



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

FILOGENIA Y ESTRUCTURA GENETICA
DEL BERRENDO (*Antilocapra americana*)
E IMPLICACIONES PARA SU CONSERVACION

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

B I O L O G A

P R E S

DALIA AMORONDE OVANDO



DIRECTOR DE TESIS: DR. RODRIGO ANTONIO CARDEAN LEGORRETA

283164

2000



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA 11
MEXICO

MAT. MARGARITA ELVIRA CHÁVEZ CANO
Jefa de la División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Ciencias
Presente

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo de Tesis:

Filogenia y estructura genética del berrendo
(Antilocapra americana) e implicaciones para su conservación.

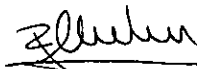
realizado por Dalia Amor Conde Ovando.

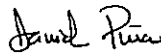
con número de cuenta 9026576-3 , pasante de la carrera de Biología.


Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

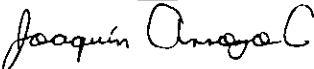
Atentamente


Director de Tesis

Propietario Dr. Rodrigo Antonio Medellín Legorreta. 

Propietario Dr. Daniel Ignacio Piñero Dalmau. 

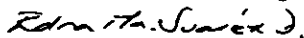
Propietario Dr. Gerardo Jorge Ceballos González. 

Suplente Dr. Joaquin Arroyo Cebrales. 

Suplente Biol. Omar Chassin Noria. 

FACULTAD DE CIENCIAS
U.N.A.M.

Consejo Departamental de Biología.



Dra. Edna María Suárez Díaz.



DEPARTAMENTO
DE BIOLOGIA

A mis padres Violeta y Jaime por el entusiasmo y apoyo en todo lo que hago,
a mi hermana Diana y mi laia Pepi por su invaluable compañía
y a mi compañero Fernando por su apoyo constante y por haberle dado un sabor
muy especial a mi vida.

AGRADECIMIENTOS

Este proyecto forma parte del Programa Nacional Para la Recuperación del Berrendo en México, coordinado por la Dirección General de Vida Silvestre del Instituto Nacional de Ecología (INE), SEMARNAP, y Unidos Para La Conservación A.C. (UPC), como una de las bases para la toma de decisiones en el manejo y conservación del berrendo en México. Así mismo, forma parte del programa "El Retorno del Berrendo" dirigido por UPC y Agrupación Sierra Madre.

Este proyecto se realizó con la colaboración académica del Instituto de Ecología de la UNAM y el Centro para la Reproducción de Especies en Peligro de Extinción (CRES) de la Sociedad Zoológica de San Diego, California, EUA.

El financiamiento fue otorgado por la Sociedad Zoológica de San Diego, por Unidos para la Conservación, A.C., y el Fondo Mundial para la Conservación de la Naturaleza (WWF).

Quisiera agradecer a las instituciones que apoyaron con el envío de muestras, las cuales permitieron que este estudio fuera más amplio: CIBNOR y la Reserva de la Biosfera del Vizcaino, el INE, el Departamento de Caza y Pesca de Arizona, así como el Laboratorio Forense Nacional de Pesca y Vida Silvestre (National Fish and Wildlife Forensics Laboratory). En especial, le doy mis mayores agradecimientos al Departamento de Caza y Pesca de Nuevo México, por su apoyo y capacitación para la realización de la colecta de muestras, así como en el trabajo de campo y capturas del berrendo. También quiero agradecer al Ejido Benustiano Carranza Rancho las Mesteñas, Los Morteros, y el Rancho San Luis, por haberme apoyado en la colecta de muestras y trabajo de campo.

También quisiera dedicár esta tesis con mucho cariño a dos profesores que, a pesar de que mi idea inicial fue dedicarme a la biología de la conservación en el área de manejo de recursos naturales, despertaron en mí una gran curiosidad y obsesión por la biología molecular y sus aplicaciones, por lo que busqué la forma de integrar ambas cosas en mi tesis; ellos son Antonio Lazcano y Victor Valdez.

Quiero agradecer a todas las personas que me apoyaron para lograr esta tesis, en sus diferentes fases: en especial a Jesús Maldonado y Carles Vilà, por haber iniciado mi entrenamiento en el laboratorio; a Oliver Ryder, por haberme asesorado para la realización de este trabajo; a Mohamed Jama, por enseñarme a usar el secuenciador automático, así como por haber compartido sus secretos en cuanto al diseño de técnicas tanto para extracción de DNA, como para todo el proceso destinado a obtener las 93 secuencias. En general a todo el equipo de CRES por su invaluable apoyo. A Rob Ramey y David Germandt por su ayuda en el análisis de los datos. También al laboratorio de Luis Eguiarte por su inmenso apoyo y por permitirme usar sus computadoras. El trabajo de campo lo realicé gracias a la ayuda y asesoría de Manuel Valdés, sin el cual no hubiese logrado este trabajo, y a la invaluable asesoría de Santiago González. También debo mencionar la ayuda de Guillermo Téllez para lograr prospecciones de berrendo en las áreas más desérticas e inhóspitas de Chihuahua, en donde pude encontrar las muestras más interesantes; a Fernando Rodríguez y familia por su

gran apoyo durante mi estancia en Chihuahua. También quiero agradecer la impecable asistencia de Eugenia Pallares durante la colecta de muestras en Carrizozo, Nuevo México (ninguna se contaminó), y la asesoría de Patricia Rojo en el uso del bisturí y demás, así como el constante apoyo moral de Pablo Cervantes. Y sin olvidar a Oswaldo Barrera, que a parte de ser un gran amigo me ayudó con importantes correcciones de estilo, así como a Jorge Ortega por sus interesantes comentarios.

Indudablemente, quiero agradecer a mi asesor Rodrigo Medellín su esfuerzo y apoyo para lograr este trabajo, así como a Carlos Manterola por el gran impulso que le dio a este proyecto. A mis sinodales, por sus comentarios e interés en este trabajo: Omar Chassin, Daniel Piñero, Joaquín Arroyo y Gerardo Ceballos

No puedo dejar de darte las gracias a: Jaime, mi padre, por sus importantes revisiones así como aportaciones a la tesis y por haber creado en mi una gran pasión por la ciencia; a Fernando mi compañero, por su inmensa ayuda en todos los sentidos, sus visitas a San Diego, por haber revisado conmigo las secuencias así como una inmensidad de detalles que le aportaron mucho a mi trabajo. A Violeta, mi madre, principalmente por su gran ayuda en todo momento y por el gran impulso que le da a todo lo que hago; a mi hermana Diana por su incondicional apoyo; a mi hermana Eugenia por darme ánimos; y a mi laia Pepi por su calidos consejos y sus historias.

Una parte fundamental fue el apoyo de mis amigos más cercanos durante este proceso, así como el de mi familia: mis tres laias (Pepi, Violeta y Nia); Daniel y Adrian Kornhauser, así como Marcelino y Mercedes Perelló, por su asesoría en todos los sentidos. A Elteli por su ayuda en los momentos de desesperación con mis datos; A Karla Mellado ya que sin sus clases de Tai ji no hubiese tenido la paciencia de terminar con esto; Angélica y Amadeo, por sus divertidas pláticas filosofando sobre la academia; a Melquiades Rosas por devolverme la inquietud por el manejo de recursos naturales en áreas rurales; Ana Maria Aragonés, Paly, Ana, Arantxa y Hugo por su ayuda durante todo este proceso. A mi familia de Tijuana, por haberle dado mucho más sabor a mi estancia en San Diego, así como por su gran apoyo, y a muchas personas más que integran una inmensa lista.

ÍNDICE

ÍNDICE	5
INTRODUCCIÓN	8
EL BERRENDO, ÚNICO REPRESENTANTE DE LA FAMILIA ANTILOCAPRIDAE.....	8
LAS SUBESPECIES DESCRITAS DE BERRENDO.....	10
Figura 1. Distribución de las subespecies de berrendo según O’Gara 1978.....	11
Figura 2. Distribución de las subespecies de berrendo según Hall 1981.....	11
LA SITUACIÓN DEL BERRENDO EN MÉXICO.....	14
LA IMPORTANCIA DEL BERRENDO EN LA CONSERVACIÓN.....	16
LAS ESU COMO UNIDADES DE CONSERVACIÓN.....	17
ESTUDIOS GENÉTICOS DE BERRENDO.....	19
EL D-LOOP COMO MARCADOR MOLECULAR PARA CONOCER LAS DIFERENCIAS FILOGENÉTICAS A NIVEL INTRAESPECÍFICO.....	21
Figura 3. Diagrama de la región control del DNA mitocondrial de mamíferos, mostrando los dominios más variables. izquierdo y derecho.....	22
OBJETIVOS	23
OBJETIVO GENERAL.....	23
OBJETIVOS PARTICULARES.....	23
HIPÓTESIS	24
MATERIALES Y MÉTODOS	25
OBTENCIÓN DE MUESTRAS.....	25
EXTRACCIÓN DEL DNA.....	27

Figura 4. Sitios de colecta de las muestras utilizadas para este estudio.	29
Tabla 1. Listado de muestras a partir de las cuales se obtuvo DNA para este estudio.....	29
AMPLIFICACIÓN DEL LA REGIÓN CONTROL DEL DNA MITOCONDRIAL.....	30
Figura 5. Corrimiento del PCR en un gel de agarosa.	31
Figura 6. Corrimiento del PCR para seleccionar los fragmentos de 500pb.	31
SECUENCIACIÓN	31
ANÁLISIS FILOGENÉTICOS	32
VARIABILIDAD Y ESTRUCTURA GENÉTICA.....	32
RESULTADOS.....	35
SECUENCIAS, NÚMERO DE HAPLOTIPOS Y SITIOS POLIMÓRFICOS.	35
Figura 7. Alineamiento de las secuencias de los primeros 452 pb de la región control del DNA mitocondrial...35	
Tabla 2. Proporción transiciones y transversiones.	41
Figura 8. Sitios polimórficos observados en los 29 haplotipos (en 452 bp del D-loop).	41
Figura 9. Gráfica de la diversidad nucleotídica (π) en los primeros 452 pb del D-loop del berrendo.....	42
Tabla 3. Diversidad Nucleotídica (π) de cada una de las regiones muestreadas.....	42
DISTRIBUCIÓN Y FRECUENCIA DE LOS HAPLOTIPOS	43
Tabla 4. Distribución y frecuencia de los haplotipos encontrados en los primeros 452 pares de bases de la región control del DNA mitocondrial (D-loop).	44
Tabla 5. Porcentaje de la divergencia entre nucleótidos y número absoluto de las bases diferentes ente los haplotipos.....	45
ANÁLISIS FILOGENÉTICOS.....	47
Figura 10. Arbol de consenso estricto obtenido a partir de una búsqueda heurística (parsimonia).	49
Figura 11. Arbol filogenético obtenido a partir de una búsqueda heurística (parsimonia).	50
Figura 12. Arbol obtenido a partir de una búsqueda heurística con el método de máxima verosimilitud (ML)...51	
Figura 13. Arbol obtenido por el método de Neighbour Joining (Saitou y Nei 1987).	52
ESTRUCTURA GENÉTICA ENTRE LAS REGIONES.....	53
Tabla 6. Valores totales de ϕ_{st} calculados a partir del método de distancia.	53
Tabla 7. Valores de ϕ_{st} entre las 9 regiones, calculados a partir del método de distancia.	54
Tabla 8. Valores totales de ϕ_{st} obtenidos en las 5 subespecies descritas.....	54

Tabla 9. Valores de ϕ_{st} entre las 5 subespecies descritas.....	55
A. a. oregona.....	55
DISCUSIÓN.....	55
EVOLUCIÓN, TAXONOMÍA Y SUBDIVISIÓN GEOGRÁFICA	55
<i>Efecto del cuello de botella reportado en 1920</i>	55
Tabla 10. Diversidad nucleotídica (π) hallada en distintas especies de mamíferos.....	56
<i>Filogenia</i>	57
<i>Patrones de subdivisión geográfica</i>	58
Tabla 11. Comparación de las F_{st} (ϕ_{st}) encontradas en diferentes estudios de mamíferos.....	59
<i>Efecto de la extinción de la megafauna durante el pleistoceno tardío sobre el berrendo</i>	61
Figura 14. Expansión de la distribución del berrendo, según el registro fósil, en Norteamérica	64
Figura 15. Esquema de la historia evolutiva del berrendo sugerida a partir de los resultados obtenidos en este trabajo así como por el registro fósil	66
<i>Implicaciones para el manejo y conservación de la especie</i>	67
PERSPECTIVAS	70
CONCLUSIONES	71
BIBLIOGRAFÍA	72
APÉNDICES	90
APÉNDICE A. INFORMACIÓN BÁSICA DE LAS MUESTRAS COLECTADAS POR REGIÓN, ASÍ COMO LOS HAPLOTIPOS HALLADOS EN CADA UNA DE ESTAS.....	90
APÉNDICE B. ESPECIES DE UNGULADOS Y CARNÍVOROS QUE COEXISTIERON CON EL BERRENDO DURANTE EL PLEISTOCENO.	93
A2. 1 <i>Especies de Ungulados que reportan Kurtén y Anderson (1980), que coexistieron con el Berrendo, previo a la extinción de la megafauna.</i>	93
A2. 2 <i>Especies de carnívoros que coexistieron con el berrendo.</i>	94

INTRODUCCIÓN

El berrendo, único representante de la familia Antilocapridae

El Berrendo (*Antilocapra americana*), es el único sobreviviente de uno de los grupos de ungulados que estuvieron presentes en las praderas de Norteamérica, la familia Antilocapridae (Byers 1997), la cual se encontraba conformada por 14 géneros que estuvieron presentes durante el Plioceno y Pleistoceno (O'Gara 1978). Fue durante la extinción de la megafauna, en el Pleistoceno tardío, cuando desaparecieron los últimos ocho géneros de esta familia que coexistían según el registro fósil con el berrendo (Kurtén y Anderson 1980), también se extinguieron diversos grupos de otros ungulados y carnívoros (Kurtén y Anderson 1980; Behrensmeyer et al. 1992). Durante este período las praderas de Norteamérica fueron más diversas que las que encontramos actualmente en África, los ungulados estuvieron representados por tapires, pecaríes, seis géneros de camélidos, ocho géneros de cérvidos, varias especies de bisontes, tres familias de proboscídeos, equidos, así como una gran diversidad de carnívoros (Webb 1977; Kurtén y Anderson 1980; Stuart 1991). Sin embargo la extinción de la megafauna hizo que muchos de estos grupos desaparecieran por completo del continente. La mayoría de las extinciones en Norte América, que se dieron durante el Pleistoceno tardío, se estima que iniciaron hace 18,000 años (Mead y Meltzer 1984; Kurtén y Anderson 1980). Existen varias explicaciones en cuanto a las causas de esta extinción masiva, una de ellas es la influencia humana, en donde los cazadores han sido identificados como uno de los responsables (Martin 1967, 1973, Fisher 1987; Frison 1987), otra es el efecto del cambio climático durante este periodo (Graham y Lundelius 1984; Martin y Klein 1984). La mayoría de los investigadores explican los mecanismos que provocaron las extinciones del Pleistoceno como una combinación de ambas teorías (Martin y Klein 1984). Han surgido otras explicaciones, como la "Hipótesis de la Hiperepidemia" ("Hiperdisease hipótesis"), en donde señalan que uno de los principales factores de la extinción fue la

dispersión de patógenos y epidemias (MacPhee y Marx 1997). Lo que es un hecho es que el berrendo, a partir de este periodo, fue el único género y especie sobreviviente de su familia, el cual probablemente se vio fuertemente beneficiado por la ausencia de muchos de sus posibles competidores y depredadores. Considerando que desaparecieron de Norteamérica al menos 41 especies de ungulados (Kurtén y Anderson 1980) y alrededor de 20 especies de carnívoros (Kurtén y Anderson 1980; Byers 1997), podemos inferir que la presión por competencia y depredación debió de haber disminuido considerablemente.

La familia Antilocapridae se divide tradicionalmente en dos subfamilias: Merychodontinae y Antilocaprinae, la primera apareció por primera vez en el Mioceno medio y se extinguió a finales de este periodo, la segunda apareció durante el Mioceno tardío y hoy está representada por una sola especie, *Antilocapra americana* (Janis 1982). El periodo de coexistencia entre estas dos subfamilias fue corto (Frick 1937; Janis 1982), y los Antilocapridos reemplazaron a los Merychodontinos. Se estima que la evolución del género *Antilocapra* comenzó hace tan sólo 10,000 años (Byers 1997).

El origen evolutivo de los Antilocapridae aún no está resuelto; por un lado se afirma que están cercanamente relacionados con los Cérvidos (Leinders 1948; Leinders y Heintz 1980; Groves y Grubb 1987; Janis y Scott 1987; y Janis 1988). Otros autores ubican al berrendo emparentado con la familia Bovidae (Matthew, 1934; O'Gara y Matson, 1975; Curtain y Fundenberg, 1973). Kraus y Miyamoto (1991) realizaron un estudio utilizando DNA mitocondrial para conocer las relaciones filogenéticas entre las familias de *Arteodactyla* ("pecorean group"); sin embargo, no les fue posible responder esta pregunta, por lo que proponen que hubo una rápida divergencia entre estas familias ocurrida aproximadamente hace 23 a 28 millones de años. También las relaciones filogenéticas dentro de la especie han sido confusas, actualmente se han descrito cinco subespecies (O'Gara 1978), de las cuales aún hay muchas dudas sobre su distribución y validez (Bailey 1932; Lee 1989, 1994).

Las Subespecies descritas de Berrendo

Las cinco subespecies de berrendo que se han reportado son : *A. americana mexicana*, (Merriam 1901), *A. a. peninsularis*, (Nelson 1912), *A. a. sonoriensis*, (Goldman 1945), *A. a. oregona*, (Bailey 1932), y *A. a. americana*, (Ord 1815). La validez de las subespecies es incierta (Bailey 1932) y existen muchas dudas sobre las áreas de distribución que cubren las cinco subespecies (O'Gara 1978; Hall 1981). La distribución de las subespecies propuesta por O'Gara se muestra en la Figura 1, mientras que la que sostiene Hall (1981) se observa en la Figura 2. En ambas figuras las líneas que separan a la subespecie *A. a. americana*, de *A. a. mexicana* y de *A. a. oregona*, son confusas. Hall (1981) considera a todas las poblaciones presentes en Nevada como *A. a. americana*, a pesar de que las ubicadas en el Norte se encuentran mucho más cercanas geográficamente a las poblaciones consideradas como *A. a. oregona*. Mientras que O'Gara (1978) considera la fragmentación actual de las poblaciones y describe como *A. oregona* aquellas que se encuentran al norte y que presentan conectividad con las poblaciones del sur de Oregon y Norte de California. Debido a estas consideraciones la distribución de las subespecies de berrendo propuesta por O'Gara parece la más congruente, por lo que para este estudio se utilizaron las áreas de distribución propuestas por O'Gara (1978).

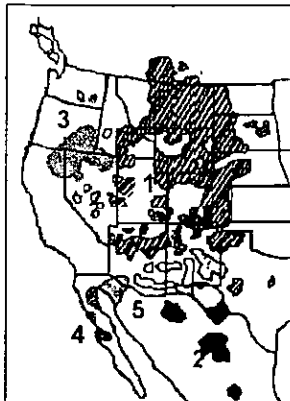


Figura 1. Distribución de las subespecies de berrendo según O'Gara 1978. Mapa modificado de O'Gara 1978, con la distribución del berrendo hasta ese año. 1. *A. a. americana*; 2. *A. a. mexicana*; 3. *A. a. oregona*; 4. *A. a. peninsularis*; 5. *A. a. sonoriensis*; ? se refiere a las áreas en donde no se sabe que subespecies son (en blanco).

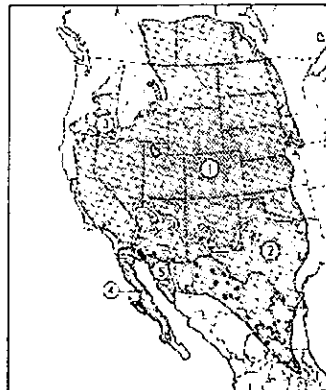


Figura 2. Distribución de las subespecies de berrendo según Hall 1981. Mapa modificado de Hall 1981, el área sombreada se refiere a la distribución original de la especie. El área con negro es la distribución reportada en México por González y Lafon (1993). Los números se refieren a las subespecies: 1. *A. a. americana*; 2. *A. a. mexicana*; 3. *A. a. oregona*; 4. *A. a. peninsularis*; 5. *A. a. sonoriensis*.

La validez de las subespecies se ha hecho aún más confusa ya que en los Estados Unidos de Norteamérica (EUA) a principios de siglo comenzaron a preocuparse por la drástica disminución de las poblaciones de berrendo (Mearns 1907; Nelson 1925; Anderson 1972; Burt 1938; Hoffmeister 1986), debido a esto a partir de 1920 se iniciaron programas para la recuperación del berrendo en donde llevaron a cabo diversas introducciones (Kitchen y O'Gara 1982; Nowak 1991). Entre 1936 y 1957 se translocaron más de 4000 berrendos solamente en Nuevo México (Russell 1964), en donde existen dos subespecies: *A. a. americana* y *A. a. mexicana* (O'Gara 1978; Hall 1981) por lo que las subespecies se encuentran altamente mezcladas (Lee *et al.* 1994). Las poblaciones del sur de Arizona recibieron individuos provenientes del norte de Arizona; al parecer los únicos sitios en Arizona en donde no se realizaron introducciones de individuos provenientes de otras zonas, son las poblaciones desérticas ubicadas en Cabeza Prieta Game Range (*A. a. sonoriensis*) y las de la zona llamada "Lake Havasu City" (O'Gara

1978). En Washington se introdujeron berrendos provenientes de Oregon y Nevada (O'Gara 1978). En México se han realizado muy pocas introducciones de berrendos y estas no han mezclado a las subespecies descritas. Durante 1967 se realizó la introducción de berrendos provenientes de EUA a la Isla Tiburón (Quiñones y Rodríguez 1979). Esta zona no pertenecía al área de distribución histórica del berrendo y todos los animales introducidos desaparecieron. En 1972 se realizó la reintroducción de un grupo de 52 berrendos (33 hembras y 19 machos) al Rancho Guadalupe en San Luis Potosí, cuando ya había desaparecido la especie de esta zona (Alcerreca, C. Y V. Sánchez. 1979; Ramírez 1985). Esta población también se extinguió. Durante 1988 se introdujeron 22 berrendos de Colorado a Sonora aunque éstos se mantienen en un encierro (Thompson-Olais 1994). La última introducción de berrendos que ha sido exitosa, fue la realizada durante 1996 y 1998 por Unidos Para la Conservación, A. C. (UPC) y el Departamento de Caza y Pesca de Nuevo México (New Mexico Department of Game and Fish) en la cual se liberaron un total de 150 individuos, provenientes de Carrizozo, Nuevo México. El transplante se hizo a Valle de Colombia, Coahuila, sitio en donde las poblaciones de berrendo también habían desaparecido. Los individuos liberados en Valle de Colombia se encuentran libres y actualmente se están monitoreando (Pallares 1999). Esta breve historia de las introducciones del berrendo en México nos muestra que las subespecies mexicanas no se han mezclado al menos por influencia humana. Es interesante señalar que la introducción de berrendos a Coahuila ha provocado muchas polémicas en cuanto a la subespecie a la que pertenecen ya que no se sabe si son representantes de *A. a. mexicana* o *A. a. americana*. Los individuos introducidos provienen de Carrizozo, zona que se considera como *A. a. mexicana* (Hall 1981), y considerando que los individuos liberados en Coahuila, se encuentran en un área donde los berrendos ya se han extinguido, puede haber la posibilidad de una futura conectividad entre estas poblaciones con las de Chihuahua.

La clasificación taxonómica por debajo del nivel de especie ha sido siempre un tema de controversia (Mayr 1982; Parkes 1982). Los criterios taxonómicos para identificar a las subespecies han variado a lo largo del tiempo (Barrowclough y

Flesness 1986). Varios taxónomos a principios del siglo XX han basado la clasificación de subespecies de mamíferos en la variación morfológica, que es resultado de la flexibilidad fenotípica por la subdivisión geográfica y/o temporal dentro del área de distribución de las especies (Houlded *et al.* 1999). Muchas de estas variaciones actualmente son consideradas como clinas (Wilson y Brown 1953; Mayr 1982; Melzer 1995). Dichas variaciones en las cuales se basa la clasificación de subespecies en mamíferos, muchas veces no están representando reservorios genéticos bien diferenciados, por lo que no están mostrando la diversidad genética total del taxón (Barrowclough y Flesness 1986). Debido a esto se ha propuesto que muchas de las subespecies descritas no reflejan la diversidad biológica actual (Barrowclough y Flesness 1986). Por ejemplo, hay 150 subespecies reconocidas del *Thomomys bottae*, una especie de tuza que habita en el Oeste de los EUA. Estudios genéticos recientes indican que las 11 subespecies de *Thomomys bottae* descritas en el desierto de Mohave al este de California, conforman únicamente dos unidades genéticamente definidas (Smith y Patton 1988).

Posiblemente las diferencias entre las poblaciones de berrendo también podrían explicarse como el resultado de una clina, es decir de variaciones graduales en las frecuencias fenotípicas, que reflejan las adaptaciones climáticas a lo largo de un rango de distribución extenso (Purves *et al.* 1992) y no como subespecies.

