



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

"VARIACION DE ALOENZIMAS ENTRE
Microtus mexicanus *M. oaxacensis* y *M. umbrosus*
(RODENTIA: MURIDAE)".

FALLA DE ORIGEN

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADEMICO DE
MAESTRO EN CIENCIAS (BIOLOGIA)
P R E S E N T A :
YOLANDA HORTELANO MONCADA

DIRECTOR DE TESIS: DR. FERNANDO A. CERVANTES REZA



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

A mi pequeña Alitzel:
Contigo Ali
toda la primavera
llegó a mi vida
en una flor pequeña
sólo flor y fragancia.

A mis padres Elvira y Efrén
con amor, por el apoyo
comprensión y guía que me han
brindado en todo momento.

A Lourdes. Graciela, Silvia,
Maricela, Armando, Irma,
Sergio y Alejandro, por la suerte
de tenerlos como hermanos y con
quienes comparto tantas cosas bellas.

A mis sobrinos con cariño, por
que un sonrisa alegran la vida.

.... Debi haberte encontrado diez
años antes o diez años después.
Pero llegaste a tiempo....

AGRADECIMIENTOS

De manera muy especial quiero dar reconocimiento al Dr. Fernando A. Cervantes por su asesoría y facilidades para la realización de esta tesis, por el apoyo y confianza que me ha brindado en mi formación académica. Por ser más que un guía un amigo.

A los integrantes del jurado: Dr. Bernardo Villa Ramírez, M. en C. Ma. de los Angeles Aguilar Santamaría, Dr. Manuel Uribe Alcocer, M. en C. Adolfo G. Navarro Singenza, M. en C. Miguel A. Briones Salas, Dra. Bertha P. Escalante Pliego, por sus valiosos comentarios, sugerencias e ideas, lo que contribuyo a mejorar esta tesis.

A Rosa Ma. González Monroy, Norma Hernández Corona, Julieta Vargas Cuenca, Jesús Martínez Vázquez, Verónica Zavala Hernández, Consuelo Lorenzo Monterrubio y Francisco X. González Cozátl por su amistad y colaboración desinteresada en la colecta de los ejemplares y en el trabajo de laboratorio.

A Antonio Santos Moreno, por su amistad y estímulo constante. Además por brindarme su tiempo y paciencia en la revisión e impresión final de este trabajo. A Enrique Martínez Meyer y José Martín García López por la realización de las Figuras 1, 2, 4 y 8.

A Raúl Martínez por su apoyo y entusiasmo en el trabajo de campo (en la colecta de los "cola corta" y "cola larga"). A todos los demás compañeros del Laboratorio de Mastozología del Instituto de Biología por todos los momentos gratos que hemos pasado, en especial a mis amigos Miguel A. Briones Salas, Gerardo Quintero Altamirano y José Martín García López.

A Duke S. Rogers y Jack Sites de la Brigham Young University, Robert J. Baker y Charles Werth de la Texas Tech University por todas sus atenciones y las facilidades brindadas para realizar parte de mi trabajo en sus laboratorios. A Meredith Hamilton por su valiosos comentarios y ayuda en la interpretación de las bandas electroforéticas.

A la familia Arroyo-Mathus por su gran hospitalidad y por cuidar a mi pequeña Aitzel durante nuestra estancia en Texas.

Finalmente no quiero pasar desapercibido a la gente de Santa Ma. Yacochi, Oaxaca por el interés que mostraron en nuestro trabajo de campo y por hacernos las estancias en ese lugar más agradables, en especial Carlos Martínez Chávez por su amistad, hospitalidad y ayuda desinteresada durante la colecta de los ejemplares en esa localidad.

LISTA DE FIGURAS

- 1.- Distribución geográfica de *Microtus mexicanus*.
- 2.- Distribución geográfica de *Microtus oaxacensis* y *Microtus umbrosus*.
- 3.- Relaciones genéticas esperadas entre las tres especies de *Microtus* examinadas, de acuerdo a las características morfológicas dentales, estudios biogeográficos y cariotípicos.
- 4.- Localización geográfica de las poblaciones estudiadas de *Microtus*.
- 5.- Variación de Aspartato aminotransferasa (AAT-1 y AAT-2) en extractos de corazón y riñones de *Microtus mexicanus*, *M. oaxacensis* y *M. umbrosus*.
- 6.- Variación Lactato deshidrogenasa (LDH-1 y LDH-2) en extractos de corazón y riñones de *Microtus mexicanus*, *M. oaxacensis* y *M. umbrosus*.
- 7.- Variación de Purina nucleosido fosforilasa (NP) en extractos de hígado de *Microtus mexicanus*, *M. oaxacensis* y *M. umbrosus*.
- 8.- Distribución de frecuencias alélicas en el locus de AAT-1 para las poblaciones estudiadas de *Microtus*.
- 9.- Fenograma mostrando las relaciones genéticas entre las tres especies de *Microtus* examinadas, utilizando los valores de distancia de Rogers (1972), por el método de agrupamiento UPGMA. La correlación cofenética fue de 0.99 y el porcentaje de desviación estandar (Fitch y Margoliash, 1967) fue de 3.969.
- 10.- Fenograma mostrando las relaciones genéticas entre las tres especies de *Microtus* examinadas, utilizando los valores de distancia ("Chord distance") de Cavalli Sforza y Edwards (1967) por el método de agrupamiento UPGMA. La correlación cofenética fue de 0.96 y el porcentaje de desviación estandar (Fitch y Margoliash, 1967) fue de 6.075.

- 11.- Fenograma basado en los valores de distancia genética de Rogers (1972) entre los taxa de *Microtus* examinados, por el método de agrupamiento UPGMA. La correlación cofenética fue de 0.78 y el porcentaje de desviación estandar (Fitch y Margoliash, 1967) fue de 17.43.
- 12.- Fenograma basado en los valores de distancia genética ("chord distance") de Cavalli Sforza y Edwards (1967) entre los taxa de *Microtus* por el análisis de agrupamiento UPGMA. La correlación cofenética fue de 0.85 y el porcentaje de desviación estandar (Fitch y Margoliash, 1967) fue de 9.64.

LISTA DE CUADROS

- 1.- Localidades geográficas de las especies de *Microtus*
- 2.- Tejidos utilizados para los análisis aloenzimáticos (Corazón y riñón fueron procesados juntos), La preparación de los geles buffers y tinciones bioquímicas fueron las descritas por Harris y Hopinson (1976), Selander et al. (1971) y Werth (1990).
- 3.- Nombres números y abreviaciones para las enzimas examinadas. Los nombres y números son de acuerdo a lo establecido por la "International Union of Biochemistry" y la Comisión de Enzimas (CE) (1984).
- 4.- Aloenzimas y frecuencias alélicas para los 17 loci que mostraron variación genética entre las poblaciones de *Microtus* examinadas. El alelo más anodal en un locus fue designado como "A". A menos que otra cosa sea indicada los alelos se presentaron en un taxón a una frecuencia de 1.0.
- 5.- Variabilidad genética de *Microtus* para 17 loci.
- 6.- Resultados del estadístico "F" de Wright (1965) para cada locus variable, para todas las poblaciones de *Microtus* examinadas. Las estimaciones de significancia de F_{st} son indicadas por los valores de Chi-cuadrada (X^2) para las tres especies de *Microtus*.
- 7.- Coeficientes de distancia genética de Rogers (1972), arriba de la diagonal y de Cavalli-Sforza y Edwards ("chord distance"), abajo de la diagonal, entre las tres especies de *Microtus* examinadas.
- 8.- Variabilidad genética de *Microtus* para los 17 loci.
- 9.- Resultados de estadístico "F" de Wright (1965) para cada locus variable en *M. mexicanus* y las siguientes comparaciones pareadas; *M. mexicanus* y *M. oaxacensis*; *M. mexicanus* y *M. umbrinus*. Las estimaciones de significancia de F_{st} son indicadas por los valores de Chi-cuadrada (X^2).
- 10.- Coeficientes de distancia genética de Rogers (1972), arriba de la diagonal y de Cavalli-Sforza y Edwards ("chord distance"), abajo de la diagonal, entre los ocho taxa de *Microtus* examinados.

RESUMEN

Por medio de la electroforesis en gel de almidón se determinó la variación genética y las relaciones interespecíficas en *Microtus mexicanus*, *M. oaxacensis* y *M. umbrosus*, así como la variación intraespecífica en *Microtus mexicanus*. Se examinaron un total de 77 ejemplares: 37 de *M. m. fulviventris* pertenecientes a tres poblaciones; 12 de *M. m. mexicanus* pertenecientes a dos poblaciones; 3 de *M. m. phaeus*; 14 de *M. oaxacensis* y 11 de *M. umbrosus*.

De los 21 loci examinados, 17 fueron polimórficos y cuatro, monomórficos. Los valores de polimorfismo fueron elevados en estas especies, sin embargo la heterocigocidad fue baja. Los valores de F_{ST} nos indicaron gran diferenciación genética entre las tres especies examinadas. Asimismo estos valores resultaron muy similares en la comparación intraespecífica de *M. mexicanus*, dentro del grupo *mexicanus*, *M. m. fulviventris* de Llano de las Flores, Oaxaca y *M. m. phaeus* de Pinal de Amoles, Querétaro fueron las más diferenciadas, lo que parece indicar procesos de especiación.

De la comparación interespecífica se encontró a *M. mexicanus* y a *M. oaxacensis* más relacionados entre sí y a *M. umbrosus* más diferenciado. De la comparación intraespecífica se obtuvo a *Microtus mexicanus fulviventris* de Llano de las Flores, Oaxaca y a *M. oaxacensis* más relacionadas entre sí, que con las otras dos poblaciones de *M. m. fulviventris* de Tlaxiaco y Zempoaltepétl, Oaxaca. Las poblaciones de *M. m. mexicanus* se observaron cercanamente relacionadas con la población de *M. m. phaeus*, Pinal de Amoles, Querétaro; *M. umbrosus* se encontró como un grupo claramente diferenciado del resto de las poblaciones estudiadas.

INDICE

AGRADECIMIENTOS	1
LISTA DE FIGURAS	11
LISTA DE CUADROS	iv
RESUMEN	v
INTRODUCCION	1
OBJETIVOS	11
MATERIALES Y METODOS	12
RESULTADOS	21
DISCUSION.....	25
CONCLUSIONES	33
LITERATURA CITADA	34

INTRODUCCION

Las especies del género *Microtus* se encuentran distribuidas en Europa, Asia y Norteamérica, pertenecen a la familia Muridae y a la subfamilia Arvicolinae (Musser y Carleton, 1993). Se caracterizan por ser de tamaño pequeño, con una longitud total que varía de 101 a 261 mm. Su cuerpo es robusto, las patas son cortas, las orejas pequeñas y redondeadas, casi cubiertas por el pelo; la cola es corta, ligeramente bicolor y con escaso pelo. El pelo es largo y suave, la coloración dorsal varía de café oscuro a café claro siendo el vientre más claro (Dalquest, 1950; Hooper y Hart, 1962; Hall, 1981; Johnson y Johnson, 1982).

En Norteamérica tanto las especies como los individuos alcanzan su máxima abundancia en las zona norte, disminuyendo hacia el sur de su distribución. El habitat de estas especies va desde los áridos hasta los muy húmedos, algunas viven en áreas de sombra perpetua mientras que otras están expuestas a los efectos de la luz solar sobre áreas abiertas, ésto se refleja en la morfología de las diferentes especies. Por ejemplo el color pálido que presentan las especies que están expuestas a la luz y sequía como *M. mexicanus*, contrasta fuertemente con el color oscuro presentado por *M. quasiater* y *M. umbrosus* que se encuentran en áreas sombreadas y húmedas (Bailey, 1900).

