

76
24



Universidad Nacional Autónoma de México
FACULTAD DE CIENCIAS

**COMPARACION CROMOSOMICA ENTRE
EL CONEJO ZACATUCHE, *Romerolagus diazi*
Y LA LIEBRE TORDA, *Lepus callotis*
(MAMMALIA: LAGOMORPHA)**

TESIS PROFESIONAL
BIOLOGIA

FRANCISCO X. GONZALEZ COZATL

CIUDAD UNIVERSITARIA
1992





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 está 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.

INDICE

INTRODUCCION.....	1
MATERIALES Y METODO.....	9
RESULTADOS.....	16
DISCUSION.....	20
CONCLUSIONES.....	27
LITERATURA CITADA.....	29
TABLAS.....	34
FIGURAS.....	39

INTRODUCCION

Aunque los lagomorfos no son un grupo diverso, pues consta de sólo dos familias con 12 géneros y 78 especies recientes (Chapman y Flux, 1990), son miembros importantes de muchas comunidades terrestres (Vaughan, 1978). Junto con los roedores constituyen la base de la pirámide alimentaria al actuar como fuente de energía para depredadores como reptiles, aves y otros mamíferos. Además se encargan de consumir, regular y dispersar poblaciones de especies vegetales como pastos, hierbas y arbustos.

La familia Leporidae agrupa a los lagomorfos comúnmente conocidos como liebres y conejos. Su distribución original incluía la mayor parte de todos los continentes; hoy en día son cosmopolitas como consecuencia de su introducción a regiones como Australia, Nueva Zelanda, el sur de Suramérica y diversas islas oceánicas del Pacífico y el Atlántico. Actualmente están representados por 11 géneros con 53 especies recientes (Chapman y Flux, 1990); de éstas, existen en México cinco pertenecientes al género Lepus (liebres), ocho al género Sylvilagus (conejos) y una especie al género monotípico Romerolagus (Hall, 1981; Tabla 1).

A pesar de que nuestro territorio se encuentra representado por una amplia variedad de lepóridos, con poco más de la cuarta parte de las especies del mundo y de ser el país del Continente Americano con el mayor número de especies (Tabla 2), se tiene un escaso conocimiento de la biología de los lagomorfos mexicanos. Además, reviste gran importancia el hecho de que ocho de las especies que se distribuyen en México son endémicas (Tabla 1) y

con excepción de dos, ocupan áreas muy reducidas (Honacki et al., 1982). Esto representa un factor significativo para el estudio de este grupo en el ámbito evolutivo, sistemático, biogeográfico y, similarmente, para abordar aspectos de conservación.

En esta línea se han realizado escasos trabajos sobre estos mamíferos mexicanos. La información de estudios sistemáticos y filogenéticos es prácticamente nula, inclusive se desconoce qué grupos de especies son más similares entre sí, cuales se encuentran más cercanamente emparentadas que otras y qué relación tienen con sus patrones de distribución geográfica actuales. Sólo en algunos trabajos se han abordado, por medio de cariotipos, aspectos de sistemática y evolución de algunos lagomorfos (Güereña et al., 1983; Lorenzo, (en prensa); Robinson et al., 1981; Uribe-Alcocer et al., 1975; Uribe-Alcocer, 1977; Uribe-Alcocer et al., 1989; Van der Loo et al., 1979). Sin embargo, los resultados se han mantenido aislados y no han permitido generar un conocimiento básico sobre las relaciones sistemáticas de estos mamíferos que habitan en nuestro país.

Considerando los factores anteriores, el presente trabajo contempla la idea de continuar con esta línea de estudio y aportar nuevos elementos que permitan tener un panorama más claro de los mecanismos cromosómicos específicos que han operado en el curso evolutivo de este grupo de lagomorfos, a fin de establecer hipótesis sobre sus relaciones sistemáticas y filogenéticas. En este contexto, el conejo zacatuche, Romerolagus diazi y la liebre torda, Lepus callotis, constituyen dos especies mexicanas que poseen características particulares muy interesantes. Romerolagus diazi, también denominado zacatuche, teporingo o

conejo de los volcanes (Cervantes, 1981), es un pequeño lepórido considerado como un taxón relictivo, que posee características primitivas que lo relacionan estrechamente con lagomorfos de la antigua subfamilia Palaeolaginae. La distribución geográfica conocida de este conejo endémico comprende una zona muy reducida en las montañas centrales del Eje Neovolcánico Transversal (Hall, 1981; Hoth et al., 1987; Fig. 1). Esta área, que abarca desde los 2,850 hasta los 4,250 m de altitud, incluye los estados de México, Morelos, Puebla y el Distrito Federal (Cervantes et al., 1990a). Los elementos florísticos que caracterizan el habitat del zacatuche corresponden a bosque de pino con la presencia de abundantes gramíneas amacolladas (zacatones). Además, la presencia de afloramientos basálticos y terrenos planos con abundante suelo, proporcionan diversas alternativas de refugio para estos lagomorfos (Cervantes, 1980).

Este lepórido se caracteriza por tener una longitud promedio de 290 mm, que lo coloca como el segundo conejo americano más pequeño; su pelaje es de color pardo oscuro y la diminuta cola no es visible; las patas son cortas y las orejas redondeadas y pequeñas (Cervantes, 1981). El número cromosómico diploide ($2n$) del zacatuche es 48 (Uribe-Alcocer et al., 1975; Van der Loo et al., 1979; Robinson et al., 1981). El complemento cromosómico está caracterizado por 16 pares de cromosomas birrámeos y 7 pares de cromosomas telocéntricos con un número fundamental (NF) de 78; el cromosoma sexual X es un subtelocéntrico largo y el cromosoma Y un metacéntrico también largo (Uribe-Alcocer et al., 1975). Sin embargo, para la misma especie se ha observado una variante en el complemento cromosómico que consta de 3 pares de cromosomas

metacéntricos, 11 pares submetacéntricos y 9 pares acrocéntricos; los cromosomas sexuales son submetacéntricos, el cromosoma X es largo y el Y corto; el número fundamental no fué determinado (Van der Loo et al., 1979; Tabla 3). Por lo tanto, queda pendiente comprobar la certeza de ambos ensayos o bien evidenciar la existencia de polimorfismo cromosómico en la especie.

La liebre torda o de costados blancos, Lepus callotis, es una especie de la cual se tiene escasa información biológica. Su área de distribución se extiende desde el noroeste del estado de Oaxaca al través de la Sierra Madre Occidental hasta el noroeste de Chihuahua, e incluye algunos registros en el suroeste de Nuevo México en Estados Unidos (Anderson y Gaunt, 1962). La reducida presencia de L. callotis en Estados Unidos, marca la pauta para considerarla como especie endémica de México (Ramírez-Pulido y Müdespacher, 1987; Fig. 2). El habitat de la liebre torda está constituido en su mayor parte por áreas planas semiáridas con vegetación medianamente densa, en la que destacan los pastos, mesquites y arbustos espinosos (Leopold, 1972).

Este lepórido presenta una coloración oscura con un "parche" negro en la zona de la nuca; los costados se caracterizan por ser blancos al igual que la región ventral del cuerpo; las extremidades son desarrolladas (longitud de pata 118-141 mm) y las orejas son significativamente grandes (109-149 mm); la longitud del cuerpo oscila alrededor de 550 mm (Anderson y Gaunt, 1962). En el aspecto citogenético no existe información referente a la liebre torda por lo que se desconoce su cariotipo. Cabe mencionar que ambas especies, R. diazi y L. callotis, se encuentran seriamente amenazadas debido a la intensa persecución

por su carne, a las actividades cinegéticas furtivas y al deterioro de su habitat como consecuencia de la tala, el fuego, el pastoreo y las prácticas agrícolas, lo que ha propiciado la reducción significativa de sus poblaciones (Cervantes, 1981; Leopold, 1972). Esta situación es un elemento que apoya aún más la necesidad prioritaria de dirigir esfuerzos de investigación hacia estas especies mexicanas (Cervantes et al., 1990b).

Los estudios citogenéticos que se han efectuado en la familia Leporidae han mostrado que las diferentes especies de liebres (género Lepus) parecen constituir un grupo muy bien definido entre los lepóridos, ya que son caracterizadas por cariotipos virtualmente idénticos. Todos los miembros de este grupo que han sido analizados poseen un número cromosómico diploide constante de 48 (Robinson et al., 1981; Robinson et al., 1983a; Schröder et al., 1978; Van der Loo et al., 1981). Este conservacionismo cromosómico se pone de manifiesto también en los patrones de bandas G que son muy similares, si no idénticos en muchos casos (Robinson et al., 1983a; Schröder et al., 1978).

Por otro lado, las especies de lepóridos que se refieren colectivamente a los conejos, presentan un marcado contraste con las liebres. El número diploide para este grupo oscila entre $2n=36$ para el conejo tropical, Sylvilagus brasiliensis (Gúereña et al., 1983) y $2n=52$ en S. transitionalis (Holden y Eabry, 1970), aunque Robinson et al. (1983b) y Ruedas et al. (1989) encontraron adicionalmente para esta última especie un número diploide $2n=46$ como consecuencia del polimorfismo cromosómico existente en este taxón.

Sin embargo, el zacatuche y S. bachmani presentan un número

cromosómico $2n=48$, el mismo número diploide encontrado en las liebres (Uribe-Alcocer et al., 1975; Van der Loo et al., 1979; Robinson et al., 1981; Worthington, 1970). Inclusive, el patrón de bandas cromosómicas G del zacatuche, tiene una gran similitud con el patrón de bandas correspondiente al género Lepus y es claramente diferente al de otras especies de conejos (Van der Loo et al., 1979). En especial, destaca el hecho de que especies fenotípicamente diferentes como el zacatuche, S. bachmani y las liebres, posean cariotipos muy similares. Así, la forma $2n=48$ parece constituir un elemento muy significativo para considerar la evolución cromosómica en los lepóridos.