La situación del berrendo en México

A principios del siglo XIX las poblaciones de berrendo probablemente alcanzaban los 50 millones de individuos. Lewis y Clark, al cruzar las praderas de Norteamérica durante este periodo, estimaron que estas poblaciones eran iguales o mayores a las del bisonte americano (*Bison bison*) (Hall 1981; Yoakum 1980). Para 1929 éstas se redujeron drásticamente sumando apenas alrededor de 20,000 individuos (Yoakum 1980). Esta marcada disminución fue provocada principalmente por la fragmentación y pérdida del hábitat así como por la cacería no controlada (O'Gara 1978). Durante el mismo año en los EUA, se iniciaron programas de manejo para recuperar las poblaciones de la especie, gracias a lo cual hoy se estima que hay más de un millón de individuos en territorio norteamericano y canadiense (Yates 1986; Cadieux 1987).

En México las poblaciones de berrendo ocuparon una amplia distribución que abarcaba desde los estados fronterizos del norte, en donde eran muy abundantes, hasta las planicies del norte del Valle de México (Leopold 1959). Se tienen evidencias de que probablemente llegaban hasta la región árida de Oaxaca, según estudios del Códice Colombino (Alvarez y Smith 1966). Actualmente su distribución se restringe sólo a tres zonas: el desierto del Vizcaíno en Baja California; el desierto del Pinacate y algunas áreas aledañas en Sonora, y en distintas zonas de Chihuahua (González-Romero y Lafón Terrazas 1993). En los monitoreos realizados durante 1984 (González-Romero y Lafón Terrazas 1993), se llegó a la conclusión que la población mínima estimada en Chihuahua no alcanzaba más de 307 individuos. En Sonora, al este de la Sierra del Pinacate, la población en el mismo año fue calculada alrededor de 63 individuos. La estimación para el estado de Baja California Sur, en el desierto del Vizcaíno, fue de 64 berrendos. Por lo tanto, la población total a nivel nacional, no excedió los 434 animales, lo que ha dado lugar a ser declarada en peligro de extinción (USDI 1976; Diario Oficial 1994; IUCN 1996). González-Romero y Lafón (1993) reportaron que la población de berrendo, en los últimos sesenta años, había menguado en un 81.9%. En el caso del Vizcaíno durante 1993 se reportaron 175 berrendos, pero a pesar de ser una cifra mayor a la del los monitoreos anteriores

aún sigue siendo muy baja (Cancino *et al.* 1994). La drástica disminución de las poblaciones de berrendo en México ha sido resultado de la pérdida de hábitat por el aumento de las zonas urbanizadas y de las actividades agrícolas, así como del impacto del sobrepastoreo y de la cacería ilegal desde 1922. Por otro lado, al ser las poblaciones de berrendo en México tan pequeñas, potencialmente son sujeto a de declinaciones rápidas en número y de extinciones locales debido a problemas genéticos provocados por: (i) la pérdida de variabilidad, la cual se traduce en la disminución de la heterocigosis a nivel individual mientras que a escala poblacional consiste en los tipos de alelos presentes y sus frecuencias entre todos los miembros de esta, conformando el "pool" genético (genetic pool) (Meffe y Carrol 1997), (ii) la endogamia, que se da debido a que los organismos presentan niveles muy limitados de colonización y dispersión, por lo que se da un aumento en la homocigosis de las poblaciones (Eguiarte 1986; Purves 1992), (iii) la deriva génica, la cual depende del tamaño efectivo poblacional (N_e) y aumenta conforme este sea menor, cuyos efectos son el cambio en las frecuencias alélicas al azar, y el que eventualmente se fije alguno de los alelos (Eguiarte 1986), y (iv) las fluctuaciones demográficas no controladas por variaciones aleatorias de la tasa de mortalidad y de natalidad (Allendorf y Leary 1986). De la misma manera, los cambios ambientales, definidos por variaciones en la depredación, la competencia, las enfermedades, la cacería furtiva, la obtención del alimento y las catástrofes naturales son igualmente factores que han afectado a la especie (Primack 1993), así como las actividades productivas y crecimiento de zonas urbanas (Meffe 1997). El resultado de esto se puede traducir en una limitación de la capacidad de las poblaciones de berrendo para responder a largo plazo a los cambios del medio (Allendorf y Leary 1986). También es importante señalar que la mayoría de las poblaciones de berrendo en México se encuentran prácticamente en el límite del tamaño mínimo viable poblacional (MVP). El MVP se define como una estimación del número mínimo de organismos de una especie en particular, que son capaces de conformar una población viable (Boyce 1992), el cual se ha reportado que para poblaciones de organismos poligámicos, debe de ser mayor a 50 individuos en tamaño efectivo poblacional (N_e) (Foose *et al.* 1986). Aunque este sea mayor a

los 50 individuos y menor a los 100 en N_e , da lugar a poblaciones muy vulnerables a extinciones, puesto que se encuentran sujetas a procesos demográficos aleatorios como catástrofes naturales, epidemias y cambios en las proporciones de machos y hembras (Gilpin y Soulé 1986). Para ungulados se reporta que el tamaño mínimo viable debe de ser entre los 50 a 500 individuos (Berger 1990). El tamaño mínimo viable poblacional, MVP, depende básicamente de los siguientes factores: (i) el tipo y la cantidad de diversidad genética que hay que preservar; (ii) el periodo de tiempo por el cual la población será manejada; (iii) la probabilidad de que la población sobreviva a este periodo de tiempo; y (iv) las características biológicas de la población (Soulé y Gilpin 1986). A partir de la necesidad de establecer reservas ecológicas lo suficientemente grandes para mantener una variabilidad poblacional mínima surge el criterio de calcular el tamaño del MVP necesario para mantener el 90% de la heterocigosidad para 200 años, para lo que se requiere hacer modelos de crecimiento poblacional a partir del número inicial de la población y la capacidad de carga durante un periodo de 200 años (Ballou y Foose 1996). Por lo que surge la regla de los 90%/200 años, este es un criterio común para determinar cuánta diversidad se requiere y por cuánto tiempo debe de mantenerse (Soulé y Gilpin 1986; Meffe 1997). Debido a esto, para establecer programas de manejo para recuperar las poblaciones de berrendo en nuestro país, es necesario aplicar tanto modelos demográficos que nos permitan calcular el MVP, así como contar con información genética de las poblaciones, mediante las cuales será posible plantear acciones de manejo a largo plazo.

La importancia del berrendo en la conservación

Debido a lo que se ha mencionado anteriormente, es fundamental llevar a cabo estrategias de manejo del berrendo en nuestro país, para reducir las probabilidades de extinción de sus poblaciones en México.

El berrendo es una especie insignia, que se define como "una especie a la cual la gente se refiere de una manera emocionalmente positiva, en especial especies interesantes o atractivas, que resultan carismáticas" (Meffe y Carroll 1997). Por lo que el berrendo puede impulsar la conservación de muchas otras

especies que habitan en los pastizales y ambientes desérticos, además de ser un elemento esencial para lograr una buena administración de dichos pastizales. Esto último se debe a que se ha demostrado que se alimentan de plantas tóxicas para el ganado, por lo que fomentan el crecimiento de las especies preferidas por este (O'Gara 1978). Asimismo, al alimentarse de una gran diversidad de plantas, disminuyen la dominancia de algunas de ellas, aumentando de esta manera la diversidad vegetal en estos hábitats (Koerth *et al.* 1984). Esto se ve potenciado por el hecho de que en ciertas épocas del año, los berrendos se reúnen en grupos muy grandes, alcanzando durante el invierno hasta 1000 individuos (Yoakum 1978), además de que llevan a cabo movimientos estacionales muy amplios, entre 40 y 300 km (Martinka 1966; Lee 1998). Esto hace que su influencia sea muy intensa por lo que aumenta sus efectos sobre el ecosistema. Todas estas características tienen como consecuencia que actúen como elemento estabilizador de los patrones estructurales y de diversidad originales de los pastizales nacionales. Debido a estos factores podría considerarse como una especie clave, la cual se define como: "una especie cuyo impacto en su comunidad o ecosistema, es muy grande, y desproporcionalmente grande en relación con su abundancia" (Power *et al.* 1996). El hecho de que el berrendo requiera grandes áreas de pastizales naturales o relativamente conservados, hace que esta especie sea una especie paraguas; por medio de la cual se pueden conservar muchas otras especies que habitan este ecosistema (Meffe y Carroll 1997). Por ello, además de ser un elemento crítico para la conservación de los pastizales, también son un factor importante para el manejo racional de éste, lo que permite realizar una mejor explotación ganadera siempre y cuando se lleve a cabo de manera responsable. También representa una importante opción para el desarrollo sustentable del país como recurso cinegético, traducido en un aprovechamiento limitado (INE 1997).

Las ESU como unidades de conservación

Una preocupación fundamental en la conservación y manejo es la pérdida de la diversidad biológica, expresada como la diversidad de especies a nivel de

ecosistemas, o la diversidad genética, a nivel de especies (Shaffer 1981; Lande 1988; Leberg 1991; Meffe y Carroll 1997). La tasa de cambio evolutivo en una población es proporcional a la cantidad de diversidad genética disponible, según el Teorema Fundamental de la Selección Natural (Fisher 1930). Cuando la diversidad genética en una población disminuye, se reduce el potencial evolutivo de la población para responder a los cambios del ambiente por lo que la pérdida de diversidad genética reduce las opciones evolutivas en el futuro (Meffe y Carroll 1997). Debido a esto, una de las bases de la biología de la conservación es la de conservar el potencial evolutivo (Meffe y Carroll 1997; 1993), por lo que es indispensable conservar la diversidad genética conforme a un estatus taxonómico (Nielsen 1995).

El aislamiento de las poblaciones por fragmentación del hábitat entre otros factores, representa una de las principales preocupaciones para establecer estrategias de manejo de especies en peligro de extinción. La pérdida de variación genética en poblaciones aisladas de grandes mamíferos, se ve potenciada no sólo por la baja densidad poblacional a la que en general se ven sujetas sino por la necesidad de grandes áreas para establecer estrategias de recuperación (Allendorf 1997). Debido a esto los programas de introducción y de reintroducción cada vez se vuelven más necesarios para la conservación de especies en peligro de extinción en sus hábitats naturales (Ryder 1986; Soulé 1980). Aunque, antes de implementar estas acciones, se ha considerado crucial identificar las Unidades Evolutivas Significativas (ESU), (Ryder 1997; Woodruff 1989; Waples 1991; Moritz 1994).

El término ESU surgió a partir de la dificultad para definir subespecies, ya que generalmente hay pocas bases evolutivas que permiten identificar unidades taxonómicas por debajo del nivel de especie, las cuales puedan ser incorporadas a leyes de manejo y conservación de especies en peligro o amenazadas (Ryder 1986; Ryder y Fleischer 1996). Una ESU identifica un conjunto geográfico discreto de una población históricamente aislada (Ryder 1986). Inicialmente se consideraba que debería incorporar información morfométrica, historia natural, datos del rango de distribución y datos de información generada a partir del

análisis de DNA mitocondrial y nuclear (Ryder 1986). Teorías subsecuentes han sugerido un criterio genético para reconocer las ESU (Vogler y DeSalle 1994) utilizando también la información generada por las distancias genéticas (Bowen *et al.* 1991; Dizon *et al.* 1992). Sin embargo, ha sido difícil llegar a un consenso de lo que constituye un nivel significativo de divergencia a nivel de DNA (Vogel y DeSalle 1994; Moritz 1994; Pennock y Dimmick 1997). Por lo tanto, se ha considerado como ESU la divergencia en las secuencias y la filogenia de los alelos del DNA mitocondrial y nuclear, los cuales permiten inferir el flujo génico en un periodo largo de tiempo. Lo anterior ha sido la base para identificar las ESUs conforme al siguiente criterio: cuando los linajes del DNA mitocondrial y nuclear son recíprocamente monofiléticos (Moritz 1994b). Las poblaciones demográficamente independientes, que presentan diferencias significativas únicamente a nivel de las frecuencias alélicas en un *loci* nuclear o mitocondrial son llamadas Unidades de Manejo (MUS; Moritz 1994b). Estas representan un grupo de poblaciones que son demográficamente independientes, mientras que las ESU se refieren a un conjunto de poblaciones históricamente aisladas que juntas comprenden toda la diversidad evolutiva del taxón (Moritz 1994b; Ryder 1986). Moritz (1994) sugiere esta distinción de dos tipos de unidades de conservación, dentro de la perspectiva de la biología de la conservación en donde se pretende conservar procesos, por lo que se considera como una ventaja mover individuos dentro de una ESU; sin embargo, juntar individuos de distintas ESU se debe evitar ya que se están afectando procesos evolutivos (Moritz 1996; Woodruff 1989). Recientemente se han criticado las bases para identificar las ESU únicamente desde criterios puramente genéticos establecidas por Moritz (1994a, b). Paetkau (1999) retoma la propuesta de Ryder (1986) en donde considera que para identificar una ESU es importante basarse en muchos más recursos que la información esencialmente genética.

Estudios genéticos de berrendo

Se han realizado algunos estudios para conocer las diferencias subespecíficas del berrendo mediante el análisis de RFLPs de la NADH deshidrogenasa región 2

del gene (ND-2) del DNA mitocondrial (Lee 1992); sin embargo, no se han incluido muestras de individuos representantes de Baja California (Vizcaino) y Chihuahua, además de que estos análisis se realizaron utilizando enzimas de restricción y no secuencias, las cuales presentan una mayor resolución que los análisis a partir de enzimas de restricción (Nyakaana y Arctander 1999). En su estudio, Lee *et al.* (1994) establece que existen cuatro subespecies: *A. a. americana*, *A. a. peninsularis*, *A. a. sonoriensis* y *A. a. mexicana*, a pesar de haber encontrado muy poca variabilidad genética en las poblaciones de berrendo (9 haplotipos) y haber utilizado una técnica que permite una resolución limitada, como es el caso de las enzimas de restricción (Nyakaana y Arctander 1999). Considerando que no se analizaron muestras de individuos representantes de *A. a. peninsularis* y de *A. a. mexicana*, en la sección correspondiente a Chihuahua, únicas poblaciones que no han sufrido introducciones de individuos provenientes de otras localidades, resulta difícil aceptar sus conclusiones respecto a la existencia y arreglo de las subespecies y por supuesto no podemos basarnos en este estudio para la toma de decisiones en cuanto a planes de manejo, recuperación y conservación del berrendo en México. Además, es claro que el marcador molecular que utilizó (ND-2) no se ha descrito en la literatura como el más apropiado para establecer relaciones filogenéticas por debajo del nivel de especie. El marcador que se describe como el más apropiado para este tipo de estudios es la región control del DNA mitocondrial (Kocher *et al.* 1989; Meyer 1994; Ramey 1995; Kretzmann 1996; Vilà 1997). Por esto se escogió para este trabajo una sección de este marcador molecular, la cual permita analizar las relaciones filogenéticas del berrendo así como comparar los resultados obtenidos en este estudio con otras investigaciones similares a esta en mamíferos.

El D-loop como marcador molecular para conocer las diferencias filogenéticas a nivel intraespecífico

El objetivo de este estudio es conocer la diferenciación genética de las poblaciones de berrendo, así como entender su reciente historia evolutiva. Para esto se utilizó como marcador molecular la Región Control (D-loop) del DNA mitocondrial.

El DNA mitocondrial es una molécula circular de aproximadamente 16,400 pares de bases (bp) en los mamíferos (Anderson *et al.* 1981). Se ha propuesto que el DNA mitocondrial se hereda exclusivamente del óvulo materno (Gyllensten *et al.* 1985; Lansman *et al.* 1983), y al parecer no presenta recombinación como lo hace el DNA nuclear (Brown 1985). Sin embargo, aún no se conoce de manera precisa qué es lo que ocurre con las mitocondrias paternas cuando el esperma penetra al óvulo (Hopkin 1999), y hay dudas sobre la posible existencia de recombinación en el DNA mitocondrial (Strauss 1999; Awadalla *et al.* 1999).

El DNA mitocondrial ha sido descrito como lo más cercano al marcador molecular ideal para realizar estudios a nivel intraespecífico en vertebrados (Avisé *et al.* 1979, 1986; Avisé y Lansman, 1983; Wilson *et al.* 1985; Harrison, 1989, Ramey, 1995), debido a que presenta una tasa de mutación que es de 5 a 10 veces más rápida que el DNA nuclear (Brown *et al.* 1979) además de poseer una zona aún más variable, la "región control" (Fig. 3), cuyos bloques llegan a tener una tasa de mutación de 4 a 5 veces mayor que el resto de la molécula de DNA mitocondrial (mt DNA) (Aquadro y Greenberg 1983; Greenberg *et al.* 1983; Horai y Hayasaka 1990; Brown *et al.* 1993; Vigilant *et al.* 1993, 1994). Se ha reportado que el D-loop (bucle de desplazamiento), el cual se encuentra en la región control (Fig. 3), en el caso de los mamíferos presenta mayor variación en los dominios izquierdo y derecho que lo forman, que en su región central (Saccone *et al.* 1991).

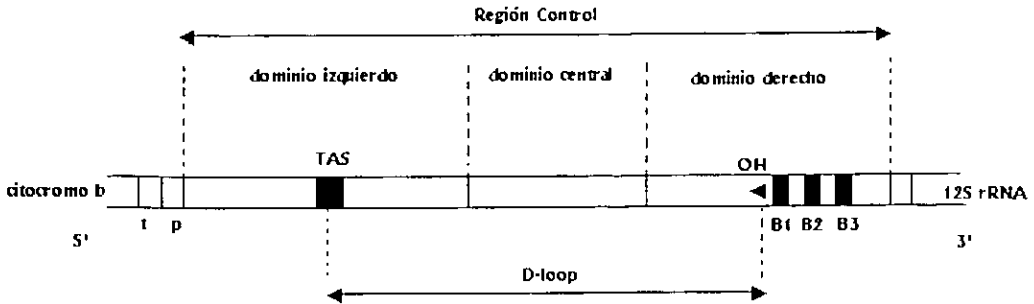


Figura 3. Diagrama de la región control del DNA mitocondrial de mamíferos, mostrando los dominios más variables, izquierdo y derecho.

El D-loop comprende desde el sitio de iniciación O_H de la hebra pesada (Heavy strand) de replicación a la secuencia asociada a la acción de término (TAS, termination-associated sequence). (t) $tRNA^{thr}$ y (p) $tRNA^{pro}$. En el dominio izquierdo se encuentran tres bloques de secuencia conservados: CSB1 (B1), CSB2 (B2) CSB3 (B3). El dominio central está implicado en el proceso de regulación de la replicación de la hebra pesada, por lo que es menos variable (Saccone et al. 1991; Taberlet, 1996).

Debido a estas razones el D-loop es el marcador molecular que más comúnmente se utiliza para conocer las relaciones filogenéticas intraespecíficas (Kocher et al. 1989; Meyer 1994; Ramey 1995; Kretzmann 1996 y Vilà 1997) y para mostrar la estructura filogeográfica dentro de distintas especies de vertebrados (Hillis et al. 1990; Baker et al. 1993; Brown et al. 1993; Wenink et al. 1993, 1994; Maldonado et al. 1995; Allendorf 1996; Lukiart y Allendorf 1996; Pope et al. 1996; O'Corry-Crowe et al. 1997; Brown 1999; Matthee y Robinson 1999 y Tarr y Fleischer 1999).

OBJETIVOS

Objetivo General

El presente estudio tiene como objetivo conocer la filogenia a nivel intraespecífico de las poblaciones de berrendo, así como la estructura genética y filogeográfica de estas, a partir del análisis de las secuencias de los primeros 500 pb del D-loop. Esto nos permitirá generar recomendaciones para la conservación y manejo de la especie.

Objetivos Particulares

1. Conocer la estructura genética entre las nueve regiones geográficas muestreadas.
2. Conocer si las poblaciones analizadas presentan una estructura filogeográfica.
3. A partir del análisis de los linajes femeninos inferir si efectivamente las poblaciones sufrieron un cuello de botella que afectó significativamente la variabilidad genética de la especie como lo han propuesto otros autores.
4. A partir de los análisis obtenidos generar recomendaciones para los programas de recuperación de la especie.

HIPÓTESIS

1Ho) La drástica disminución de las poblaciones a principios del siglo XX no habrá afectado la variación genética de la especie.

1Ha) La variación de la especie se habrá reducido considerablemente debido a la drástica disminución de las poblaciones a principios del siglo XX.

2Ho) El aislamiento presentado en las poblaciones de berrendo en Norteamérica no afectará la estructura genética de estas.

2Ha) Debido al reciente lapso de aislamiento de las poblaciones de berrendo en Norteamérica, la acumulación de mutaciones durante este periodo no será suficiente para que sean distinguidas como reservorios genéticos aislados y por lo tanto la estructura genética que muestren no será considerablemente alta comparada con otros mamíferos.

2Ha') A pesar de que el tiempo de aislamiento que presentan las poblaciones de berrendo en Norteamérica es reducido en términos evolutivos, la acumulación de mutaciones durante este periodo será suficiente para que sean distinguidas como reservorios genéticos aislados y por lo tanto la estructura genética que muestren será considerablemente alta comparada con la de otros mamíferos.

3Ho) La clasificación propuesta para las subespecies de berrendo no reflejará la diversidad genética total de la especie ni la filogenia intraespecífica.

3Ha) La clasificación propuesta para las subespecies de berrendo reflejará la estructura y diversidad genética total de la especie así como su filogenia intraespecífica.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención de muestras

Dado que el berrendo es una especie considerada en peligro de extinción en México (Diario Oficial, NOM-ECOL 1994) fue necesario obtener DNA a partir de una gran variedad de tejidos que se colectaron en el campo sin perturbar a las poblaciones. Este tipo de tejidos incluyeron: pelo, cuernos, huesos, piel seca e incluso excretas que nos proporcionaron los dueños de los ranchos y ejidos así como distintas instituciones, aparte de las muestras que colectamos en el campo durante varias salidas realizadas. Las muestras obtenidas de distintas poblaciones de los EUA fueron enviadas por instituciones tales como el Departamento de Caza y Pesca de Arizona (AG&FD), el de Nuevo México (NMG&FD) y el Laboratorio Forense Nacional de Pesca y Vida Silvestre (National Fish and Wildlife Forensics Laboratory). En el caso de Nuevo México la mayoría de las muestras fueron colectadas durante las capturas realizadas en Carrizozo.

La colecta de muestras en el campo se inició en el verano de 1996 en La Perla, Chihuahua, en donde se obtuvieron tejidos frescos (cartílago) de dos individuos vivos capturados por habitantes locales, así como muestras de huesos (restos berrendo muerto) que se encontraron en el campo o que tenían guardadas en los ranchos así como excretas que se colectaron en el campo. Durante febrero de 1997 se realizó un viaje al desierto del Vizcaíno con el objetivo de colectar muestras de cartílago de las crías que serían capturadas por parte de la Reserva de la Biosfera del Vizcaíno. Desgraciadamente sólo localizamos una cría muerta, de la cual se tomaron muestras de distintos tejidos (músculo, hígado y cartílago). En enero de 1997 se colectaron 45 muestras de cartílago a partir de individuos de Carrizozo Nuevo México, y durante las capturas que se realizaron para trasladar un grupo de berrendos a Valle de Colombia Coahuila. Esta captura formó parte del programa "El Retorno del Berrendo", de Unidos para la Conservación en colaboración con el Departamento de Caza y Pesca de Nuevo México. Se lograron capturar 90 berrendos y se obtuvieron muestras de cartílago de 45 individuos. Posteriormente en agosto de 1998 se realizó nuevamente un viaje a Chihuahua

que formó parte del programa de evaluación de hábitat del berrendo en el estado. Durante esta salida se colectaron muestras de huesos, excretas y cuernos que fueron halladas en el campo, así como de tejido fresco de una cría muerta que había sido capturada en el área de El Sueco (al norte de la ciudad de Chihuahua).

Cuarenta y seis muestras de poblaciones de EUA y Sonora fueron enviadas por el National Fish and Wildlife Forensics Laboratory, y muestras de excretas de individuos de la subespecie *A. a. sonoriensis* (provenientes de Arizona) fueron proporcionadas por el Arizona Game and Fish Department. En el apéndice A se muestran los sitios de colecta y tamaños de muestras obtenidas, así como los colectores de las mismas.

Las muestras de cartílago se obtuvieron cortando medio centímetro de tejido de la oreja del individuo, utilizando un bisturí y unas pinzas estériles. En el caso de las capturas donde se obtuvieron muestras de muchos ejemplares, el material se limpió utilizando etanol al 90% y cloro comercial, la hoja del bisturí se cambió por una estéril, para ser utilizado nuevamente en la obtención de tejido del siguiente ejemplar. Se obtuvieron las muestras de sangre utilizando vacutainers con EDTA (Etileno Diamil Tetracetato) y se mantuvieron en refrigeración. De los individuos que se encontraron muertos se obtuvieron muestras de hígado, cartílago y músculo. Se cortó aproximadamente un centímetro cúbico del tejido.

Las muestras obtenidas de tejido fresco se colocaron en tubos eppendorff con una solución con 2 volúmenes de DMSO (Dimetil Sulfóxico) al 20%, 0.25M EDTA, 100 Mm tris pH 7.5 y NaCl a saturación. Los tubos se envolvieron con parafilm y se colocaron en una hielera hasta contar con refrigeración. En caso de estar en condiciones extremas de calor o no contar con suficiente hielo, los tubos se envolvieron con papel aluminio y los se colocaron en un lugar fresco. Esto no afectó el proceso de obtención y amplificación del DNA.