Se conocen 26 géneros de *Microtus* conformados por 143 especies, de las cuales 23 se encuentran en Norteamérica (Musser y Carleton, 1993). De estas últimas, siete se distribuyen en

México: *M. pennsylvanicus*, *M. californicus*, *M. mexicanus*, *M. guatemalensis*, *M. quasiater*, *M. oaxacensis* y *M. umbrosus* siendo las tres últimas endémicas de México.

Las tres primeras especies antes mencionadas se caracterizan por presentar una amplia distribución. *Microtus pennsylvanicus* y *M. californicus* se distribuyen en una parte considerable de los Estados Unidos, en México se encuentran sólo en los Estados de Chihuahua y Baja California, respectivamente. *M. mexicanus* se distribuye en la parte Sur de Estados Unidos y en México, se encuentra desde la parte Noroeste hasta la Sureste incluyendo ambas Sierras Madres y el Eje Neovolcánico Transversal (Figura 1).

M. guatemalensis se localiza en la parte central del Estado de Chiapas y en varias montañas aisladas de la parte central de Guatemala (Hall, 1981). Las tres especies restantes son endémicas de México. *M. quasiater*, se distribuye en una pequeña área en la Sierra Madre Oriental, en los Estados de San Luis Potosí, Veracruz, Oaxaca, Puebla e Hidalgo. *M. oaxacensis* y *M. umbrosus* se hallan restringidos a las montañas aisladas del sureste de México (Bailey, 1900). La primera ha sido encontrada solamente en la Sierra de Juárez y la segunda en el Cerro Zempoaltépetl, ambas en el estado de Oaxaca (Figura 2).

Los estudios que se han realizado en México, para entender la biología, filogenia, patrones de distribución, procesos

evolutivos de diferenciación específica y subespecífica de las especies de *Microtus* de México son escasos, por lo que se propuso analizar las relaciones existentes entre *Microtus mexicanus*, *M. oaxacensis* y *M. umbrosus*.

Estas tres especies son fácilmente distinguibles tanto por su morfología externa como craneal. *M. oaxacensis* es de tamaño medio en comparación con las otras dos y con cola corta (longitud total 159-163; cola 31-38), se caracteriza por presentar una coloración negruzca, patas negras y seis glándulas mamarias, dos pares pectorales y un par inguinal. Tiene además un cráneo alargado, menos angular que la mayoría de los arvicolininos, presenta molariformes largos, anchos y con ángulos salientes agudos, el tercer molariforme superior presenta cinco triángulos cerrados; *M. umbrosus* es una especie de talla mayor que *M. oaxacensis*, se caracteriza por presentar una cola larga, en comparación con las otras dos especies (longitud total 184 mm; cola 65 mm), su coloración es café oscura y presenta cinco tubérculos plantares, con reminiscencias del sexto, con cuatro glándulas mamarias pectorales. El cráneo es largo y angosto, con bulas pequeñas y con el tercer molar superior con dos triángulos cerrados. *M. mexicanus* es el de menor talla (longitud total 121-152), la longitud de la cola es muy similar a la de *M. oaxacensis* (24-35 mm), presenta una coloración café claro, con cinco o seis tubérculos plantares con cuatro glándulas mamarias: un par

pectoral y un par inguinal, su cráneo es pequeño, anguloso con una caja craneal corta y ancha y, el tercer molariforme superior con tres triángulos cerrados (Goodwin, 1966; Hall, 1981; Jones y Genoways, 1967).

Los patrones de distribución del Pleistoceno de los *Microtus* del Nuevo Mundo se encuentran correlacionados con los patrones ecológicos, en donde aparentemente los linajes más viejos están representados por los relictos de las selvas de México, y los habitantes de pastizales, chaparrales, bosques deciduos del este son linajes del Pleistoceno tardío y por lo tanto de origen más reciente (Hoffmann y Koeppl, 1985). *Microtus coaxacensis*, habita solamente en bosque mesófilo, *M. umbrosus* es habitante de bosque de encino, las dos son especies relictas, mientras que las poblaciones de *M. mexicanus* se encuentran en diversos hábitats, zonas semiáridas, pastizales, bosques de pino, bosques de pino encino, zacatonales y cultivos. De acuerdo a esto se considera que la especie más antigua es *M. umbrosus*, seguida por *M. coaxacensis* mientras que, *M. mexicanus* es la de origen más reciente.

También se eligieron estas tres especies como objeto de estudio, por las características tan especiales que presentan. *Microtus coaxacensis* y *M. umbrosus* son especies monotípicas, endémicas, relictas y con una distribución muy restringida. Por esta última característica son consideradas actualmente, especies

frágiles (Ceballos y Navarro, 1991).

M. mexicanus es una especie politípica, conformada por 12 subespecies, con una distribución amplia; sin embargo, existen áreas donde las poblaciones se encuentran aisladas, restringidas a grandes elevaciones, hecho que impide probablemente, el flujo genético y por consecuencia diferenciación genética, y finalmente procesos de especiación. Por lo tanto, esta especie se considera un buen modelo para estudiar la variación genética interpoblacional.

Microtus oaxacensis, *M. umbrosus*, *M. guatemalensis* y *M. quasiater* presentan la distribución más meridional del grupo y están comprendidas dentro de dos subgéneros; *Phaiomys*, en el que se encuentra *M. umbrosus* y las restantes en *Pitymys* (Martin, 1987).

Con el objeto de conocer las relaciones filogenéticas existentes entre los miembros del grupo *Microtus* se han realizado algunos estudios biogeográficos (Zakrzewsky, 1985), de variación morfométrica (Frey, 1989), caracteres dentales (Chaline y Gra, 1988) y bandeo cromosómico (Modi, 1987) en algunas subespecies de *M. mexicanus*, sin embargo, se han estudiado principalmente a las especies que se distribuyen en la parte norte de nuestro continente y casi nada se encuentra acerca de las especies que habitan en México.

Por medio del registro fósil (Zakrzewsky, 1985), se ha propuesto que los primeros arvicolinos llegaron a Norteamérica procedentes de Asia al través del Estrecho de Bering, en el Pleistoceno temprano, y que esta primera migración tuvo lugar hace aproximadamente dos millones de años. En este evento llegaron representantes de los subgéneros *Phaiomys* (ahora restringido al Viejo Mundo) y *Neodon*, siendo *M. umbrosus* uno de los sobrevivientes de esta primera radiación y quizá *M. guatemalensis* (Hoffmann y Koepl, 1985; Martin, 1987). La segunda migración tuvo lugar al parecer durante el Pleistoceno Medio (Repenning, 1983), encontrándose en éste representantes de los subgéneros *Neodon* y *Pitymys*, con representantes actuales de esta segunda radiación, *M. quasiater* y *M. oaxacensis* y probablemente *M. guatemalensis* (Martin, 1987). Al parecer todos estos taxa tuvieron una distribución más amplia en el pasado, sin embargo como consecuencia de la contracción de los bosques templados, debido a las tres últimos periodos glaciales se vió reducida a su situación actual (Hoffmann y Koepl, 1985).

M. mexicanus, muy relacionado a *M. pennsylvanicus* y que se encuentra al sur de la distribución de este último, muestra una distribución que sugiere que pudo haber divergido de su ancestro, *M. paroperarius* un arvicolino inmigrante de la primera dispersión hacia América, durante el Pleistoceno tardío (Hoffmann y Koepl, 1985). En la actualidad *M. mexicanus* presenta una divergencia

considerable con *M. pennsylvanicus* y *M. townsendii*, encontrándose en habitats más áridos que estas especies (Zakrzewsky, 1985).

En función de los morfotipos dentales se ha establecido que el origen del género *Microtus* es reciente, dos millones de años, sin embargo con radiación actual rápida. La morfología dental (número de triángulos presentados en los molariformes, diferenciación del esmalte, etc.), permite comparar a las especies actuales y a las extintas, estas últimas por medio del registro fósil.

Considerando lo propuesto por Martin (1987) y Repenning (1983), las especies de *Microtus* que se encuentran en México presentan el siguiente esquema: *M. umbrosus* es la especie más antigua y diferenciada morfológicamente del resto de las especies actuales de Norteamérica y cercana únicamente a dos especies extintas *M. pliocaenicus* y *M. guildayi*. En otro grupo se encuentra *M. oaxacensis* junto con *M. guatemalensis*, otra de las especies que habita en México y presenta la distribución más meridional del género, además de *M. cumberlandiensis*, especie ya extinta. En un tercer grupo está *M. quasiater* y, muy próxima a ésta última, *M. mexicanus*. Este arreglo concuerda de manera general con los estudios zoogeográficos realizados en el género por Hoffmann y Koeppl (1985).

Los estudios citogenéticos han establecido que el cariotipo primitivo del grupo es de $2n=56$ (Matthey, 1957). *M. mexicanus*,

presenta un cariotipo de $2n=44-48$ (Judd, 1980, Lee y Elder, 1977; Matthey, 1957; Uribe-Alcocer, et al., 1977; Wilhem, 1982), similar al cariotipo primitivo y el de *M. oaxacensis* $2n=30$, de tipo diferenciado (Martínez, 1991). Estos resultados se oponen a lo encontrado en los estudios biogeográficos y morfológicos publicados, y pueden ser una posiblemente explicados por una gran cantidad de rearrreglos cromosómicos en *M. oaxacensis*, lo cual pudo haber ocurrido independientemente de la edad del linaje. Así mismo González (1992) encuentra diferencias cromosómicas entre las poblaciones de *M. m. mexicanus* y *M. m. phaeus*, lo cual también concuerda con estudios morfométricos (Alvarez y Hernández-Chávez, 1993) realizados para esta última subespecie.

Sobre la variación aloenzimática en el género *Microtus* los trabajos también son escasos; entre ellos podemos citar el realizado por Graf (1982), Nadler et al. (1978), Chaline y Graff (1988) y el realizado recientemente por Moore y Janacek (1990), en donde se analizan las relaciones evolutivas entre nueve especies de microtininos de Norteamérica y dentro de éstas se incluye a *M. quasiter*, una de las especies endémicas de México.

La variación genética es una condición necesaria para que ocurra la evolución y en la mayoría de las poblaciones naturales se manifiesta al través de alelos múltiples en un cierto número de loci. Esta variación se puede cuantificar por medio de la estimación del polimorfismo (proporción de loci polimórficos en

una población) y de la heterocigocidad (frecuencia promedio de individuos heterocigotos) en un número representativo de loci, (por lo general 20 como mínimo) (Hartl, 1988; Ayala y Kiger, 1984).

Considerando que la variación en poblaciones aisladas geográficamente es un fenómeno universal (Mayr, 1973), se espera que las diferencias morfológicas se expresen también en las frecuencias alélicas, por lo que se propone que las relaciones entre las tres especies estudiadas, *M. mexicanus* *M. oaxacensis* y *M. umbrosus*, sea como se muestra en el dendograma de la Figura 3.

Así mismo se analiza la variación aloenzimática (variantes de proteínas producidas por formas alélicas del mismo locus) de las tres especies *Microtus*, *M. mexicanus* (representada por las subespecies *M. m. mexicanus*, *M. m. fulviventris* y *M. m. phaeus*). A partir de estos patrones de variación, es posible inferir los genotipos y estimar las frecuencias genotípicas y alélicas dentro de las poblaciones y así comparar la constitución genética de diferentes poblaciones y taxa (McCracken, 1988).

