10.1644/875.1>
- Katiehutchin. (2021). *Tamandua (lesser anteater)*. Ambassador Animal Resource and Information Center. <https://ambassadoranimalsag.wordpress.com/2021/07/19/tamandua-lesser-anteater/>
- Katoh, K. & Standley, D. M. (2013). MAFFT multiple sequence alignment software version 7: Improvements in performance and usability. *Molecular Biology and Evolution*, 30(4), 772-780. <https://doi.org/10.1093/molbev/mst010>
- Kõressaar, T., Lepamets, M., Kaplinski, L., Raime, K., Andreson, R. & Remm, M. (2018). Primer3_masker: integrating masking of template sequence with primer design software. *Bioinformatics*, 34(11), 1937-1938. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty036>
- Linnaeus, C. (1758). *Systema naturae, per regna tria naturae: secundum classes, ordines, genera, species cum characteribus, differentiis, synonymis, locis* (10a ed.). Laurentii Salvii.
- Maddison, W. P. & Maddison, D.R. (2021). *Mesquite: a modular system for evolutionary analysis*. (Version 3.70). <http://www.mesquiteproject.org>
- Miller, M. A., Pfeiffer, W. & Schwartz, T. (2010). Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. *Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop (GCE)*, 1-8. <https://doi.org/10.1109/GCE.2010.5676129>
- Moscoso, Y. M. S., Garro, J. M. M., González, P. A. G. & Plese, T. (2021). Extracción de ADN usando métodos mínimamente invasivos en Xenarthras, una contribución a su conservación. *Actualidades Biológicas*, 44(116), 1-10. <https://doi.org/10.17533/udea.acbi.v44n116a06>
- Navarrete, D. & Ortega, J. (2011). *Tamandua mexicana* (Pilosa: Myrmecophagidae). *Mammalian Species*, 43, 56-63. <https://doi.org/10.1644/874.1>
- Nei, M. & Kumar, S. (2000). *Molecular evolution and phylogenetics*. Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/oso/9780195135848.001.0001>
- Ripperger, S. P., Tschapka, M., Kalko, E. K. V., Rodríguez-Herrera, B. & Mayer, F. (2012). Life in a mosaic landscape: anthropogenic habitat fragmentation affects genetic population structure in a frugivorous bat species. *Conservation Genetics*, 14(5), 925-934. <https://doi.org/10.1007/s10592-012-0434-y>
- Rojano, C., Miranda, L. & Ávila, R. (2014). *Manual de rehabilitación de hormigueros de Colombia*. Fundación Cunaguaro, Geopark Colombia S.A.S.
- Rojano, C. & Plese, T. (2016). *Programa nacional para la conservación y uso sostenible de las especies del superorden Xenarthra presentes en Colombia*. https://www.academia.edu/28266197/Programa_nacional_para_la_conservaci%C3%B3n_y_uso_sostenible_de_las_especies_del_superorden_XENARTHRA_presentes_en_Colombia
- Ruiz-García, M., Pinilla-Beltrán, D., Murillo-García, O. E., Pinto, C. M., Brito, J. & Shostell, J. M. (2021). Comparative mitogenome phylogeography of two anteater genera (*Tamandua* and *Myrmecophaga*; Myrmecophagidae, Xenarthra): Evidence of discrepant evolutionary traits. *Zoological Research*, 42(5), 525-547. <https://doi.org/10.24272/j.issn.2095-8137.2020.365>
- Ruiz-García, M., Leguizamón, N., Vásquez, C., Rodríguez, K. & Castillo, M. I. (2009). Métodos genéticos para la reintroducción de monos de los géneros *Saguinus*, *Aotus* y *Cebus* (Primates: Cebidae) decomisados en Bogotá, Colombia. *Revista de Biología Tropical*, 58(2), 1049-



1067. <https://doi.org/10.15517/rbt.v58i2.5262>
- Sanger, F., Nicklen, S. & Coulson, A. R. (1977). DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 74(12), 5463–5467. <https://doi.org/10.1073/pnas.74.12.5463>
- Saussure, H. (1860). Note sur quelques mammifères du Mexique. *Revue et Magasin de Zoologie Pure et Appliquée*, 12, 3–11.
- Tamura, K., Stecher, G. & Kumar, S. (2021). MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. *Molecular Biology and Evolution*, 38(7), 3022–3027. <https://doi.org/10.1093/molbev/msab120>
- Untergasser, A., Cutcutache, I., Koressaar, T., Ye, J., Faircloth, B. C., Remm, M. & Rozen, S. G. (2012). Primer3—new capabilities and interfaces. *Nucleic Acids Research*, 40(15), e115. <https://doi.org/10.1093/nar/gks596>