Las muestras de excretas se colocaron en sobres de papel y se mantuvieron en un lugar seco, el pelo se guardó en bolsas de plástico y fue refrigerado lo más pronto posible. Los cuernos, huesos y piel seca, se colocaron en bolsas de plástico y se mantuvieron en un lugar seco.

Parte de las muestras de México fueron proporcionadas por instituciones tales como La Reserva de la Biósfera del Vizcaino, y el INE (SEMARNAP).

Se obtuvieron muestras de 9 regiones geográficas distintas (California, Chihuahua, Colorado, Montana, Nuevo México, Nevada, Sonora, Vizcaino y Wyoming; Fig. 4). Las muestras obtenidas de cada región geográfica corresponden a individuos de una a nueve poblaciones distintas.

Extracción del DNA

El trabajo de laboratorio se realizó en el Centro de Reproducción de Especies en Peligro de Extinción (CRES) de la Sociedad Zoológica de San Diego. Todas las muestras obtenidas en México contaron con los permisos de exportación de CITES (Número: Mex 07610, Mex 06612, Mex 06672, Mex 06542, Mex 07027) y de importación por parte de EUA (No. 99US727416/9).

Se extrajo DNA a partir de tejido fresco (sangre, cartilago, hígado y músculo) realizando la lisis celular en SDS (dodecil sulfato de sodio) 0.5%, seguida del método del Fenol-Cloroformo (Maniatis *et al.* 1982), posteriormente se realizó la precipitación en etanol al 70%. El DNA precipitado fue resuspendido en 1X TE y se mantuvo en refrigeración a -20°C .

El DNA a partir de pelo se obtuvo cortando los folículos de tres pelos por individuo, estos se lavaron con agua desionizada y doblemente esterilizada, y fueron sumergidos en 200 μl de InstageneTM matrix y se incubaron durante toda la noche a 55°C . Posterior a la incubación, la muestra se colocó en el vortex por 20 segundos y nuevamente se incubó a 100°C por ocho minutos y se colocó en el vortex por 20 segundos. La muestra se centrifugó por tres minutos a 14, 000 X G y 10 μl del sobrenadante se utilizaron para la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), (Pistacchi 1998).

Se extrajo DNA a partir de cuernos, huesos, excretas y tejido viejo utilizando QIAamp Blood Kit and QIAamp Tissue KIT (QIAGEN®, QIAamp ®), y modificando la técnica según el tejido, a partir de recomendaciones obtenidas en Kohn *et al.*(1995) y Boom *et al.* (1990). En el caso de los cuernos se obtuvieron aproximadamente 1.09 gramos de la parte interior del cuerno epidérmico y se

procesaron las muestras siguiendo instrucciones del QIAamp Kit, aunque variando la concentración de proteinasa K a 400 $\mu\text{g/ml}$ y el buffer ATL a 400 μl , la muestra se colocó en el vortex por 10 minutos y se siguieron las instrucciones del protocolo.

Para obtener DNA a partir de excretas se colocaron de dos a tres excretas (que se encuentran en forma de pellets) en un tubo de 5 ml y se añadió 1 ml de agua, previamente esterilizada y sometida a luz UV por 20 minutos, inmediatamente se colocó la muestra en el vortex por 1 min y se tomaron 500 μl del agua (que ahora contiene parte de la capa de mucosa que se encontraba adherida al pellet) tratando de evitar tomar fragmentos sólidos, en caso de hacerlo, la muestra se centrifugó por cinco segundos a 14, 000 X G y se tomó todo el sobrenadante, este se colocó en un tubo ependorff de 2 ml, y se añadieron 500 μl del buffer AL (presente en el kit) y 40 μl de proteinasa K, la muestra se colocó por 20 minutos en una bloque de calentamiento (heat block) a 70°C y se continuó con las instrucciones del QIAamp Kit ,de extracción de DNA a partir de tejidos.

En el caso de piel seca, adherida a huesos y médula se siguieron las instrucciones del QIAamp Kit para extracción de tejidos, tomando 1 gr. de tejido para cada muestra. En la tabla 1 se muestra el número de muestras y la región de colecta, en apéndice A se muestra el tejido a partir del cual se extrajo DNA de cada muestra.

El DNA precipitado se colocó en agua desionizada, doblemente esterilizada y previamente sometida en luz UV por al menos 20 min. y se mantuvo a -20°C.

Algunas de las muestras fueron DNA que ya se había extraído anteriormente en CRES y que se encontraba en la colección del Zoológico de San Diego (SND ZOO) en CRES, en el apéndice A.

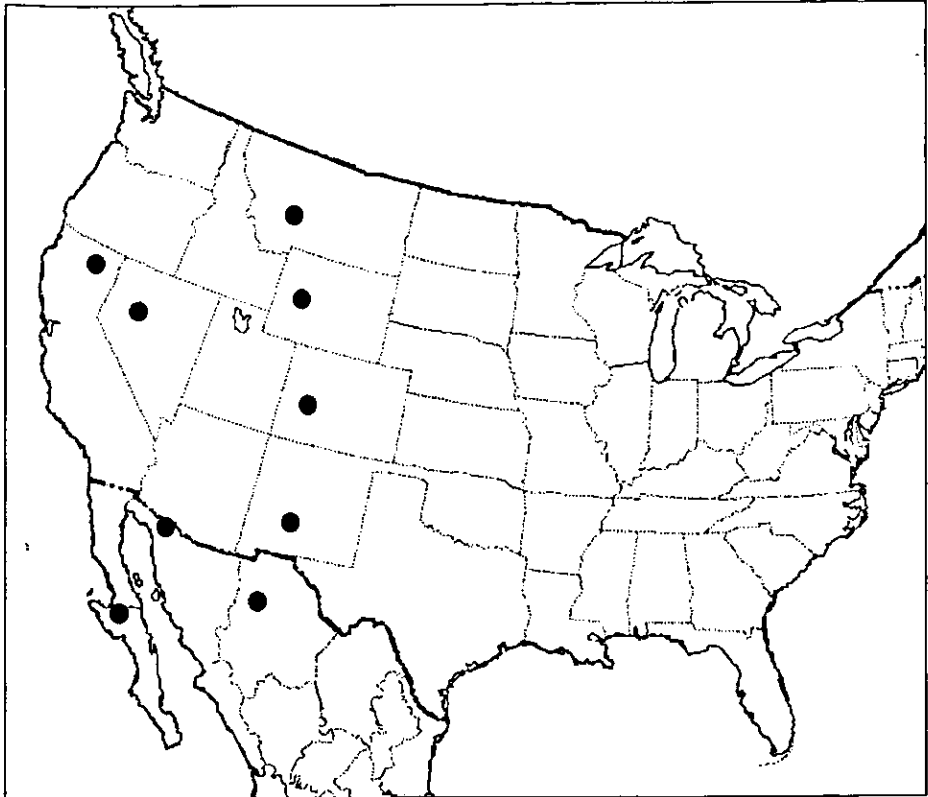


Figura 4. Sitios de colecta de las muestras utilizadas para este estudio.

Tabla 1. Listado de muestras a partir de las cuales se obtuvo DNA para este estudio.

Región geográfica y subespecie descrita.	No. de muestras
California (CA), <i>A. a. oregona</i> .	5
Chihuahua (CH), <i>A. a. mexicana</i> .	7
Colorado (CO), <i>A. a. americana</i> .	10
Montana (MO), <i>A. a. americana</i> .	8
New Mexico (NM), <i>A. a. mexicana</i> , <i>A. a. americana</i> .	19
Nevada (NV), <i>A. a. oregona</i> .	5
Sonora (SN), <i>A. a. sonoriensis</i> .	17
Vizcaino (VZ), <i>A. a. peninsularis</i> .	16
Wyoming (WY), <i>A. a. americana</i> .	6
TOTAL	93

Amplificación de la Región Control del DNA mitocondrial

La amplificación por medio de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) de los primeros 500 bp de la región control (D-loop) del DNA mitocondrial se realizó utilizando oligonucleótidos (primers), diseñados a partir de la secuencia del DNA mitocondrial bovino (Anderson *et al.* 1982) y de las secuencias conservadas del D-loop de cérvidos (Douzery y Randi 1997). Los primers obtenidos se muestran a continuación:

L1376 (5'-CAC TAT CAA CAC CCA AAG CTG AAG-3')

H16498 (5'- ATG GCC CTG AAG AAA GAA CCA GAT-3')

Las reacciones para el PCR se hicieron en un volumen total de 30 μ l, conteniendo 50-75 ng de DNA, 0.4 μ M de cada primer, 0.75 unidades de Ampli taq Gold (Perkin Elmer), 1X de Buffer de PCR (10 mM Tris -HCL, pH 8.3, 50 mM KCl, 1.5 mM MgC₂, 0.01% (w/v) gelatin) (Perkin Elmer), y 40 μ M de cada dNTP. Las reacciones se llevaron a cabo en el Termolyne Temp/Tronil termocycler programado para realizar una desnaturalización inicial por 10 min. a 94°C seguida de 40 ciclos de : 1 min. a 94°C, 1 min. a 47 °C y 1.2 min. a 72°C . Para cada PCR se realizó una reacción control, para verificar que no hubiese contaminación. El control consistió en una reacción de PCR en donde se colocaron todos los reactivos en la misma concentración descrita, pero no se añadió el DNA. Cinco micro litros de cada reacción de PCR, incluyendo el control, se corrió en un gel de agarosa al 2%, con bromuro de etidio para verificar que la amplificación fuera exitosa y que no hubiese contaminación, se utilizó una escalera (lader de 100b p), (Fig. 5). Los 25 μ l restantes de cada reacción de PCR se corrieron en un Gel de agarosa (Sea Plaque®), las bandas de 500 bp (Fig. 6) se cortaron a partir del gel y se aislaron utilizando Ultra Clean 15 DNA purification Kit (MO BIO Laboratories, Inc.)

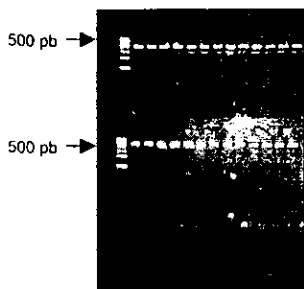


Figura 5. Corrimiento del PCR en un gel de agarosa, Al 2%, utilizando una escalera (ladder) de 100 bp.

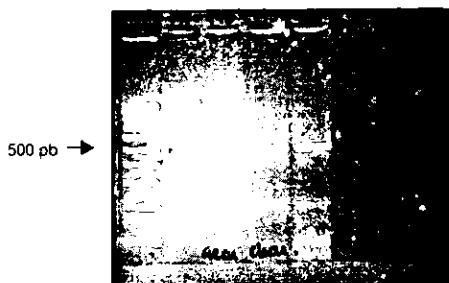


Figura 6. Corrimiento del PCR para seleccionar los fragmentos de 500pb. (Gene Clean), en un gel de agarosa al 2%, utilizando una escalera (ladder) de fragmentos de 100 pb.

Secuenciación

De 30 a 40 ng del producto purificado se utilizaron para realizar la reacción de secuenciación usando el ABI^{PRISM} Dye Terminator Cycle Sequencing Kit (Terminator Ready Rxn Mix with AmpliTaq® FS DNA polimerasa) y se utilizaron los mismos primers anteriormente mencionados (por lo que estos no son fluorescentes). Por cada muestra se realizaron dos reacciones de secuenciación para obtener la secuencia que va de 3'-5' y la de reversa que va de 5'-3' de los primeros 500 bp del D-loop. Las reacciones se secuenciaron y analizaron usando el secuenciador automático: Applied Biosystems Strech 373 DNA Sequencer (ABI^{PRISM}®). Para cada individuo se obtuvo el electroferograma de ambas secuencias al menos una vez. En caso de encontrar inserciones/delecciones se repitió el proceso desde el primer PCR pero utilizando como polimerasa la Pfu turbo DNA polymerase (STRATAGENE®) y se secuenció la muestra nuevamente.

Las dos secuencias obtenidas por muestra (3'-5' y 5'-3') se alinearon y editaron en Mac Vector TM (6.5 Grupo de Biología Molecular de Oxford) para verificar errores. El alineamiento y la determinación de las secuencias consenso por cada muestra se realizó utilizando el mismo programa. Para rectificar que las secuencias obtenidas fuesen verdaderamente a partir de DNA mitocondrial se realizó una búsqueda de similitud de secuencias (Blast), en el GenBank. Las 93 secuencias obtenidas se alinearon utilizando el programa Clustal W versión 1.4.

Análisis Filogenéticos

Las 93 secuencias revisadas de cada individuo se alinearon utilizando el programa Clustal V (Higgins *et al.* 1992). Se determinó el número de haplotipos utilizando PAUP. Dos de los haplotipos hallados se alinearon con 4 secuencias de grupos externos, obtenidas a partir de una búsqueda con altos niveles de similitud "Gapped Blast" (Altschul *et al.* 1997).

Para la reconstrucción filogenética se utilizó parsimonia sin peso (unweighted parsimony approach). PAUP (Análisis filogenéticos a partir del uso de parsimonia) versión 4.0 b3a para PC, se usó para determinar los árboles más parsimoniosos (Swofford 1999) a partir de una búsqueda heurística. La confianza de cada nodo fue obtenida a partir de 100 series de muestreos en bootstrap de los datos (Felsenstein 1985). Como una aproximación filogenética alternativa, se hicieron análisis utilizando máxima verosimilitud (maximum likelihood; Hasegawa *et al.* 1991). Este análisis pretende encontrar cual es el árbol que presenta el mayor parecido (likelihood) de las secuencias dando un modelo probabilístico de la evolución de estas. También se obtuvo un árbol filogenético utilizando Neighbour Joining (Saitou y Nei 1987), a partir del método de distancia de dos parámetros de Kimura (1981). Todos estos análisis se realizaron utilizando PAUP 4.0 b3a para PC. Los árboles obtenidos, se editaron utilizando el software TREEVIEW (win 32) versión 1.6.1 (Page 1996).

La proporción de transiciones y transversiones (TS:TV) se obtuvo utilizando el programa PAUP 4.0., a partir de la búsqueda heurística de los árboles más parsimoniosos, de los cuales se encontraron 4 y en base a uno de estos se calculó la TS:TV.

Variabilidad y Estructura genética

Se calculó la diversidad nucleotídica (π), que es un índice molecular definido como la probabilidad de que dos nucleótidos homólogos aleatoriamente escogidos sean diferentes, este es equivalente a la diversidad genética pero a nivel nucleotídico (Tajima 1983; Nei 1987, Nei y Miller 1990).

Se obtuvo la diversidad haplotípica (HT) o diversidad genética, que es equivalente a la heterocigocidad esperada para datos diploides. Esta se define como la probabilidad de que dos haplotipos escogidos aleatoriamente sean diferentes en la muestra (Nei 1987). También se calculó el promedio de diferencias en nucleótidos (K) de los haplotipos identificados (Tajima 1983). Estos análisis se realizaron en el programa DnaSP ver 3 (Rosas y Rosas 1999).

Se utilizó el análisis de varianza molecular AMOVA (analysis of molecular variance) para deducir que tan significativa es la división geográfica entre grupos poblaciones locales y regionales (Excoffier *et al.* 1992). AMOVA da un enfoque jerárquico análogo al análisis de varianza (ANOVA), en donde las correlaciones entre distancias genotípicas en varios niveles jerárquicos son utilizados como F-estadísticos análogos, designados como ϕ_{st} - estadísticos. El ϕ_{st} es la correlación de genotipos aleatorios dentro de una subpoblación, relativos a aquellos que se encuentran en la población como total y este es análogo de la F_{st} de Wright (1951) (Weir 1990). Los estadísticos de F de Wright dan una medida de la desviación de las frecuencias genotípicas con respecto a las esperadas según el equilibrio de Hardy-Weinberg a varios niveles y por lo tanto son una medida del nivel de endogamia y diferenciación genética dentro y entre las poblaciones (Eguiarte y Piñero 1990; Weir 1990).

EL AMOVA permite evaluar la cantidad de estructura genética reflejando la correlación entre la diversidad haplotípica a diferentes niveles jerárquicos (Excoffier *et al.* 1992). La ϕ_{st} se calculó por el método de distancia, a partir de las diferencias entre pares (pairwise differences), en el cual utiliza la información a nivel molecular. La diferencia del F-estadístico convencional con respecto al primero es que estima los índices de estructura génica utilizando únicamente las frecuencias haplotípicas, sin tomar en cuenta el contenido alélico y las diferencias moleculares entre los haplotipos. El método de distancia a partir de las diferencias entre pares (pairwise differences), para calcular la ϕ_{st} , puede ser utilizado también para calcular la distancia en que han divergido las poblaciones en el tiempo, a partir de una transformación lineal de la ϕ_{st} . (Reynolds *et al.* 1983; Stalkin 1995).

Para calcular el AMOVA se realizaron 1000 permutaciones y se utilizaron los datos de la proporción de TS:TV obtenida en PAUP y un nivel de significancia de 0.05. Los análisis de AMOVA e índices Moleculares se calcularon utilizando los programas: Arlequin ver 1.1 (Schneider *et al.* 1997) y DnaSP ver 3 (Rosas y Rosas 1999).

RESULTADOS

Secuencias, número de haplotipos y sitios polimórficos.

Se obtuvieron las secuencias de los primeros 452 pares de bases de la región control (Fig. 7), cuyo análisis reveló la presencia de 29 haplotipos y 32 (6.8%) sitios polimórficos (contando deleciones/inserciones), en las 93 muestras secuenciadas, obtenidas en 9 regiones geográficas presentes en EUA y México. Se puede observar que el haplotipo "a" corresponde a la secuencia consenso señalada como "Cons" en la figura 9. Tanto "a.1", "a.2" y "a.3" son haplotipos distintos, que se les dio este nombre debido a que el número de haplotipos hallados excedió el número de letras del abecedario.

Cons	1	TCTACTTAAACTATTC CCTGACCTACACTA	31
z	1C.....	31
y	1C.....	31
x	1C.....	31
w	1C.....	31
v	1C.....	31
u	1C.....	31
t	1C.....	31
s	1C.....	31
r	1C.....	31
q	1C.....	31
p	1C.....	31
o	1C.....	31
n	1C.....	31
m	1C.....	31
l	1C.....	31
k	1C.....	31
j	1T.....	31
i	1C.....	31
h	1C.....	31
g	1C.....	31
f	1C.....	31
e	1C.....	31
d	1C.....	31
c	1C.....	31
b	1C.....	31
a.3	1C.....	31
a.2	1C.....	31
a.1	1C.....	31
a	1C.....	31

Figura 7. Alineamiento de las secuencias de los primeros 452 pb de la región control del DNA mitocondrial.

A partir de los 29 haplotipos encontrados en 93 individuos de berrendo (*Antilocapra americana*). La alineación se realizó utilizando Clustal W versión 1.4 (multiple sequence alignment). Cons: se refiere a la secuencia consenso.

Cons	31	TTGCTATAGCACCAAAAATACCAAGAACCTTACCAGTATCGATTACGA	80
z	32T.C..	80
y	32T.C..	80
x	32T.C..	80
w	32T.C..	80
v	32C.C..	80
u	51T.C..	99
t	32T.C..	80
s	32T.T..	80
r	32T.C..	80
q	32T.C..	80
p	32T.C..	80
o	32T.C..	80
n	32T.C..	80
m	32T.C..	80
l	32T.T..	80
k	32T.C..	80
j	32T.C..	80
i	32T.C..	80
h	32T.C..	80
g	32T.C..	80
f	32T.C..	80
e	32T.C..	80
d	32T.C..	80
c	32T.C..	80
b	32T.C..	80
a.3	32T.C..	80
a.2	32T.C..	80
a.1	32T.C..	80
a	32T.C..	80

Cons	80	ACAAACCTACCAAACCTTAACACGGACCTCCTACTCACACCCATTTTAC--	128
z	81T.....T.....	128
y	81T.....T.....	128
x	81T.....T.....AA	128
w	81T.....T.....	128
v	81T.....T.....	128
u	81T.....T.....	128
t	81T.....T.....	128
s	81C.....T.....	128
r	81T.....T.....	128
q	81T.....T.....	128
p	81T.....T.....	128
o	81T.....T.....	128
n	81T.....T.....A-	128
m	81T.....T.....	128
l	81C.....T.....	128
k	81T.....T.....	128
j	81T.....T.....	128
i	81T.....T.....	128
h	81T.....T.....AA	128
g	81T.....T.....	128
f	81T.....T.....	128
e	81T.....T.....	128
d	81T.....C.....	128
c	81T.....T.....	128
b	81T.....T.....	128
a.3	81T.....T.....	128
a.2	81T.....T.....	128
a.1	81T.....T.....AA	128
a	81T.....T.....	128

Fig. 7 continuación

Cons	128	AAAAATGTACAAATATGAAACGTTTGCCCGGTACATAAAATTAATGTAT	178
z	129	A.....C.....C.....	178
y	129	A.....C.....C.....	178
x	131	A.....C.....C.....	178
w	129	A.....C.....C.....	178
v	129	A.....C.....C.....	178
u	148	A.....C.....C.....	178
t	129	A.....C.....C.....	178
s	129	-.....C.....C.....	178
r	129	A.....C.....C.....	178
q	129	A.....C.....C.....	178
p	129	A.....C.....C.....	178
o	129	A.....C.....C.....	178
n	130	A.....A.....C.....	178
m	129	A.....C.....C.....	178
l	129	-.....C.....C.....	178
k	129	A.....C.....C.....	178
j	129	A.....C.....C.....	178
i	129	A.....C.....C.....	178
h	131	A.....C.....C.....	178
g	129	A.....C.....C.....	178
f	129	A.....C.....C.....	178
e	129	A.....C.....C.....	178
d	129	A.....C.....C.....	178
c	129	A.....C.....C.....	178
b	129	A.....C.....T.....	178
a.3	129	-.....C.....C.....	178
a.2	129	A.....C.....C.....	178
a.1	131	A.....C.....C.....	178
a	129	A.....C.....C.....	178

Cons	178	TAGGACATAATAATGTATAATAGTACATTATATATATGCCCCATGCATA	228
z	179A.....	228
y	179A.....	228
x	181A.....	228
w	179G.....	228
v	179A.....	228
u	198A.....	228
t	179A.....	228
s	178A.....	228
r	179A.....	228
q	179A.....	228
p	179A.....	228
o	179A.....	228
n	180A.....	228
m	179A.....	228
l	178A.....	228
k	179A.....	228
j	179A.....	228
i	179A.....	228
h	181A.....	228
g	179A.....	228
f	179A.....	228
e	179A.....	228
d	179A.....	228
c	179A.....	228
b	179A.....	228
a.3	178A.....	228
a.2	179A.....	228
a.1	181A.....	228
a	179A.....	228

Fig. 7 continuación

Cons	228	TAAGCAAGTACATTTAATTATTATAGTACATAGTACATCAAGTATTAA	278
z	229A.....TC.A.T.T.T.....CAA.....	278
y	229A.....TC.A.T.T.T.....CAA.....	278
x	231A.....TC.A.T.A.T.....CAA.....	278
w	229A.....TC.A.T.T.T.....CAA.....	278
v	229A.....TT.A.C.T.T.....CGA.....	278
u	248A.....TT.A.T.T.T.....CAA.....	278
t	229G.....TT.A.T.T.T.....CAA.....	278
s	228A.....CT.A.T.T.T.....TAT.....	278
r	229A.....TC.A.T.T.C.....CAA.....	278
q	229A.....TT.A.T.T.T.....TAA.....	278
p	229A.....TC.A.T.T.T.....CAA.....	278
o	229A.....TT.A.T.T.T.....CAA.....	278
n	230A.....TC.A.T.T.T.....CAA.....	278
m	229A.....TT.A.T.T.T.....CAA.....	278
l	228A.....CT.A.T.T.T.....TAT.....	278
k	229A.....TT.A.T.T.T.....CAA.....	278
j	229A.....TC.A.T.T.T.....CAA.....	278
i	229A.....TC.A.T.T.T.....CAA.....	278
h	231A.....TC.A.T.T.T.....CAA.....	278
g	229A.....TC.A.T.T.T.....CAA.....	278
f	229A.....TT.G.T.T.T.....CAA.....	278
e	229G.....TC.A.T.T.T.....CAA.....	278
d	229A.....TC.A.T.T.T.....CAA.....	278
c	229A.....TT.G.T.T.T.....CAA.....	278
b	229A.....TA.T.T.T.T.....CAA.....	278
a.3	228A.....TT.A.T.T.T.....CAA.....	278
a.2	229A.....TT.G.T.T.T.....CAA.....	278
a.1	231A.....TT.A.T.T.T.....CAA.....	278
a	229A.....TT.A.T.T.T.....CAA.....	278