M. oaxacensis y *M. umbrosus* presentan una distribución muy restringida, lo cual contrasta con la amplia distribución de *M. mexicanus*. Sin embargo, se puede esperar mayor variación genética en *M. mexicanus*, si se considera que existen áreas en donde las poblaciones de esta última especie se encuentran fragmentadas, y al parecer aisladas genéticamente. Si se considera además la

hipótesis de Guttman (1973), quien sugiere que las poblaciones locales están sujetas a presiones de selección continuamente y que al habitar en dos localidades diferentes las pequeñas diferencias existentes entre ellas pueden acentuarse.

OBJETIVOS

- Estimar la variación genética entre *M. mexicanus*, *M. oaxacensis* y *M. umbrosus*.
- Evaluar la variación genética entre tres subespecies de *Microtus mexicanus*: *M. m. fulviventris*, *M. m. mexicanus* y *M. m. phaeus*.

MATERIALES Y METODOS

A) COLECTA DE MATERIAL

a) METODOS DE COLECTA

La colecta se llevó al cabo de 1989 a 1993, en algunas localidades de los Estados de Oaxaca, Querétaro, Tlaxcala y Veracruz, México. Los individuos se colectaron vivos usando trampas tipo Sherman, las cuales fueron cebadas con una mezcla de avena, vainilla y maíz quebrado.

b) LOCALIDADES DE COLECTA:

A continuación se indican las localidades de procedencia de los ejemplares examinados, indicándose en negritas, al final de la localidad el número asignado a esa población y entre paréntesis, el tamaño de muestra (Cuadro 1, Figura 4). Cada una de las localidades fue tratada como una población independiente, con excepción de los ejemplares de Atepec y Llano de las Flores, Oaxaca, que pertenecen a la misma subespecie y se encuentran muy cercanas geográficamente.

Microtus mexicanus fulviventor. Oaxaca: Comedor La Cabaña (Km 134 Carr. Tuxtepec-Oaxaca), 13 km W Atepec, Mpio. Atepec, 2820 m, 1(4); Oaxaca: Llano de las Flores, km 132 Carr. Tuxtepec-Oaxaca, Mpio Atepec, 2750 m, 1(26); Oaxaca: 26.5 km Carr. Tlaxiaco San Miguel El Grande, Mpio. San Miguel El Grande, 2(3); Oaxaca: Cerro

Zempoaltépetl, 4.5 km E Santa Ma. Yacochi, Mpio. Tlahuitoltepec, 2750 m, 3(4).

Microtus mexicanus mexicanus. Tlaxcala: 5 km S Centro Vacacional IMSS Malintzi, Mpio. Huamantla, 3500 m, 4(4); Veracruz: 10 km SE Perote, Mpio. Perote, 3100 m, 3(9).

Microtus mexicanus phaeus. Querétaro: 4 km SW Pinal de Amoles, Mpio. Pinal de Amoles, 2550 m, 6(3).

Microtus oaxacensis. Oaxaca: 11 Km SW La Esperanza, Mpio. Santiago Comaltepec, 2000 m, 7(16).

Microtus umbrosus. Oaxaca: Cerro Zempoaltépetl, 4.5 Km N Sta. María Yacochi, Mpio. Tlahuitoltepec, 2450 m, 8(12).

B) ANALISIS ALOENZIMATICO

Se examinaron un total de 79 ejemplares: 37 de *M. m. fulviventor* pertenecientes a tres poblaciones; 12 de *M. m. mexicanus* pertenecientes a dos poblaciones; 3 de *M. m. phaeus*; 14 de *M. oaxacensis* y 11 de *M. umbrosus*. Los análisis de las aloenzimas se llevaron al cabo empleando la técnica de electroforesis en gel de almidón, los procedimientos empleados se describen a continuación:

a) Obtención de muestras:

La preparación de los ejemplares se llevó al cabo en el campo. De cada ejemplar inmediatamente después de haberlos

sacrificado, se extrajeron corazón, hígado y riñones, y se colocaron en criotubos (Nunc) y se depositaron en un tanque con nitrógeno líquido. En el laboratorio, fueron almacenados en un ultracongelador a una temperatura de -80 °C. hasta ser procesados. La piel y el esqueleto se prepararon como ejemplares de museo y se depositaron en la Colección Mastozoológica del Instituto de Biología, UNAM.

b) Preparación de buffers:

Los buffers empleados fueron, Tris-Citrato II PH 8.0, Tris-Citrato I PH 6.7/6.3; Poulik, Amino Citrato (Morfolina), Tris Maleato EDTA (Cuadro 2), preparados de acuerdo a Selander et al. (1971) y Harris y Hopkinson (1976).

c) Homogenización de tejidos:

Los tejidos fueron homogenizados con el objeto de liberar las enzimas y otras proteínas de las células. El riñón y el corazón de cada individuo se colocaron juntos en un tubo de ensaya y dos volúmenes iguales al del tejido a procesar, de buffer Tris (Sigma). Con la ayuda de un homogenizador eléctrico se procedió a macerar los tejidos durante un minuto. El mismo procedimiento fue realizado con el hígado. Durante este proceso tanto los tubos que contenían los órganos, como el buffer fueron mantenidos en baños de hielo para evitar que la temperatura de las muestras se

elevara y por consiguiente, la desnaturalización de las enzimas. Esta técnica se realizó de acuerdo a Murphy et al. (1990) y Selander et al. (1971).

d) Centrifugación y almacenamiento de los extractos:

La centrifugación se realizó en una centrifuga con sistema de enfriamiento; los tejidos homogenizados se centrifugaron a una velocidad de 4,000 rpm durante 30 minutos y a una temperatura de 5°C. Se retiró el sobrenadante con una pipeta Pasteur y se colocó en un criotubo con el número del ejemplar, la especie y el tejido. Los extractos de los tejidos se almacenaron en un ultracongelador a una temperatura de -80°C durante el tiempo en que se realizaron los estudios.

e) Enzimas examinadas y nomenclatura:

Las enzimas analizadas (Cuadro 3), se seleccionaron de acuerdo a las más comúnmente empleadas para mamíferos y en especial las estudiadas en el género *Microtus*. La nomenclatura y numeración de las aloenzimas siguen las normas establecidas por la "International Union of Biochemistry" y la Comisión Enzimas (CE) (1984). Los tejidos y buffers empleados, así como el voltaje y tiempo necesarios para analizar los 21 loci estudiados se muestran en el Cuadro 2.

C) TÉCNICA DE ELECTROFORESIS

Las técnicas de tinción que se emplearon fueron las usadas por Selander et al. (1971), Harris y Hopkinson (1976) y Werth (1988).

a) Preparación de geles de almidón:

La técnica que se empleó fue electroforesis horizontal en gel de almidón. Los geles se prepararon a una concentración de 12%, diluyendo 60 gr. de almidón de papa (Sigma Chemical Co., St. Louis, Mo.) en 500 ml del buffer correspondiente, de acuerdo con las enzimas que se deseaban examinar (Cuadro 2). Esta solución se calentó a ebullición durante algunos minutos, se eliminaron las burbujas de aire con una bomba de vacío y se colocó en moldes de acrílico.

b) Colocación de las muestras:

Una vez que el gel solidificó, se dividió en dos partes a 5 cm de uno de los extremos del molde, entre las cuales se colocaron las muestras de tejidos. Los extractos de estos se encontraban en pequeñas piezas de papel filtro (9 X 6 mm) Whatman # 3, las cuales, antes de colocarse en el gel se depositaron, por algunos segundos, sobre una hoja de papel absorbente, para remover el exceso del extracto.

c) Electroforesis

Para el corrimiento de las aloenzimas, se empleó una fuente de poder de 500 volts, la matriz de soporte (el gel de almidón) y los buffers iónicos. Se colocó el gel en la cámara de electroforesis y con la fuente de poder se sometió a una corriente eléctrica, empleando diferentes voltajes (de 90 a 250 volts) (Cuadro 2) y tiempos según el sistema de buffer empleado. La cámara se mantuvo dentro del refrigerador (4°C) durante el corrimiento, para evitar el calentamiento del gel.

d) Corte del gel y tinción histoquímica:

Después de la electroforesis, el gel se cortó en seis secciones delgadas de 1 mm de grosor, cada una de ellas fue colocada en una charola de plástico en donde se le añadieron los sustratos y reactivos correspondientes, se incubó en la oscuridad y a una temperatura de 37°C por un tiempo de 15 a 30 minutos. Una vez que aparecieron las bandas sobre el gel, se desecharon los reactivos añadidos y se bañaron los geles con una solución fijadora preparada con ácido acético, metanol y agua corriente, en proporción 1:5:5 durante 1 hora. Se eliminó el fijador lavando el gel con agua corriente.

f) Registro de los resultados:

Una vez el gel en agua, se procedió a su registro en formas

especiales, tomando los siguientes criterios: en los sistemas de loci múltiples, la migración del locus más anódico fue designado "1" como puede observarse en las fotografías y zimogramas de las enzimas AAT y LDH (Figuras 5 y 6). El genotipo se infirió a partir del desplazamiento que tuvieron las bandas sobre el gel, de la siguiente manera: Los alelos detectados en un locus dado, fueron designados alfabéticamente, el alelo más anódico con la "A" y los demás alelos con las siguientes letras, del más anódico al más catódico. A estos fenotipos les correspondían los genotipos A/A, B/B, etc., si eran homocigotos o bien AB, AC, según correspondiera en caso de ser heterocigotos, como puede observar en las enzimas AAT y NP (Figuras 5 y 7).

g) Fotografía de los geles:

Habiendo registrado la variación de las bandas, se tomaron las fotografías de cada uno de los geles, conservándose los negativos de los geles, en la mayoría de los casos se conservaron además las impresiones de los mismos como puede observarse en las enzimas AAT, LDH y NP (Figuras 5, 6 y 7).

h) Análisis genético

Todos los análisis genéticos se realizaron en una computadora personal, con el programa BIOSYS-1 (Swofford y Selander, 1981) con excepción de la prueba de chi-cuadrada *Fsz*, la cual se

realizó con el programa Statistical Analysis System (SAS, Institute, 1988) de la siguiente manera:

- i) Se calcularon las frecuencias alélicas por locus, número promedio de alelos por locus (número total de alelos entre el número total de loci), loci polimórficos (aplicando el criterio de 0.95); la heterocigocidad fue calculada por conteo directo de los genotipos.

- ii) La Chi-cuadrada con el factor de corrección de Yates (Sokal y Rohlf, 1981) fue usado para calcular la desviación del equilibrio de Hardy-Weinberg y, la heterocigocidad esperada usando la fórmula de Levene (1949) para tamaños de muestras pequeños.

- iii) La diferenciación genética intra e interespecífica en *Microtus* fue calculada con el estadístico "F" de Wright (1965, 1978), para cada locus. El nivel de significancia de las diferencias de los F_{ST} ; fueron examinados por medio de la Chi-cuadrada (χ^2), con una $P \geq 0.05$ (Waples, 1987).

- iv) Las matrices de distancia genética fueron calculadas incluyendo tanto a los loci monomórficos como a los

polimórficos, utilizando el coeficiente de distancia genética de Rogers (Rogers, 1972) y el coeficiente de distancia ("chord distance") de Cavalli-Sforza y Edwards (1967). El coeficiente de Rogers se calculó para comparar estos resultados con los trabajos realizados anteriormente, sin embargo el coeficiente de Cavalli-Sforza y Edwards es el que más se adecua a las características del presente estudio, ya que permite trabajar con tamaños de muestra pequeños, reduciendo el sesgo en los resultados.

- v) Los fenogramas, que nos indican asociaciones fenéticas, fueron estimadas siguiendo el método de agrupamiento UPGMA (Unweighted pair group method using arithmetic averages; Rolfh et al., 1982).