Ante esto, se plantea que la marcada similitud cariotípica, puede ser un indicador de que el género Romerolagus está más estrechamente relacionado al género Lepus que al género Sylvilagus; además, también se sugiere que ambos han preservado un cariotipo ancestral (Van der Loo et al., 1979).

Al comparar a R. diazi con L. crawshayi, la diferencia principal encontrada parece corresponder a la diferente cantidad de heterocromatina constitutiva en bandas C (Robinson et al., 1981). De hecho, estos resultados apoyan las observaciones en el sentido de que diferentes taxa de lepóridos parecen poseer desiguales cantidades de heterocromatina constitutiva (Stock, 1976; Robinson, 1980).

Mientras que el género Lepus está caracterizado por pequeñas cantidades de heterocromatina constitutiva en la mayoría de los cromosomas, incluido el cromosoma sexual X (el Y es ampliamente heterocromático), los restantes géneros presentan cantidades considerablemente mayores. El significado de tales diferencias

permanece desconocido; sin embargo, parece posible que la presencia de mayor cantidad de heterocromatina constitutiva en algunos géneros de conejos, pudo haber facilitado cambios en el curso de la evolución cariotípica (Robinson et al., 1981).

Estos cambios cariotípicos en el material genético parecen corresponder principalmente a fusiones céntricas de tipo Robertsoniano y a cambios en la cantidad y distribución de heterocromatina constitutiva (Stock, 1976; Robinson, 1980). Las translocaciones recíprocas, inversiones y fusiones tandem parecen haber sido, al menos en las especies estudiadas, de menor importancia relativa (Robinson et al., 1981).

Si las fusiones céntricas parecen ser el principal mecanismo en la evolución cromosómica de los lepóridos, entonces se puede considerar que el cariotipo original en este grupo pudo haber tenido un número diploide mayor o igual a 48 (Robinson, 1980). Además, la presencia del cariotipo $2n=48$ en los tres géneros de la familia Leporidae, sugiere un origen evolutivo común a partir de un cariotipo ancestral del cual todos los lepóridos pudieron haber sido derivados (Robinson et al., 1981).

Es por ello que resulta particularmente importante conocer y analizar los arreglos cromosómicos correspondientes a los géneros Romerolagus y Lepus que son considerados primitivos. En este sentido, el presente proyecto plantea varios aspectos para comparar cromosómicamente al zacatuche, R. diazi y a la liebre torda, L. callotis. Primeramente es necesario definir el cariotipo del zacatuche ya que en la información referente a esta especie (Uribe-Alcocer et al., 1975; Van der Loo et al., 1979), existen diferencias en relación a la morfología de los cromosomas.

Por otro lado, será posible describir el cariotipo de la liebre torda que se desconoce actualmente. En este punto se espera obtener un número cromosómico de 48 en virtud de que el género Lepus parece constituir un grupo bien definido con este constante número cromosómico diploide.

Finalmente, al comparar cariotípicamente ambas especies, se espera que la variación cromosómica entre ellas sea similar a la encontrada por Robinson et al. (1981), al comparar a R. diazi que se distribuye en México con L. crawshayi que habita en Sudáfrica y que corresponde básicamente a la cantidad de heterocromatina constitutiva en bandas C.

La información que se obtenga, se integrará y analizará a fin de comprender las modificaciones que en materia de evolución cromosómica se han llevado al cabo en este grupo de lagomorfos, particularmente, en las especies mexicanas.

Por lo tanto, los objetivos de este trabajo son los siguientes:

- 1.- Definir el cariotipo del zacatuche, R. diazi.
- 2.- Elaborar y describir el cariotipo de la liebre torda, L. callotis.
- 3.- Comparar y analizar la variación cromosómica entre el conejo zacatuche, R. diazi y la liebre torda, L. callotis.

MATERIALES Y METODOS

Colecta de ejemplares.

Cinco individuos (3 machos y 2 hembras) de *R. diazi* fueron capturados vivos de sus madrigueras con la ayuda de perros habituados a seguir el rastro de estos animales y transportados al Instituto de Biología de la UNAM. La colecta se realizó en las inmediaciones del volcán Cerro Pelado a 5 Km SW del poblado de Parres, Delegación Tlalpan, D. F. Para coleccionar ejemplares de *L. callotis* se utilizó una escopeta calibre 16 con cartuchos del número 6 y un reflector de 750,000 candelas. Siete ejemplares (4 machos y 3 hembras) fueron capturados en las siguientes localidades: Jalisco: La Rosa Amarilla, 10 Km NW + 2 Km E La Manzanilla, Municipio La Manzanilla; Buenavista, 8 Km N + 6.5 Km E Mazamitla, Municipio Valle de Juárez; Michoacán: San Miguel, 11 Km E + 2 Km N San José de Gracia, Municipio Marcos Castellanos. Los ejemplares colectados fueron depositados en piel y esqueleto en la Colección Mastozoológica del Instituto de Biología, UNAM.

Obtención de cromosomas.

El material celular para la elaboración de las preparaciones cromosómicas se obtuvo mediante la modificación de dos procedimientos: la técnica de cultivo de linfocitos de Arakaki y Sparkes (1963) en el caso del zacatuche y la técnica de cultivo de médula ósea de Hsu y Patton (1969) para ambas especies.

Para el cultivo de linfocitos se obtuvieron en el laboratorio muestras de sangre de los ejemplares colectados mediante punción cardiaca. Para ello se emplearon jeringas estériles desechables de 5 ml con aguja de 20x32 mm y heparina

(Gibco, 1,000 U/ml) como anticoagulante, en una proporción de 0.1 ml por cada 4 ml de sangre. La siembra se realizó bajo condiciones de esterilidad en una campana de flujo laminar en tubos de centrifuga cónicos de 15 ml conteniendo los siguientes reactivos: 2 ml de medio Mc Coy 5a modificado (Gibco); 0.1 ml de fitohemaglutinina forma M (Gibco) y 0.1 ml de Penicilina-Estreptomicina (Gibco, 10,000 U-10,000 g/ml). En cada tubo se sembraron de 4 a 5 gotas de sangre (0.25 ml aproximadamente) y se incubó a 37C durante 72 horas en una estufa de cultivo. Cada 24 horas se invirtieron los tubos para homogeneizar el medio.

La cosecha de linfocitos se efectuó con modificaciones a la técnica de Moorhead et al. (1960). Cuarenta y cinco minutos antes de iniciar este procedimiento, se colocó 0.2 ml de colchicina (Gibco, 10 g/ml) en cada tubo de cultivo bajo condiciones de esterilidad en una campana de flujo laminar. Se centrifugó a 1000 revoluciones por minuto (rpm) durante 8 minutos; el sobrenadante se desechó y el paquete celular se resuspendió en solución hipotónica de KCl 0.057 M para incubarlo a 37C durante 40 minutos. Nuevamente se centrifugó durante 8 minutos a 1000 rpm, el sobrenadante se desechó y el paquete celular se resuspendió en solución fijadora de metanol-ácido acético en proporción 3:1 con un volumen final de 5 ml. En este punto se conservaron los tubos en refrigeración durante 24 horas. Después de este tiempo, se resuspendió el paquete celular y se centrifugó como en las ocasiones anteriores, desechando el sobrenadante y lavando el paquete celular con solución fijadora. Este procedimiento se repitió hasta que el sobrenadante fué transparente. Por último se resuspendió en aproximadamente 0.5

ml de fijador y se procedió a elaborar las preparaciones.

Para la técnica con médula ósea se retiraron el radio y la ulna de las extremidades de cada ejemplar y se cortaron las epífisis en su extremo proximal. Con ayuda de una jeringa de 5 ml y aguja de 20x32 mm se lavó la médula y se vació en tubos de centrifuga cónicos conteniendo 5 ml de medio de cultivo Mc Coy 5a modificado (Gibco) y 0.5 ml de colchicina (Gibco, 10 g/ml). El material se resuspendió con la jeringa y se incubó en alguna bolsa del colector a temperatura ambiente (16-27C) durante 2-8 horas (este tiempo dependió de la duración de la colecta). Posteriormente, se centrifugó a 1000 rpm por espacio de 8 minutos; el sobrenadante se desechó y el paquete celular se resuspendió en solución hipotónica de KCl 0.057 M para incubarlo a 37C durante 30 minutos en baño maría. Nuevamente se centrifugó durante 8 minutos a 1000 rpm, el sobrenadante se desechó y el paquete celular se resuspendió en solución fijadora de metanol-ácido acético en proporción 3:1 con un volumen final de 5 ml. Este último paso se repitió 3 veces. Finalmente se resuspendió en solución fijadora hasta obtener una disolución semitransparente y se procedió a elaborar las preparaciones.

En portaobjetos previamente limpios e inmersos en agua destilada se elaboraron la preparaciones, para lo cuales se goteó suspensión de material celular. Se observó al microscopio de contraste de fases para determinar la calidad de las preparaciones. Aquellas cuya calidad fué buena, se tificaron con Giemsa (Sigma) al 4% durante 5 minutos, se lavaron con agua destilada y se dejaron secar a temperatura ambiente.

Para realizar bandas G y C, se seleccionaron aquellas

preparaciones que mostraron buena cantidad y calidad de mitosis. En ambos casos fué recomendable dejar envejecer las preparaciones durante al menos cinco días.

Obtención de bandas G.

El procedimiento para obtener bandas G fué una modificación a la técnica propuesta por Seabright (1971). Primeramente se colocaron las preparaciones en una estufa a 60C durante la noche con el fin de deshidratar los cromosomas y lograr buenos patrones de bandas. Se dejaron enfriar a temperatura ambiente y se colocaron en un vaso Coplin con solución de Tripsina (Microlab) al 0.25% durante 25 segundos. Con este tiempo de tratamiento con tripsina se consiguió un mejor patrón de bandas G y se evitó que los cromosomas se hincharan en exceso. Pasado este tiempo, las laminillas se sacaron del vaso y se lavaron en solución amortiguadora de fosfatos (PBS) para eliminar el exceso de tripsina. Inmediatamente se tificaron (sin dejar secar) en buffer de Giemsa al 2% en un vaso Coplin durante siete minutos. Finalmente se enjuagaron las preparaciones con agua destilada y se dejaron secar.