***** * * * * *

Cons	278	TCGTACATA..GCATTAAAGTCAAATCCCTCCTTCAACATGCATATCCC	328
z	279A..G.....CT.....	328
y	279A..G.....CT.....	328
x	281A..G.....CT.....	328
w	279A..G.....CT.....	328
v	279A..G.....CT.....	328
u	298A..G.....CT.....	328
t	279A..G.....CT.....	328
s	278A..G.....CT.....	328
r	279A..G.....CT.....	328
q	279A..G.....CT.....	328
p	279A..G.....TT.....	328
o	279A..A.....CT.....	328
n	280A..G.....CT.....	328
m	279A..G.....CT.....	328
l	278G..G.....CT.....	328
k	279A..G.....CT.....	328
j	279A..G.....CC.....	328
i	279A..G.....CT.....	328
h	281A..G.....CT.....	328
g	279A..G.....CT.....	328
f	279A..G.....CT.....	328
e	279A..G.....CT.....	328
d	279A..G.....CT.....	328
c	279A..G.....CT.....	328
b	279A..G.....CT.....	328
a.3	278A..G.....CT.....	328
a.2	279A..G.....CT.....	328
a.1	281A..G.....CT.....	328
a	279A..G.....CT.....	328

***** * * * * *

Fig 7 continuación

Cons	328	GTCCCCTAGATCACGAGCTTAACCACCATGCCGGCTGAAACCAGCAACCC	378
z	329	.T...C.....TC.....	378
y	329	.C...C.....TC.....	378
x	331	.T...C.....CC.....	378
w	329	.T...C.....TC.....	378
v	329	.T...C.....CC.....	378
u	348	.T...T.....CC.....	378
t	329	.T...C.....TC.....	378
s	328	.T...C.....TT.....	378
r	329	.T...C.....TC.....	378
q	329	.T...C.....CC.....	378
p	329	.T...C.....TC.....	378
o	329	.T...C.....CC.....	378
n	330	.T...C.....CC.....	378
m	329	.C...C.....CT.....	378
l	328	.T...C.....TT.....	378
k	329	.T...C.....CT.....	378
j	329	.T...C.....TC.....	378
i	329	.T...C.....CC.....	378
h	331	.T...C.....CC.....	378
g	329	.T...C.....TC.....	378
f	329	.T...C.....TC.....	378
e	329	.T...C.....TC.....	378
d	329	.T...C.....TC.....	378
c	329	.T...C.....CC.....	378
b	329	.T...C.....CC.....	378
a.3	328	.T...C.....CC.....	378
a.2	329	.T...C.....CC.....	378
a.1	331	.T...C.....CC.....	378
a	329	.T...T.....CC.....	378

Cons	378	GCTTGGCAGGGATCCCTCTTCTCGCTCCGGGCCATTAAATCGTGGGGTA	428
z	379TG.....	428
y	379TA.....	428
x	381TA.....	430
w	379CA.....	428
v	379TA.....	428
u	398TA.....	428
t	379TA.....	428
s	378AA.....	428
r	379TA.....	428
q	379TA.....	428
p	379TA.....	428
o	379TA.....	428
n	380TA.....	428
m	379TA.....	428
l	378AA.....	428
k	379TA.....	428
j	379TA.....	428
i	379TA.....	428
h	381TA.....	428
g	379TA.....	428
f	379TA.....	428
e	379TA.....	428
d	379TA.....	428
c	379CA.....	428
b	379TA.....	428
a.3	378TA.....	428
a.2	379TA.....	428
a.1	381TA.....	428
a	379TA.....	428

Fig. 7 continuación

Cons	428	GCTATTTAATGAACTTTATCAG	452
z	429C.....	452
y	429C.....	452
x	431C.....	452
w	429C.....	452
v	429C.....	452
u	448C.....	452
t	429C.....	452
s	428C.....	452
r	429C.....	452
q	429C.....	452
p	429C.....	452
o	429C.....	452
n	430C.....	452
m	429C.....	452
l	428C.....	452
k	429C.....	452
j	429C.....	452
i	429C.....	452
h	431C.....	452
g	429C.....	452
f	429C.....	452
e	429C.....	452
d	429C.....	452
c	429C.....	452
b	429C.....	452
a.3	428C.....	452
a.2	429T.....	452
a.1	431C.....	452
a	431C.....	452

Fig. 7 continuación

Los índices de diversidad molecular del DNA mitocondrial se calcularon con base en las secuencias de los 29 haplotipos identificados en los 93 individuos muestreados que representan 9 regiones de distribución geográfica de la especie. Como se mencionó 32 sitios (6.8%) son variables, y de ellos la mayoría de las sustituciones resultaron ser transiciones, presentando una proporción de transiciones/transversiones de 6:1. Se identificaron inserciones/deleciones en las posiciones que van de los 133-135 pb (Fig. 8). La diversidad nucleotídica total resulto ser de $\pi = 0.00865 \pm 0.0000016$ ($\pi = 0.87\%$). la mayor diversidad nucleotídica se encontró entre los 200-300 bp (Fig. 9) y la diversidad haplotípica total que se halló fue de $HT = 0.990 \pm 0.00017$.

Tabla 2 .Proporción transiciones y transversiones.
Las flechas indican la dirección de las mutaciones.

		→			
		A	C	G	T
↑	A	0	0	6	1
	C	1	0	0	11
	G	1	0	0	0
	T	2	15	0	0
Transiciones		24			
Transversiones		4			
Proporción TS :TV		6:1			

		Posición de los sitios polimórficos																																					
		0 0 0 0 1 1 1 1 1 1 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 3 3 3 3 3 3 4 4 4 4																																					
		2 7 7 8 2 3 3 3 5 5 2 3 4 4 4 4 5 5 6 6 7 8 9 1 1 3 3 5 5 1 1 4																																					
Haplotipo		7	6	8	8	4	3	4	5	1	7	7	5	2	3	5	7	0	3	8	9	0	7	0	1	2	0	4	1	2	5	6	2						
Consenso		C	T	C	T	T	A	-	-	C	C	A	A	T	T	A	T	T	T	C	A	A	G	C	T	T	C	C	C	T	A	C							
i.					
h.		A	A	C			
g.		C	T	.		
f.		G	T	.		
e.		G	C	T	.			
d.		.	.	.	C	C	T	.			
c.		G	C	.		
a.3			
a.2		G	T	.	
a.1		A	A	
z.		C	T	.	G	.	
y.		C	C	.	T	.	.	
x.		A	A	C	.	A	
w.		G	C	T	.	C	.
v.		.	C	C	.	.	G
u.		T	.	.	.
t.		G	T	.	.	.
b.		T
s.		.	T	C	C	.	.	T	.	T	T	T	A	.	.
r.		C	.	.	C	T	.	.	.
q.		T
p.		C	T	.	T	.	.
o.		A
n.		A	-	A	C
m.		C	.	T	.	.
l.		.	T	C	C	.	.	.	T	.	T	G	T	T	A	.	.
k.		T	.	.
j.		T	C	C	.	T	.	.
a.	
No.		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32						

Figura 8. Sitios polimórficos observados en los 29 haplotipos (en 452 bp del D-loop). Los números verticales indican la posición de los sitios polimórficos. En la columna vertical se indican los haplotipos. El (-) representa una delección/inserción.

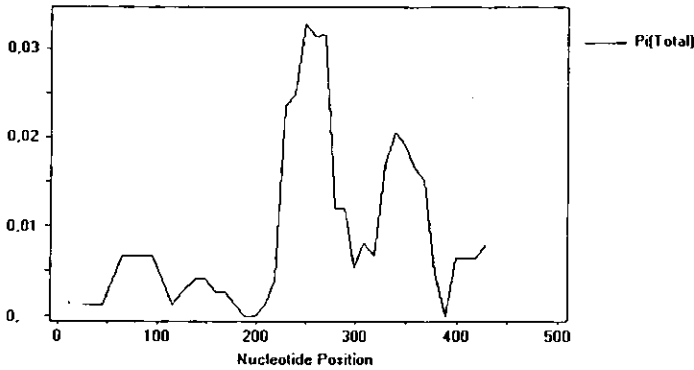


Figura 9. Gráfica de la diversidad nucleotídica (π) en los primeros 452 pb del D-loop del berrendo. Eje X (Diversidad nucleotídica, π), eje Y posición de los nucleótidos (Nucleotide Position). La diversidad nucleotídica total es de π (0.00865).

En cuanto a los análisis de diversidad nucleotídica total hallados en cada región, los valores más altos se obtuvieron en Nevada (1.85%) y Colorado (0.86%), es importante señalar que Nevada presentó el valor de varianza más alto (+/- 0.0121332) lo que está relacionado con el número de muestras de esta región geográfica. California, Montana y Nuevo México presentaron valores muy similares entre ellos (0.4 - 0.5%). Los valores más bajos se encontraron en Sonora, Vizcaíno y Chihuahua, siendo Sonora la región que presentó el valor más bajo (0.22%) (Tabla 3).

Tabla 3. Diversidad Nucleotídica (π) de cada una de las regiones muestreadas.

Región	No. individuos	π	Varianza
California	5	0.004867 +/-	0.003755
Chihuahua	7	0.002751 +/-	0.002254
Colorado	10	0.008691 +/-	0.005380
Montana	8	0.004504 +/-	0.003210
Nevada	5	0.018584 +/-	0.0121332
Nuevo México	19	0.005094 +/-	0.003262
Sonora	17	0.002288 +/-	0.001796
Vizcaíno	16	0.002360 +/-	0.001841
Wyoming	6	0.005026 +/-	0.003691

Distribución y frecuencia de los haplotipos

La región control del DNA mitocondrial del berrendo resultó ser considerablemente polimórfica al identificar 29 haplotipos en 93 individuos (ver Arctander *et al.* 1996^a; Tabla 4). Las diferencias entre los haplotipos son muy reducidas comparándolas con otros estudios (ver Matthey Robinson 1999), estos difieren en promedio por $K = 3.882$ nucleótidos (0.85%), con un mínimo de un nucleótido (0.22%) y un máximo de 12 nucleótidos (2.65%) de diferencia. Los haplotipos "l" y "s" son los que presentaron una mayor diferenciación con respecto a los demás en promedio de 10 a 9 nucleótidos respectivamente, por lo que posiblemente son haplotipos relictos (Tabla 5).

El 55.17 % de los haplotipos hallados son únicos a una región geográfica. Los haplotipos "a", "g", y "k" son los que presentaron una distribución geográfica más amplia (Tabla 4). Las regiones geográficas que mostraron una mayor diversidad de haplotipos fueron, Nuevo México y Colorado con ocho haplotipos (27.58%) respectivamente. En Vizcaino y Sonora únicamente se hallaron dos haplotipos (6.89%), siendo estas las regiones geográficas en donde se encontró la menor diversidad de estos, a pesar de contar con un alto número de muestras (Tabla 4). Nevada resultó ser la única región que no compartió haplotipos con ninguna otra, o sea presentó haplotipos privados.

Tabla 4. Distribución y frecuencia de los haplotipos encontrados en los primeros 452 pares de bases de la región control del DNA mitocondrial (D-loop).

		Haplotipos																										N.M	N.H					
Sitio, subespecie.	a	b	c	d	e	f	g	h	i	j	k	l	m	n	o	p	q	r	s	t	u	v	w	x	y	z	a.1	a.2	a.3	N.M	N.H			
California																																		
<i>A. a. oregona</i>		1						1	2																				1			5	4	
Chihuahua																																		
<i>A. a. mexicana</i>					1		2																		2	2						7	4	
Colorado																																		
<i>A. a. americana</i>	2		1				1				2								1	1	1	1										10	8	
Montana																																		
<i>A. a. americana</i>	4										1											2						1				8	4	
New Mexico																																		
<i>A. a. mexicana</i>																																		
<i>A. a. americana</i>			3	2		1	8									2	1	1	1													19	8	
Nevada																																		
<i>A. a. oregona</i>												1	1											2	1							5	5	
Sonora																																		
<i>A. a. sonoriensis</i>							7			10																							17	2
Vizcaino																																		
<i>A. a. peninsularis</i>								8	8																								16	2
Wyoming																																		
<i>A. a. americana</i>	1										3			1																			6	4
Frecuencias	7	1	4	2	1	1	18	9	10	10	6	1	1	1	2	1	1	1	1	1	1	3	2	1	2	2	1	1	1		93			

N.M: indica el número de muestras. N.H: indica el número de haplotipos;

Tabla 5. Porcentaje de la divergencia entre nucleótidos y número absoluto de las bases diferentes ente los haplotipos. Obtenidos a partir de la comparación de las diferencias entre los 29 haplotipos identificados. Por encima de la diagonal se muestra el promedio del número de bases diferentes de cada haplotipo con respecto a los demás. Por debajo de la diagonal se muestra el número absoluto de bases diferentes de cada haplotipo con respecto a los demás.

Haplotipos	l	l	H	G	f	e	d	c	a.3	a.2	a.1	z	y	x	w	v	u	t	b	s	r	q	p	o	n	m	k	j	a	
l	-	2,4	2,9	2,2	2,2	2,4	2,4	2,4	2	2,7	2,7	2,4	2,4	3,1	2,4	2,9	2,4	2,2	2,4	0,2	2,4	2	2,4	2,4	2,9	2,2	2	2,7	2,2	
i	11	-	0,4	0,2	0,7	0,4	0,4	0,7	0,4	0,7	0,7	0,4	0,4	0,7	0,7	0,9	0,4	0,7	0,4	2,2	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,7	0,4	0,7	0,2	
h	13	2	-	0,7	1,1	0,9	0,9	1,1	0,9	1,1	0,2	0,9	0,9	0,2	1,1	1,3	0,9	1,1	0,9	2,7	0,9	0,9	0,9	0,9	0,4	1,1	0,9	1,1	0,7	
g	10	1	3	-	0,4	0,2	0,2	0,9	0,7	0,9	0,9	0,2	0,2	0,9	0,4	1,1	0,7	0,4	0,7	2	0,2	0,7	0,2	0,7	0,7	0,9	0,7	0,4	0,4	
f	10	3	5	2	-	0,7	0,7	0,4	0,7	0,4	0,9	0,7	0,7	1,3	0,9	1,1	0,7	0,4	0,7	2	0,7	0,7	0,7	0,7	1,1	0,9	0,7	0,9	0,4	
e	11	2	4	1	3	-	0,4	1,1	0,9	1,1	1,1	0,4	0,4	1,1	0,7	1,3	0,9	0,2	0,9	2,2	0,4	0,9	0,4	0,9	0,9	1,1	0,9	0,7	0,7	
d	11	2	4	1	3	2	-	1,1	0,9	1,1	1,1	0,4	0,4	1,1	0,7	1,3	0,9	0,7	0,9	2,2	0,4	0,9	0,4	0,9	0,9	1,1	0,9	0,7	0,7	
c	11	3	5	4	2	5	5	-	0,7	0,4	0,9	1,1	1,1	1,3	0,9	1,1	0,7	0,9	0,7	2,2	1,1	0,7	1,1	0,7	1,1	0,9	0,7	-1,3	0,4	
a.3	9	2	4	3	3	4	4	3	-	0,7	0,7	0,9	0,9	1,1	1,1	0,9	0,4	0,7	0,4	1,8	0,9	0,4	0,9	0,4	0,9	0,7	0,4	1,1	0,2	
a.2	12	3	5	4	2	5	5	2	3	-	0,9	1,1	1,1	1,3	1,3	1,1	0,7	0,9	0,7	2,4	1,1	0,7	1,1	0,7	1,1	0,9	0,7	1,3	0,4	
a.1	12	3	1	4	4	5	5	4	3	4	-	1,1	1,1	0,4	1,3	1,1	0,7	0,9	0,7	2,4	1,1	0,7	1,1	0,7	0,7	0,9	0,7	1,3	0,4	
z	11	2	4	1	3	2	2	5	4	5	5	-	0,4	1,1	0,7	1,3	0,9	0,7	0,9	2,2	0,4	0,9	0,4	0,9	0,9	1,1	0,9	0,7	0,7	
y	11	2	4	1	3	2	2	5	4	5	5	2	-	1,1	0,7	1,3	0,9	0,7	0,9	2,2	0,4	0,9	0,4	0,9	0,9	0,7	0,9	0,7	0,7	
x	14	3	1	4	6	5	5	6	5	6	2	5	5	-	1,3	1,5	1,1	1,3	1,1	2,9	1,1	1,1	1,1	1,1	1,1	0,7	1,3	1,1	1,3	0,9
w	11	3	5	2	4	3	3	4	5	6	6	3	6	-	1,5	1,1	0,9	1,1	2,2	0,7	1,1	0,7	1,1	1,1	1,1	1,3	1,1	0,9	0,9	
v	13	4	6	5	5	6	6	5	4	5	5	6	6	7	7	-	0,9	1,1	0,9	2,7	1,3	0,9	1,3	0,9	1,3	1,1	0,9	1,5	0,7	
u	11	2	4	3	3	4	4	3	2	3	3	4	5	5	4	-	0,7	0,4	2,2	0,9	0,4	0,9	0,4	0,9	0,7	0,4	1,1	0,2		
t	10	3	5	2	2	1	2	4	3	4	4	3	3	6	4	5	3	-	0,7	2	0,7	0,7	0,7	1,1	0,9	0,7	0,9	0,4		
b	11	2	4	3	3	4	4	3	2	3	3	4	4	5	5	4	2	3	-	2,2	0,9	0,4	0,9	0,4	0,9	0,7	0,4	1,1	0,2	
s	1	10	12	9	9	10	10	10	8	11	11	10	10	13	10	12	10	9	10	-	2,2	1,8	2,2	2,2	2,7	2	1,8	2,4	2	
r	11	2	4	1	3	2	2	5	4	5	5	2	2	5	3	6	4	3	4	10	-	0,9	0,4	0,9	0,9	1,1	0,9	0,7	0,7	
q	9	2	4	3	3	4	4	3	2	3	3	4	4	5	5	4	2	3	2	8	4	-	0,9	0,4	0,9	0,7	0,4	1,1	0,2	
p	11	2	4	1	3	2	2	5	4	5	5	2	2	5	3	6	4	3	4	10	2	4	-	0,9	0,9	1,1	0,9	0,7	0,7	
o	11	2	4	3	3	4	4	3	2	3	3	4	4	5	5	4	2	3	2	10	4	2	4	-	0,9	0,7	0,4	1,1	0,2	
n	13	2	2	3	5	4	4	5	4	5	3	4	4	3	5	6	4	5	4	12	4	4	4	4	-	1,1	0,9	1,1	0,7	
m	10	3	5	4	4	5	5	4	3	4	4	5	3	6	6	5	3	4	3	9	5	3	5	3	5	-	0,2	1,3	0,4	
k	9	2	4	3	3	4	4	3	2	3	3	4	4	5	5	4	2	3	2	8	4	2	4	2	4	1	-	1,1	0,2	
j	12	3	5	2	4	3	3	6	5	6	3	3	6	4	7	5	4	5	11	3	5	3	5	5	6	5	-	0,9		
i	10	1	3	2	2	3	3	2	1	2	2	3	3	4	4	3	1	2	1	9	3	1	3	1	3	2	1	4	-	
Promedio	10		10	2	4	3	3	3	3	4	3	4	4	3	3	5	4	5	3	3	3	3	9	3	3	3	3	4	4	3

Análisis filogenéticos

Los grupos externos se encontraron a partir de una alineación con altos niveles de similitud "Gapped Blast", en donde los grupos más cercanamente relacionados estuvieron representados principalmente por cérvidos. Se hizo una búsqueda en PAUP alineando 4 géneros distintos hallados en el Blast con los 29 haplotipos del berrendo encontrados en este estudio (como grupo interno), de esta forma el grupo interno quedó monofilético. La conexión más corta entre el grupo interno y el externo fue con el *Cervus elaphus* y el *Cervus capreolus*. Se eligieron únicamente estos dos grupos para la realización de los árboles filogenéticos, con el fin de evitar homoplasia.

Los análisis de parsimonia, máxima verosimilitud y de distancia (neighbour joining), se utilizaron para conocer las relaciones filogenéticas entre las secuencias de los 29 haplotipos. Se obtuvo un árbol consenso estricto en forma de cladograma (Fig. 10) a partir de una búsqueda heurística. Los análisis con máxima parsimonia, obtenidos también con una búsqueda heurística, hallaron cuatro árboles igualmente parsimoniosos uno de estos se muestra en la figura 12. Podemos observar en todos los árboles obtenidos con los distintos métodos, que los haplotipos "s" y "l" son los que se encuentran más relacionados al grupo externo (Fig. 11), así como la ausencia de un patrón filogeográfico claro y de la agrupación de las subespecies descritas.

En el cladograma consenso estricto (Fig. 10) podemos observar que el grupo interno está formado a su vez por seis grupos, en los cuales no se encuentra una asociación clara, en la cual se distingan grupos con las subespecies descritas o agrupadas de alguna forma regular las regiones geográficas. En el grupo II (Fig. 10), se puede observar que se encuentran representantes de las cinco subespecies descritas, así como de regiones muy aisladas geográficamente, como Sonora, Montana, California, Vizcaino, Chihuahua, Nevada y Nuevo México. En los otros grupos también se encuentran relacionadas subespecies distintas así como regiones geográficas muy aisladas. Por ejemplo en el grupo III se observan agrupadas las subespecies *A. a.*

americana, *A. a. oregona* y *A. a. peninsularis*, así como regiones geográficas muy distantes: Vizcaíno, California, Wyoming, Montana y Nevada. En ninguno de los grupos encontramos un patrón geográfico claro ni a los representantes de las subespecies agrupados mostrando un patrón de cuales se encuentran más relacionadas, indistintamente unas están agrupadas a otras de manera irregular. Esto también ocurre de manera muy similar en los otros árboles obtenidos a partir de tres distintos análisis (parsimonia, ML y NJ).

En la búsqueda heurística con máxima parsimonia (Fig. 11) se halló un valor de bootstrap del 77% entre el grupo interno y externo. En el grupo interno hay dos clados mayores que separan a los haplotipos "I" y "s" del resto, con un soporte de bootstrap del 90%. En el clado mayor donde se encuentran los 27 haplotipos restantes, los valores de bootstrap obtenidos fueron muy bajos con excepción de uno de los grupos que se encuentra con un soporte del 56%(Fig. 11). Como se mencionó anteriormente, en este análisis no se observa un patrón filogeográfico definido. Aunque las agrupaciones se muestran de una manera más fina en este árbol (Fig. 11) que el árbol de consenso estricto (Fig. 10). Sin embargo estas no muestran a regiones geográficas o a subespecies determinadas asociadas de una manera clara, encontrándose revueltas y asociadas de distintas formas en los diferentes grupos.

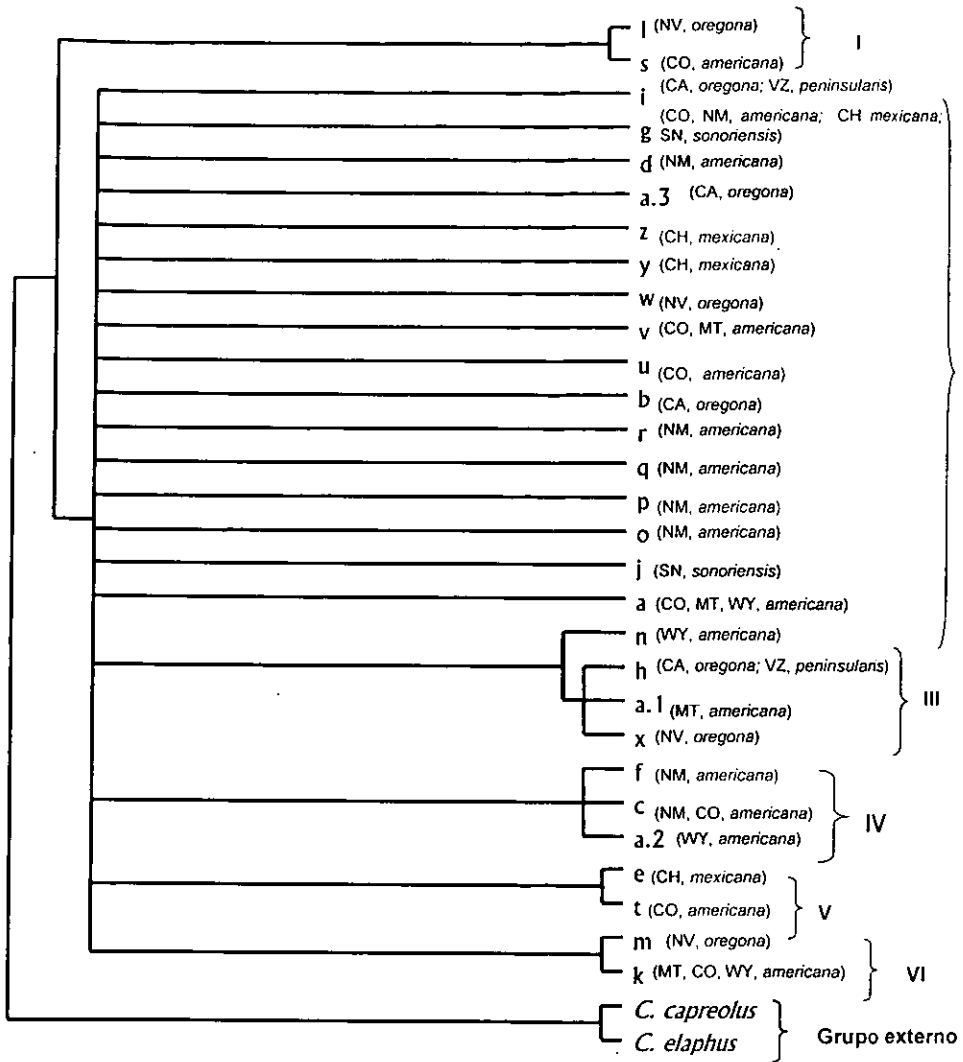


Figura 10. Arbol de consenso estricto obtenido a partir de una búsqueda heurística (parsimonia). Relaciones filogenéticas de las diferentes regiones muestreadas de berrendo (*Antilocapra americana*). Las abreviaturas correspondientes a las regiones geográficas se muestran en la tabla 1. Las letras en negritas corresponden a los haplotipos, y entre paréntesis las regiones geográficas correspondientes así como la especie descrita según estas (O' Gara 1974). Las subespecies se encuentran en cursivas de manera resumida, por lo que no se indicó ni el género ni la especie (*Antilocapra americana*). Llaves ver en el texto.