Los análisis anteriormente mencionados, se realizaron en dos partes, primero para comparar la relación entre las tres especies estudiadas: *Microtus mexicanus* *M. oaxacensis* y *M. umbrosus*. En el segundo análisis, las subespecies y poblaciones de *M. mexicanus* se tomaron como entidades separadas y de esta manera se compararon ocho poblaciones incluyendo *M. umbrosus* y *M. oaxacensis*.

RESULTADOS

Se examinaron un total de 21 loci en las tres especies de *Microtus* (Cuadro 3). De ellos, 17 loci resultaron ser polimórficos y cuatro loci monomórficos (LDH-1, LDH-2, MDH-1 y SOD-2). El locus más polimórfico fue AAT-1 con cinco alelos, (Figura 8). En ninguna de las poblaciones examinadas se encontró ningún alelo fijo, estos resultados se muestran en el Cuadro 4.

Todas las poblaciones se encontraron en equilibrio de acuerdo con la ley de Hardy Weinberg.

Variación genética entre *M. mexicanus*, *M. oaxacensis* y *M. umbrosus*.

El porcentaje promedio de loci polimórficos fue de 39.68 % con valores de 47.62 %, 28.57 % y 42.86 % para *M. mexicanus*, *M. oaxacensis* y *M. umbrosus* respectivamente. La heterocigosidad media fue de 0.004 con valores de 0.008, 0.004 y 0.000 para *M. mexicanus*, *M. oaxacensis* y *M. umbrosus* respectivamente. El promedio de alelos por locus fue 1.73 con un valor de 2.33 para *M. mexicanus* y 1.43 en *M. oaxacensis* y *M. umbrosus* (Cuadro 5).

Se obtuvo una significativa diferenciación genética, al comparar las tres especies de *Microtus* examinadas, como puede observarse en los resultados del análisis del estadístico *F* se obtuvo un valor promedio de $F = 44.2$ % ($F_{ST} 0.442$). De los 17

loci variables 15 resultaron ser significativamente diferentes ($P \geq 0.05$; Cuadro 6).

Al calcular la distancia genética entre las tres especies con el coeficiente de Rogers (Rogers, 1972, Cuadro 7) se obtuvo que *M. mexicanus* se encuentra más relacionado con *M. oaxacensis* con una distancia de 0.102 y la distancia de estas especies con respecto a *M. umbrosus* fue de 0.222. El coeficiente de correlación cofenética encontrada fue de 0.99 (Figura 9).

De las distancias genéticas resultantes del coeficiente de Cavalli-Sforza y Edwards (Cuadro 7; Figura 10) y la opción UPGMA, se obtuvo al igual que en el caso anterior, las especies con mayor similitud son *M. mexicanus* y *M. oaxacensis* con una distancia genética de 0.205; la distancia entre estas dos especies y *M. umbrosus* fue de 0.343. El coeficiente de correlación cofenética presentado fue de 0.96 (Figura 9).

Variación genética intraespecífica en *Microtus mexicanus*

El porcentaje por medio de loci polimórficos fue 32.74 † con un intervalo de 4.76 a 47.62. Asimismo, se observó que el polimorfismo mayor se presenta en la población de *M. m. fulviventer* de Llano de la Flores (47.62), seguida de *M. m. phaeus* y *M. umbrosus* (las dos con valor de 42.86). Estos valores contrastan fuertemente con los de la población de *M. m. fulviventer* del Zempoaltépetl (4.76), la cual presenta un

porcentaje de polimorfismo muy bajo (Cuadro 8).

La heterocigocidad promedio intraespecifica tuvo un intervalo de .000 (homocigocidad completa) a 0.160. *M. umbrosus* presentó la más alta (0.160), seguida de *M. m. fulviverter* de Llano de las Flores (0.005) y *M. m. phaeus* (0.004). Las poblaciones restantes no presentaron individuos heterocigotos (Cuadro 8).

El número promedio de alelos en un locus fue de 1.45 con un intervalo de 1.05 a 1.95. El valor mayor lo presentó la población de *M. m. fulviverter* de Llano de las Flores (1.95), seguido de *M. m. mexicanus* de Perote (1.67) y de *M. m. phaeus* (1.43). El promedio más bajo lo presentó *M. m. fulviverter* de Zempoaltépetl (1.05) (Cuadro 8).

Se observó gran diferenciación genética intraespecifica en *Microtus mexicanus*, obteniéndose un valor promedio de $F_{ST} = 39.1\%$. Los valores resultantes en las comparaciones pareadas entre *M. mexicanus* y *M. oaxacensis* y; *M. mexicanus* y *M. umbrosus*, fueron $F_{ST} = 41.2\%$ y 42.6% respectivamente; Cuadro 9).

En los valores de los coeficientes de distancia genética de Rogers (Cuadro 10; Figura 11) se observa que las poblaciones se separan en tres grupos: 1) *M. oaxacensis* y las tres poblaciones de *M. m. fulviverter*; 2) *M. umbrosus* se le encuentra independiente de los demás grupos y 3) las dos poblaciones de *M. m. mexicanus* y *M. m. phaeus*. La distancia más pequeña se presenta entre la población de *M. m. fulviverter* de Llano de las Flores y

M. oaxacensis con un valor de 0.075 siendo menor que la presentada entre las otras dos poblaciones de *M. m. fulviverter*. La mayor distancia genética es la que se presenta entre las poblaciones de *M. m. mexicanus* de Perote y *M. m. phaeus* con 0.162. Con los datos utilizados en el análisis de agrupamiento que se realizó para formar estos tres grupos, se encuentra una distancia menor entre el grupo uno y dos (0.216) que entre el grupo dos con el tres (0.233).

En el fenograma calculado con el coeficiente de distancia (chord distance) de Cavalli-Sforza (Cuadro 10, Figura 12) para las ocho poblaciones se encontraron cinco grupos conformados como sigue: 1) La población de *M. m. fulviverter* de Llano de las Flores con *M. oaxacensis*; 2) *M. m. mexicanus* de Perote y *M. m. phaeus*; 3) las poblaciones de Tlaxiaco y Zempoaltépetl de *M. m. fulviverter*; 4) la población de *M. m. mexicanus* de Tlaxcala y por último 5) *M. umbrosus*. Aquí al igual que en el fenograma anterior se encuentra que la población de *M. m. fulviverter* de Llano de las Flores y la población de *M. oaxacensis* están agrupadas, con la distancia genética más pequeña (0.169) seguidas de las poblaciones de *M. m. fulviverter* de Tlaxiaco y Zempoaltépetl, con un valor de 0.221 y la distancia que presentó la población de *M. m. mexicanus* de Perote y *M. m. phaeus* fue de 0.265. *M. umbrosus* fué la población más diferenciada genéticamente del resto de las poblaciones de *Microtus*.

DISCUSION

Se encontró que un gran número de loci polimórficos (17 de 21 loci examinados (Cuadro 4), fueron variables en todas las poblaciones, similares a los presentados en otros roedores, como por ejemplo *Microtus* (Moore y Janacek, 1990), *Peromyscus* (Rogers y Engstrom, 1992), *Pappogeomys* (Honeycutt y Williams, 1982) y diferentes de los resultados en otros mamíferos de talla mediana y grande, como por ejemplo, mapaches, *Procyon lotor* (Hamilton y Kennedy, 1987) y coyotes, *Canis latrans* (Hamilton y Kennedy, 1986), en donde casi la mitad de los loci examinados, fueron monomórficos.

Los resultados de este estudio indican una significativa divergencia genética tanto inter como intraespecífica entre las especies de *Microtus* examinadas. Los promedios obtenidos en *F_{st}* variaron de .39.1 % a 44.2 % (Cuadros 6 y 9), similares a los obtenidos en algunas poblaciones de tuzas (41.0%; Patton y Yang, 1977), valores mucho más altos que los obtenidos en el ratón doméstico (12.0%; Nei, 1975) y en perritos de la pradera (10%; Chesser, 1983). Valores altos de *F_{st}* indican que probablemente no exista flujo genético entre las poblaciones y por lo tanto, exista mayor probabilidad de diferenciación genética.

Esto sugiere que las poblaciones de *M. m. mexicanus* se encuentran fuertemente subdivididas por lo que podrían representar especies diferentes.

Se ha mencionado que la magnitud del *F_{st}* puede verse afectada por barreras en el flujo genético, fijación de alelos alternativos y combinación de unidades de cruzamiento de las poblaciones (Hamilton y Kennedy, 1987).

En ninguna de las poblaciones examinadas se encontraron alelos exclusivos (Cuadro 4), contrario a lo detectado por Moore y Janacek (1990), los cuales encontraron tres alelos exclusivos (ADH, SDH y GP-2) de algunas poblaciones de *Microtus mexicanus*; sin embargo, hay que señalar que esas enzimas no fueron examinadas en este estudio.

De los resultados obtenidos en la variación genética de *M. mexicanus*, *M. oaxacensis* y *M. umbrosus* (Cuadro 5), *M. mexicanus* fue el que mayor variación genética presentó, contribuyendo al parecer varios factores, como el ser especie politípica, con amplia distribución, además la fragmentación y aislamiento de sus poblaciones, puede ocasionar que cada una de ellas esté sujeta a presiones de selección continuamente y por lo tanto que las diferencias genéticas se acentúen al habitar en dos localidades diferentes (Guttman, 1973).

Los fenogramas de distancias de Rogers y de Cavalli-Sforza y Edwards (Figuras 9 y 10) mostraron que *M. mexicanus* y *M. oaxacensis* son especies más cercanamente relacionadas entre sí que *M. umbrosus*, lo que también concuerda con los antecedentes biogeográficos, de morfología dental y cariotipos. Asimismo

valores de correlación cofenética muy elevados 0.99 y 0.96.

En cuanto a la variación en *Microtus mexicanus* se observó gran variabilidad genética intraespecífica (Cuadro 8). La mayor variación se presentó *Microtus mexicanus fulviventris* de Llano de las Flores, *M. m. phaeus* y *M. umbrosus*, cuantificada en función de dos parámetros: polimorfismo y heterocigosidad (Hartl, 1988; Ayala y Kiger, 1984), siendo esta variabilidad importante para la evolución de las especies.

La división subespecífica actual de *Microtus mexicanus* se realizó considerando solamente algunas diferencias morfológicas. Sin embargo, posteriormente se han realizado estudios más detallados basados en morfometría (Frey, 1989), cariotipos y bandeos cromosómicos (Lee y Elder, 1977; Modi, 1987; Judd, 1980; Uribe et al., 1977), lo que da bases más sólidas para evaluar la variación específica. Se ha informado para las poblaciones del noreste de Nuevo México, un número cromosómico diploide de 44 ($2n = 44$) (Matthey, 1957; Judd, 1980 y Whilhem, 1982) mientras que para las poblaciones de Jalisco, Durango y el Distrito Federal se menciona un número diploide de 48 (Lee y Elder, 1977), de la misma manera que se encuentra un considerable polimorfismo cromosómico en poblaciones de Jalisco, con números fundamentales de 57 ó 58.

Para los meteoritos (*Microtus mexicanus*) del Valle de México (Uribe-Alcocer et al., 1977), también ha informado un número

diploide de 48, resultados que apoyan la hipótesis de que *M. mexicanus*, está formado por dos entidades o incluso especies, encontrándose en un grupo las poblaciones de Estados Unidos de América, Coahuila y Nuevo León y en otro, el resto de las poblaciones de México.

Uribe-Alcocer et al. (1977) apoyan también la hipótesis del aislamiento citogenético entre las poblaciones del norte y sur, y explica esta variación en base a rearrreglos cromosómicos, debidos a dos fisiones o bien dos fusiones robertsonianas, lo cual redujo el número cromosómico de diploide de 48 a 44 en las poblaciones de Nuevo México, argumentando en función del cariotipo que las poblaciones del sur muestran características más primitivas.