Obtención de bandas C.

Para obtener bandas C, se siguió una modificación de las técnicas de Summer et al. (1971) y Arrighi y Hsu (1971). Primeramente las laminillas se trataron con solución de HCl 0.2 N contenida en un vaso Coplin durante 15 minutos. Se enjuagaron 5-6 veces en agua deionizada y se dejaron secar. Enseguida las laminillas se colocaron en una estufa a 65C durante 25 minutos. Se enfriaron a temperatura ambiente y posteriormente se introdujeron en un vaso de Coplin conteniendo solución saturada

de hidróxido de Bario. El tiempo requerido en este paso es crítico y está determinado por el envejecimiento de las preparaciones. Aquellas recientemente preparadas (3-8 días), requieren menos tiempo de permanencia en el hidróxido (1-3 min) y mientras más envejecidas (10-14 días), requieren más tiempo (6-8 min). Los mejores resultados se obtuvieron con tratamiento de 3 minutos para preparaciones de 5 días. Inmediatamente se enjuagaron las laminillas en agua destilada, después en solución de HCl 0.2 N y posteriormente en agua destilada respectivamente, dejándose secar a temperatura ambiente.

Se montó una cámara húmeda (caja de Petri, papel filtro y soportes para las laminillas), se humedeció abundantemente con solución salina citrato (2XSSC, pH 7.0) y se colocaron las preparaciones sobre los soportes. Con una pipeta Pasteur se depositaron 4 gotas de solución 2XSSC a lo largo de la laminilla y se colocó un cubreobjetos encima de la preparación. Se incubó a 65 C durante sesenta minutos. Pasado este tiempo se sacudió la laminilla para retirar el cubreobjeto e inmediatamente se sumergió en solución 2XSSC a 4 C y se enjuagó con etanol al 70 y 95% respectivamente, dejándose secar a temperatura ambiente.

Finalmente, las preparaciones se tificaron con Giemsa al 4% preparada en una solución amortiguadora de fosfato de sodio durante 10 minutos, se enjuagaron con agua destilada y se dejaron secar a temperatura ambiente.

Elaboración de los cariotipos.

Para definir el cariotipo convencional de cada especie, se observaron como mínimo diez laminillas de cada ejemplar en un microscopio Carl Zeiss. Se contaron los cromosomas de 25 campos

mitóticos en promedio por laminilla considerando el número modal como el número cromosómico diploide de cada especie.

Los mejores campos fueron fotografiados utilizando película en blanco y negro de alto contraste Technical Pan (Kodak) de 35 mm y procesada con revelador HC-110 (Kodak). Las impresiones fueron realizadas sobre papel Kodabrome II RC de grano fino F3 (Kodak). Los cromosomas de cada fotografía fueron recortados, acomodados por pares homólogos y ordenados de acuerdo a su tamaño. El par sexual de cada especie fué determinado primeramente en ejemplares machos una vez que todos los autosomas estuvieron pareados.

Elaboración de los Idiogramas.

Con un vernier electrónico (0.01 0.001 mm; Mitutoyo) se midieron los brazos largos (q) y brazos cortos (p) de los pares cromosómicos de 10 cariotipos convencionales por especie. Posteriormente se obtuvieron los promedios correspondientes (valores absolutos) de dichos brazos con el fin de establecer la proporción entre ellos (q/p) y clasificar a los cromosomas en función de la posición del centrómero siguiendo la clasificación de Levan *et al.*, (1964). Una vez clasificados, los cromosomas se ordenaron en metacéntricos, submetacéntricos, subtelocéntricos y telocéntricos.

Para realizar la comparación de los patrones de bandas, se identificaron las bandas más constantes y evidentes de los cromosomas tratados para este fin. Para ello, con un vernier electrónico, se midió el ancho de cada banda y el espacio entre ellas y se obtuvieron los promedios correspondientes (valores absolutos). Con estos valores considerados como el 100%, se

calcularon los porcentajes correspondientes a cada banda (valores relativos). Esta información se esquematizó en un idiograma utilizando el programa Paint Brush (Microsoft). Finalmente, se compararon los cromosomas de los idiogramas de ambas especies y se estableció la correspondencia entre ellos.

RESULTADOS

El número cromosómico diploide ($2n$) del conejo zacatuche *Romerolagus diazi* es 48 y el número fundamental (NF) 78. Los cromosomas autosómicos están constituidos por 7 pares metacéntricos, 2 pares submetacéntricos, 7 pares subtlocéntricos y 7 pares telocéntricos. Ambos cromosomas sexuales son submetacéntricos, el cromosoma X grande y el cromosoma Y pequeño (Fig. 3). No se observaron constricciones secundarias. En el cariotipo convencional mostrado en la Fig. 3 los cromosomas están agrupados en categorías basadas en la posición del centrómero y arreglados en orden descendiente de tamaño, correspondiendo a la primera línea los metacéntricos, enseguida los submetacéntricos, los subtlocéntricos y los telocéntricos. Los dos últimos pares corresponden a los cromosomas sexuales. En la Tabla 4 se presentan los valores promedio obtenidos de las longitudes de los brazos cromosómicos, la proporción existente entre ellos y la clasificación correspondiente a cada par.

La Fig. 4 muestra el cariotipo con bandas G de un ejemplar macho de *R. diazi*. Los cromosomas se encuentran ordenados siguiendo el esquema del cariotipo convencional. El idiograma de bandas G para esta especie aparece en la Fig. 5.

Como resultado de la falta de calidad en las preparaciones de bandas cromosómicas C y a la pobre resolución de los campos fotografiados, no se elaboraron cariotipos ni idiogramas para el zacatuche. Sin embargo, fué posible observar al microscopio que el zacatuche posee cantidades considerables de heterocromatina constitutiva centromérica en prácticamente todos los cromosomas.

Sólo en un par cromosómico que parece ser un subtelocéntrico grande, no se aprecia heterocromatina constitutiva. Este hecho se manifestó constantemente en las células observadas. No se observaron bandas C intersticiales o teloméricas. En la Fig. 6 se muestra un campo mitótico con bandas C de R. diazi.

Lepus callotis, mostró un número cromosómico diploide de 48 y un número fundamental de 90. Los autosomas incluyeron 5 pares de cromosomas metacéntricos, 6 pares de submetacéntricos, 11 pares subtelocéntricos y un par de cromosomas telocéntricos. El cromosoma sexual resultó un metacéntrico grande mientras que el cromosoma sexual Y fué, un telocéntrico pequeño (Fig. 7). No se observaron constricciones secundarias. El cariotipo convencional muestra a los cromosomas de la liebre torda ordenados con el mismo criterio utilizado para el conejo zacatuche. Los valores promedio de los brazos cromosómicos, la proporción entre estos y la clasificación de cada par se observan en la Tabla 5.

El cariotipo con bandas G de L. callotis se muestra en la Fig. 8; este corresponde a un ejemplar macho. En la Fig. 9 se esquematiza el idiograma de bandas G para esta especie.

Al igual que en el caso de R. diazi, la falta de calidad en las preparaciones de bandas cromosómicas C de la liebre torda impidió que se elaboraran cariotipos e idiogramas. No obstante, las observaciones al microscopio revelaron que esta especie posee pequeñas cantidades de heterocromatina constitutiva centromérica en la mayoría de los cromosomas. Adicionalmente, fué posible observar que uno de los cromosomas más pequeños, en células de ejemplares machos, presenta una mayor cantidad de heterocromatina constitutiva que los de tamaño similar, por lo que es posible

pensar que se trate del cromosoma sexual Y, considerando que éstos es de los más pequeños. En la Fig. 10 se muestra un campo mitótico con bandas C.

La comparación de los patrones de bandas cromosómicas G entre las dos especies se ilustra en la Fig. 11. El primer cromosoma de cada par ilustrado corresponde a Romerolagus diazi (R) y el segundo a Lepus callotis (L). A pesar de las diferencias que existen en relación a la morfología cromosómica del zacatuche y la liebre torda, fué posible establecer la posible correspondencia entre los patrones de bandas G de ambas especies. En la mayoría de los cromosomas, la homologación no involucró rearrreglos, sin embargo, se detectaron diez probables inversiones pericéntricas en Romerolagus diazi. Estos rearrreglos que corresponden a los cromosomas 4, 6, 11, 14, 17, 18, 19, 20, 21 y 22 en el zacatuche, dieron origen a los cromosomas 7, 11, 6, 10, 19, 18, 17, 20, 21 y 22 de Lepus callotis respectivamente (Figs. 12 y 13). En el caso de los primeros cuatro pares homólogos en los que se considera hubo inversión pericéntrica, se planteó paralelamente que las diferencias encontradas pudieron haber sido determinadas por mecanismos del tipo adición-pérdida de segmentos cromosómicos en el transcurso del proceso evolutivo de estas especies. Las variación en tamaño de pares homólogos y de sus bandas puede también ser consecuencia de la diferente respuesta a elementos como la colchicina, cuando las células son procesadas.

Por otro lado, los resultados de la comparación de bandas C entre R. diazi y L. callotis, muestran que existen diferencias en la cantidad de heterocromatina constitutiva presente en los

cromosomas. El primero parece poseer una mayor cantidad de este material que la liebre torda. Excepto por un par, el zacatucho exhibe bandas C en todos los cromosomas en la región del centrómero, mientras que L. callotis muestra heterocromatina constitutiva en un menor número de cromosomas también en la zona que circunda al centrómero.