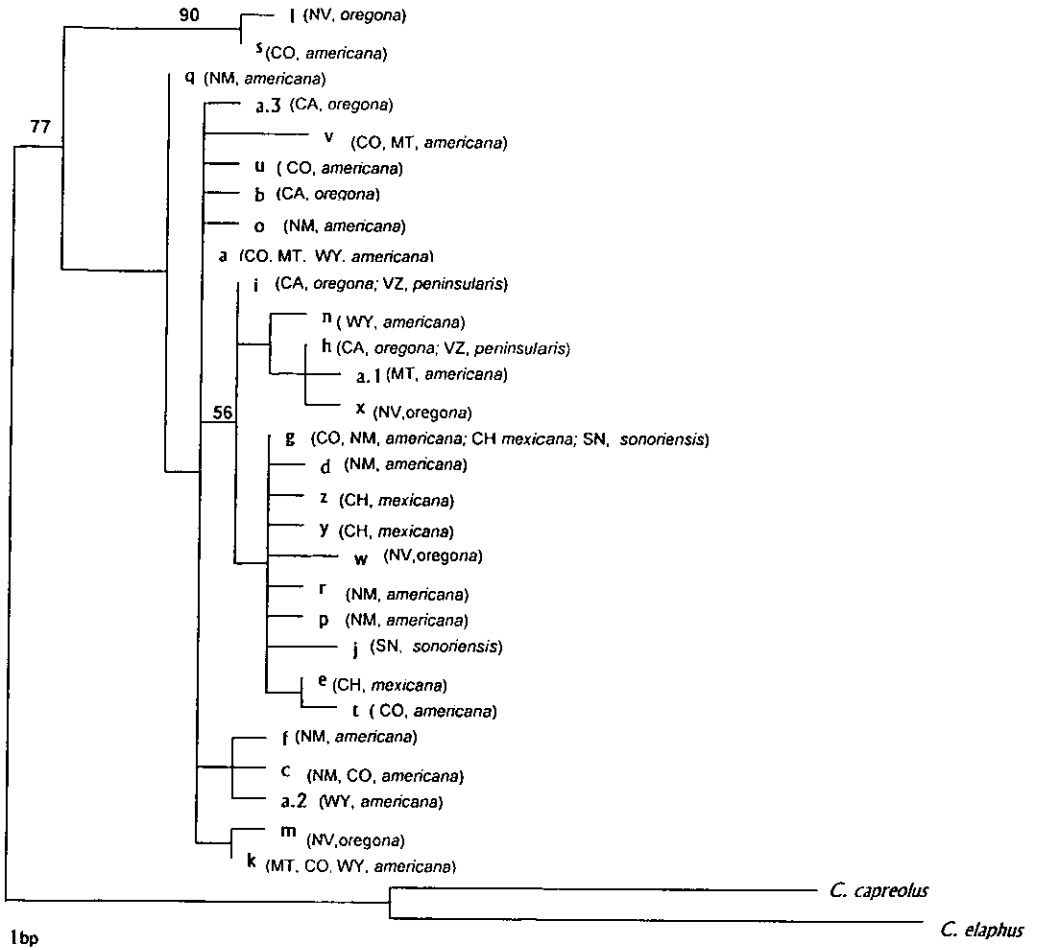


Figura 11. Arbol filogenético obtenido a partir de una búsqueda heurística (parsimonia). Relaciones filogenéticas de las diferentes regiones muestreadas de berrendo (*Antilocapra americana*). Filograma obtenido a partir de una búsqueda en PAUP 4.0 utilizando máxima parsimonia. Este es uno de los cuatro árboles igualmente y más parsimoniosos hallados mediante una búsqueda heurística. Número de pasos= 71; Índice de consistencia= 0.8101; Índice de homeoplasia=0.1899; Índice de retención= 0.7857; Índice de consistencia rescalado (Rescaled consistency index)= 0.6365; No incluye los caracteres autopomórficos= 0.667; Caracteres informativos= 15; Caracteres autopomórficos= 17. Los números sobre los nodos indican los valores obtenidos con bootstrap (100 replicas).

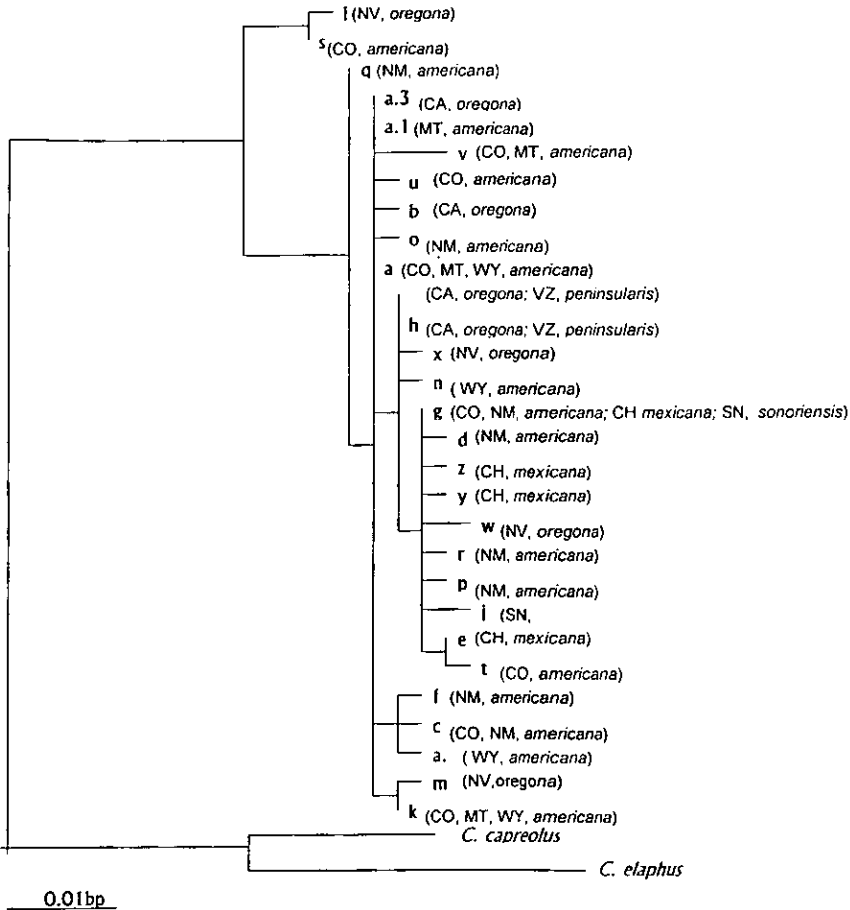


Figura 12. Arbol obtenido a partir de una búsqueda heurística con el método de máxima verosimilitud (ML).
 Parámetros del análisis de ML (Hasegawa 1991).: Frecuencias nucleotídicas empíricas; número de tipos de sustituciones=2; se asume que todos los sitios evolucionan a la misma tasa; modelo de HKY; Hasegawa-Kishino-Yano (1985); número de parámetros distintos en el patrón de análisis bajo este modelo= 55; TS:TV=2; Kappa= 4.29783; likelihood Ln= 1035.58468.

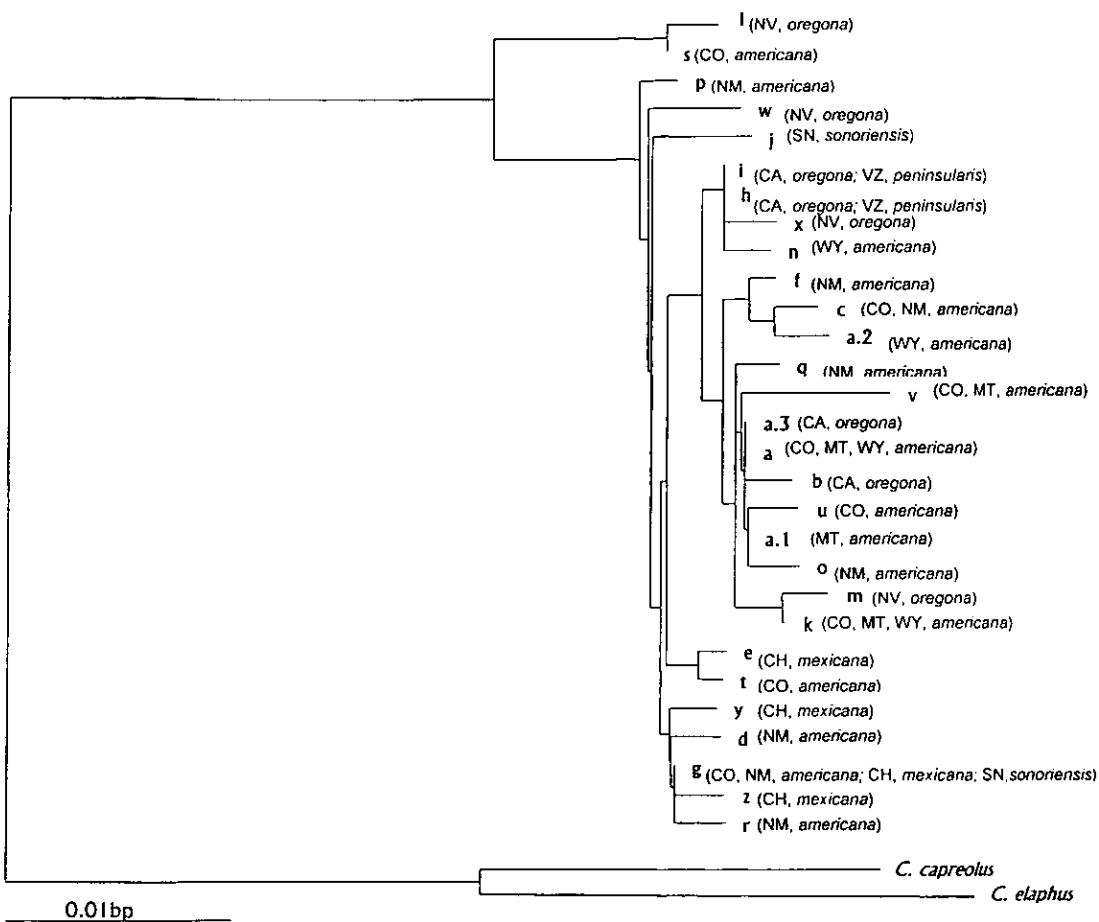


Figura 13. Árbol obtenido por el método de Neighbour Joining (Saitou y Nei 1987), a partir del método de distancia modelo de dos parámetros de Kimura (1991).

Los árboles obtenidos por métodos alternativos, máxima verosimilitud (Fig. 12) y neighbour joining (Fig. 13) identifican el mismo comportamiento hallado en los análisis de parsimonia. Sugieren una diferenciación muy poco significativa entre los haplotipos, diferenciando solamente dos haplotipos del resto ("I" y "s") tanto en máxima verosimilitud como en neighbour joining. Estos análisis muestran

un patrón de nula resolución filogeográfica el cual se observa también en la Figura 11.

Estructura genética entre las regiones.

Los resultados de AMOVA muestran que existe estructura genética entre las nueve regiones geográficas muestreadas al obtener un valor de Fst total ($\phi_{st} = 0.398$) (Tabla 6). Los valores de Fst que encontramos entre las poblaciones (39.8%) resultan ser mucho menores que los encontrados dentro de las poblaciones (60.19%).

Tabla 6. Valores totales de ϕ_{st} calculados a partir del método de distancia, de diferencias por pares, (pairwise differences), encontrados en el total de las 9 regiones muestreadas.

AMOVA	
Fuente de variación	Porcentaje de variación
Entre las poblaciones	39.81
Dentro de las poblaciones	60.19
Índice de fijación FST:	0.39812
1023 permutaciones	

Va y FST: P(valor aleatorio)= 0.00000

Valor de significancia= 0.05

La región que presentó valores más altos de Fst fue Vizcaino con Chihuahua y Sonora (Tabla 7), también presento valores bajos mostrando mayor similitud con California y Colorado. Las regiones que presentaron ausencia de diferenciación fueron Wyoming con Colorado y Montana; California con Colorado; y Colorado con Montana (Tabla 7). Nuevo México con Chihuahua y Colorado presentaron una diferenciación baja al tener valores de Fst (0.138-0.136).

Tabla 7. Valores de ϕ_{st} entre las 9 regiones, calculados a partir del método de distancia, (de diferencias por pares, pairwise differences).

Regiones	N. México	Vizcaíno	California	Wyoming	Chihuahua	Sonora	Colorado	Montana
Vizcaíno	0.34793							
California	0.14824	0.32018						
Wyoming	0.26753	0.64069	0.15846					
Chihuahua	0.13644	0.71695	0.49404	0.57526				
Sonora	0.35451	0.73789	0.62525	0.68294	0.41359			
Colorado	0.14211	0.43824	0.06783	-0.03048	0.34879	0.52160		
Montana	0.31960	0.65163	0.20290	0.09662	0.60372	0.69764	0.00106	
Nevada	0.26263	0.61142	0.29377	0.31150	0.30965	0.52026	0.17213	0.39982

Al hacer el análisis de AMOVA agrupando las regiones según las subespecies descritas, los valores de Fst resultaron ser mucho más bajos con una Fst (26.45%) sin embargo la Fst hallada dentro de las poblaciones resultó ser considerablemente alta (73.55%).

Tabla 8. Valores totales de ϕ_{st} obtenidos en las 5 subespecies descritas, calculados a partir del método de distancia (de diferencias por pares, pairwise differences).

AMOVA	
Fuente de variación	Porcentaje de variación
Entre las subespecies	26.45
Dentro de las subespecies	73.55
Índice de fijación FST:	0.26449
1023 permutaciones	

Va y FST: P(valor aleatorio)= 0.00000

Al comparar entre las nueve regiones geográficas muestreadas encontramos mucha menor diferenciación en los Fst entre las subespecies descritas que entre las regiones (Tabla 8). Los valores más altos de Fst están en las subespecies *A. a. peninsularis* y *A. a. sonoriensis*. Sin embargo *A. a. peninsularis*, presentó valores muy bajos con respecto a *A. a. americana* y *A. a.*

oregona (20.8% y 25% respectivamente). En el caso de *A. a. sonoriensis* los valores más bajos de F_{st} los presentó con respecto a *A. a. americana* (28%) (Tabla 9).

Tabla 9. Valores de ϕ_{st} entre las 5 subespecies descritas, calculados a partir del método de distancia (de diferencias por pares, pairwise differences).

Subespecies	<i>A. a. americana</i>	<i>A. a. oregona</i>	<i>A. a. mexicana</i>	<i>A. a. sonoriensis</i>
<i>A. a. oregona</i>	0.05702			
<i>A. a. mexicana</i>	0.18387	0.19151		
<i>A. a. sonoriensis</i>	0.28540	0.39348	0.41359	
<i>A. a. peninsularis</i>	0.20816	0.25779	0.71695	0.73789

DISCUSIÓN

Evolución, taxonomía y subdivisión geográfica

Efecto del cuello de botella reportado en 1920

Previo a la llegada de los españoles, se estimaba que las poblaciones de berrendo eran de aproximadamente 50 millones de individuos y a partir de 1920 éstas se habían reducido a 20,000 (O'Gara 1978), por lo que se propuso que esta drástica disminución de las poblaciones de berrendo provocó un cuello de botella, que afectó fuertemente la diversidad genética de la especie (Lee 1992). Sin embargo, los resultados obtenidos en el presente trabajo hallaron considerable variabilidad genética, la cual se encuentra en el promedio de varios mamíferos (ver valores de π Tabla 10), así como una diversidad genética (HT) alta, contradiciendo la teoría de Lee (1992). La región control del DNA mitocondrial del berrendo resultó ser considerablemente polimórfica entre los mamíferos (Tabla 11; ver Arctander *et al.* 1996a), especialmente por su diversidad genética, la cual es aún mayor que la del búfalo africano (*Syncerus caffer*), en donde encontraron un mayor número de haplotipos que en el berrendo (87 haplotipos) y una diversidad de HT=0.89 (Simonsen *et al.* 1998). Es importante enfatizar que a pesar de encontrar una diversidad genética alta, las diferencias entre haplotipos fueron bajas, sobre todo si se comparan con estudios de especies como el antílope sable (*Hippotragus*

niger, Matthee y Robinson 1999), donde las diferencias entre haplotipos fueron de hasta dos órdenes de magnitud mayores que las del berrendo. La poca diferenciación entre haplotipos podría ser una consecuencia de una baja resolución del marcador molecular elegido para detectar variaciones genéticas a nivel intraespecífico. Sin embargo, otros estudios realizados con el mismo marcador, en mamíferos mayores, han revelado diferencias considerables a este nivel (Georgiadis *et al.* 1994; Siegismund y Arctander 1995; Arctander *et al.* 1996a; 1996b; Templeton y Georgiadis 1996; Matthee y Robinson 1999, Nyakaana y Arctander 1999).

Tabla 10. Diversidad nucleotídica (π) hallada en distintas especies de mamíferos, obtenidas a partir de secuencias de la región control del D-loop.

Especie	$\pi \pm$ varianza	Autor
Venado de las pampas (<i>Ozotoceros bezoarticus</i>)+	1.1-2.5%	(González <i>et al.</i> 1999)
Elefante africano (<i>Loxodaonta africana</i>)*	1.4% \pm 0.1%	(Nyakaana y Arctander 1999)
Canguro (<i>Macropus rufus</i>)*	0.36%	(Clegg <i>et al.</i> 1998)
Búfalo africano (<i>Syncerus caffer</i>)	5.0%	(Simonsen <i>et al.</i> 1998)
Koala (<i>Phascolarctos cinereus</i>)	0.16	(Houlden <i>et al.</i> 1999)
Murciélago fantasma (<i>Macroderma gigas</i>)	4.5%	(Worington-Willmer <i>et al.</i> 1994)
Wallaby (<i>Petrogale xanthopus</i>)	1.5%	(Pope <i>et al.</i> 1993)
Bilby (<i>Macrotis lagotis</i>)+	1.8%	(Moritz <i>et al.</i> 1997)
Cachalote (<i>Physeter macrocephalus</i>)	0.28%	(Withehead 1998)
Ballena beluga (<i>Delphinapterus leucas</i>)	1.0%	(Withehead 1998)
Numbat (<i>Myrmecobius fasciatus</i>)+	0.40% \pm 0.25%	(Fumagalli <i>et al.</i> 1999)
Berrendo (<i>Antilocapra americana</i>)	0.87% \pm 0.00016%	Este trabajo

+ especies consideradas en peligro de extinción, * especies consideradas amenazadas. En el caso del berrendo, únicamente las poblaciones de México se consideran en peligro de extinción.

El hecho de que el cuello de botella reportado a principios del siglo XX no afectara como se esperaba al berrendo, podría deberse a dos factores: (i) que el cuello de botella fue sobrestimado y en realidad la disminución poblacional fue menor a la que se calculó inicialmente; o (ii) que la duración del mismo fue corta, por lo que únicamente afectó a pocas generaciones, ya que con un cuello de botella de larga duración se esperaría que la deriva génica provocara la fijación de alelos deletéreo causando una fuerte endogamia, deteniendo así la recuperación rápida de las poblaciones (Ballou 1994; Kimura 1983; Simonsen *et al.* 1998). Ésta

es una posible explicación de por que las poblaciones de berrendo en los EUA se recuperaron exitosamente a partir de números muy bajos.

Filogenia

Los árboles obtenidos tanto en los análisis realizados con parsimonia, así como otros con métodos, no mostraron un patrón filogeográfico claro, además de identificar muy poca diferenciación entre los haplotipos, con excepción de dos ("i" y "s"), los cuales probablemente son haplotipos relicto. Sin embargo, las diferencias de estos haplotipos son bajas con respecto a los restantes si se comparan con otros estudios con mamíferos (Mathee y Robinson 1999). Los árboles obtenidos muestran que los haplotipos relicto son los más cercanos al grupo externo, por lo que se refuerza la idea de que provienen de linajes muy antiguos.

La ausencia de un patrón filogeográfico mostrada por los linajes maternos puede deberse al hecho de que antiguamente hubo flujo génico entre las poblaciones (Avise *et al.* 1986), y posteriormente hubo aislamiento entre las mismas como lo muestran los valores de F_{st} (ϕ_{st}). Esto se refuerza por el hecho de que al haber una amplia conectividad entre poblaciones durante un intervalo largo de tiempo, se impide la formación de una estructura filogeográfica (Clegg *et al.* 1998). Esta propuesta se apoya por el hecho de que las manadas de berrendo eran muy numerosas previo a la llegada de los europeos a América y debido a que se llegan a mover en territorios muy amplios de hasta 300 km (Byers 1997; Lee *et al.* 1998).

Anteriormente, la ausencia de filogeografía se había explicado como el resultado de que en algunas de las poblaciones de EUA se realizaron introducciones continuas a partir de 1920, como parte de planes de recuperación de la especie (Lee 1992). Sin embargo, ésta no es posiblemente la causa de que no haya un patrón filogeográfico en las poblaciones de berrendo, ya que en la región del Vizcaíno se observa este mismo patrón de ausencia de estructura filogeográfica, aun cuando la población en esta zona ha estado completamente aislada. Esta subespecie del Vizcaíno (*A. a. peninsularis*) comparte dos de sus haplotipos con California (*A. a. oregona*) y estos haplotipos presentan en promedio

una diferencia muy baja (4-2 nucleótidos) con respecto a los demás. Es decir, esto es evidencia de que en el pasado hubo flujo génico entre estas poblaciones, por lo que se infiere que la causa de la ausencia de un patrón filogeográfico se debe a que hubo suficiente conectividad entre las poblaciones de berrendo en el pasado. Otros haplotipos son apoyo adicional de que existió conectividad entre regiones geográficas muy aisladas, por ejemplo poblaciones de Sonora (*A. a. sonoriensis*), Colorado, Nuevo México (*A. a. americana*), y Chihuahua (*A. a. americana*) comparten un mismo haplotipo.

Patrones de subdivisión geográfica

La existencia de patrones de subdivisión geográfica entre las regiones muestreadas es evidente, encontrándose mayor diferenciación entre las regiones geográficas que entre las subespecies. La diferenciación hallada entre las nueve regiones geográficas muestreadas, mostrada por el valor de ϕ_{st} total, no es considerablemente alta si la comparamos con ϕ_{st} hallados en otros estudios muy similares, en donde utilizaron secuencias de los primeros 300-600 pb de la región control (D-loop) del DNA mitocondrial (Tabla 11). El valor de ϕ_{st} total resultó aún menor cuando se realizó el análisis de AMOVA agrupando las localidades según las subespecies descritas, obteniendo una $\phi_{st} = 0.264$, lo que a nivel subespecífico es bajo si lo comparamos con otros estudios similares. Por ejemplo, en poblaciones de antilope sable (*Hippotragus niger*) y antilope roano (*Hippotragus equinus*) se encontraron valores de $\phi_{st} = 0.8184$ y $\phi_{st} = 0.761$, respectivamente, entre subespecies (Matthee y Robinson 1999).

Tabla 11. Comparación de las F_{st} (ϕ_{st}) encontradas en diferentes estudios de mamíferos, a partir de secuencias de la Región Control del DNA mitocondrial (entre los primeros 300-600pb).

Especies	Individuos	H	ϕ_{st} (AMOVA)	Autores
Antilope sable (<i>Hippotragus niger</i>)	15	14	0.8184	(Mathee y Robinson 1999)
Antilope roano (<i>Hippotragus equinus</i>)	13	12	0.7615	(Mathee y Robinson 1999)
Venado de las pampas (<i>Ozotoceros bezoarticus</i>)	54	45	0.3700	(González et al. 1998)
Elefante africano (<i>Loxodaonta africana</i>)	72	11	0.25-0.75	(Nyakaana y Arctander 1999)
Ballena beluga (<i>Delphinapterus leucas</i>)			0.409	(Brown et al. 1999)
Numbat (<i>Myrmecobius fasciatus</i>)	22	11	0.400	(Fumagalli et al. 1999)
Canguro (<i>M. rufus</i>)			0.180	(Clegg et al. 1998)
Koala (<i>Phascolarctos cinereus</i>)	200	18	0.791	(Houlden et al. 1999)
Berrendo (<i>Antilocapra americana</i>) *	93	29	0.39	Este trabajo.

H: indica el número de haplotipos encontrados. * La ϕ_{st} del berrendo se refiere a la hallada entre las 9 regiones geográficas muestreadas.

En los análisis de ϕ_{st} entre las nueve regiones geográficas era de esperarse que las muestras del Vizcaíno presentaran los valores de ϕ_{st} más altos, puesto que se trata de las poblaciones más aisladas. Sonora también muestra valores altos de ϕ_{st} y cabe mencionar que tanto en el sur de Arizona (de donde provienen las muestras para este estudio), así como en Sonora, no se han realizado introducciones de berrendos provenientes de otras áreas que se hayan mezclado con individuos nativos. En Chihuahua, a pesar de que no se han introducido berrendos de otras áreas, los valores de ϕ_{st} no son muy altos, en especial con respecto a Nuevo México (Tabla 7), debido probablemente a que ha existido cierta conectividad con las poblaciones de esta región. Nevada, a pesar de ser la única localidad que presentó haplotipos privados, tuvo valores de ϕ_{st} bajos, sobretudo con respecto a estados como Nuevo México, California y Colorado (Tabla 7), indicando muy poca diferenciación con estas regiones geográficas.