La diferenciación genética intraespecífica detectada entre las poblaciones de *Microtus mexicanus*, se debe probablemente a la distribución actual de las poblaciones, ya que debido a la retracción del glaciar y establecimiento de un ambiente seco interglacial, algunas quedaron restringidas a altas elevaciones, hecho que probablemente ocasiona interrupción en el flujo genético favoreciendo la deriva y diferenciación genética de estas poblaciones. Además, Frey (1989) sostiene que las poblaciones de México son más antiguas que las poblaciones de Estados Unidos de América, por lo que han tenido también un mayor tiempo para que pueda ocurrir diferenciación genética.

Por otro lado, Alvarez y Hernández-Chávez (1993) mencionan que los ejemplares pertenecientes a la población de *Microtus mexicanus phaeus* presentan diferencias sustanciales con los de otras subespecies de *Microtus mexicanus*, tanto en coloración dorsal como en algunas características craneales, por lo que la proponen como un nueva entidad subespecífica a la que denominan *M. m. ocotensis*, haciendo énfasis además, en el aislamiento que presenta esta población. González (1992) también encontró variación cromosómica en ejemplares de esta misma población. Todo esto concuerda, con los resultados aloenzimáticos del presente estudio. Sin embargo es necesario que se realicen estudios más detallados para validar esta subespecie, ya que la falla principal en éstos trabajos es el tamaño de muestra.

M. umbrosus, también mostró una gran variación genética (Cuadro 8); aunque para esta especie no existen antecedentes para comparar los resultados obtenidos.

Aunque en *M. oaxacensis* se presentó una completa homocigocidad, presenta un polimorfismo alto en relación con las otras poblaciones de *Microtus* examinadas (Cuadro 8). Estos resultados que concuerdan con los estudios morfométricos y cromosómicos, realizados por Martínez (1991). En estos últimos se da a conocer el número diploide ($2n$) que para ésta es 30, y se considera que representa una característica que ha sufrido grandes modificaciones, comparándola con $2n=56$ que se ha

propuesto como el cariotipo ancestral y que representa la condición primitiva (Mathey, 1957). Martínez (1991) discute que la reducción en el número cromosómico es explicada principalmente mediante fusiones y rearrreglos cromosómicos que pudieron haberse dado independientemente de la edad del linaje.

Tanto los datos cromosómicos como los aloenzimáticos parecen indicar que, a pesar de ser *M. oaxacensis*, una especie primitiva, con distribución restringida y, al parecer, con un tamaño poblacional pequeño, no es una especie conservadora, presentando gran variación genética.

En el fenograma de distancias genéticas de Rogers (Figura 11), se observa que la población uno, de *M. m. fulviventor* está cercanamente relacionada con *M. oaxacensis* que es una especie diferente, siendo mayor la distancia que presenta con las poblaciones dos y tres de la misma subespecie, *M. m. fulviventor*. Resultados similares se encontraron entre la población de *M. m. phaeus* y la población cinco de *M. m. mexicanus* cuya distancia es 0.265.

Se esperaba menor diferenciación genética entre las poblaciones de esta última subespecie *M. m. mexicanus*, sin embargo, la distancia entre ellas fué de 0.307. En el primer caso, la distancia interespecifica resultó ser menor que la distancia intraespecifica. Estos resultados son contrarios a lo propuesto por Avise (1975) quien propone menor diferenciación

intrapoblacional que intraespecífica y una gran diferenciación interespecífica.

El fenograma de distancia de Cavalli-Sforza y Edwards (Figura 12) muestra, en términos generales, relaciones fenéticas similares a las obtenidas en el fenograma de Rogers (Figura 11). *M. m. fulviventris* se encuentra formando un grupo con *M. oaxacensis*, *M. umbrosus*, que se encuentra en un grupo independiente. Prácticamente las mismas relaciones se dan entre las poblaciones restantes en ambos fenogramas, difiriendo estos dos en cuanto al valor de las distancias genéticas.

Como se puede observar, existe una gran variación intraespecífica en *Microtus mexicanus*, lo que viene a apoyar lo mencionado en la literatura, de que debido al aislamiento en que se encuentran estas poblaciones, el flujo genético se ha interrumpido; ésto, aunado al tiempo transcurrido, ha provocado la diferenciación intraespecífica. Aquí se debe considerar lo propuesto por Frey (1989), que la actual división subspecífica no está apoyada por los análisis morfométricos, lo cual, a su vez, también está apoyado por Whilhem (1982), en análisis cariotípicos.

Se considera necesaria una revisión, basada en estudios de morfometría uni y multivariada, cariotipos, electroforesis y ADN de *Microtus mexicanus*, en el cual se examinen, de preferencia a todas las subespecies, para confirmar la actual división

subespecífica de estas poblaciones.

Como ya se mencionó con anterioridad, debido a cambios climáticos y a la topografía de México, muchas de estas poblaciones han quedado aisladas geográficamente, lo que ocasiona interrupción del flujo genético. Esto, combinado con el tiempo de divergencia, podría haber originado procesos de especiación, los cuales se ven reflejados en la taxonomía del género.

También se propone realizar estudios de aloenzimas y de ADN para profundizar en la filogenia del grupo *Microtus*, en donde se incluyan también a las especies que se encuentran en México.

CONCLUSIONES

Los estudios aloenzimáticos permitieron detectar la variación genética interespecífica en algunos miembros del género *Microtus*, así como la variación intraespecífica en *M. mexicanus*, siendo esta variación necesaria para los procesos evolutivos en las especies.

Se observó una significativa diferenciación genética dentro de *M. mexicanus*, con resultados similares en la comparación interespecífica, lo que parece indicar procesos de especiación en esta especie.

Los valores de distancia genética nos mostraron las relaciones tanto intra como interespecíficas, *Microtus mexicanus* y *M. oaxacensis* se encontraron estrechamente relacionados entre sí, que cualquiera de las dos con respecto a *M. umbrinus*.

La población de *M. m. mexicanus* de Llano de las Flores, Oaxaca mantiene una relación más cercana con *M. oaxacensis* que es una especie distinta, que con cualquiera de las otras dos poblaciones de *M. m. fulviventer* (Tlaxiaco y Zempoaltépetl, Oaxaca). Sin embargo *M. umbrinus*, se mantuvo como una especie claramente diferenciada del resto.

Los valores de distancia genética presentados entre las subespecies de *Microtus mexicanus* nos sugieren mecanismos de aislamiento.

LITERATURA CITADA.

- Alvarez, T. y J. J. Hernández-Chávez. 1993. Taxonomía del metorito *Microtus mexicanus* en el centro de México con la descripción de una nueva subespecie Pp. 137-156, in Avances en el estudio de los Mamíferos de México (R. A. Medellín y G. Ceballos, eds.). Publicaciones especiales. Asociación Mexicana de Mastozoología, A. C. México D. F. 464 pp.
- Avise, J. C. 1975. Systematic value of electrophoretic data. *Systematic Zoology*, 465-481.
- Ayala, F. J. 1976. El proceso de la especiación y su base genética. *Ciencia y Cultura*, 28:617-624.
- Ayala, F. J. y J. Kiger. 1984. *Genética Moderna*. Fondo Educativo, Interamericano, S. A. 836 pp.
- Bailey, V. E. 1900. Revision of American voles of the genus *Microtus*. *North American Fauna*, 17:1-88.
- Cavalli-Sforza, L. L., y A. W. F. Edwards. 1967. Phylogenetic analysis: models and estimation procedures. *Evolution*, 21:550-570.

- Ceballos, G. y D. Navarro. 1991. Diversity and Conservation of Mexican Mammals. Pp. 167-226 in Latin American Mammalogy. History, Biodiversity and Conservation (M. A. Mares y D. J. Schmidly, eds.). University of Oklahoma Press, Norman, Oklahoma. 486 pp.
- Chaline, J., y J.-D. Graf. 1988. Phylogeny of the Arvicolidae (Rodentia): biochemical and paleontological evidence. Journal of Mammalogy, 69:22-33.
- Chesser, R. K. 1983. Genetic variability within and among populations of the black-tailed prairie dog. Evolution, 37:320-331.
- Dalquest, W. W. 1950. Records of mammals from the Mexican State of San Luis Potosí. Occasional Papers of the Museum of Zoology, Louisiana State University. 23:1-15.
- Frey, J. K. 1989. Morphologic variation in the mexican vole *Microtus mexicanus*. Thesis of Master of Sciences in Biology. Emporia State University, Emporia, Kansas. 131 pp.
- Fitch, W. M., y E. Margoliash. 1967. Construction of phylogenetic trees. Science, 155:276-284.

- González, M. R. M. 1992. Variación cromosómica del ratón metorito *Microtus mexicanus*. Tesis de Licenciatura, Escuela Nacional de Estudios Profesionales Iztacala, UNAM. México., 26 pp
- Goodwin, G. G. 1966. A new species of vole (Genus: *Microtus*) from Oaxaca, Mexico. American Museum Novitates, 2243:1-4.
- Graf, J. D. 1982. Genetique biochimique, zoogeographie et taxonomie des Arvicolidae (Mammalia, Rodentia). Revue Suisse de Zoologie, 89:749-787.
- Guttman, S. 1973. Biochemical techniques and problems in Anuran evolution en Vial, J. L. Evolutionary Biology of the Anurans. 1973. University Missouri Press.
- Hall, E. R. 1981. The mammals of North America. 2nd. ed., John Wiley & Sons, New York. 2:601-1181+90 pp.
- Hamilton, M. J. y M. L. Kennedy. 1986. Genic variation in the coyote, *Canis latrans*, in Tennessee, U. S. A. Genetica 71:167-173.

- Hamilton, M. J. y M. L. Kennedy. 1987. Genic variability in the raccoon *Procyon lotor*. *The American Midland Naturalist*. 118(2):266-274.
- Harris, H. y D. A. Hopkinson. 1976. Handbook of enzyme electrophoresis in human genetics. American Elsevier Publishing Company, Inc., New York. Sin número de páginas.
- Hartl, D. 1988. A primer of population genetics. 2a. edition. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, Massachusetts. 305 pp.
- Hoffmann, R. S. y J. W. Koepl. 1985. Zoogeography. Pp. 84-115, in *Biology of New World Microtus* (R. H. Tamarin, ed.). Special Publication, American Society of Mammalogists. Lawrence, Kansas, U. S. A., 8:1-893.
- Honeycutt, R. L. y S. L. Williams. 1982. Genic differentiation in pocket gophers of the genus *Pappogeomys*, with comments on intergeneric relationships in the subfamily Geomyinae. *Journal of Mammalogy*. 63:208-217.
- Hooper, E. T., y B. S. Hart. 1962. A synopsis of Recent North American microtine rodents. *Miscellaneous Publications of the Museum of Zoology. University of Michigan*, 120:1-68.

International Union of Biochemistry, Nomenclature Committee.

1984. Enzyme Nomenclature. Academic Press. New York,

Johnson, M. L. y S. Johnson. 1982. Voles (*Microtus* species). Pp 326-354. In Wild Mammals of North America: Biology, Management and Economics (J. A. Chapman y G. A. Feldamer, eds.). The Johns Hopkins University Press, Baltimore, Maryland. 1147 pp.

Jones, J. K., Jr., y H. H. Genoways. 1967. Notes on the Oaxacan vole, *Microtus oaxacensis* Goodwin, 1966. Journal of Mammalogy, 48:320-321.

Judd, S. R. 1980. Observations of the chromosome variation in *Microtus mexicanus* (Rodentia: Microtinae). Mammalian Chromosome Newsletter., 21(3):110-113.