DISCUSION

El cariotipo convencional de Romerolagus diazi descrito en este trabajo confirma que el número diploide para esta especie es $2n=48$, el mismo número publicado por Uribe-Alcocer et al. (1975), Van der Loo et al. (1979) y Robinson (1981). No obstante, existen algunas diferencias con relación a la morfología de los cromosomas (Tabla 3). El cariotipo que más se ajusta al descrito aquí, es el propuesto por Uribe-Alcocer et al. (1975) quienes encontraron 16 pares de cromosomas birrámeos y 7 pares monorrámeos y un número fundamental de 78. Esto coincide con los resultados obtenidos en este trabajo: 7 pares metacéntricos, 2 submetacéntricos, 7 subtelocéntricos (juntos suman 16 pares birrámeos) y 7 pares telocéntricos (monorrámeos). En consecuencia, el número fundamental también es 78. Sin embargo, la morfología de los cromosomas sexuales difiere entre ambos cariotipos ya que Uribe-Alcocer y colaboradores (1975) clasifican al cromosoma X como subtelocéntrico grande y al cromosoma Y como metacéntrico también grande, mientras que en este estudio se clasificaron a los cromosomas X y Y como submetacéntricos, grande y pequeño respectivamente. En este punto existe coincidencia con el cariotipo descrito por Van der Loo y colaboradores (1979) quienes describen a los cromosomas sexuales del zacatuche de igual forma que en este trabajo. Incluso la morfología del cromosoma X se ajusta al esquema que se presenta en la familia Leporidae ya que en las especies analizadas dicho cromosoma ha sido definido como submetacéntrico a metacéntrico. Por el contrario el cromosoma Y si difiere del patrón establecido

en los lepóridos en donde la mayoría de las especies poseen un cromosoma telocéntrico (monorrámeo) pequeño. Entre las especies que comparten la morfología del cromosoma Y del zacatuche está la liebre tropical Lepus flavigularis quien también presenta un cromosoma submetacéntrico (birrámeo) mediano (Uribe-Alcocer et al., 1989).

El cariotipo de la liebre torda es el primero que se obtiene para la especie y confirma que el género Lepus constituye un grupo bien definido de los lagomorfos con un número cromosómico constante de $2n=48$. Cuatro de las cinco especies de liebres (L. alleni, L. californicus, L. flavigularis y L. callotis) que habitan en nuestro país, muestran el mismo número de cromosomas (Tabla 3). Falta determinar el cariotipo de la liebre negra L. insularis, especie endémica que habita exclusivamente en la isla Espiritu Santo en el Golfo de Baja California.

Además, el esquema general de la morfología de los cromosomas de la liebre torda se ajusta al conocido previamente para otras liebres. En Lepus el número de elementos birrámeos en los autosomas oscila entre 21 y 22 pares, mientras que sólo existen 1 o 2 elementos monorrámeos. Esto se refleja en el número fundamental que se ubica entre 88 y 90.

La morfología de los cromosomas sexuales parece tener también un patrón definido. El cromosoma X es grande de submetacéntrico a metacéntrico en todos los casos, mientras que el cromosoma Y es un telocéntrico pequeño con excepción de L. flavigularis en donde es submetacéntrico. Incluso, este esquema también se presenta dentro del género Sylvilagus que agrupa a los conejos (Tabla 3).

Las diferencias encontradas al comparar la morfología de las especies estudiadas con otros miembros de la familia Leporidae, deben ser tomadas con cierta reserva, ya que la definición de un cariotipo depende básicamente del criterio o sistema de clasificación utilizado por el autor en cada caso.

Al comparar los cariotipos de ambas especies, los resultados muestran que Romerolagus diazi comparte el mismo número diploide $2n=48$ con la liebre torda. Esto confirma los reportes previos que señalan la gran similitud del número cromosómico entre el zacatuche y el género Lepus (Robinson *et al.*, 1981; Van der Loo *et al.*, 1979; Van der Loo *et al.*, 1981). No obstante, la liebre torda tiene un número fundamental mayor debido a la presencia de un mayor número de cromosomas birrámeos. La morfología de los cromosomas sexuales de ambas especies también difiere aunque en términos generales se ajustan al esquema mostrado en los lepóridos. De cualquier forma, el zacatuche es más parecido cromosómicamente por mucho, a la liebre torda que al género Sylvilagus, pues el cariotipo convencional de R. diazi difiere significativamente de los conocidos para Sylvilagus (Tabla 3).

Al efectuar la comparación cromosómica a nivel de bandas G entre las especies estudiadas, fué posible detectar ciertas variaciones en los patrones de distribución de eucromatina. En la mayoría de los pares homólogos no se encontraron diferencias significativas para considerar la ocurrencia de algún rearrreglo cromosómico. En aquellos cromosomas en que sí se apreciaron cambios, estos correspondieron principalmente a inversiones pericéntricas, sin embargo, para ciertos casos es factible considerar otro tipo de mecanismo responsable de alterar la

homología en los patrones de bandas cromosómicas. Específicamente en los pares 4/7, 6/11, 11/6 y 14/10 del zacatuche y la liebre torda respectivamente, se planteó que la pérdida o adición de material cromosómico es otro mecanismo para explicar las diferencias encontradas. Desafortunadamente, con la información que se obtuvo, no fué posible definir cual de las dos formas de cambio se llevo al cabo en el genoma de Romerolagus diazi. En el caso de los cromosomas telocéntricos del zacatuche, lo más probable es que hayan sufrido una inversión pericéntrica para dar lugar a cromosomas subtelocéntricos en Lepus callotis. Estos resultados difieren significativamente del trabajo realizado por Robinson et al., (1981) en el cual no se propone ningún rearrreglo cromosómico entre el zacatuche y Lepus crawshayi que se distribuye en Africa. Únicamente se menciona la existencia de pequeñas diferencias en la morfología de algunos pares homólogos. Si duda alguna, sería muy interesante analizar los patrones de bandas cromosómicas G de otras especies de liebres mexicanas para conocer el esquema general de la distribución de eucromatina en el género Lepus y de esta forma tener más elementos para establecer los rearrreglos estructurales que han ocurrido entre este taxa y y el género Romerolagus.

La información de que se dispone actualmente señala un marcado conservacionismo cromosómico en las liebres. Incluso, se ha señalado el notable grado de homología en los patrones de bandas G dentro del género Lepus. Todas las especies que han sido analizadas poseen cariotipos muy similares, si no idénticos en muchos casos (Robinson et al., 1981; Van der Loo et al., 1979). El patrón de bandas G de Lepus callotis se ajusta en gran

medida al esquema definido para el género por lo que una vez más se apoya el marcado conservacionismo cromosómico en las liebres.

La evidencia paleontológica basada en registros fósiles (caracteres dentales) muestra que la historia evolutiva de los lepóridos fué caracterizada por un patrón relativamente conservativo de cambios graduales (Dawson, 1981). Estas aseveraciones apoyan ampliamente los resultados obtenidos en este trabajo y otros publicados anteriormente.

El género Romerolagus pudo haber sido derivado en el Mioceno Tardío, mientras que el linaje de Lepus apareció durante el Plioceno (Hibbard, 1963). El hecho de que uno y otro género hayan surgido en diferentes tiempos y que posean cariotipos muy similares, sugiere que los eventos de especiación en Lepus no han sido caracterizados por cambios cariotípicos. En contraste, el desarrollo evolutivo en el género Sylvilagus, basado en el análisis de bandas G, ha sido marcado por eventos cromosómicos, particularmente fusiones céntricas de tipo Robertsoniano (Stock, 1976; Robinson et al., 1983b).

Los resultados obtenidos con las bandas cromosómicas C del zacatuche y la liebre torda, apoyan reportes previos en el sentido de que los diferentes taxa de lepóridos parecen poseer diferentes cantidades de heterocromatina constitutiva (Stock, 1976; Robinson, 1980). Similarmente, el esquema de bandas C obtenido para B. diazi y L. callotis, se ajusta al descrito por Robinson et al. (1981). El género Lepus se caracteriza por presentar en su genoma, pequeñas cantidades de este material en posición pericentromérica, mientras que Sylvilagus exhibe mayores cantidades de heterocromatina constitutiva con una distribución

más amplia. El zacatuche posee cantidades mayores de material cromosómico C que las liebres, localizado también en la región centromérica. El significado de estas diferencias no ha podido explicarse, además de que la función evolutiva de la heterocromatina es desconocida. Sin embargo, es posible que ésta sea adaptativa en ciertas regiones cromosómicas y su presencia facilite la realización de cambios cariotípicos como ha ocurrido en el género Sylvilagus. Adicionalmente se ha sugerido que los cambios cromosómicos tales como las fusiones Robertsonianas pueden ser más difíciles de realizarse en aquellas especies caracterizadas por pequeñas cantidades de heterocromatina constitutiva en su genoma. Esto podría ser una explicación, al menos en parte, de la evidente falta de variación en Lepus.

Razones adicionales para explicar la estabilidad cariotípica de las liebres han sido propuestas, tales como las diferencias en la estructura social y movilidad entre liebres y conejos. Sin embargo, es sorprendente que R. diazi, que se comporta más como los miembros del género Sylvilagus, haya retenido el mismo cariotipo que las liebres (Van der Loo et al., 1979).

También se han mencionado algunas características reproductivas que comparten Romerolagus y Lepus y que apoyan la estrecha relación entre ambas taxa. El periodo de gestación de 39 días del zacatuche cae dentro del intervalo de 37-47 días de las liebres, mientras que se aleja del valor de 28-32 días correspondiente a los conejos. El tamaño de camada promedio en el zacatuche es 2.1, un valor similar en Lepus. Las crías de ambas especies nacen cubiertas de pelo a diferencia de los conejos que nacen desnudos. En R. diazi se presenta el estro

postparto al igual que en las liebres (Cervantes, 1982).