En el presente análisis también se encontraron patrones de subdivisión geográfica, excepto entre *A. a. americana* y *A. a. oregona*. Es interesante que *A. a. peninsularis*, siendo la región geográfica más aislada, mostró valores de aislamiento bajos con respecto a *A. a. americana* y *A. a. oregona*, lo que sostiene que probablemente hubo conectividad entre las poblaciones de Baja California y el Oeste de los Estados Unidos. Sin embargo, los valores con respecto a *A. a. mexicana* y *A. a. sonoriensis* fueron altos. Por consiguiente, se puede inferir que la

costa oeste de Norteamérica debió haber sido una clina para los berrendos que antiguamente mostró conectividad. Esto no sólo lo sugieren los valores de F_{st} , sino también el hecho, ya mencionado, de que el Vizcaíno comparte sus dos haplotipos con California (*A. a. oregona*), y presenta valores de F_{st} bajos con respecto a *A. a. oregona* y *A. a. americana*. Es normal que los valores de F_{st} de Vizcaíno contra *A. a. sonoriensis* y *A. a. mexicana* sean más altos, debido a que el río Colorado y el eje montañoso del norte de Baja California (Sierra de Juárez) debieron haber sido una barrera geográfica lo suficientemente fuerte como para obstaculizar la conectividad entre estas dos áreas. Es posible que las subespecies descritas en México presentaran valores más altos de estructura genética entre ellas, dado que sus poblaciones se han encontrado aisladas por mayor tiempo. Sin embargo, la estructura entre las poblaciones de EUA ha sido afectada debido a la gran cantidad de traslocaciones que se iniciaron en los años 20 (O'Gara 1978).

Los resultados obtenidos sugieren que el berrendo es una especie compuesta por poblaciones con distintos patrones de aislamiento geográfico, más que una especie compuesta por varias subespecies. Este planteamiento se apoya en los análisis de AMOVA, parsimonia, máxima verosimilitud y neighbor joining. Casos muy similares se encontraron en estudios poblacionales de Koala (Houlden *et al.* 1999) y de Canguro (*Macropus rufus*) (Clegg *et al.* 1998), donde no se ha identificado una estructura filogeográfica y se ha encontrado estructura genética, mostrada por valores de ϕ_{st} mucho más altos a los hallados en el berrendo (ver Tabla 11).

En conclusión, se encontró que no existe un patrón filogeográfico claro, al mismo tiempo que se detectaron patrones de subdivisión geográfica entre las regiones muestreadas. Esto se debe a una clara distinción entre procesos de largo y de corto plazo, donde las especies pueden encontrarse conformadas por poblaciones altamente diferenciadas, pero que carecen de estructura filogeográfica (Clegg *et al.*, 1998). Los procesos a largo plazo se refieren a los datos que proporcionan los análisis filogenéticos, mostrando que hubo conectividad histórica en las poblaciones, las cuales posteriormente se aislaron, lo

que es indicado por el AMOVA al mostrar patrones de subdivisión geográfica, refiriéndose este último análisis a procesos de corto plazo.

Los resultados obtenidos en este estudio no apoyan la clasificación de subespecies en el berrendo; esto se debe a la ausencia de estructura filogeográfica, la poca diferenciación entre haplotipos, así como por el hecho de encontrar valores de F_{st} más altos entre las nueve regiones geográficas que entre las subespecies descritas. La clasificación de subespecies en el berrendo se ha basado en caracteres morfológicos, como pequeñas variaciones en el tamaño de los cuernos y del cráneo, así como de las tonalidades del pelo. Estas variaciones pueden ser ecotípicas, por lo que únicamente están mostrando la expresión fenotípica de adaptaciones fisiológicas a condiciones ambientales (Schmidt-Nielsen 1964), las cuales no muestran una diferenciación a nivel de filogénea entre grupos de poblaciones de berrendo. Es importante señalar que las conclusiones basadas en la genética deben corroborarse con estudios morfológicos más detallados sobre la diferenciación entre las subespecies descritas.

Efecto de la extinción de la megafauna durante el pleistoceno tardío sobre el berrendo

Adicionalmente a la discusión anterior, el estudio realizado también arrojó evidencias sobre la distribución y la abundancia de la población del berrendo desde fines del pleistoceno. Los análisis muestran la ausencia de un patrón filogeográfico, poca diferenciación entre haplotipos, así como una diversidad genética considerable. La diversidad genética en el DNA mitocondrial del berrendo resulta elevada si consideramos que las poblaciones de berrendo presentaron una drástica disminución poblacional a principios del siglo XX. Comparando los resultados obtenidos en este estudio podemos observar que 29 haplotipos en 93 individuos, una diversidad genética (HT) alta, así como la diversidad nucleotídica obtenida, son indicativos de una especie cuya variabilidad no se redujo considerablemente durante el cuello de botella reportado en 1920 por O'Gara (1978).

La ausencia de un patrón filogeográfico, la baja diferenciación entre haplotipos y la variabilidad encontrada, sugieren que las poblaciones de berrendo se expandieron a partir de un grupo poblacional pequeño, resultante de un cuello de botella mucho más antiguo. La ausencia de un patrón filogeográfico claro, mostrado por los linajes femeninos en este estudio, puede deberse al hecho de que hace miles de años hubo flujo génico entre las poblaciones, lo que es indicativo de una amplia conectividad entre éstas (Awise *et al.* 1987) o de posibles efectos de colonización. Esto se apoya si analizamos la situación del berrendo previa y posterior a la extinción de la megafauna en el pleistoceno tardío, basándonos en el registro fósil y en las extraordinarias características de la especie.

La extinción de la megafauna en el pleistoceno tardío, que inició hace aproximadamente 18 mil años (Behrensmeyer *et al.* 1992; Wilson 1992), debió haber tenido un impacto en las poblaciones de berrendo debido a los siguientes factores: (i) a que una gran cantidad de depredadores y competidores del berrendo desaparecieron (Byers 1997, Kurtén y Anderson 1980), y (ii) a la expansión de los pastizales durante el holoceno medio (Kutzbach y Gueter 1986; Graham y Mead 1987).

Podemos apoyar lo anterior tomando en cuenta que previo a la extinción de la megafauna se reportan alrededor de 17 especies de posibles depredadores de los antilocapridos (Apéndice 5; Web 1973; Kurten y Anderson 1980), los cuales actuaban acechando, emboscando o persiguiendo a gran velocidad a sus presas (Byers 1997). Entre los que estaban especializados en esta última forma de depredación encontramos al cheeta (*Acinoyx trumani*), y es a la presión selectiva de éste a la que se atribuye la capacidad cursorial sobresaliente de los berrendos, que es de 90 a 100 km/hr (ver Apéndice B.2; FitzGibbon 1990a, 1990b; Caro 1994; Byers 1997). Previo a la mencionada extinción, también se conocen otros cinco géneros de la familia Antilocapridae, ocho de la familia bovidae, cuatro de cervidae, seis de camelidae y tres tapiridae (Apéndice B.1; Kurten y Anderson 1980).

Byers (1997) postula que el berrendo perdió muy poca de su habilidad para correr, aun cuando la presión selectiva quedó relajada después de la extinción, y que "muchos aspectos del comportamiento del berrendo se pueden leer también como documentos históricos que reflejan una época previa de depredación intensa". Al relajamiento de la presión de los depredadores podemos añadir el relajamiento de la competencia, ya que los otros cinco géneros de antilocápidos se extinguieron junto con otros de ungulados.

Junto con un cambio en las condiciones climáticas, lo anterior muy probablemente condujo, tres mil años más tarde, durante el holoceno medio, a una considerable expansión demográfica. Graham y Mead (1987) postulan que en las grandes planicies centrales (*Great Plains*) y en el medio oeste central de los EUA, existe evidencia abundante de que durante este periodo se presentó un episodio de mayor aumento de la temperatura y de la aridez, que fue responsable de una expansión de las praderas hacia el este, hecho que alcanza su máximo hace siete mil años. Según estos autores: "Climas más secos y cálidos permitieron a las especies de vertebrados de los pastizales, como la gallina de pradera, el bisonte, el antílope (es decir, el berrendo), el tejón y el ratón de bolsillo (*pocket mouse*, *Perognatus hispidus*), invadir el oeste de Missouri." Esta tesis coincide plenamente con el registro fósil (ver Fig. 14).

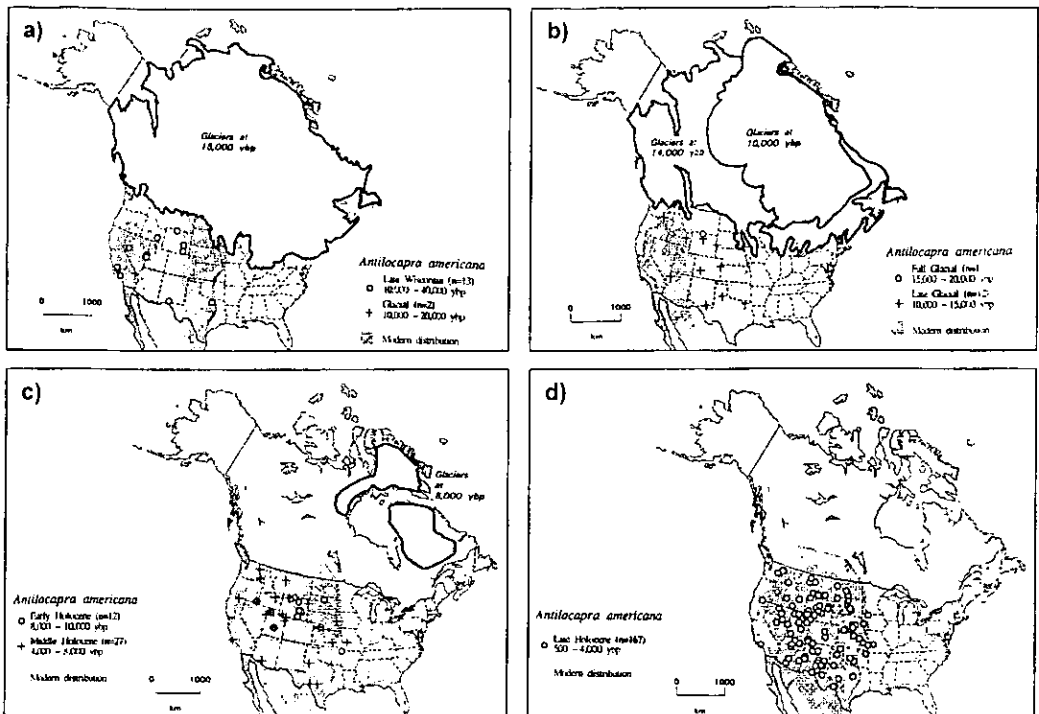


Figura 14. Expansión de la distribución del berrendo, según el registro fósil, en Norteamérica :

- a) Registro fósil del berrendo durante el Wisconsin tardío.
- b) Registro fósil del berrendo durante el periodo de glaciación completa y glaciación tardía.
- c) Registro fósil del berrendo durante el holoceno temprano y el Holoceno medio.
- d) Registro fósil del berrendo durante el holoceno tardío.

El área sombreada indica la distribución estimada del berrendo a partir de la llegada de los europeos a América. Los mapas se tomaron de FAUNMAP (Graham y Lundelius 1994).

La poca diferenciación hallada entre los haplotipos (Tabla 5) sugiere que, durante la extinción de la megafauna, las poblaciones de berrendo se vieron afectadas por las mismas circunstancias que aquejaron las especies que desaparecieron completamente, dando como resultado un cuello de botella, es

decir, una fuerte disminución en su población. Los sobrevivientes, al encontrarse en condiciones por demás favorables por la falta de competencia y depredadores, así como por la expansión de su hábitat, aumentaron sus números rápidamente. Esto concuerda con la ausencia de un patrón filogeográfico claramente definido (Fig. 11), así como con la diversidad genética hallada. En la figura 15 se ha representado gráficamente la reciente historia evolutiva del berrendo y es importante resaltar la coincidencia entre el presente estudio molecular y el registro fósil.

Pleistoceno medio



Pleistoceno tardío, extinción de la Megafauna. (Entre los 18–12 mil años)



Desaparecen muchos depredadores del berrendo y de posibles competidores.



Holoceno medio

Expansión de los pastizales debido a cambios climáticos. (Hace 7 mil años)



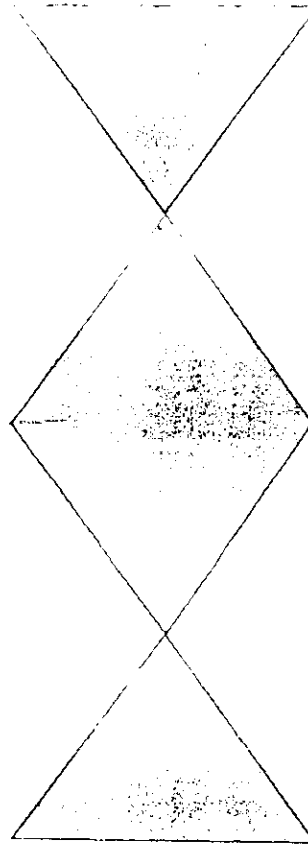
Llegada de los Europeos a América. (En 1500 dc)



Pérdida y fragmentación del hábitat del berrendo así como cacería no controlada. "Cuello de botella 2" (finales S. XIX) Reportado de 50 millones de berrendos a 20,000.



Programas de conservación en EUA y Canadá. (Inician en 1920)



Reducción de las poblaciones de berrendo "Cuello de botella 1" el cual se infiere a partir de la poca diferenciación entre haplotipos ($K = 3.814$) en el DNA mit.

Aumento de las poblaciones de berrendo.

Favorecidas por la disminución en depredadores, competidores y aumento del hábitat.



DNA mit. (Ausencia de patrón filogeográfico claro, variación genética alta $HT = 99\%$, $\pi = 0.87\% \pm 0.00016\%$, y 29 haplotipos en 93 individuos)

Aumento en las poblaciones de berrendo en estos países.

De 20,000 a 1,000,000.0 aprox. Las poblaciones en México continúan en peligro de extinción.

Figura 15. Esquema de la historia evolutiva del berrendo sugerida a partir de los resultados obtenidos en este trabajo así como por el registro fósil.

Implicaciones para el manejo y conservación de la especie

Para plantear planes de manejo y programas de conservación de especies amenazadas o en peligro de extinción, es importante considerar factores como la distribución de la variación genética dentro de la especie, sobre todo cuando se realizan programas de reintroducciones o de introducciones de individuos provenientes de una población distinta a una zona con individuos nativos, o programas de reproducción en cautiverio (Templeton 1997). Esto permite evitar problemas tales como la depresión exogámica (*outbreeding depression*) o la extinción de distintas poblaciones que se juntaron al realizar programas de manejo. Éste fue el caso del Ibex (*Capra ibex*) en Tatra, el cual desapareció debido a la cacería furtiva, por lo que introdujeron poblaciones de Austria y las mezclaron con Ibex de Turquía y del Sinaí, sin embargo, la descendencia de estas poblaciones que fueron mezcladas se extinguió completamente. Esto ocurrió debido a problemas en la adaptación local, por lo que la descendencia de los "híbridos" nació en el mes más frío del año y la población completa se extinguió (Greig 1979).

También existen estudios en donde se ha mostrado que mezclar poblaciones distintas de la misma especie puede resultar positivo, ya que aumenta la variación genética de la especie, que de otra forma presentaría problemas de endogamia y deriva génica (DeMarias *et al.* 1992; Grant y Grant 1992 y 1994). En el caso del berrendo en EUA, los programas de introducciones de individuos de distintas áreas al parecer tuvieron este efecto, lo que pudo deberse a que las poblaciones no se encontraban lo suficientemente diferenciadas genéticamente como para presentar problemas de reducción en el éxito reproductivo al mezclar poblaciones distintas. Podemos considerar este éxito como un apoyo adicional al hecho de que en el pasado hubo gran conectividad entre las diversas poblaciones de berrendo y que la clasificación propuesta para las subespecies del berrendo no está mostrando la distribución de la diversidad genética total del taxón, ni las relaciones filogenéticas dentro de la especie.

Al realizar programas de conservación es importante considerar los procesos evolutivos de las poblaciones, por lo que la filogenia molecular

contribuye a identificar entidades genéticamente distintas de una especie y nos da la posibilidad de tener una mayor comprensión de los procesos históricos de las poblaciones (Moritz 1996). Al ser la diversidad genética la base de la flexibilidad evolutiva de las especies y de su capacidad de respuesta a los cambios del medio ambiente (Meffe y Carroll 1997), se deben conservar los procesos que afectan a los organismos vivos y ecosistemas (Templeton 1997). De aquí se desprende que es importante evitar la mezcla intencional de poblaciones de una misma especie que han divergido lo suficiente como para ser reservorios genéticamente distintos, ya que pueden encontrarse en vías de especiación y/o representan la diversidad genética total del taxón.

Este estudio arroja evidencias de que la clasificación que se ha propuesto a través de subespecies para el berrendo, no está mostrando la distribución de la diversidad genética total dentro del taxón, ni las relaciones filogeográficas dentro de la especie. Sería de esperarse que las subespecies fueran recíprocamente monofiléticas (Moritz 1994a), debido al marcador molecular utilizado, dado que estarían reflejando la diversidad genética total del taxón y esto no se observa en los resultados obtenidos, tanto en los árboles hallados con parsimonia, máxima verosimilitud así como en árboles de distancia (NJ), a partir del análisis de los linajes femeninos. Por lo anterior, para realizar planes de manejo y conservación de la especie, la clasificación de subespecies no debe de ser considerada como un criterio que defina la diversidad genética total dentro del taxón. Con base en los resultados de este estudio y conforme a lo que propone Moritz (1994a y 1994b), podemos decir que los linajes maternos del berrendo apuntan a una monofilia recíproca por lo que tenemos el primer requisito para definir una ESU, para completar este estudio que es importante que se realicen análisis con marcadores nucleares para poder saber si efectivamente la especie conforma una sola ESU como lo sugieren este estudio o comprende varias. Es importante señalar que el criterio propuesto por Moritz se basa únicamente en análisis genéticos y que de acuerdo con Ryder (1996) y Paetkau (1999), es importante tomar en cuenta otros factores para definir una ESU. Sin embargo, según lo propuesto por Moritz (1994)

este estudio aporta evidencias genéticas importantes, a partir de los linajes femeninos, que permitirán identificar la o las ESU dentro de la especie.

Otro de los puntos importantes que se deben considerar para realizar programas de manejo es la variabilidad genética de las poblaciones. En el caso del berrendo, los valores de diversidad nucleotídica se encuentran dentro del promedio de los valores hallados en otros estudios de especies en peligro de extinción, presentando valores menores que en el promedio de las especies amenazadas o con tamaños poblacionales exitosos (Tabla 10). Sin embargo, los valores de diversidad nucleotídica hallados en el berrendo son consistentes con los tamaños poblacionales para las distintas subespecies. Para *A. a. peninsularis*, *A. a. sonoriensis* y las poblaciones de *A. a. mexicana* de Chihuahua, las π son las más bajas, lo que se relaciona con los tamaños poblacionales estimados por Cancino *et al.* (1994) en Vizcaíno, y por González-Romero y Lafón (1993) en Sonora y Chihuahua. Por el contrario, las poblaciones presentes en los Estados Unidos de Norteamérica presentan valores más altos. Estudios realizados con bóvidos africanos mostraron una diversidad nucleotídica en un rango de $\pi=0.014$ (1.4%) a 0.037 (3.7%) (Arctander *et al.* 1996a), lo cual se relacionó con un tamaño poblacional mayor a un millón de individuos para cada una (Murray 1982). De esta manera, la diversidad nucleotídica hallada en EUA apunta igualmente a que las poblaciones son bastante extensas. No obstante, esto nos indica que es indispensable iniciar programas de recuperación en Vizcaíno, Sonora y Chihuahua. Es interesante encontrar niveles tan bajos de diversidad nucleotídica, ya que los tamaños poblacionales se encuentran en el límite del tamaño mínimo viable, el cual para ungulados se ha reportado que no debe ser menor a los 50 individuos (Berger 1990). Los datos obtenidos en este estudio pueden apoyar futuras investigaciones para establecer el tamaño mínimo viable que requieren las poblaciones de berrendo amenazadas o en peligro de extinción, que permitan mantener suficiente variabilidad genética en un periodo de por lo menos 200 años (Soulé y Gilpin 1986; Ballou y Foose 1996).

Un tema crítico en la genética de la conservación es identificar cuándo es necesario y apropiado realizar introducciones de individuos entre poblaciones

amenazadas (Friend 1987). Según Mills y Allendorf (1996), el número de individuos que se deben introducir para revertir los efectos de la deriva génica y el entrecruzamiento se encuentran en el rango de uno a 10, y esto depende de diversos factores, que incluyen el comportamiento y factores limitantes al medio donde se piensa establecer la población. En el caso del berrendo, como ya se ha dicho, en términos genéticos podemos considerar que toda la especie, según los linajes femeninos de *Antilocapra americana*, conforma una ESU, aunque es importante también contar con información de DNA nuclear. Con el objetivo de mantener niveles históricos de conectividad, las traslocaciones representan una opción para las poblaciones aisladas (Moritz 1999). Sin embargo, al tomar decisiones de manejo para la especie es indispensable considerar factores tales como la variación ecotípica, las adaptaciones fisiológicas a patrones climáticos particulares, los tiempos de reproducción, así como la especialización a dietas particulares, entre otras cosas.

Perspectivas

Estudios complementarios a éste serán de gran importancia para comprender a un nivel más amplio la filogeografía y estructura genética del berrendo, ya que el DNA mitocondrial únicamente nos está mostrando la filogenia y estructura genética de los linajes femeninos. Los estudios que utilicen microsatélites u otros marcadores nucleares para conocer también qué ha sucedido con los linajes masculinos, permitirá poder determinar si efectivamente el berrendo conforma una sola ESU, desde el punto de vista genético. Debe considerarse que en estudios de mamíferos medianos y fauna mayor se ha encontrado una mayor estructura genética y filogeografía en los linajes maternos que en los paternos, como es el caso de las ballenas belugas (Brown 1999) y del elefante africano (Nyakaana 1999). Esto se ha explicado debido a que los machos presentan mucha mayor movilidad que las hembras. Debido al sistema social del berrendo se esperaría, al igual que en estos estudios, encontrar aún menor diferenciación y estructura genética entre las poblaciones, así como una ausencia de patrón filogeográfico al realizar estudios que utilicen microsatélites u otro marcador nuclear.

CONCLUSIONES

- La diversidad de haplotipos mostrada en este estudio indica que el cuello de botella reportado a principios del siglo XX no redujo de manera importante la variabilidad genética de la especie.
- Los resultados obtenidos no apoyan la clasificación de subespecies en el berrendo, debido a que no hay un patrón filogeográfico claro, la reducida diferenciación entre los haplotipos, y al encontrar valores de ϕ_{st} más altos entre subespecies que entre las nueve regiones geográficas.
- Los linajes maternos del berrendo muestran monofilia recíproca por lo que se tiene una de las bases para la definición genética de ESU, aún hacen falta estudios con marcadores nucleares para corroborar si efectivamente la especie comprende una ESU, como es sugerido por el análisis del D-loop. Sin embargo para definir unidades de conservación, que permitan la realización de planes de manejo tales como reintroducciones, es importante basarse en otros factores a parte del genético, tales como la variación ecotípica, las adaptaciones fisiológicas a patrones climáticos particulares, los tiempos de reproducción, así como la especialización a dietas particulares, entre otras cosas.
- Los resultados obtenidos muestran evidencias de que las poblaciones de berrendo actuales provienen de un grupo poblacional reducido, el cual se expandió exitosamente debido a la disminución en la presión por depredación y competencia a partir de la extinción de la megafauna durante el pleistoceno tardío, así como la expansión de su hábitat durante el Holoceno medio.

BIBLIOGRAFÍA

- Adams, D. B. 1979. The cheetah: Native American. *Science*. 205:1155-1158.
- Alcerreca, C. y V. Sanchez. 1979. Manejo de una población introducida de berrendo (*Antilocapra americana* Ord. 1818) en el estado de San Luis Potosí México. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM, D.F.
- Altschul, Stephen F., Thomas L. Madden, Alejandro A. Schäffer, Jinghui Zhang, Zheng Zhang, Webb Miller y David J. Lipman. 1997. "Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs", *Nucleic Acids Res*, 25:3389-3402.
- Alvarez T. 1966. Informe Sobre la Piel. Apéndice 2. en: Caso Alfonso y Smith M. E. Interpretación del Códice Colombino y del Bécker I. Sociedad Mexicana de Antropología. pp 101-104 México.
- Allendorf, F. W. 1997. Genetically Effective Sizes of Grizzly Bear Populations, en: *Principles of Conservation Biology*. Meffe, G. K. y C. R. Carroll. 2d ed. pp. 174-175, Sinauer, Sunderland, M.A.
- Allendorf, F. W. y R.F. Leary. 1986. Heterozygosity and Fitness in Natural Populations of Animals. en: M. E. Soulé (eds), *Conservation Biology: The Science of Scarcity and Diversity*, pp 57-76. Sinauer, Sunderland, M. A.
- Anderson, S. 1972. Mammals of Chihuahua: taxonomy and distribution. *Bull of the Am Mus of Natural History*. 148,2:151-410.
- Anderson, S. M. H. L. De Bruijn, A. R. Coulson, I. C. Eperon, F. Sanger y I. G. Young. 1982. Complete sequence of bovine mitochondrial DNA. Conserved feature of the mammalian mitochondrial genome. *J. Mol. Evol*, 156: 683-717.
- Aquadro, C. F. Y B. D, Greenberg. 1983. Human mitochondrial DNA variation and evolution: analysis of nucleotide sequences from seven individuals. *Genetics*, 103:287-312
- Arbogast, B. S., y J. B. Slowinski. 1998. Pleistocene Speciation and the Mitochondrial Clock. *Science*, 282: 1955a.