Lee, M. R. y F. B. Elder. 1977. Karyotypes of eight species of Mexican rodents (Muridae). Journal of Mammalogy, 58:479-487.

Levene, H. 1949. On a matching problem arising in genetics. Annals of Mathematical Statistic. 20:91-94.

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

Yolanda Hortelano M.

Martin, R. A. 1987. Notes on the classification and evolution of some North American fossil *Microtus* (Mammalia:Rodentia). *Journal of Vertebrate Paleontology*, 7(3):270-283.

Martínez, V. J. 1991. Comparación cromosómica y morfométrica entre *Microtus mexicanus fulviventer* y *Microtus oaxacensis*. Tesis de Maestría, Facultad de Ciencias, U. N. A. M., México, D. F. 56 pp.

McCracken, G. F. y G. S. Wilkinson. 1988. Allozyme techniques and kinship assessment in bats. Pp. 141-156. *In* Ecological and behavioral methods for the study of bats. (T. H. Kunz ed.). Smithsonian Institution Press. Washington D. C. 533 pp.

Mayr, E. 1973. Animal Species and Evolution. Harvard University Press, Cambridge, Massachussets.

Matthey, R. 1957. Cytologie comparee, systematique et phylogenie des Microtinae (Rodentia-Muridae). *Revue Suisse de Zoologie*, 64:39-71.

- Modi, W. S. 1987. Phylogenetic analyses of chromosomal banding patterns among the Nearctic Arvicolidae (Mammalia:Rodentia). *Systematic Zoology*, 36:109-136.
- Moore, D. W. y L. L. Janecek, 1990. Genic relationships among North American *Microtus* (Mammalia:Rodentia). *Annals of the Carnegie Museum*, 59(3):249-259.
- Murphy, R. W., J.W. Sites, Jr., D. G. Buth y C. H. Haufler. 1971. Proteins I: Isozyme electrophoresis. Pp. 45-126. in *Molecular Systematics* (D. Hillis y C. Moritz, eds.) Sinauer Associates, Inc. Publishers. Sunderland, Massachusetts.
- Musser, G. G. y M. D. Carleton. 1993. Family Muridae. Pp. 501-755. in *Mammals species of the world: a taxonomic and geographic reference*. (D. E. Wilson y D. M. Reeder, eds.). 2a. ed. Smithsonian Institution Press in association with the American Society of Mammalogist, Washington, 1206 pp.
- Nadler, C. F., N. M. Zhurkevich, R. S. Hoffmann, A. I. Kozlovskii, L. Deutsch, y C. F. Nadler, Jr. 1978. Biochemical relationships of the Holarctic vole genera *Clethrionomys*, *Microtus*, and *Arvicola* (Rodentia:Arvicolinae). *Canadian Journal of Zoology*, 56:1564-1575.

- Nei, M., 1975. Molecular population genetics and evolution. North Holland Publ. Co., Amsterdam. 287 pp.
- Patton, J. L. y S. Y. Yang. 1977. Genetic variation in *Thomomys bottae* pocket gophers: macrogeographic patterns. *Evolution*, 31:697-720.
- Reppening, C. A. 1983. *Pytomys meadensis* Hibbard from the Valley of Mexico and the classification of North American species of *Pitymys* (Rodentia:Cricetidae). *Journal of Vertebrate Paleontology*, 2(4):471-482.
- Rogers, J. S. 1972. Measures of genetic similarity and genetic distance. *Studies in Genetics VII*. University of Texas Publications, 7213:145-153.
- Rogers, D. S. y M. D. Engstrom. 1992. Evolutionary implications of allozymic variation in tropical *Peromyscus* of the *mexicanus* species group. *Journal of Mammalogy*. 73(1):55-69.
- Rohlf, F. J., J. Kishpaugh y D. Kirk. 1982. Numerical taxonomy system of multivariate statistical programs. State Univ. New York, Stony Brook

- SAS Institute Ins. 1988. SAS user's guide: Statistics. SAS Institute Inc., Cary, North Carolina. pp 956.
- Selander, R. K., M. H. Smith, S. Y. Yang, W. E. Johnson y J. B. Gentry. 1971. Biochemical polymorphism and systematics in the genus *Peromyscus*. I. Variation in the old-field mouse (*Peromyscus polionotus*). Studies in Genetics VI, University of Texas Publications, 7103: 49-90.
- Sokal, R. R. y F. J., Rohlf. 1981. Biometry. The Principles and practice of statistics in biological research. W. H. Freeman and Co., San Francisco.
- Swofford, D. L. y R. B. Selander. 1989. BIOSYS-1, a computer program for the analysis of allelic variation in genetics. Department of Genetics and Development, University of Illinois, Urbana, Illinois. 65 pp.
- Uribe-Alcocer, M. A. Laguarda -Figueras y F. Rodríguez-Romero. 1977. The chromosomes of a population of *Microtus mexicanus* (Muridae-Rodentia) of central México. Anales del Instituto de Biología, UNAM. 48:57-63.

- Waples, R. S. 1987. A multispecies approach to the analysis of gene flow in marine shore fishes. *Evolution*, 41:385-400.
- Werth, C. R. 1988. Zymecicles pre-prepared frozen isozyme assays. *Isozyme Bulletin*, 23:109.
- Wilhelm, D. E. Jr. 1982. Zoogeographic and evolutionary relationships of selected populations of *Microtus mexicanus*. Occasional Papers, The Museum, Texas Tech University, 75:1-30.
- Wright, S. 1965. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to system of mating. *Evolution* 19:395-420.
- , 1978. Evolution and the genetics of populations. Variability within and among natural populations. The University of Chicago Press, Chicago, 588 pp.
- Zakrzewsky, R. J. 1985. The fossil record. Pp. 1-51, in *Biology of New World Microtus* (R. H. Tamarin, ed.), Special Publication, American Society of Mammalogists, No. 8, Lawrence Kansas, 893 pp.

PAGINACION VARIA

COMPLETA LA INFORMACION

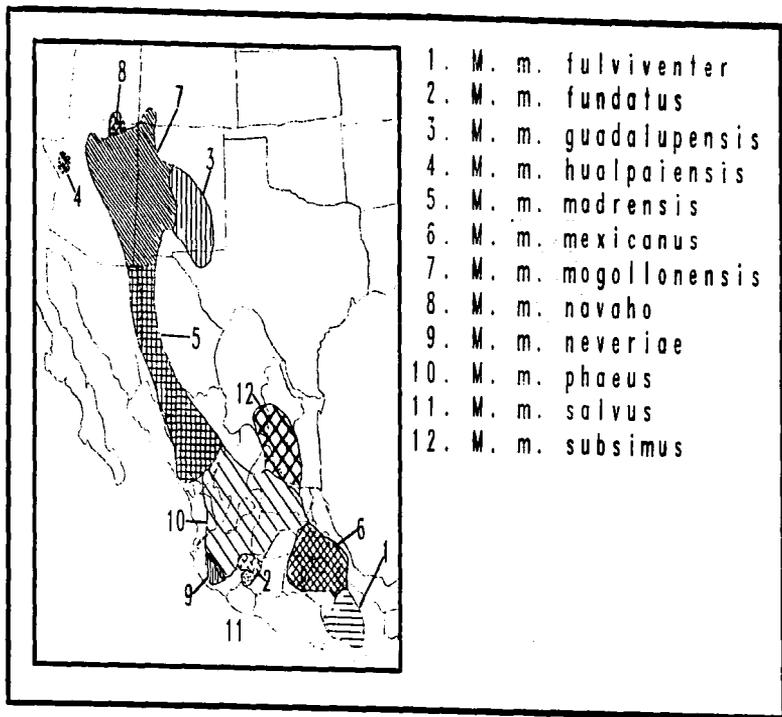


Figura 1. Distribución geográfica de *Microtus mexicanus* (Hall, 1981).

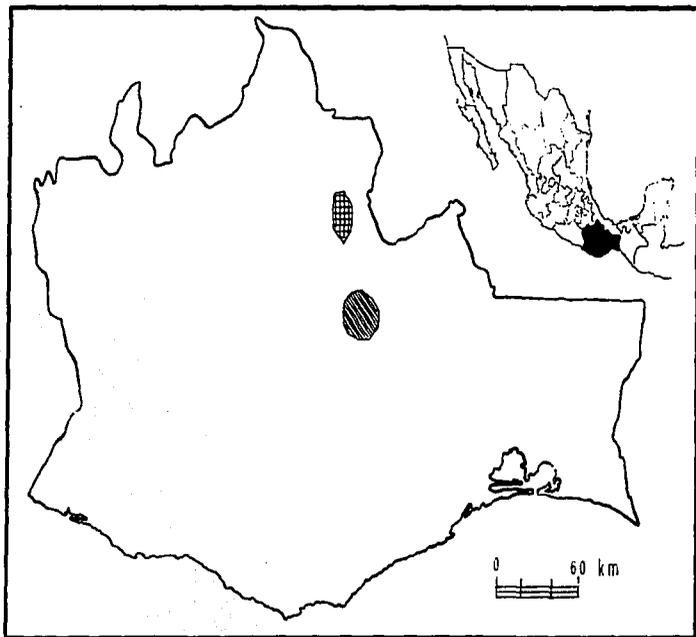


Figura 2. Distribución geográfica de *Microtus oaxacensis*  y *Microtus umbrinus*  (Hall, 1981).

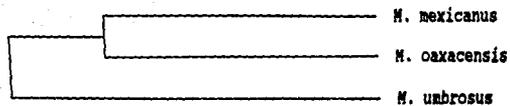


Figura 3. Relaciones genéticas esperadas entre las tres especies de *Microtus* examinadas, de acuerdo a las características morfológicas dentales, estudios biogeográficos y cariotípicos.



Figura 4. Localización geográfica de las poblaciones estudiadas de Microtus
 (Los números corresponden a las localidades ver Cuadro 1).

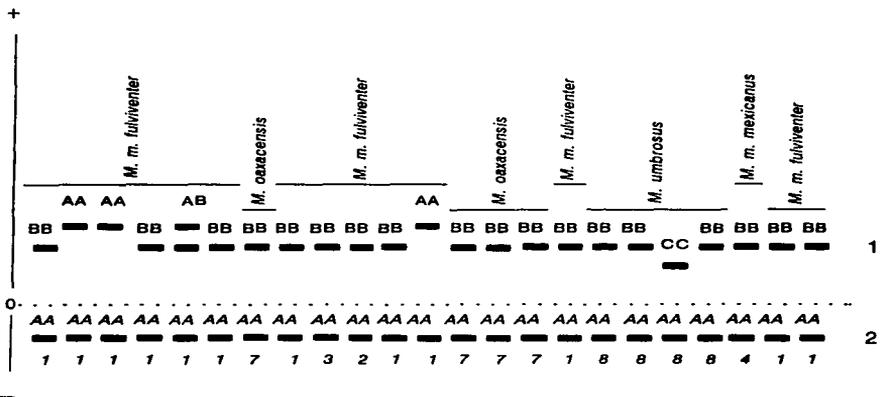
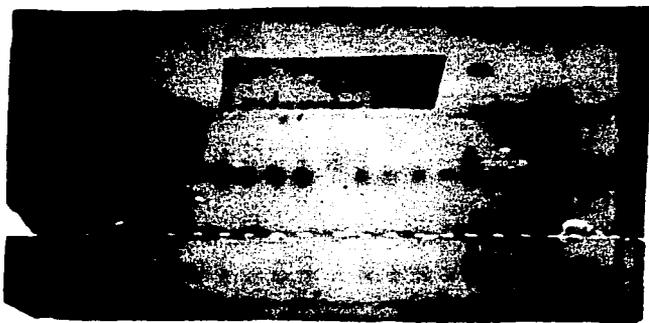


Figura 5.- Variación de Aspartato aminotransferasas (AAT-1 y AAT-2) en extractos de corazón y riñones de *Microtus mexicanus*, *M. oaxacensis* y *M. umbrosus*. Las letras indican los genotipos de los individuos y los números las localidades correspondientes (Cuadro 1). En la parte superior se muestra la fotografía del gel y en la inferior el zimograma.