En este contexto resulta razonable considerar un desarrollo evolutivo muy estrecho entre el conejo zacatuche y la liebre torda. El hecho de que ambas especies y todos los miembros del género Lepus presenten cariotipos prácticamente idénticos con 48 cromosomas y que este número también se encuentre en el conejo matorralero Sylvilagus bachmani, es congruente con un origen evolutivo común a partir de un cariotipo ancestral del cual los géneros Romerolagus, Lepus y Sylvilagus pudieron haber sido derivados.

CONCLUSIONES

La elaboración y comparación de los cariotipos entre las especies Romerolagus diazi y Lepus callotis permitieron concluir lo siguiente. El cariotipo convencional del zacatuche observado $2n=48$ se ajusta al descrito por Uribe-Alcocer et al., (1975) en la parte que corresponde a los autosomas con un $NF=78$, mientras que los cromosomas sexuales exhiben la morfología descrita por Van der Loo et al., (1979). El patrón general de bandas G y C es prácticamente el mismo que propuso Robinson et al., (1981). Por otro lado, se confirmó la afinidad filogenética de la liebre torda dentro del género Lepus. La constancia del número cromosómico $2n=48$, la similitud en el esquema general de su morfología cromosómica y de los patrones de bandas G y C indica una estrecha relación con el resto de las liebres.

La concordancia encontrada entre los patrones de bandas G de R. diazi y L. callotis, permite señalar que los genomas de ambas especies son cercanamente homólogos. Esto permite proponer una relación más estrecha entre estas especies que con los conejos. Sin embargo, la presencia de un $2n=48$ en los tres géneros de lepóridos mexicanos, sugiere un origen evolutivo común a partir de un cariotipo ancestral.

La diferencia aparente más importante entre ambas especies fué la cantidad desigual de heterocromatina constitutiva; el zacatuche posee más material de este tipo que la liebre torda. Es posible que la posesión de pequeñas cantidades de heterocromatina constitutiva en el genoma de las especies dificulte la realización de cambios cariotípicos.

Para tener un panorama más amplio de las relaciones sistemáticas y filogenéticas entre los lepóridos, es necesario obtener información cromosómica de las especies que faltan por estudiar, asimismo, es necesario completar el análisis de bandas de algunas otras. Adicionalmente, se requiere de datos morfométricos, enzimáticos y de ADN para entender los procesos de especiación, principalmente de las especies que poseen cariotipos muy similares.

Sin duda alguna, el conocimiento que se desprenda de estos estudios nos permitirá establecer pautas para la mejor comprensión del desarrollo evolutivo y de los patrones de distribución actual de estos mamíferos mexicanos que requieren urgente atención.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

LITERATURA CITADA

- Anderson, S. y A. S. Gaunt. 1962. A classification of the white-sided jack rabbits of Mexico. Amer. Mus. Novitates, 2088:1-15.
- Arakaki, D. T. y R. S. Sparkes. 1963. Microtechnique for culturing leukocytes from whole blood. Cytogenetics, 2:57-60.
- Arrighi, F. E. y T. C. Hsu. 1971. Localization of heterocromatin in human chromosomes. Cytogenetics, 10:81-86.
- Cervantes, F. A. 1980. Principales características biológicas del conejo de los volcanes Romerolagus diazi, Ferrari-Pérez 1893 (Mammalia: Lagomorpha). Tesis profesional, Facultad de Ciencias, U.N.A.M., México, D. F., 137 pp.
- Cervantes, F. A. 1981. El conejo de los volcanes, Romerolagus diazi (Mammalia: Lagomorpha), especie seriamente amenazada. Pp. 359-368, in Memorias de la II Reunión Iberoamericana de Conservación y Zoología de Vertebrados. Universidad Hispanoamericana de Cáceres, Cáceres, España, 498 pp.
- Cervantes, F. A. 1982. Observaciones sobre la reproducción del zacatuche o teporingo Romerolagus diazi (Mammalia: Lagomorpha). Doñana Acta Vertebrata, 9:416-420.
- Cervantes, F. A., C. Lorenzo y R. S. Hoffmann. 1990a. Romerolagus diazi. Mamm. Species, 360:1-7.
- Cervantes, F. A., F. X. González y J. Martínez. 1990b. Importancia de los conejos y liebres silvestres de México. Pp. 99, in Memorias VIII Simposio sobre Fauna Silvestre. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, U.N.A.M., México, D. F., 479 pp.

- Cervantes, F. A. (en prensa). Importancia y conservación de la Biodiversidad de los conejos y liebres silvestres de México. Ciencia y Desarrollo, CONACTY.
- Chang, M. C., S. Pickworth y R. W. McGaughey. 1969. Experimental hybridization and cromosomes of hybrids. Pp. 132-145, in Comparative mammalian cytogenetics (K. Benirschke, ed.). Springer-Verlang, New York, 473 pp.
- Chapman, J. A. y J. E. C. Flux. 1990. Introduction and Overview of the Lagomorphs. Pp. 1-6, in Rabbits, hares and pikas. Status survey and Conservation plan. IUCN/SSC Lagomorph Specialist Group. Gland, Switzerland, 168 pp.
- Dawson, M. R. 1981. Evolution of the modern lagomorphs. Pp. 1-8, in Proceeding of the World Lagomorph Conference (K. Myers y C. D. MacInnes, eds.). University of Guelph, Guelph, Canada, 983 pp.
- Güereña, G. L., M. Uribe-Alcocer y F. A. Cervantes. 1983. Estudio cromosómico del conejo tropical (Sylvilagus brasiliensis). Mamm. Chromosome Newsl., 23(4):157-161.
- Hall, E. R. 1981. The mammals of North America, Vol. I. 2nd ed. John Wiley & Sons, New York, 600+90 pp.
- Hibbard, C. W. 1963. The origin of the P3 pattern of Sylvilagus, Caprolagus, Oryctolagus and Lepus. J. Mamm., 44:1-15.
- Holden, E. H. y H. S. Eabry. 1970. Chromosomes of Sylvilagus floridanus and S. transitionalis. J. Mamm., 51(1):166-168.
- Hoth, J., A. Velázquez, F. J. Romero, L. León, M. Aranda y D. J. Bell. 1987. The volcano rabbit, a shrinking distribution and a threatened habitat. Oryx, 21(2):85-91.

- Honacki, J. H., K. E. Kinman y J. W. Koepl. 1982. Mammals species of the world. A taxonomic and geographic reference. Allen Press Inc. y The Association of Systematics Collections, Lawrence, Kansas, 694 pp.
- Hsu, T. C. y K. Benirschke. 1967. The karyotype of Lepus alleni alleni. An atlas of mammalian chromosomes. Vol. 1, Folio 6.
- Hsu, T. C. y K. Benirschke. 1971. The karyotype of Lepus townsendii. An atlas of mammalian chromosomes. Vol. 5, Folio 211.
- Hsu, T. C. y J. L. Patton. 1969. Bone marrow preparations for chromosome studies. Pp. 454-460, in Comparative mammalian cytogenetics (K. Benirschke, ed.). Springer-Verlag, New York, 473 pp.
- Leopold, A. S. 1972. Wildlife of Mexico. The game birds and mammals. University of California Press, Berkeley, 568 pp.
- Levan, A., K. Fredga y A. Sandberg. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. Hereditas, 52:201-220.
- Lorenzo, C., F. A. Cervantes y M. A. Aguilar. (en prensa). The karyotypes of some Mexican cotton tails of the genus Sylvilagus. in La Mastozología en México (G. Ceballos y R. Medellín, eds.). Asociación Mexicana de Mastozología, A. C., México, D. F.
- Moorhead, P. S., P. C. Nowell, W. J. Mellman, D. M. Battips y D. A. Hungerford. 1960. Chromosome preparation of leukocytes cultured from human peripheral blood. Exp. Cell Res., 20:613-616.
- Ramírez-Pulido, J. y C. Múdespacher. 1987. Estado actual y perspectivas del conocimiento de los mamíferos de México.

- Ciencia, 38:49-67.
- Robinson, T. J. 1980. Comparative chromosome studies in the family Leporidae (Lagomorpha, Mammalia). Cytogenet. Cell Genet., 28:64-70.
- Robinson, T. J., F. F. B. Elder y W. López-Forment. 1981. Banding studies in the volcano rabbit, Romerolagus diazi and Crawshay's hare, Lepus crawshayi. Evidence of the leporid ancestral karyotype. Canadian J. Genet. Cytol., 23:469-474.
- Robinson, T. J., F. F. B. Elder y J. A. Chapman. 1983a. Karyotypic conservatism in the genus Lepus (order Lagomorpha). Canadian J. Genet. Cytol., 25:540-544.
- Robinson, T. J., F. F. B. Elder y J. A. Chapman. 1983b. Evolution of chromosomal variation in cottontails, genus Sylvilagus (Mammalia:Lagomorpha): S. aquaticus, S. floridanus, and S. transitionalis. Cytogenet. Cell Genet., 35:216-222.
- Ruedas, L. A., R. C. Dowler y E. Aita. 1989. Chromosomal variation in the New England cottontail, Sylvilagus transitionalis. J. Mamm., 70:860-864.
- Schröder, J., J. Antoni y W. Van der Loo. 1978. Comparison of the karyotype in the jack rabbit (Lepus californicus deserticola) and the European hare (Lepus europaeus). Hereditas, 89:134-135.
- Seabright, M. 1971. A rapid banding technique for human chromosomes. Lancet, 2:291-292.
- Stock, A. D. 1976. Chromosome banding pattern relationships of hares, rabbits and pikas (Order Lagomorpha). A phyletic interpretation. Cytogenet. Cell Genet., 17:78-88.