- Arctander P., W. K. , Pieter, A. A. Rashid y H. R. Siegismund. 1996^b, Extreme genetic differences among populations of *Gazella granti*, Grant's gazelle, in Kenya. *Heredity*. 76: 465-475.
- Arctander, P., P. W., Kat, B. T., Simonsen y H. R. Siegismund. 1996^a. Population genetics of Kenyan impalas-consequences for conservation. en: Smith T. B. y R. K., Wayne.(eds). *Molecular Approaches in Conservation*. University Press. Oxford. pp. 399-412.
- Avise J. C., J. Arnold, R. M. Ball *et al.* 1987. Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics*. , 18: 489-522.
- Avise J.C. 1986. Mitochondrial DNA and evolutionary genetics of higher animals. *Philos Trans of the Royal Society of London*, B, 312: 325-324.
- Avise, J. C. and R. A. Landsman. 1983. Polymorphism of mitochondrial DNA in populations of higher animals. pp.147-164 *Evolution of genes and proteins*. en: M. Nei and R. K. Koehn eds. Sinauer, Sunderland, Massachusetts.
- Avise, J. C., C. Giblin-Davison, J. Laerm, J. C. Patton, and Lansman. 1979. Mitochondrial DNA clones and matriarchal phylogeny within and among geographical populations of the pocket gopher, *Geomys pinetis*. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, U.S.A. 76:6694-6698.
- Awadalla, P., A. Eyre-Walker, J.M. Smith. 1999. Linkage disequilibrium and recombination in hominid mitochondrial DNA, *Science* 286:2524-2525
- Bailey, V. 1932. The Oregon antelope. *Proc. Biol. Soc. Washington*. 45:45-46.
- Baker, C. S., A. Perry, J. L. Bannister, M. T. Weinrich, R. B. Abernethy, J. Clambokidis, J. Lien, R. H. Lamberstein, J. Urban Ramirez, O. Vazques, O.J. Clapham, A. Alling, S. J. O'Brien y S. R. Palumbi. 1993. Abundant mitochondrial DNA variation and world-wide population structure in humpback whales. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 90:8239-8243.
- Ballou, J. 1994. Small population overview: en Lacy R. C. , K. A., Huges y T. J. Kreeger. eds. *Vortex users Manual. A Stochastic Simulation of the Extinction Process*, IUCN SSC/CBSG: pp.2-11.

- Ballou, J.D., y T.J. Foose. 1996. Demographic and genetic management of captive populations. en: *Wild Mammals in Captivity*. eds. Kleiman, G. D. K., M. E. Allen, K. V. Thompson, S. Lumpkin. pp 263-283. University of Chicago Press. Chicago.
- Barrowclough G. F. y N. R. Flesness. 1996. Species, subspecies and razas: the problem of units of management in conservation. en en *Wild Mammals in Captivity*. eds. Kleiman, G. D. K., M. E. Allen, K. V. Thompson, S. Lumpkin. pp 263-283. University of Chicago Press. Chicago.
- Behrensmeyer, A. K., J. D. Damuth, W. A. DiMichele, R. Potts, H. D. Sues y S. L. Wing. 1992. *Terrestrial Ecosystems Through Time*. University of Chicago Press. 568.
- Berger J. 1990. Persistence of different-sized populations: an empirical assessment of Rapid extinctions in bighorn sheep. *Conservation Biology*. 4:91-98.
- Boom, R., C. J. A. Sol y M. M. M. Salimans. 1990. Rapids and simple method of purification of nucleic acids . *Journal of clinical microbiology*, 28, 495-503.
- Bowen B. W., A.B. Meyland, J.C. Avise, 1991, Evolutionary distinctiveness of endangered Kemp's Ridley sea turtle. *Nature*, 352, 709-711.
- Boyce M. S. 1992. Population Viability Analysis. *Annu. Rev. Ecol. Sys.t* 23: 481-506.
- Brown J.G. , M.M. Ferguson, M.K. Friensen y J.W. Clayton. 1999. Population srtructure of North America beluga whales (*Delphinapterus leucas*) based on nuclear DNA microsatellite variation and contrasted with the population structure revealed by mitochondrial DNA variation.
- Brown J.R., A. T. Beckenbach y M.J. Smith. 1993. Intraspecific DNA sequence variation of the mitochondrial control region of white sturgeon (*Acipenser transmontanus*). *Mol. Biol. and Evol.* 10:326-341. .
- Brown, W. M. 1985. The mitochondrial genome of animals. En: *Molecular Evolutionary Genetics*. MacIntyre RJ (ed), New York, Olenum. pp.95-130.
- Brown, W. M., M. George. J. R. and A. C. Wilson. 1979. Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 76: 1967-1971.

- Burt, W. H. 1938. Faunal relationships and geographic distribution of mammals in Sonora, México. *Miscellaneous Publications, Museum of Zoology, University of Michigan*, 39:1-77.
- Byers J. A. 1987. *American pronghorn. Social adaptations and the ghost of predators past*. University of Chicago Press, pp 288.
- Cadieux. C. L. 1987. Pronghorn antelope: Great plains rebound. In Kalman. pp132-143.
- Cancino J., R. Rodriguez-Estrella y B. Sanabria. 1994. 1993 Census of the Peninsular Pronghorn. *Proc. Pronghorn Antelope Workshop*, 16:168-175.
- Caro, T. M. 1994. *Cheetahs of the Serengeti plains: group living in an asocial species*. University of Chicago Press. Chicago.
- Clegg S. M., P. Hale y C. Moritz. 1998. Molecular population genetics of the red kangaroo (*Macropus rufus*): mtDNA variation. *Mol. Ecol.* 7: 679-686.
- Curtain C. C., y H. YH. Furenberg. 1973. Evolution of the inmonoglobulin antigens in the ruminantia. *Biochem. Genetics.* 8: 301-308.
- DeMarias, B. D., T. E. Dowling, E. M. Douglas, W. L. Minckley, y P. C. Marsh. 1992. Origin of *Gila seminuda* (Teleostei: cyprinidae) through introgressive hybridisation: implications for evolution and conservation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 89: 2747-27451.
- Diario Oficial de la Federación. 1994. Norma Oficial Mexicana NOM-059-ECOL-1994 que determina las especies y subespecies de flora y fauna silvestres terrestres y acuáticas en peligro de extinción, amenazadas, raras y las sujetas a protección especial, y que establece especificaciones para su protección. Lunes 16 de mayo, 1-60.
- Dizon A. E., C. Lockyer, W. F. Demaster, Sisson J. 1992. Rethinking the stock concept: a phylogeographic approach. *Conservation Biology.* 6, 24-36.
- Douzery E. y Randi E. 1997. The mitochondrial control region of cervidae: evolutionary patterns and phylogenetic content. *Mol. Biol. Evol.* 14,11: 1154-1166.

- Eguiarte, L. E. y D. Piñero. 1990. Genética de la conservación: leones vemos, genes no sabemos. *Ciencias*. Número especial. Ecología y conservación en México, 4, 34-47.
- Eguiarte, L. E. 1986. Una guía para principiantes a la genética de poblaciones. En Olea Franco, A. (ed). *Polémicas contemporáneas en evolución*. A.G.T. Editores. México, DF, 41-56pp
- Einarsen, A. S. 1948. The pronghorn antelope and its management. Washington D.C.: Wildlife Management Institute.
- Excoffier, L. Smouse, P. y Quattro, J. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: Application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, 131: 489-491.
- Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution* 39: 783-791.
- Felsenstein, J. 1993. PHYLIP- Phylogenetic inference package, Version 3.5. University of Washington Press Seattle, WA.
- Fiend, J. A. 1994. Recovery plan for the numbat (*Myrmecobius fasciatus*). Australian National Park and Wildlife Service, Department of Conservation and Land Management.
- Fisher, D. C. 1987. Mastodont procurement by Paleoindians of the Great Lakes region: Hunting or Scavenging?. 309-421. en M. H. Nitecki y D. V. Nitecki. (eds). *The evolution of human hunting*. New York. Plenum.
- Fisher, R. A. 1930. *The Genetical Theory of Natural Selection*. Claredon Press, Oxford.
- FitzGibbon, C. D. 1990^a. Antipredator strategies of immature Thompson's gazelles: Hiding and the prone response. *Animal Behavior*. 40: 846-855.
- FitzGibbon, C. D. 1990^b. Why the hunting cheetahs prefer male gazelles? *Animal Behavior*. 40: 837-845.
- Foose, T. J., R. Lande, N. R. Flesness, G. Rabb y B. Read. 1986. Propagation plans. *Zoo Biol*. 5:139-46.
- Frick, C. 1937. Horned rumiats of North America. *Bull Am. Mus. Nat. Hist*. 69:1-669.

- Friend, J. A. 1987. Local decline, extinction and recovery: relevance to mammal populations in vegetation remnants. en: Saunders, D. A., G. W. Arnold, A. A., Burdbidge, A. J. M., Hopkins, (eds). *Nature Conservation: The Role of Remnants of Native Vegetation*, Surrey Beatty and Sons, Chipping Norton. pp. 53-64.
- Frison, G. C. 1987. Prehistoric, plains-mountain, large mammal, communal hunting strategies. 177-233 en M.H. Nitecki y D. V. Nitecki, eds., *The evolution of human hunting*. New York: Plenum.
- Fumagalli, L. C. Moritz, P. Taberlet y J. A. Friend. 1999. Mitochondrial DNA sequence divergence variation within the remnant populations of the endangered numbat (Marsupialia: Myrmecobiidae: Myrmecobius fasciatus). *Molecular Ecology*. 8: 1545-1549.
- Georgiadis, N., L., Bischof, A. Templeton, J., Patton, W., Karesh y D., Western. 1994. Structure and history of African elephant populations: I. Eastern and Southern Africa. *Journal of Heredity*. 85: 100-104.
- Gilpin, M. E. y M. E. Soulé. 1986. Minimum viable populations: Process of species extinction. en *Conservation Biology: The science of scarcity and diversity*, eds. Soulé M. E., 19-34. Sinauer, Sunderland, Mass.
- Goldman, E. A. 1945. A new pronghorn antelope from Sonora. *Proc. Biol. Soc. Washington*. 58:3-4
- González, S., J. E. Maldonado, J. A. Leonard, C. Villà, J. M. Barbanti Duarte, M. Merino, N. Brum-Zorrilla y R. K. Wayne. 1998. Conservation genetics of the endangered Pampas deer (Ozotocerus bezoarticus). *Mol. Ecol.* 7, 47-56.
- González-Romero, A. y Lafón, A. 1993. Distribución y estado actual del berrendo (*Antilocapra americana*) en México. *Avances en el Estudio de los Mamíferos de México*. Medellín, R. y G. Cevallos (eds). Vol. 1. As. Méx. de Mastozoología, A.C., Méx. D.F. pp. 409-420
- Graham R. W. y E. L. Lundelius. 1984. Coevolutionary disequilibrium and Pleistocene Extinctions, en Martin, P.S. y R. G. Klein. 1984. *Quaternary extinctions; A prehistoric revolution*, Tucson University of Arizona Press. pp 223-224.

- Graham, R. W. y E. L. Lundelius. 1994. *FAUMAP: A database documenting late Quaternary Distributions of Mammal Species in the United States*. Illinois State Museum. (25), 2: 456-457.
- Graham, R. y J. I., Mead. 1987. Environmental fluctuation and evolution of mammalian faunas during the last deglaciation in North America. en Ruddiman, W. F., y H. E. Wright, (eds). *North America and adjacent oceans during the last deglaciation*: Boulder, Colorado, Geological Society of America, The Geology of North America. v. K-3.
- Grant, P. R. y B. R. Grant. 1992. Hybridization of bird species. *Science*. 256:193-7.
- Grant, P. R. y B. R. Grant. 1994. Phenotypic and genetic effects of hybridization in Darwin's finches. *Evolution*. 48: 297-316.
- Greenberg, B. D. , J. E. Newbold y Sugino. 1983. Intraespecific nucleotide sequence variability surrounding the origin of replication in human mitochondrial DNA. *Gene*. 21:33-49
- Greig, J.C. 1979. Principles of genetic conservation in relation to wildlife management in Southern Africa. *S. Afr. Tydskr. Naturnav*. 9:57-78.
- Groves, C.P. y P. Grubb. 1987. Relationships of living deer. en: *Biology and management of the Cervidae*, ed C.M Wemmer 21-59. Washington D.C.: Smithsonian Institution Press.
- Gyllensten, U., D. Wharton, A. C. Wilson. 1985, Maternal inheritance of mitochondrial DNA during backcrossing of two species of mice. *Journal of Heredity*. 76, 321-24.
- Hall, J. G. 1981. *The mammals of North America*. John Wiley and Sons, New York.
- Harrison R. G. 1989. Animal mitochondrial DNA as a genetic marker in population and evolutionary biology. *Trends in Ecology and Evolution*, 4, 6-11.
- Hasegawa, M., H. Kishino y N. Saitou. 1991. On the maximum likelihood method in molecular phylogenetics. *J. Mol. Evol.* 32:443-445.
- Hasegawa, M., H. Kishino y T. A. Yano. 1985. Dating of the human-ape sesplitting by a molecular clock of mitochondrial DNA. *J. Mol. Evol.* 22:160-174.
- Higgins DG, A. J., Bleasby, R. Fuchs. 1992. CLUSTAL V: improved software for multiple sequence alignment. *Cabios*, 8: 189-191.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

- Hillis y C. Moritz. 1990. *Molecular Systematics*, Sinauer Associates, Sunderland, MA. USA: 588pp
- Hoffmeister, D. F. 1986. *Mammals of Arizona*. University of Arizona Press and Arizona Game and Fish department, 602pp.
- Hoover, R. L., C. E. Till y AS. Ogilvie. 1959. The antelope of Colorado. A research and management study. Colorado Dep. Game and Fish Tech. Bull. 4. 110pp.
- Hopkin K. 1999. Death to sperm mitochondria, *Scientific American*, 280(3): 21
- Horai S. y K. Hayasaka. 1990. Intraspecific nucleotide sequence differences in the major noncoding region of human mitochondrial DNA. *American Journal of Human Genetics* 46, 828-842.
- Houlden B. A., C. H. Costello, D. Sharkey, E.V. Fowlwr, A. Mekzer, W. Ellis, F. Carrick, P.R. Baverstock y M.S. Elphinstone. Phylogeographic differentiation in mitochondrial control region in the Koala, *Phascolarctos cinereus* (Goldfuss 1817). *Mol. Ecol.* 8:999-1011.
- INE, 1997. Programa de Conservación de la Vida Silvestre y Diversificación Productiva en el Sector Rural. SEMARNAP. 207 pp.
- IUCN. 1996. Red list of threatened Animals. IUCN (International Union for Conservation of Nature and Natural Resources). Gland Switzerland.
- Janis C. M. y K. M. Scott. 1987. The interrelationship of higher ruminants families with special emphasis on members of the Cervoidea. *Am. Mus. Novit.* 2893.1-85.
- Janis, C. M. 1982. Evolution of horns in ungulates: Ecology and paleoecology. *Biol. Rev.* 57:261-318.
- Janis, C. M. 1988. New ideas in ungulate phylogeny and evolution. *Trends in Ecol. & Evol.* 3:291-7.
- Kimura, M. 1983. *The Natural Theory of Molecular Evolution*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Kitchen D. W. 1974. Social behavior and ecology of the pronghorn. *Wildlife Monographs*. 38:1-96

- Kitchen D. W., y B. W. O'Gara. 1982. Pronghorn. Pag. 690-971 en J. A. Chapman y G. A. Feldhamer, (eds). *Wild mammals of North America*. John Hopkins Univ. Press, Baltimore, Md.
- Kiumura, M. 1981. Estimation of evolutionary distances between homologous nucleotide sequences. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 78:454-458.
- Kocher, T. D., W. K. and D. W. Rice. 1989. Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: amplification and sequencing with conserved primers. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 86:6196-6200.
- Koerth, B.H., L. J. Krysl, B. F. Sowell y F. C. Bryant. 1984. Estimating seasonal diet quality of pronghorn antelope from fecal analysis. *J. Range Manage.* 37 (6): 560-564.
- Kohn M, F. Knauer, A. Stoffella, W. Schroder, S. Pääbo. 1995. Conservation genetics of the European Brown-bear a study using excremental PCR of nuclear and mitochondrial sequences. *Mol. Ecol.* 4: 95-103
- Kraus, F. y M. M. Miyamoto. 1991. Rapid cladogenesis among pecoran ruminants: Evidence from mitochondrial DNA sequence. *Syst. Zool.* 40:117-30.
- Kretzmann M. B. W. G. Gilmartin, A. Meyer, G. P. Zegers, S. R. Fain, B. F. Taylor, y D. P. Costa. 1996. Low genetic variability in the Hawaiian monk seal, *Conservation Biology*, Vol 11(2): 482-490.
- Kruuk, H. 1972. *The spotted hyena: a study of predation and social behavior*. University of Chicago Press. Chicago.
- Kurtén, B. y E. Anderson. 1980. *Pleistocene mammals of North America*. New York: Columbia University Press.
- Kutzbach, J. E., y P. J., Gueter. 1986. The influence of changing orbital parameters and surface boundary conditions on climatic simulations for the past 18,000 years. *J. Atmos. Sci.*, 43: 1725-1759.
- Lande, R. 1988. Genetics and demography in biological conservation. *Science* 241:1455-1460.
- Leberg, P. L. 1991. Influence of fragmentation and bottlenecks on genetics divergence of wild turkey. *Cons. Biol.* 5:522-530.

- Lee R. M., J.D. Yoakum, b. W. O'Gara, T. M. Pojar y R. A. Okenfels. 1998. Pronghorn Management Guides, Pronghorn Antelope Workshop, AG&FD, Arizona, 110 pp.
- Lee T. E. 1992. Mitochondrial DNA and Alloenzyme análisis of pronghorn populations in North America. Tesis de Doctorado. Texas A&M Univ. College Station.57 pp.
- Lee T. E., J. N. Derr, J. W. Bickham, T. L. Clark. 1989. Genetic Variation in Pronghorn from West Texas, *Journal of Wildlife Management*, 53(4):890-895.
- Lee T.E., J. W., Bickham, y S. Douglas. 1994. Mitochondrial DNA and alloenzyme analysis of North American pronghorn populations. *J. Wildl. Manage.*58 (2), 307-318.
- Leinders, J. 1948. Hoplitomerycidae Fam. Nov. (Rumantia, Mammalia) from Neogene fissure fillings in Gargano (Italy). Part 1. The croneal osteology of Hoplitomeryx gen. Nov. and discussion on the classification of pecoran families. *Scripta Geol.* 70:1-68.
- Leinders, J. J. M., y E. Heintz. 1980. The configuration of the croneal orifices in pecorans and tragulids (Arteodactila, Mammalia) and its significance for distinction between Bovidae and Cervidae, *Beaufortia* 30:155-62.
- Leopold, A. S. 1959. Wildlife of Mexico. The University of California press, Berkeley, 568 pp.
- Lukiart G. y F. Allendorf. 1996. Mitochondrial-DNA variation and genetic population-structure in Rocky Mountain bighorn sheep (*Ovis canadensis canadensis*). *Journal of Mammology.* 77:109-123
- Lundelius, E. L. *et al.* 1987, The North American Quaternary Sequence. pag 211-235, En Woodtdburne M.O. editor. *Cenozoic mammals of North América* University of California Berkeley.
- MacPhee, R.D. y P. A. Marx .1997. The 40,000- year plague: humans, hyperdisease, and first-contact extinctions. pp 169-217. en S. M. Goodman y B.D. Patterson, *Natural change and human impact in Madagascar.* Smithsonian Institution Press.

- Maldonado J. E., F. O. Davila, B. S. Stewart, E. Greffen. R. K. Wayne. 1995. Intraspecific genetic differentiation in California sea lions (Zalophus californianus) from southern California Gulf of California. *Marine Mammal Science*. 11(1):46-58
- Maniatis, T.; Fritsch, E. F.; Sambrook, J. 1982. Molecular cloning: A laboratory manual. New York, Cold Spring Harbor Laboratory.
- Martin, L. D., B. M. Gilbert y D. B. Adams. 1977. A cheetah-like cat in the North American Pleistocene. *Science* 195:981-982
- Martin, P. S. 1967. Prehistoric Overkill. en Martin P. S. y Wright H. E., eds. *Pleistocene extinctions: the search of a cause*. New Haven and London: Yale Univ. Press, pp. 75-120.
- Martin, P.S. y R. G. Klein. 1984. *Quaternary extinctions; a prehistoric reevolution*, Tucson University of Arizona Press. 892 pp.
- Martinka A, C. 1996. The international antelope herd. *Montana Wildlife*, pp. 28-30.
- Matthee C. y T. J., Robinson. 1999. Mitochondrial DNA population structure of roan and sable antelope: implications for translocation and conservation of the species. *Mol. Ecol.* 8: 227-238.
- Matthew, W. D. 1934. A phylogenetic chart of the Artiodactyla. *Journal of Mammal.* 15:207-209.
- Mayr, E. 1982. Of what use are subspecies? *Auk*. 99:593-595.
- Mead J. I., y D. J. Meltzer. 1984. North American late Quaternary extinctions and the radiocarbon record, en Martin, P.S. y R. G. Klein., (eds). *Quaternary extinctions; a prehistoric revolution*. Tucson University of Arizona Press. pp 440-450.
- Mearns, E. A. 1907. Mammals of the Mexican boundary of the United States. *Bulletin of the U.S. National Museum*, 56:1-530
- Meffe, G. K. y C. R. Carroll. 1997. *Principles of conservation Biology*. 2d ed. Sinauer, Sunderland Massachusetts. pp 729
- Melzer, A. 1995. Aspects of ecology of the Koala, *Phascolarctos cinereus* (Goldfuss 1827), in the sub-humid woodlands of Central Queensland. PhD. Thesis, University of Queensland, Australia.

- Merriam, C. H. 1901. Two new bighorns and new antelope from México and the United States. *Proc. Biol. Soc. Washington*. 14:31-32.
- Meyer .1994. Shortcomings of the cytochrome *b* gene as a molecular marker. *Trends in Ecology and Evolution*, 3:401-411.
- Mills, L. S. y F. W. Allendorf. 1996. The one-migrant-per-generation rule in conservation and management. *Conservation Biology*, 10: 1509-1518.
- Moritz, C. 1994a. Application of mitochondrial DNA analysis in conservation: critical review. *Mol. Ecol.* 3:401-411.
- Moritz, C. 1994b. Defining 'Evolutionarily Significant Units' for conservation. *Trends in ecology and Evolution*, vol.9,10:373-375.
- Moritz, C. 1996. Uses of molecular phylogenies for conservation, en Harvey, P. H., L. Brown, A. J. Maynard- Smith y S. Nee, (eds). *New uses for new phylogenies*. Oxford University Press, Oxford. 203-214.
- Moritz, C., A. Heidenman, E. Geffen, P. McRae. 1997. Genetic population structure of the Greater Bilby, *Macrotis lagotis*, a marsupial in decline. *Molecular Ecology*. 6: 925-936.
- Murray, M. G.1982. Home range dispersal and clan system of the impala. *African Journal of Ecology*, 20: 253-269.
- Nei, M. 1987. *Molecular evolutionary genetics*. Columbia Univ. Press, New York.
- Nei, M. y J. C. Miller. 1990. A simple method for estimating average number of nucleotide substitutions within and between populations from restriction data. *Genetics* 125: 873-879.
- Nelson, E. W. 1925. Status of the pronghorn antelope, 1922-1924. United States Department of Agriculture, Department Bulletin, 1346:1-64.
- Nelson. E. W. 1912. A new subspecies of pronghorn antelope from lower California. *Proc. Biol. Soc. Washington*. 25:107-108.
- Nielsen, J. L. (ed).1995. Evolution and the Aquatic Ecosystem: Defining Unique Units in Population Conservation. American Fisheries Society Symposium, 17 AFS, Bethesda, M.D.
- Nowak, R. M. 1991. *Mammals of the World*, 5ª ed. vol-2. Johns Hopkins University Press. London. 1991.