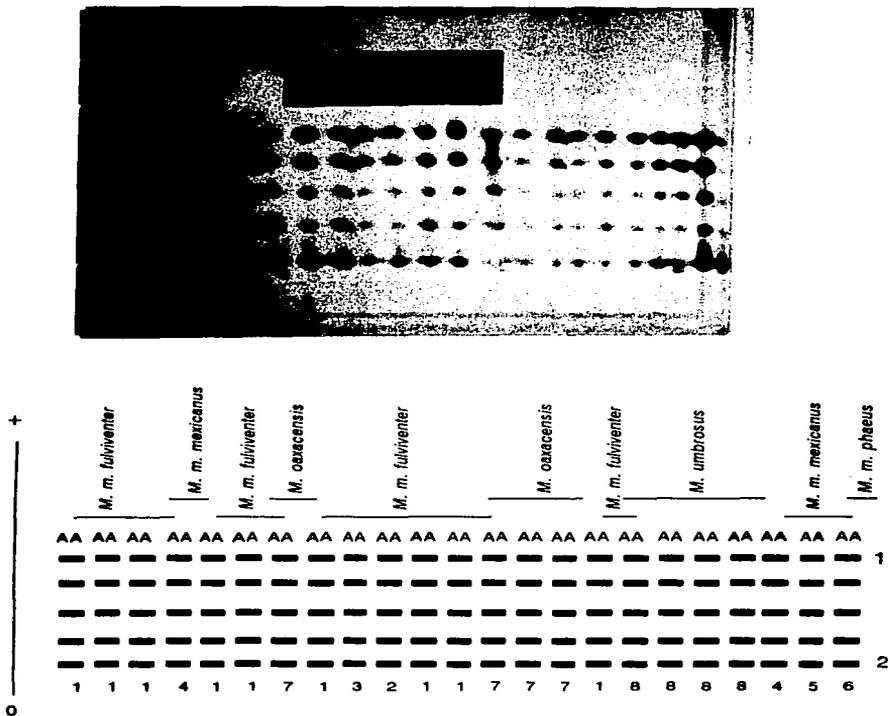
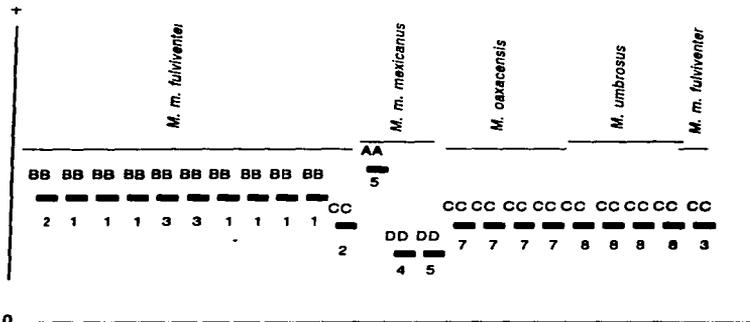
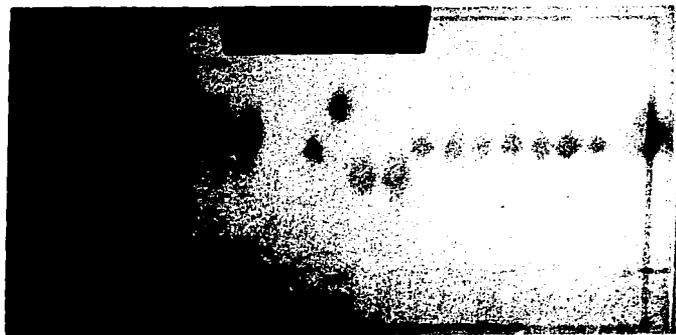


Figura 6.- Variación en lactato deshidrogenasa (LDH-1 y LDH-2) en extractos de corazón y riñones de *Microtus mexicanus*, *M. oaxacensis* y *M. umbrosus*. Las letras corresponden a los genotipos de los individuos y los números a las localidades (Cuadro 1). En la parte superior se muestra la fotografía del gel y la inferior el zimograma.



0

Figura 7.- Variación de Purina nucleosida fosforilasa (NP) en extractos de hígado en *Microtus mexicanus*, *M. oaxacensis* y *M. umbrinus*. Las letras corresponden a los genotipos de los individuos y los números a las localidades (Cuadro 1). En la parte superior se muestra la fotografía del gel y en la inferior el zimograma.

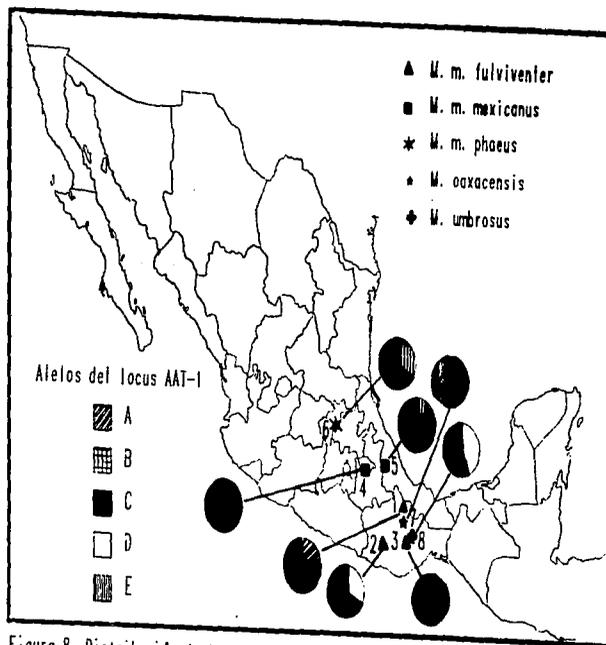


Figura 8. Distribución de las frecuencias alélicas en el locus AAT-1 para las poblaciones estudiadas de *Microtus*. (Los números corresponden a las localidades. ver Cuadro 1).

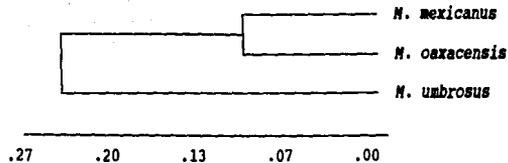


Figura 9. Fenograma mostrando las relaciones genéticas entre las tres especies de *Microtus* examinadas, utilizando los valores de distancia de Rogers (1972), por el método de agrupamiento UPGMA. La correlación cofenética fue de 0.99 y el porcentaje de desviación estándar (Fitch y Margoliash, 1967) fue de 3.969

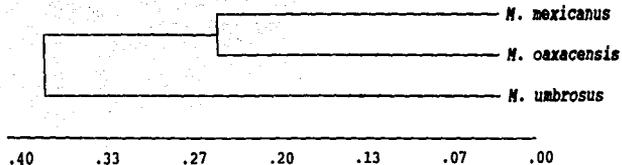


Figura 10. Fenograma mostrando las relaciones genéticas entre las tres especies de *Microtus* examinadas, utilizando los valores de distancia ("chord distance") de Cavalli-Sforza y Edwards (1967), por el análisis de agrupamiento UPGMA. La correlación cofenética fue de 0.96 y el porcentaje de desviación estandar (Fitch y Margoliash (1967) fue de 6.075.

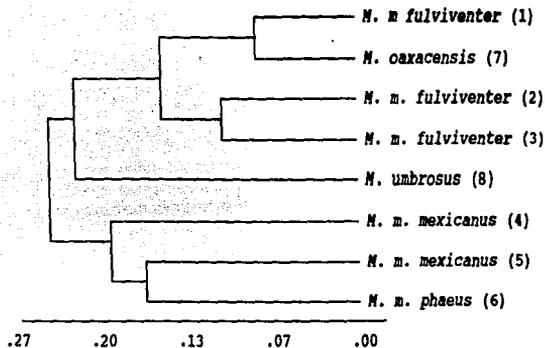


Figura 11. Fenograma basado en los valores de distancia genética de Rogers (1972) entre los taxa de *Microtus* (Ver Cuadro 1 para localidades geográficas), por el método de agrupamiento UPGMA. La correlación cofenética fue de 0.78 y el porcentaje de desviación estándar (Fitch y Margoliash, 1967) fue de 17.43.

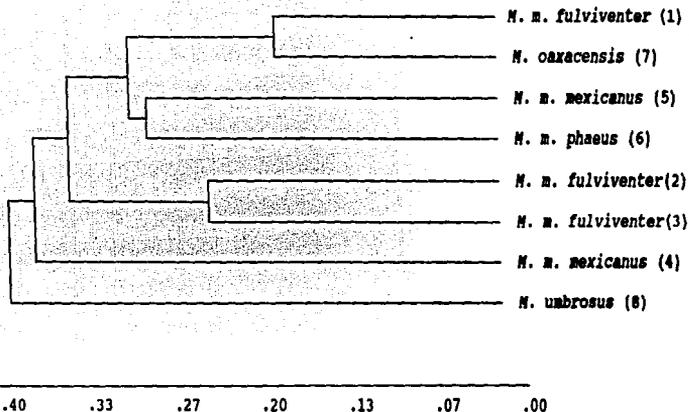


Figura 12. Fenograma basado en los valores de distancia genética (chord distance) de Cavalli-Sforza y Edwards (1967) entre los taxa de *Microtus* (ver Cuadro 1 para localidades geográficas), por el análisis de agrupamiento UPGMA. La correlación cofenética fue de 0.85 y el porcentaje de desviación estandar (Fitch y Margoliash (1967) fue de 9.64.

Cuadro 1. Localidades geográficas de las especies de *Microtus* examinadas.

Número de muestra	Especie	Subespecie	Localidad	Tamaño de muestra
1	<i>M. mexicanus</i>	<i>fulviventor</i>	Llano de las Flores, Oax.	30
2	<i>M. mexicanus</i>	<i>fulviventor</i>	Tlaxiaco, Oax.	3
3	<i>M. mexicanus</i>	<i>fulviventor</i>	Cerro Zempoaltépetl, Oax.	4
4	<i>M. mexicanus</i>	<i>mexicanus</i>	Malintzi, Tlax.	4
5	<i>M. mexicanus</i>	<i>mexicanus</i>	Perote, Ver.	8
6	<i>M. mexicanus</i>	<i>phaeus</i>	Pinal de Amoles, Gro.	3
7	<i>M. oaxacensis</i>		La Esperanza, Oax.	14
8	<i>M. umbrosus</i>		Cerro Zempoaltépetl, Oax.	11

Cuadro 2. Tejidos utilizados para los análisis aloenzimáticos (Corazón y riñón fueron procesados juntos). La preparación de los geles, buffers y tinciones bioquímicas fueron las descritas por Harris y Hopkinson (1976), Selander et al. (1971) y Werth (1990).

Tejidos utilizados	Buffer	Locus	Condición electroforética Volts/tiempo
Corazón-Riñon	TC 8.0	AAT-1, 2 IDH-1, 2 GDH-1, 2	200v/16 hr
Corazón-Riñon	TC 6.7/6.3	LDH-1, 2 MDH-1, 2 ME PGM-1, 2	150/9hr
Hígado	POULIK	LAL LGG-1, 2 PAP	90v/19hr
Hígado	AC	GPI PGM-1, 2	200v/12hr
Hígado	TM	GP G6PD NP SOD-1, 2	90v/19hr

Cuadro 3. Nombres, números y abreviaciones para las enzimas examinadas. Los nombres y números son de acuerdo a lo establecido por la International Union of Biochemistry y la Comisión de Enzimas (CE, 1984).