- Summer, A. T., H. J. Evans y R. Buckland. 1971. New technique for distinguishing between human chromosome. *Nat. New Biol.*, 232:31-32.
- Uribe-Alcocer, M., S. García-Rey y A. Laguarda-Figueras. 1975. Chromosome analysis of Romerolagus diazi (Díaz). *Mamm. Chromosome Newsl.*, 16(3):116-117.
- Uribe-Alcocer, M., F. A. Cervantes, C. Lorenzo y L. Güereña. 1989. Karyotype of the tropical hare (Lepus flavicularis). *Southwestern Nat.*, 34:303-306.
- Uribe-Alcocer, M. 1977. Estudios citogenéticos en algunas especies de roedores y lagomorfos de México. Tesis doctoral, Facultad de Ciencias, U.N.A.M., México, D. F., 169 pp.
- Van der Loo, W., M. Uribe-Alcocer y J. Schröder. 1979. The Giemsa-banded karyotype of Romerolagus diazi. *Hereditas*, 91:215-218.
- Van der Loo, W., A. James y J. Schröder. 1981. Chromosome evolution in leporids. Pp. 28-36, in *Proceeding of the World Lagomorph Conference* (K. Myers y C. D. MacInnes, eds.). University of Guelph, Guelph, Canada, 983 pp.
- Vaughan, T. A. 1978. *Mammalogy*. 2nd ed. W. S. Saunders Company, Filadelfia, 522 pp.
- Worthington, D. H. 1970. The karyotype of the brush rabbit, Sylvilagus bachmani. *Mamm. Chromosome Newsl.*, 11(1):21-22.
- Worthington, D. H. y D. A. Sutton. 1966. Chromosome number and analysis in three species of Leporidae. *Mamm. Chromosome Newsl.*, 22:194.

Tabla 1.-Especies de lagomorfos de México (Hall, 1981). El asterisco señala las especies endémicas (Hall, 1981 y Ramírez-Pulido y Múdespacher, 1987).

GENERO <u>Lepus</u> (LIEBRES)	GENERO <u>Sylvilagus</u> (CONEJOS)	GENERO <u>Romerolagus</u> (ZACATUCHE)
L. <u>alleni</u>	S. <u>audubonii</u>	* R. <u>diazi</u>
L. <u>californicus</u>	S. <u>bachmani</u>	
* L. <u>callotis</u>	S. <u>brasiliensis</u>	
* L. <u>flavigularis</u>	* S. <u>cunicularius</u>	
* L. <u>insularis</u>	S. <u>floridanus</u>	
	* S. <u>graysoni</u>	
	* S. <u>insonus</u>	
	* S. <u>mansuetus</u>	

Tabla 2.-Países del Continente Americano con dos o más especie de lagomorfos (Tomado de Cervantes, en prensa).

	<u>Sylvilagus</u>	<u>Romerolagus</u>	<u>Lepus</u>	<u>TOTAL</u>
CANADA	2		3	5
ESTADOS UNIDOS DE AMERICA	8		5	13
MEXICO	8	1	5	14
GUATEMALA	2			2
BELIZE	2			2
HONDURAS	2			2
EL SALVADOR	2			2
NICARAGUA	2			2
COSTA RICA	3			2
PANAMA	2			2
COLOMBIA	2			2
VENEZUELA	2			2

TABLA 3. Número diploide (2n), número fundamental (NF) y morfología de los pares cromosómicos de algunos lagomorfos americanos.

	2n	NF	AUTOSOMAS			SEXUALES		
			m	sm	st	t	X	Y
<u>Lepus callotis</u> (1)	48	90	5	6	11	1	m	t
<u>Lepus alleni</u> (2)	48	88	----21-----			2	sm	t
<u>Lepus californicus</u> (3)	48	88	----21-----			2	sm	t
<u>Lepus flavigularis</u> (4)	48	88	5	4	12	2	sm	sm
<u>Lepus americanus</u> (5)	48	88	----21-----			2	m	t
<u>Lepus townsendii</u> (6)	48	88	----21-----			2	sm	t
<u>Romerolagus diazi</u> (7)	48	74	3	11		9	sm	sm
<u>Romerolagus diazi</u> (8)	48	78	----16-----			7	st	m
<u>Romerolagus diazi</u> (9)	48	78	7	2	7	7	sm	sm
<u>Sylvilagus bachmani</u> (10)	48	80	4	13		6	m	t
<u>Sylvilagus</u> spp. (11)	36-52						sm-m	t

(1) Presente trabajo.

m = metacéntrico

(2) Hsu y Benirschke, 1967.

sm = submetacéntrico

(3) Worthington y Sutton, 1966.

st = subtlococéntrico

(4) Uribe-Alcocer et al., 1989.

t = telocéntrico

(5) Chang et al., 1969.

(6) Hsu y Benirschke, 1971.

(7) Van der Loo et al., 1979.

(8) Uribe-Alcocer et al., 1975.

(9) Presente trabajo.

(10) Worthington, 1970.

(11) Güereña, et al., 1983; Holden y Eabry, 1970.

Tabla 4.-Valores absolutos promedios de los brazos cromosómicos del conejo zacatuche Romerolagus diazi.

PAR	AVG q	STD q	AVG p	STD p	Sq+Sp	q/p	CLASIF
1	6.22	1.61	4.24	0.81	2.42	1.47	m
2	5.06	0.84	4.13	0.69	1.53	1.22	m
3	4.75	1.12	3.58	0.37	1.49	1.33	m
4	4.28	0.85	3.14	0.92	1.77	1.37	m
5	3.94	0.78	2.78	0.65	1.43	1.42	m
6	3.06	0.67	2.55	0.60	1.27	1.20	m
7	2.54	0.52	2.28	0.52	1.04	1.11	m
8	8.37	1.72	4.41	1.30	3.02	1.90	sm
9	7.37	1.43	4.30	0.74	2.17	1.71	sm
10	11.63	2.52	2.51	0.77	3.29	4.63	st
11	10.11	2.06	2.52	0.68	2.74	4.02	st
12	9.02	1.70	2.27	0.33	2.03	3.98	st
13	8.40	1.77	2.08	0.32	2.09	4.04	st
14	7.13	1.32	1.96	0.53	1.85	3.64	st
15	6.89	1.33	1.94	0.46	1.79	3.55	st
16	6.34	1.39	1.98	0.56	1.95	3.21	st
17	8.27	1.39	0.00	0.00	1.39		t
18	7.60	1.39	0.00	0.00	1.39		t
19	7.23	1.17	0.00	0.00	1.17		t
20	7.08	1.33	0.00	0.00	1.33		t
21	5.84	1.09	0.00	0.00	1.09		t
22	4.58	0.56	0.00	0.00	0.56		t
23	3.99	0.72	0.00	0.00	0.72		t
X	7.92	2.28	3.44	0.65	2.92	2.30	sm
Y	4.49	0.13	2.36	0.12	0.25	1.90	sm

AVG q = Promedio brazos largos
 AVG p = Promedio brazos cortos
 STD = Desviación estandar
 q/p = Proporción AVG q/AVG p

m = metacéntrico
 sm = submetacéntrico
 st = subtlocéntrico
 t = telocéntrico

Tabla 5.-Valores absolutos promedio de los brazos cromosómicos de la liebre torda Lepus callotis.

PAR	AVG q	STD q	AVG p	STD p	Sq+Sp	q/p	CLASIF
1	8.44	0.92	5.79	0.87	1.79	1.45	m
2	6.42	1.01	4.85	0.92	1.93	1.32	m
3	6.55	1.09	4.58	0.84	1.93	1.43	m
4	4.25	0.35	2.91	0.32	0.67	1.46	m
5	3.62	0.40	2.67	0.30	0.70	1.35	m
6	11.23	1.07	5.13	0.52	1.60	2.19	sm
7	8.17	1.42	3.88	0.53	1.95	2.10	sm
8	7.30	0.80	2.63	0.15	0.95	2.78	sm
9	6.77	1.04	3.43	0.32	1.36	1.98	sm
10	4.95	0.72	2.46	0.53	1.25	2.01	sm
11	4.49	0.97	2.06	0.36	1.33	2.18	sm
12	12.79	1.53	2.39	0.35	1.87	5.36	st
13	12.27	1.68	2.10	0.39	2.07	5.86	st
14	11.81	1.79	3.01	0.42	2.21	3.93	st
15	10.57	1.60	1.73	0.22	1.81	6.11	st
16	9.44	1.39	1.91	0.21	1.60	4.94	st
17	9.00	1.28	1.91	0.26	1.54	4.71	st
18	8.51	0.95	2.17	0.17	1.12	3.92	st
19	8.26	0.98	1.79	0.21	1.19	4.60	st
20	7.45	0.94	1.88	0.15	1.09	3.96	st
21	6.82	1.00	1.71	0.07	1.07	3.99	st
22	5.84	0.55	1.86	0.17	0.72	3.15	st
23	3.92	0.48	0.00	0.00	0.48		t
X	7.19	1.17	4.75	0.64	1.82	1.51	m
Y	3.03	0.28	0.00	0.00	0.28		t