- Nyakaana, S. y P. Arcander. 1999. Population genetic structure of the African elephant in Uganda based on variation at mitochondrial and nuclear loci: evidence for male-biased gene flow. *Mol. Ecol.* 8: 1105-1115.
- O'Corry-Crowe, G.M., R.S. Suydam, A. Rosenberg, J.J. Frost, A.E. Dizon. 1997. Phylogeography population structure and dispersal patterns of beluga whale *Delphinapterus leucas* in the western Nearctic revealed by mitochondrial DNA. *Mol. Ecol.* 6:955-970.
- O'Gara B.W. 1978. *Antilocapra americana*. *Mam. Species.* 90: 1-7.
- O'Gara E. W., y G. Matson. 1975. Growth and casting horns by pronghorns and exfoliation horns by bovids. *J. Mammal.* 52:537-44.
- O' Wilson E. 1992. The diversity of life, WW. Norton company. EUA. 424 pp.
- Ockenfels, R. A. 1994. Mountain lion predation on pronghorn in Central Arizona. *South West Naturalist.* 39, 305-306
- Ord, G. 1815. North American Zoology . Pp.292 y 308, en Guthrie's Geography, 2nd Amer. ed., Johnson and Warner, Philadelphia, vol. 2.
- Paetkau, D. 1999. Using Genetics to Identify Intraespecific Conservation Units: a Critique of Current Methods. *Conservation Biology.* 13(6):1507-1509.
- Page, R. D. M. 1996. TREVIEW: An application to display phylogenetic trees on personal computers. *Comp. Appli. Biosc* 12:357-358
- Pallares, E., 1999. El retorno del berrendo: rescate de una especie en peligro de extinción. *National Geographic.* Marzo. Conservación en América Latina. 4: 3.
- Parkes, K.C. 1982. Subspecific taxonomy, unfashionable does not mean irrelevant. *AUK.* 99:596-598.
- Pennock y Diminick WW, 1997. Critique of the evolutionarily significant unit as a definition for 'distinct population segments' under US Endangered Species Act. *Conservation Biology.* 11, 611-619.
- Pistacchi M. J. 1998. A study of phenotypic variation and phylogeny in the genus *Equus* using the MC1R gene, Master thesis dissertation, University of California San Diego.

- Pope, L.C. A. Sharp. C. Moritz. 1996. Population structure of the yellow-footed rock-wallaby *Petrogale xanthopus* (Gray 1854), inferred from mtDNA sequences and microsatellite loci. *Molecular Ecology*. 6:925-936.
- Power, M. E., *et al.* 1996. Challenges in the quest for keystones. *BioScience*. 46: 609-620.
- Primack, R.B. 1993. *Essentials of Conservation Biology*. SA. USA. pp.
- Purves, K. W., G. O. Orians y H. C. Heller. 1992. *Life. The Science of Biology*, 3ª edición, Sinauer Associates, EUA. 1145 pp.
- Quiñones, L. G y M. Rodríguez. 1979. Isla del Tiburón- Refugio de Fauna Silvestre situado en el Golfo de California. *Bosques y Fauna*. Subsecretaría Forestal de Fauna. México. Año 2, 1: 27-38.
- Ramey, R. R. 1995. Mitochondrial DNA variation, population structure, and evolution of mountain sheep in the south-western United States Mexico. *Mol. Ecol.* 4. 429-439.
- Ramírez R. F. 1985. Captura, cría y reintroducción a la naturaleza de recentales de berrendo (*Antilocapra americana* Ord. 1818) (*Antilocapridae mammalia*) en San Luis Potosí. México. Tesis de Licenciatura. Facultad de Medicina y Zootecnia. UNAM. México D.F. 56pp.
- Reynolds, J., B. S. Weir y C. C. Cockerham. 1983. Estimations for the coancestry coefficient: basis of a short erm genetics distance. *Genetics* 105: 767-779.
- Rosas, J. y Rosas, R. 1999. DnaSP version 3: an integrated program for molecular population genetics and molecular evolution analysis. *Bioinformatics* 15: 174-175.
- Russell, T. P., 1964, Antelope of New Mexico, New Mexico Department of Game and Fish bulletin. 12: 1-103.
- Ryder, O. A. 1986. Species conservation and systematics: the dilemma of subspecies. *Trends in Ecology and Evolution*. 1(1): 9-10
- Ryder, O. A. 1997. Conservation and ex-situ population management. 196-197. in G. K. Meffe, C. R. Carroll . *Principles of conservation biology*. 2d ed. Sinauer, Sunderland, Massachusetts.

- Ryder, O. A. y R. C., Fleischer. 1996. Genetic Research and its Application in Zoos. 255-262 pp. en *Wild Mammals in Captivity*. Kleiman, G. D. K., M. E. Allen, K. V. Thompson, S. Lumpkin. eds. University of Chicago Press. Chicago.
- Saccone C., Pesole G. and Sbisá E. 1991. The Main Regulatory Region of mammalian mitochondrial DNA: Structure-Function Model and Evolutionary Pattern. *J. Mol. Evol.* 33:83-91
- Saitou, N. y M. Nei. 1987. The neighbour -joining method: a new method for reconstructing phylogenetics trees. *Mol. Biol. Evol.* 4: 406-425
- Schmidt-Nielsen, K. 1964. *Desert animals*. Oxford University Press, New York, 211pp.
- Schneider S., J. M. Kueffer, D. Roessli y Escoffier. 1997. Arlequin ver 1.1: A software for population genetic data analysis. Genetics biometry Laboratory, University of Geneva, Switzerland.
- Shaffer M. L. 1981. Minimum population sizes for species conservation. *BioScience* 31:131-134.
- Siegismund H. R., y P. Arctander. 1995. Structure of African elephant populations. *Journal of Heredity*. 86: 467-469.
- Simonsen B. T., H. S. Siegismund y P. Arctander. 1998. Population structure of African Buffalo inferred from mtDNA sequences and microsatellite loci: high variation but low differentiation. *Mol. Ecol.* 7: 225-237.
- Smith, M. F. y J. L. Patton. 1988. Subspecies of pocket gophers: Causal bases of geographic differentiation in *Thomomys botae*. *Syst. Zool.* 37:163-178.
- Soulé, M. E. 1980. Thresholds for survival: maintaining fitness and evolutionary potential, en: *Conservation biology: an evolutionary perspective*. Soulé M. E. and Wilcox eds. Sutherland Massachusetts, Sinauer.
- Soulé, M. E. 1986. *Conservation Biology. The Science of Scarcity and Diversity*. Sinauer Associates, Inc. EUA. 584 pp.
- Soulé, M. E., M. Gilpin. 1986. The millenium ark: How long a voyage, how many passengers? *Zoo Biol.* 5:101-113.

- Stalkin, M. 1995. A measure of population subdivision base on microsatellite alele frequencies. *Genetics* 139: 457-462.
- Strauss E. 1999. mtDNA Shows Signs of Paternal Influence, *Science*, 286:2436
- Stuart, A. J. 1991. Mammalian extinctions in late Pleistocene of northern Eurasia and North America. *Biol. Rev.* 66: 453-562.
- Swofford, D. L. 1999. PAUP*. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (*and other methods). Versión 4. Sinauer Associates, Sunderland, MA.
- Tablerlet, P.1996. The Use of Mitochondrial DNA Control Region Sequencing in Conservation Genetics, en: Smith, T. B. Y R. K. Wayne (eds), *Molecular Genetic Approaches in Conservation*. Oxford University Press. New York, NY. USA. pp125
- Tajima, F. 1983. Evolutionary relationship of DNA sequences in finite populations. *Genetics* 105: 437-460.
- Tarr C.L. y R. C. Fleischer. 1999. Population boundaries and genetic diversity in endengered Mariana crow (*Corvus Kubaryi*). *Molecular Ecology*. 8:941-949.
- Templeton A. R. y N. J., Georgiadis. 1996. A landscape approach to conservation genetics: Conserving evolutionary processes in African Bovidae. en : Avise, J. C. y J. L. Hamrick edit. *Conservation Genetics- Case Histories From Nature*. Chapman Hall, New York, pp. 398-430.
- Templeton, A . R. 1997. Coadaptation, Local Adaptation and Outbreeding Depression, en: *Principles of conservation Biology*. Meffe, G. K. y C. R. Carroll. 2d ed. pp. 174-175 Sutherland Massachusetts, Sinauer.
- Thompson- Olais, L. 1994. Sonoran pronghorn recovery plan. Revision. Technical Agency Draft. U. S. Fish and Wildlife service. Arizona, U.S. A.
- USDI (United States of the interior). 1976. Federal Register 41:1646-49.
- Vilà C., P. Savolainen, J. E. Maldonado, I. R. Amorim, J. E. Rice, R. H. Honeycutt, K. A. Crandall, J. Lundeberg y R. K. Wayne. 1997. Multiple Ancient Origins of the Domestic Dog. *Science*. 276:168-1689.
- Vogler A.P., R. DeSalle, 1994, Diagnosing units of conservation management. *Conservation Biology*. 8, 354-636.

- Waples, R. S. 1991. Definition of "species" under the Endanger Species Act: Application to Pacific salmon. NOAA Technical memorandum NMFS F/NWC-194. National Marine Fisheries Service, Seattle WA. 3,6.
- Web, S. D. 1973. Pliocene pronghorns of Florida. *J. Mammal.* 54: 203-21.
- Webb, S. D. 1977. A history of savanna vertebrates in new world. Part I North America. *Annu. Rev. Ecol. Syst.*8:355-80.
- Weir, B. S. 1990. *Genetic Data Analysis II*. Sinauer Associates, Inc. Sunderland.
- Wenink P.W., A.J. Baker, M.G. J. Tilanus.1994. Mitochondrial control-region sequences in two shorebird species, the Turnstone and the Dunlin, and their utility in population genetic studies. *Molecular Biology and Evolution.* 11:22-31.
- Wenink, P. W. A. J. Baker y M. G. J. Tilanus. 1993. Hypervariable-control- region sequences reveal global population structuring in long distance migrant shorebird, the dunlin (*Calidris alpina*). *Proceedings of the National Academy of Sciences* 90:94-98
- Wenink, P. W., A. J. Baker y M. G. J. Tilanus. 1994. Mitochondrial control region sequences in two shorebird species, the turstone and the dunlin, and their utility in population genetic studies. *Molecular Biology and Evolution* 11:22-31.
- Wenink, P.W., A.J., Baker, H-U Rösner, M.J. Tilanus. 1996. Global Mitochondrial DNA phylogeography of holartic breedingdunlins (*Calidris alpina*). *Evolution*,50: 318-330.
- Wilson, A. C. , R. L. Cann, S. M. Carr, M. George, U. B. Gyllensten, K.M. Helm-Bychowski, R.G. Higuchi, S. R. Palumbi, E. M. Prager, R. D. Sage, y M. Stoneking; 1985. Mitochondrial DNA and two perspectives on evolutionary genetics. *Biol. Linnean Soc.* 26:375-400.
- Wilson, E. O. y W. L. Brown. 1953. The subspecies concept and its taxonomic application. *Syst. Zool.* 2:97:111.
- Withehead H. 1998. Cultural selection and genetic diversity in matrilineal whales. *Science.* 282: 1708-1711.

- Woodruff, D. S. 1989. The problems of conserving genes and species. en *Conseravtion for the twenty first century*, Western, D. y M. Pearl. (eds). Oxford University Press, New York. pp76-88.
- Worington-Willmer J., C. Moritz, L. Hall, J. Toop. 1994, Extreme population structuring in the threaten ghost bat Macroderma gigas: evidence from mitochondrial DNA. *Procc. of the Royal Soc. of London.B*, 275:193-198.
- Wright, S. 1951. The genetical structure of populations. *Ann. Eugenics* 15: 323-354.
- Yates, S. 1986. a pronghorn needs freedom to feel at home on the range. *Stmitsonian*. 17(9):86-95.
- Yoakum J. 1980. Habitat management guides for the American pronghorn antelope. U.S. Dept. Inter. Bur. Land Manage. Denver Service Center.
- Yoakum, J.D. 1978. Pronghorn. *In* Schmidt & Gilbert. (1978), pp. 103-121.

APÉNDICES

Apéndice A. Información básica de las muestras colectadas por región, así como los haplotipos hallados en cada una de estas.

Región	No	Haplo-tipo	Sexo	Colector	Fecha de colecta	Lugar de colecta	Muestra
California	NE CA F	i	D	CA/10(San D. ZOO)	Desconocido	California	DNA
California	FR foot	b	D	CA/11(San D. ZOO)	Desconocido	California	DNA
California	OR 354	i	D	CA/16(San D. ZOO)	Desconocido	California	DNA
California	Fdead	h	D	CA/17(San D. ZOO)	Desconocido	California	DNA
California	NECA M	a.3	D	CA/13(San D. ZOO)	Desconocido	California	DNA
Chihuahua	2	y	M	Dalia Amor	ago-98	El SDeco	H
Chihuahua	5	e	F	Dalia Amor	ago-96	La Maleta	C
Chihuahua	6	y	M	Dalia Amor	ago-96	Janos	C
Chihuahua	18	z	D	Dalia Amor	8/11/98	Los Morteros	TV
Chihuahua	20	g	D	Dalia Amor	8/11/98	El Mimbres	TV
Chihuahua	30	z	D	Dalia Amor	8/05/98	Las Mesteñas	TV
Chihuahua	104	g	D	Dalia Amor	ago-96	La Maleta	Hu
Colorado	113	k	F	Dan Hill, Colorado DW	Desconocido	Baca	M
Colorado	114	g	F	Dan Hill, Colorado DW	Desconocido	Baca	M
Colorado	115	a	F	Dan Hill, Colorado DW	Desconocido	Kiowa	M
Colorado	116	a	F	Dan Hill, Colorado DW	Desconocido	Kiowa	M
Colorado	117	c	F	Dan Hill, Colorado DW	Desconocido	Prowers	M
Colorado	118	v	M	Dan Hill, Colorado DW	Desconocido	Cheyenne, Lincoln or Prowers	M
Colorado	119	u	F	Dan Hill, Colorado DW	Desconocido	Las Animas	M
Colorado	120	t	M	Dan Hill, Colorado DW	Desconocido	Otero	M
Colorado	121	k	M	Dan Hill, Colorado DW	Desconocido	Crowley	M
Colorado	122	s	F	Dan Hill, Colorado DW	Desconocido	Bent	M
Montana	105	a	M	Bart O'Gara	Desconocido	Lake	M
Montana	106	a	M	Bart O'Gara	Desconocido	Lake	M
Montana	107	v	M	Bart O'Gara	Desconocido	Garfield	M
Montana	108	a.1	F	Bart O'Gara	Desconocido	Garfield	M
Montana	109	k	M	Bart O'Gara	Desconocido	Garfield	M
Montana	110	v	F	Bart O'Gara	Desconocido	Garfield	M
Montana	111	a	F	Bart O'Gara	Desconocido	Montana	M
Montana	112	a	M	Bart O'Gara	Desconocido	Garfield	M
Nevada	99	m	F	Jerry Smith, Nevada DW	Desconocido	Elko	M
Nevada	100	x	F	Jerry Smith, Nevada DW	Desconocido	Elko	M
Nevada	101	l	F	Jerry Smith, Nevada DW	Desconocido	Elko	M
Nevada	102	w	M	Jerry Smith, Nevada DW	Desconocido	Elko	M
Nevada	103	w	F	Jerry Smith, Nevada DW	Desconocido	Elko	M
Nuevo México	3	c	M	Dalia Amor	1/12/98	Camizoso	C

Región	No	Haplo-tipo	Sexo	Colector	Fecha de colecta	Lugar de colecta	Total
Nuevo México	4	g	M	Dalia Amor	1/12/98	Carrizoso	C
Nuevo México	7	g	F	Dalia Amor	1/12/98	Carrizoso	C
Nuevo México	8	d	F	Dalia Amor	1/12/98	Carrizoso	C
Nuevo México	9	c	M	Dalia Amor	1/12/98	Carrizoso	C
Nuevo México	10	g	M	Dalia Amor	1/12/98	Carrizoso	C
Nuevo México	13	c	D	Dalia Amor	1/12/98	Carrizoso	C
Nuevo México	14	g	D	Dalia Amor	1/12/98	Carrizoso	C
Nuevo México	23	g	M	Dalia Amor	1/12/98	Carrizoso	C
Nuevo México	43	g	F	Dalia Amor	1/12/98	Carrizoso	C
Nuevo México	44	g	N	Dalia Amor	1/12/98	Carrizoso	C
Nuevo México	46	f	F	Dalia Amor	1/12/98	Carrizoso	C
Nuevo México	47	g	N	Dalia Amor	1/12/98	Carrizoso	C
Nuevo México	48	d	F	Dalia Amor	1/12/98	Carrizoso	C
Nuevo México	123	r	M	Patric Monrrow	Desconocido	Socorro	M
Nuevo México	124	q	M	Patric Monrrow	Desconocido	Socorro	M
Nuevo México	125	o	M	Patric Monrrow	Desconocido	Socorro	M
Nuevo México	126	p	M	Patric Monrrow	Desconocido	Socorro	M
Nuevo México	127	o	M	Patric Monrrow	Desconocido	Socorro	M
Sonora	16	j	D	Carlos Hermosillo	Desconocido	Carretera Peñasco, km 35	Cu
Sonora	128	j	M	James De Vos, AZGFD	3/12/90	Río Sonoyta	S
Sonora	130	g	F	James De Vos, AZGFD	5/12/90	NW Sierra Tecalote	S
Sonora	131	g	F	James De Vos, AZGFD	Desconocido	Sur Arizona	S
Sonora	132	g	M	James De Vos, AZGFD	4/12/90	NE Sierra Tecalote	S
Sonora	133	j	F	James De Vos, AZGFD	3/12/90	NE Sierra Tecalote	S
Sonora	134	j	F	James De Vos, AZGFD	4/12/90	Río Sonoyta	S
Sonora	135	g	M	James De Vos, AZGFD	5/12/90	NW Sierra Tecalote	S
Sonora	136	j	D	Karen Westphall, Cabeza Prieta NWR	Desconocido	Sur Arizona	CE
Sonora	137	j	D	Karen Westphall, Cabeza Prieta NWR	Desconocido	Sur Arizona	CE

Región	No	Haplo-tipo	Sexo	Colector	Fecha de colecta	Lugar de colecta	Total
Sonora	138	j	D	Karen Westphall, Cabeza Prieta NWR	Desconocido	Sur Arizona	CE
Sonora	139	g	D	Karen Westphall, Cabeza Prieta NWR	Desconocido	Sur Arizona	CE
Sonora	141	j	D	Karen Westphall, Cabeza Prieta NWR	Desconocido	Sur Arizona	CE
Sonora	142	j	D	Karen Westphall, Cabeza Prieta NWR	Desconocido	Sur Arizona	CE
Sonora	143	g	D	Karen Westphall, Cabeza Prieta NWR	Desconocido	Sur Arizona	CE
Sonora	144	j	D	Karen Westphall, Cabeza Prieta NWR	Desconocido	Sur Arizona	CE
Sonora	OR918	g	D	San Diego Zoo	Desconocido	Sur Arizona	CE
Vizcaino	1	h	M	Dalia Amor	2/09/97	Lomas Pedregosas	H
Vizcaino	12	i	D	J. Cancino y Heredia	mar-91	Vizcaino	Cu
Vizcaino	15	i	D	J. Cancino y M. Agüero	mar-86	Vizcaino	Cu
Vizcaino	26	h	D	J. Cancino	dic-84	Vizcaino	Cu
Vizcaino	27	h	D	J.Cancino	abr-86	Vizcaino	Cu
Vizcaino	28	i	D	A. González y A. Cárdenas	87	Vizcaino	Cu
Vizcaino	29	i	D	A. González y A. Cárdenas	87	Vizcaino	Cu
Vizcaino	58	i	D	Victor Sánchez	feb-95	Vizcaino	Tv y Hu
Vizcaino	60	i	F	J. Cancino y J. Valencia	10/28/98	Vizcaino	Ex
Vizcaino	61	i	F	J. Cancino y J. Valencia	11/01/98	Vizcaino	C
Vizcaino	62	h	F	J. Cancino y J. Valencia	11/01/98	Vizcaino	C
Vizcaino	64	h	M	J. Cancino y J. Valencia	10/28/98	Vizcaino	Ex
Vizcaino	146	h	M	J.Cancino	abr-99	Vizcaino	P
Vizcaino	147	h	M	J.Cancino	abr-99	Vizcaino	P
Vizcaino	148	h	M	J.Cancino	abr-99	Vizcaino	P
Vizcaino	149	i	D	J.Cancino	Desconocido	Vizcaino	Cu
Wyoming	93	k	D	Desconocido	Desconocido	Wyoming	M
Wyoming	94	k	F	Rhoda Ralston (NFWFL)	Desconocido	Wyoming	M
Wyoming	95	a.2	D	Desconocido	Desconocido	Wyoming	M
Wyoming	96	n	F	Rhoda Ralston (NFWFL)	Desconocido	Wyoming	M
Wyoming	97	a	M	Dick StroDd (NFWFL)	Desconocido	Wyoming	M
Wyoming	98	k	F	Dick StroDd (NFWFL)	Desconocido	Wyoming	M
TOTAL							93

Las abreviaturas correspondientes en la columna que indica el sexo de los individuos se refieren a; F: femenino, M: masculino, D: desconocido. Las abreviaturas señaladas en la columna titulada muestra se refieren al tipo de muestra colectada: DNA, corresponde al DNA que se encontraba en la colección del Zoológico de San Diego (el cual había sido extraído previamente en CRES), H: hígado, C: cartilago, Tv: tejido viejo, Hu: hueso, M: músculo, S: sangre, CB: Células bancas, Ex: excretas y P: pelo.

Apéndice B. Especies de ungulados y carnívoros que coexistieron con el berrendo durante el Pleistoceno.

A2. 1 Especies de Ungulados que reportan Kurtén y Anderson (1980), que coexistieron con el Berrendo, previo a la extinción de la megafauna.

PERISSODACTYLA

Equidae

Equus hemionus

E. tau

E. giganteus

E. occidentalis

E. complicatus

E. fraternus

E. scotti

E. niobrarensis

E. conversidens

E. lambei

E. excelsus

ARTIODACTYLA

Antilocapridae

Capromeryx mexicana

C. minor

Stockoceros onusrosagris

S. conklingi

Tetrameryx schuleri

Tayassuidae

Mylohyus nasutus

Platygomus compressus

Camelidae

Camelops kansanus

C. huerfanensis

C. minidokae

C. hesternus

Hemiauchenia macrocephala

Paleolama mirifica

Cervidae

Navahocerus fricki

Sangamona fugitiva

Cervalces scotti

Bovidae

Oreamnos americanus

Oreamnos harringtoni

Euceratherium collinum

Symbos cavifrons

Bootherium bombifrons

Bison priscus

B. latifrons

B. bison

A2. 2 Especies de carnívoros que coexistieron con el berrendo, las cuales se sugieren como posibles depredadores del mismo (según Byers 1997, modificado siguiendo a Lundelius *et al* 1987).

Canidae

- *Borophagus* spp.: Carnívoros del tamaño de un lobo, parecidos a las hienas. Se cree que fueron importantes depredadores de las crías de berrendo (Kruuk 1972; Fitz Gibbon 1990a).
- *Canis leophagus* y *Canis latrans*: Dos especies de coyote que, considerando los hábitos de *Canis latrans* en la actualidad, podrían haber sido depredadores de las crías.
- *Canis psicolatrans*, *Canis ambrusteri*, *Canis rufus*, *Canis lupus* y *Canis dirus*: Estos son las especies de lobos que habitaban América del Norte durante el Pleistoceno. Se ha considerado que pudieron haber sido depredadores de crías de berrendo. En el caso de *Canis dirus* se cree que, por sus características anatómicas, podía atacar adultos débiles.
- *Cuon alpinus*: “dhole” cazadores gregarios capaces de matar ungulados de tamaño mediano. Actualmente sólo se les encuentra en Asia, desde Siberia hasta Sumatra y Java.
- *Protocyon* spp.: Perros grandes de patas cortas. Se cree que era un poderoso depredador debido al tipo de mandíbulas que presentaba (Kurten y Anderson 1980).

Hyenidae

- *Chasmaporthetes ossifragus*: Una especie de hiena de Norte América, cuyas extremidades tenían las mismas proporciones que las de los cheetas. Se cree que este era uno de los depredadores más peligrosos para el berrendo.

Ursidae

- *Arctodus simus*: Por la estructura de su esqueleto apendicular se ha estimado que pudo haber sido un gran corredor. Posiblemente depredaba tanto crías como adultos.

Felidae

- *Megantereon* spp, *Smilodon* spp y *Homotherium* spp: Los tres géneros han sido descritos como los gatos dientes de sable. Aun cuando Byers (1997) incluyó estos géneros, no es posible asegurar que hayan sido importantes depredadores del berrendo ya que se ha deducido que se especializaban en presas grandes y lentas.
- *Panthera leo atrox*: El león de Norte América, mayor en tamaño al león actual, fue posiblemente un corredor más veloz. Se cree que representaba un riesgo para el berrendo como depredador de emboscada.
- *Panthera onca*: El jaguar, aún sobreviviente, se distribuía en toda Norte América. Los representantes del Pleistoceno poseían extremidades más largas que los actuales.
- *Puma concolor*: El puma abarcaba la misma distribución que en la actualidad. Es bien conocido como uno de los principales depredadores del berrendo hoy en día (Ockenfels 1994).
- *Acinonyx* spp.: Dos especies de cheeta se reportan para Norte América. Ambos estaban especializados en cazar ungulados del tamaño del berrendo (FitzGibbon 1990a, 1990b; Caro 1994) por lo que se les ha considerado como los principales agentes de selección para el sistema cursorial del berrendo.