Nombre de la Enzima	Número de la enzima	Abreviación de la enzima
Aspartato aminotransferasa	2.6.1.1	AAT-1, 2
Enzima málica	1.1.1.40	ME
Fosfoglucomutasa	2.7.5.1	FGM-1, 2
Glucosa 6-phosphato deshidrogenasa	1.1.1.49	G6P
Glucosa phosphato isomerasa	5.3.1.9	GPI
Isocitrato deshidrogenasa	1.1.1.42	IDH-1, 2
Lactato deshidrogenasa	1.1.1.27	LDH-1, 2
Malato deshidrogenasa	1.1.1.37	MDH-1, 2
Peptidasas:	3.4.11	
Leucil-L-alanina (PEP-A)		LAL-1, 2
L-leucil-glicil-glicina (PEP-B)		LGG-1, 2
L-leucil-L-prolina (PEP-D)		PAP
Purina-nucleosida fosforilasa	2.4.2.1	NP
Superóxido dismutasa	1.15.1.1.	SOD-1, 2

Cuadro 4. Aloenzimas y frecuencias para los 17 loci que mostraron variación genética entre las poblaciones de *Microtus* examinadas (Ver Cuadro 1 para localidades). El alelo más anodal en un locus fué designado como "A". A menos que otra cosa sea indicada los alelos se presentaron en un taxón a una frecuencia de 1.00.

Locus	Taxa	Localidades							
		<i>fulviventris</i>			<i>mexicanus</i>		<i>phaeus</i>	<i>oaxacensis umbrinus</i>	
Alelos		1	2	3	4	5	6	7	8
AAT-1	5	A/.241 B/.052 C/.707	C/.667 D/.333	C	C	C/.875	C/.667	A/.038 B/.038 C/.923	C/.571 D/.429
AAT-2	2	A/.931 B/.069	A	A	A	A	A	A	A
G6P	3	A/.103 B/.862 C/.034	C	B/.667 C/.333	A/.250 B/.500 C/.250	A/.143 B/.429 C/.429	C	B/.917 C/.083	B
GPI	3	A/.036 B/.929 C/.036	B	B	B	B	B	B	A/.364 B/.636
IDH1	4	A/.071 B/.071 C/.857	C	C	B/.250 C/.750	A/.250 B/.125 C/.375 D/.250	B/.333 C/.667	B/.077 C/.923	B/.143 C/.857
IDH-2	3	A	A/.667 B/.333	A	A	A	A	A	A
MDH-2	2	A/.946 B/.054	A	A	A	A	A	A	A/.875 B/.125

Cuadro 4.- Continuación.

ME	2		B	B	B	B	B	B	B	A/.667 B/.333
PGW-1	3	A/.352 B/.648	A	A	A/.500 B/.500	A/.500 B/.500	A/.667 B/.333	B	A/.889 B/.111	
PGW-2	3	A/.750 B/.125 C/.125	A/.500 C/.500	C	B	A	A	A	A/.250 B/.750	
NP	3	A/.034 B/.931 C/.034	B	B	C	B/.125 C/.875	B/.333 C/.667	B	B	
LAL-1	3	A/.033 B/.967	C	C	C	A/.100 B/.700 C/.200	A/.333 B/.333 C/.333	B	B/.875 C/.125	
LAL-2	3	A/.032 B/.968	B	B	A/.333 B/.667	B	A/.667 B/.333	A/.071 B/.857 C/.071	B	
LGG-1	3	B/.966 C/.034	B	B	A/.500 B/.500	A/.125 B/.668 C/.188	A/.333 B/.667	B	B	
LGG-2	2	B	B	B	A/.500 B/.500	B	A/.333 B/.667	A/.077 B/.923	B	
LAP	3	A/.172 B/.690 C/.138	A/.333 B/.667	B	A/.500 B/.500	A/.500 B/.375 C/.125	A/.667 B/.333	A/.071 B/.857 C/.071	A/.273 B/.727	
SOD-1	2	B	B	B	A/.250 B/.750	B	B	B	A	

Cuadro 5. Variabilidad genética de *Microtus* para 17 loci.

Número de muestra	Especie	N	Promedio de alelos por locus	Heterocigocidad	Porcentaje de loci polimórficos ^a
1	<i>M. mexicanus</i>	42.5	2.33±.23	0.008±.004	47.62
2	<i>M. oaxacensis</i>	12.1	1.43±.16	0.004±.004	28.57
8	<i>M. umbrosus</i>	8.0	1.43±.11	0.000±.000	42.86

N = Tamaño de muestra promedio por locus.

a = Frecuencia del alelo más común < .95

Cuadro 6. Resultados del estadístico "F" de Wrigt (1965) para cada locus variable, para todas las poblaciones de *Microtus* examinadas. La estimación de significancia de Fst son indicadas por los valores de Chi cuadrada (χ^2).

Especies	LOCUS	Fst	χ^2	GL
<i>M. mexicanus</i>	AAT-1	0.208	128.128*	28
<i>M. oaxacensis</i>	AAT-2	0.061	9.394	7
<i>M. umbrosus</i>	G6PDH	0.452	139.216*	14
	GPI	0.276	85.008*	14
	IDH-1	0.189	87.318*	21
	IDH-2	0.304	93.632*	14
	MDH-2	0.083	12.782	7
	ME	0.636	97.944*	7
	PGM-1	0.447	68.838*	7
	PGM-2	0.727	223.916*	14
	PNP	0.776	239.008*	14
	LAL-1	0.299	92.092*	14
	LAL-2	0.404	124.432*	14
	LGG-1	0.280	86.240*	14
	LGG-2	0.327	50.358*	7
	PAP	0.173	53.284*	14
	SOD	0.822	126.588*	7
Media	0.442	101.069	217	

1. Ver tabla 1 para explicación de las localidades
 2. Ver tabla 2 para explicación de la abreviación de los loci
- * Diferencias significativas ($P \geq 0.05$)

Cuadro 7. Coeficientes de distancia genética de Rogers (1972), arriba de la diagonal) y Cavalli-Sforza y Edwards (chord distance, 1967), abajo de la diagonal, entre las tres especies de *Microtus* examinadas.

Población	1	2	3
1 <i>M. m. fulviventor</i> ---		.102	.222
7 <i>M. oaxacensis</i>	.205	----	.222
8 <i>M. umbrosus</i>	.343	.343	---

Cuadro 8. Variabilidad genética de *Microtus* para 17 loci.

Población	Especie	N	Promedio de alelos por locus	Heterocigocidad media	Porcentaje de loci polimórficos ^a .
1	<i>M. m. fulviventor</i>	26.4	1.95±.19	0.005±.037	47.62
2	<i>M. m. fulviventor</i>	3.0	1.19±.09	0.000±.050	19.05
3	<i>M. m. fulviventor</i>	1.9	1.05±.05	0.000±.021	4.76
4	<i>M. m. mexicanus</i>	2.8	1.43±.13	0.000±.053	38.10
5	<i>M. m. mexicanus</i>	5.6	1.67±.21	0.000±.057	38.10
6	<i>M. m. phaeus</i>	2.9	1.48±.13	0.004±.053	42.86
7	<i>M. oaxacensis</i>	12.1	1.43±.16	0.000±.019	28.57
8	<i>M. umbrosus</i>	8.0	1.43±.11	0.16±.041	42.86

N = Tamaño de muestra promedio por locus.

a = El locus es considerado polimórfico si la frecuencia del alelo más común $\leq .95$

Cuadro 9. Resultados del análisis estadístico "F" de Wright (1965) para cada locus variable en *M. mexicanus*; *M. mexicanus* y *M. oaxacensis*; *M. mexicanus* y *M. umbrosus*. Estimación de significancia de Fst es indicada por los valores de Chi cuadrada (χ^2).

Especies	LOCUS	Fst	χ^2	GL
<i>M. mexicanus</i>	AAT-1	0.190	79.040*	20
	AAT-2	0.058	6.032	5
	G6PDH	0.411	85.488*	10
	GPI	0.045	9.360	10
	IDH-1	0.210	65.520*	15
	IDH-2	0.294	91.728*	15
	MDH-2	0.045	4.680	5
	PGM-1	0.284	29.536*	5
	PGM-2	0.747	155.376*	10
	PNP	0.733	152.464*	10
	LAL-1	0.319	66.352*	10
	LAL-2	0.443	92.144*	10
	LGG-1	0.244	50.752*	10
	LGG-2	0.342	35.568*	5
	PAP	0.189	39.312*	10
	SOD-1	0.217	22.568*	15
	Media	0.391	61.62	155
<i>M. mexicanus</i> y <i>M. umbrosus</i>	AAT-1	0.184	97.152*	24
	AAT-2	0.060	7.920	6
	G6PDH	0.420	110.880*	12
	GPI	0.046	12.144	12
	IDH-1	0.206	81.576*	18
	IDH-2	0.300	79.200*	12
	MDH-2	0.046	6.072	6
	PGM-1	0.445	58.740*	6
	PGM-2	0.765	201.960*	12
	PNP	0.759	200.376*	12
	LAL-1	0.353	87.912*	12
	LAL-2	0.390	102.960*	12
	LGG-1	0.265	69.960*	12
	LGG-2	0.314	41.448*	6
	PAP	0.190	50.160*	12
SOD-1	0.222	29.304*	6	
Media	0.412	77.360	180	

Cuadro 9. Continuación.

<i>M. mexicanus</i> y	AAT-1	0.210	105.840*	24
<i>M. oaxacensis</i>	AAT-2	0.060	7.560	6
	G6PDH	0.454	114.408*	12
	GPI	0.271	68.292*	12
	IDH-1	0.192	72.576*	18
	IDH-2	0.300	75.600*	12
	MDH-2	0.080	10.080	6
	ME	0.632	79.632*	6
	PGM-1	0.285	35.910*	6
	PGM-2	0.707	178.164*	12
	PNP	0.759	191.268*	12
	LAL-1	0.287	72.324*	12
	LAL-2	0.459	115.668*	12
	LGG-1	0.265	66.780*	12
	LGG-2	0.357	44.982*	6
	PAP	0.170	42.840*	12
	SOD-1	0.817	102.942*	6
	Media	0.426	81.462	174

1. Ver tabla 1 para explicación de las localidades
 2. Ver tabla 2 para explicación de la abreviación de los loci
- * Diferencias significativas (P < 0.05)

Cuadro 10. Coeficientes de distancia genética de Rogers (1972), arriba de la diagonal y Cavalli-Sforza y Edwards (chord distance, 1967), abajo de la diagonal entre los ocho taxa de *Microtus* examinados.

Número de muestra	Taxa	Localidades							
		1	2	3	4	5	6	7	8
1	<i>M. m. fulviventor</i>	---	.150	.130	.224	.155	.191	.075	.198
2	<i>M. m. fulviventor</i>	.291	---	.103	.271	.206	.274	.170	.223
3	<i>M. m. fulviventor</i>	.262	.221	---	.241	.206	.250	.129	.213
4	<i>M. m. mexicanus</i>	.331	.403	.381	---	.170	.204	.234	.295
5	<i>M. m. mexicanus</i>	.249	.329	.351	.307	---	.162	.170	.296
6	<i>M. m. phaeus</i>	.288	.400	.370	.325	.265	---	.187	.309
7	<i>M. oaxacensis</i>	.169	.320	.299	.359	.287	.289	---	.230
8	<i>M. umbrosus</i>	.324	.379	.365	.384	.403	.412	.364	---