AVG q = Promedio brazos largos
 AVG p = Promedio brazos cortos
 STD = Desviación estandar
 q/p = Proporción AVG q/AVG p

m = metacéntrico
 sm = submetacéntrico
 st = subtlocéntrico
 t = telocéntrico

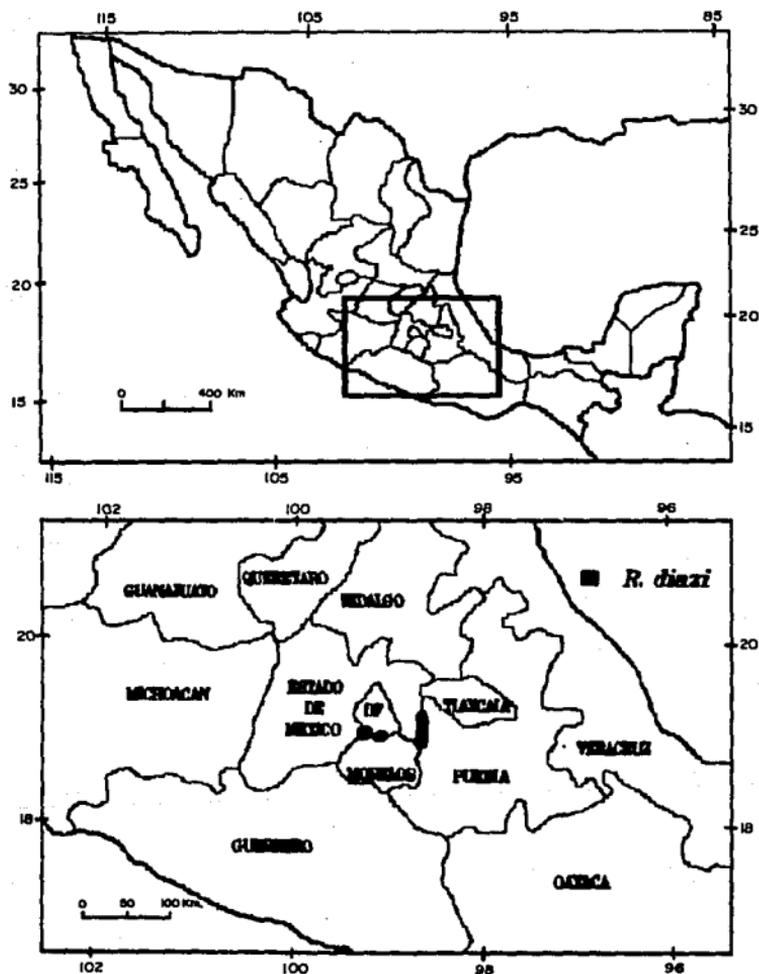


Fig. 1.-Distribución geográfica del conejo zacatuche, *Romerolagus diazi* (modificado de Hall, 1981 y Hoth et al., 1987).

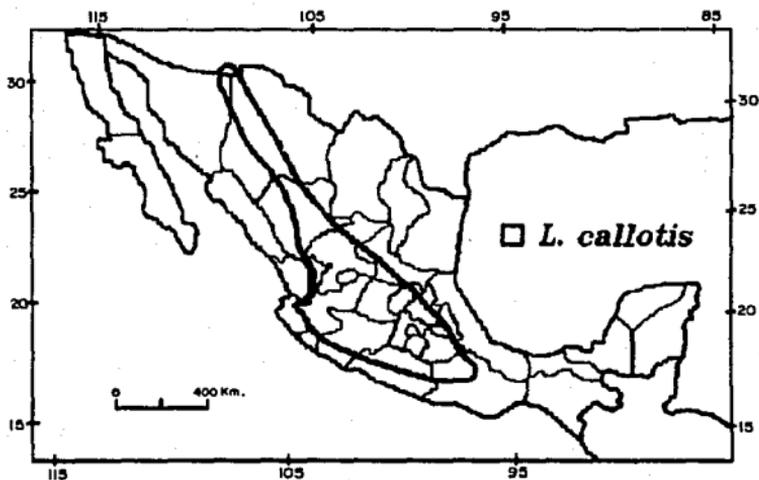


Fig. 2.-Distribución geográfica de la liebre torda, Lepus callotis (modificado de Anderson y Gaunt, 1962 y Hall, 1981).



Fig. 3.-Cariotipo convencional del conejo zacatuche, Romerolagus diazi (m=metacéntrico; sm=submetacéntrico; st=subtelocéntrico; t=telocéntrico).

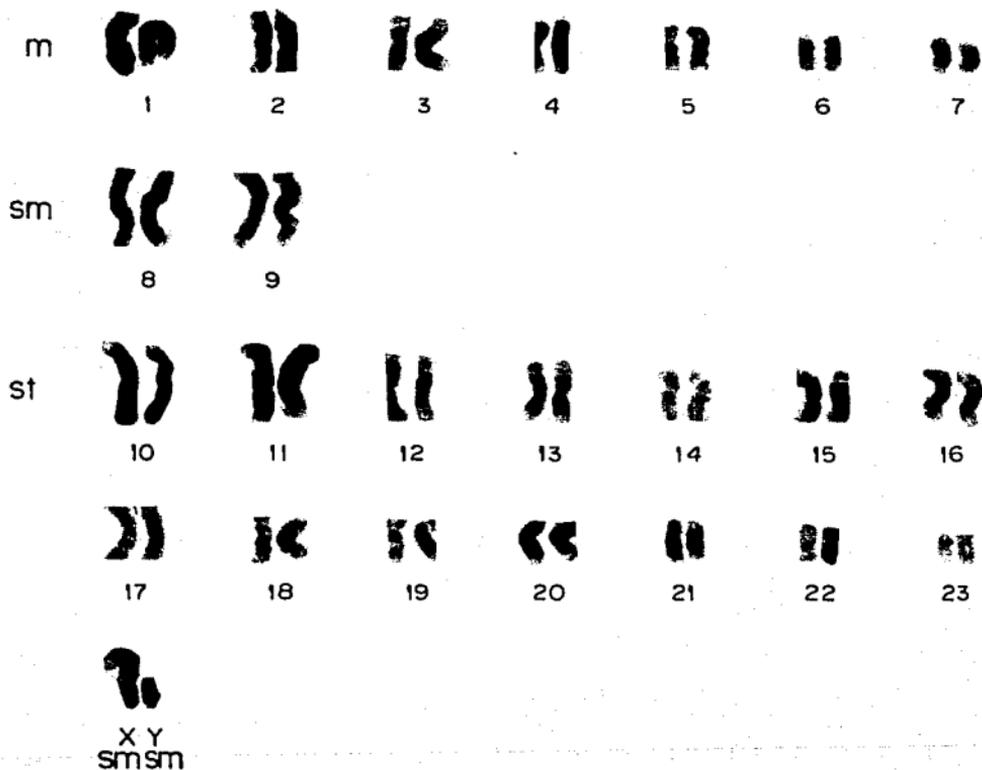


Fig. 4.-Cariotipo con bandas G del conejo zacatuche, Romerolagus diazi (m=metacéntrico; sm=submetacéntrico; st=subtelocéntrico; t=telocéntrico).

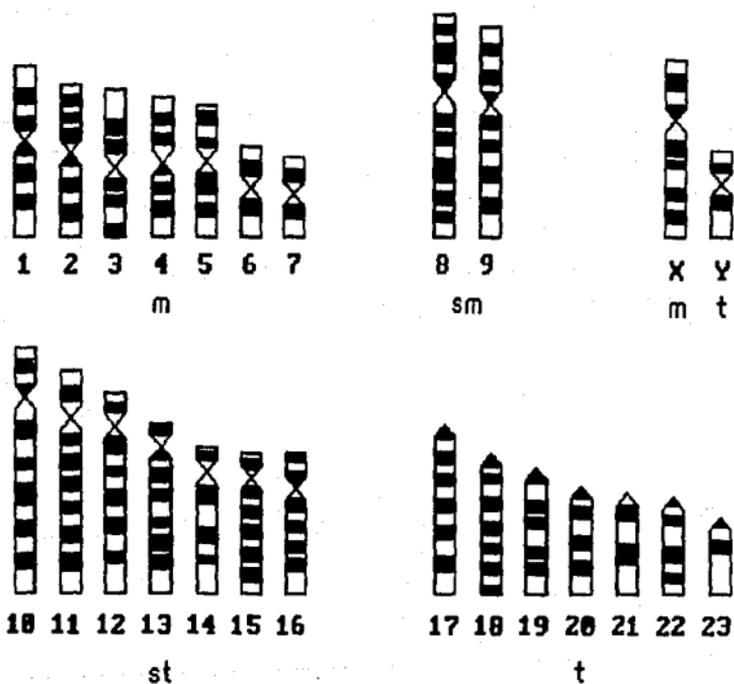


Fig. 5.-Idiograma con bandas G del conejo zacatuche, Romerolagus diazi (1-7 metacéntricos; 8-9 submetacéntricos; 10-16 subteloacéntricos; 17-23 telocéntricos).



Fig. 6.-Campo mitótico con bandas C del conejo zacatuche,
Romerolagus diazi.

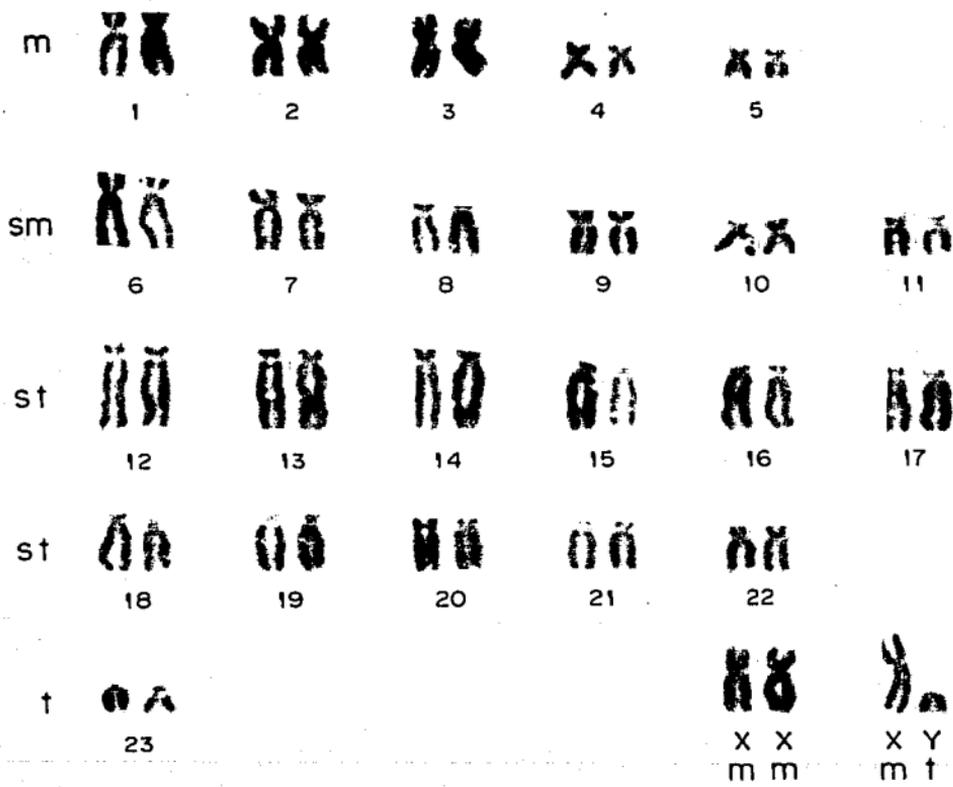


Fig. 7.-Cariotipo convencional de la liebre torda, Lepus callotis (m=metacéntrico; sm=submetacéntrico; st=subtelocéntrico; t=telocéntrico).

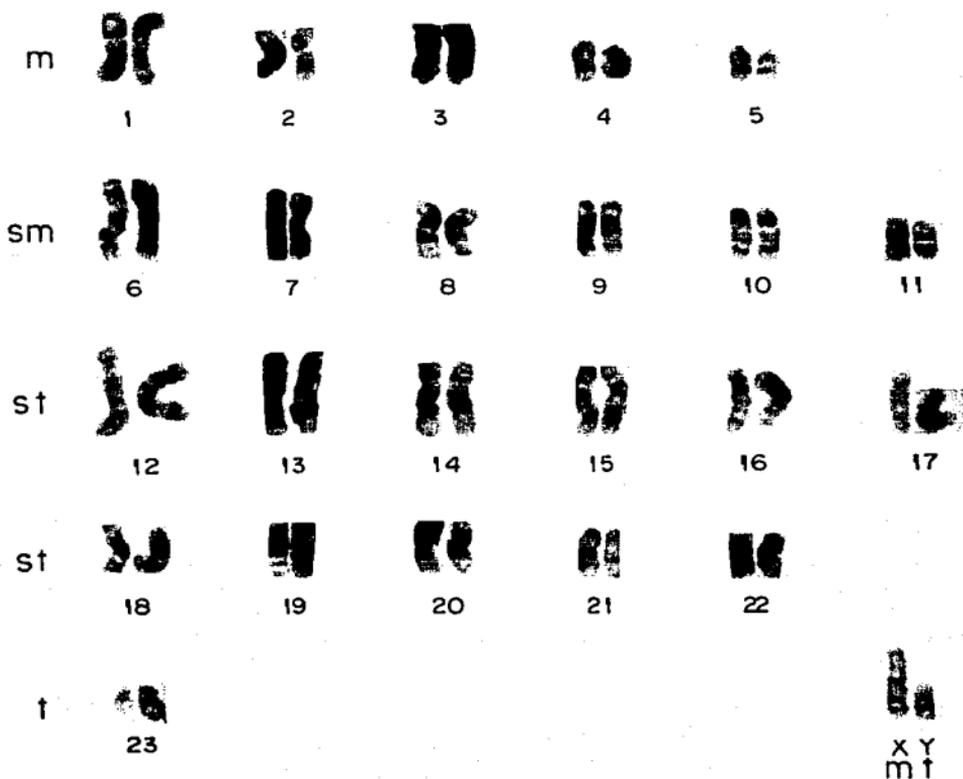


Fig. 8.-Cariotipo con bandas G de la liebre torda, Lepus callotis
 (m=metacéntrico; sm=submetacéntrico; st=subtelocéntrico;
 t=telocéntrico).

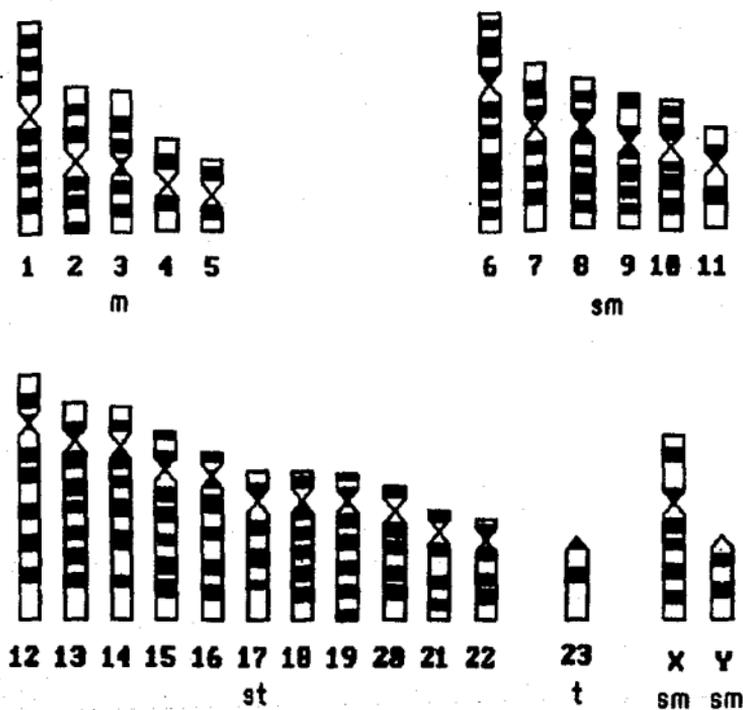


Fig. 9.-Idiograma con bandas G de la liebre torda, *Lepus callotis* (1-5 metacéntricas; 6-11 submetacéntricas; 12-22 subtelo-céntricas; 23 telocéntrica).



Fig. 10.-Campo mitótico con bandas C de la liebre torda, Lepus
callotis.

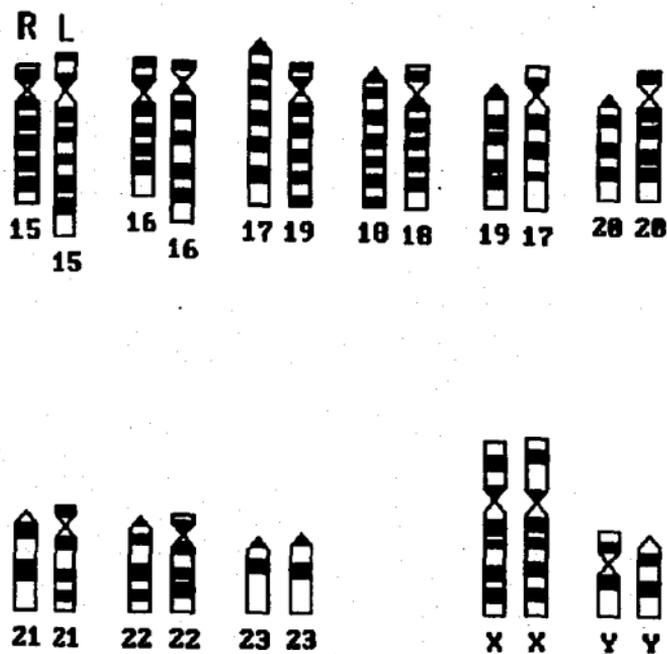


Fig. 11.-Continuación.



Fig. 11.-Comparación de las bandas 6 entre Romerolagus diazi y Lepus callotis. El primer cromosoma de cada par corresponde a R. diazi (R) y el segundo a L. callotis (L).

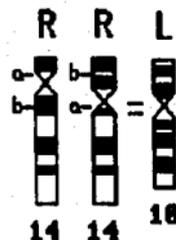
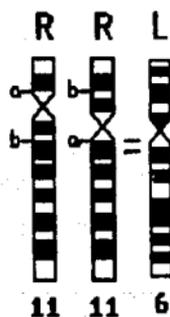
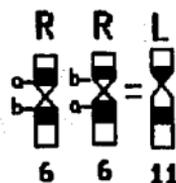
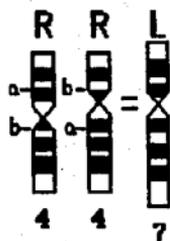


Fig. 12.-Rearreglos cromosómicos que muestran las inversiones pericéntricas hipotéticas que se realizaron en los cromosomas 4, 6, 11 y 14 de *Romerolagus diazi* (R) para dar origen a los cromosomas 7, 11, 6 y 18 de *Lepus callotis* (L) respectivamente. a y b señalan los posibles puntos de rompimiento.

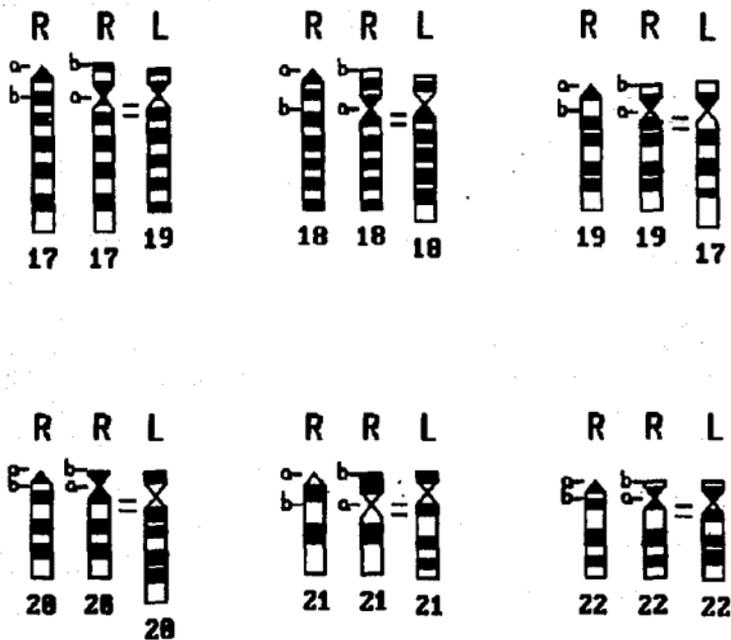


Fig. 13.-Rearreglos cromosómicos que muestran las inversiones pericéntricas hipotéticas que se realizaron en los cromosomas 17, 18, 19, 20, 21 y 22 de *Romerolagus diazi* (R) para dar origen a los cromosomas 19, 18, 17, 20, 21 y 22 de *Lepus callotis* (L) respectivamente. a y b señalan los posibles puntos de rompimiento.