

00381

16
2ej



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

*Comparación sistemática entre Microtus guatemalensis
M. quasiater Y M. umbrosus*

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADEMICO DE
DOCTOR EN CIENCIAS
(B I O L O G I A)

P R E S E N T A :
JESUS MARTINEZ VAZQUEZ

DIRECTOR DE TESIS: DR. FERNANDO ALFREDO CERVANTES REZA

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México

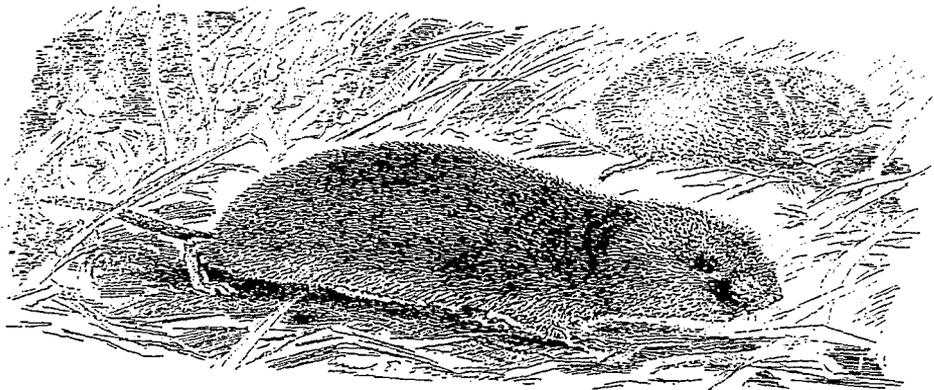


UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

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.



Microtus pennsylvanicus (Bailey, 1900).

DEDICATORIA

A MIS QUERIDOS PADRES:

**DAMASO MARTINEZ Y PIEDAD VAZQUEZ QUE DURMIERON CON LA
ESPERANZA DE VER REALIZADO SU GRAN ANHELO Y POR LAS ENSEÑANZAS
QUE ME INCLCARON DE LA VIDA PARA SEGUIR ADELANTE.**

A MIS HERMANOS:

**CONSUELO, ALICIA, YOLANDA, SILVIA, DAMASO Y MIGUEL
ANGEL POR SU CONSTANTE APOYO Y CARIÑO QUE ME HAN BRINDADO HE
PODIDO SEGUIR ADELANTE.**

**A ROSA MARIA POR SER UNA EXCELENTE PERSONA Y POR EL
CARIÑO QUE LE TENGO.**

Indice

Agradecimientos	
Resumen	i
Abstract	ii
I. Introducción	1
II. Métodos	12
1. Estudio morfométrico	15
2. Estudio citogenético	22
3. Estudio de variación aloenzimática	28
III. Resultados	38
1. Estudio morfométrico	38
1.1 Análisis univariados	38
1.1.1. Variación con la edad	38
1.1.2. Variación sexual secundaria	52
1.1.3. Variación individual	62
1.1.4. Variación interespecífica	71
2. Análisis multivariados	75
2. Estudio citogenético	86
3. Estudio de variación aloenzimática	115
IV. Discusión	124
V. Conclusiones	139
VI. Literatura citada	142
Apéndice I	

Agradecimientos.

Deseo manifestar mi más sincero agradecimiento al Dr. Fernando A. Cervantes por su amistad y por sus valiosos consejos y sugerencias durante la dirección de esta tesis.

Quiero expresar mi gratitud a los miembros del comité tutorial: Dr. Fernando A. Cervantes, Dr. Manuel Uribe Alcocer y Dr. Heliodoro Celis Sandoval por sus comentarios y sugerencias durante el desarrollo de mi investigación doctoral.

Al Dr. Heliodoro Celis Sandoval gracias por integrar parte de mi comité tutorial y por sus sugerencias durante el desarrollo y culminación de esta investigación.

Al Dr. Manuel Uribe Alcocer gracias por formar parte en mi comité tutorial, así como por sus comentarios y sugerencias para la terminación de esta tesis.

Al Dr. Bernardo Villa Ramírez por la revisión y comentarios al manuscrito.

A la Dra. Catalina Chávez Tapia agradezco sus comentarios y sugerencias en la revisión de esta tesis para enriquecer mi tesis.

Dra. Rocio Salceda Sacanelles por la revisión y comentarios al manuscrito.

Al Dr. Luis Medrano González por su revisión, comentarios y sugerencias para enriquecer mi investigación de tesis.

Al Dr. Oscar G. Ward por su amistad, sus amables atenciones recibidas en mi estancia en su laboratorio de la Universidad de Arizona y por enseñarme su experiencia en las técnicas

citogenéticas en 1990.

Al Dr. Alfred Gardner por su amistad y las facilidades prestadas en la consulta de ejemplares tipo del Museo Nacional de EUA (Smitsonian Institution) durante 1990.

Al Dr. Musser por las facilidades otorgadas en la consulta de material biológico que se encuentra en el Museo Americano de Historia Natural, en Nueva York, durante mi visita en junio de 1990.

Al Dr. Don Wilson por su amistad y por las facilidades brindadas en la consulta de material biológico que se encuentra en el Smithsonian Institution, en Washington, D. C. durante mis visitas en junio de 1990 y en junio de 1994.

A los Drs. Robert Tim y Neal Woodman por su apoyo y las facilidades brindadas durante la consulta de ejemplares de museo de la Universidad de Kansas, realizadas en 1991.

Al Dr. David Hafner por su amistad y atenciones brindadas en mi visita a su laboratorio de la Universidad de Nuevo México, Alburquerque, durante el verano de 1992.

Al Dr. Duke Rogers por amistad y ayuda en el trabajo de campo que realizamos en Chiapas.

Quiero expresar mi sincero agradecimiento al laboratorio de Mastozoología y de electroforesis del Instituto de Biología, de la U.N.A.M., por el apoyo y las facilidades brindadas para la realización de esta investigación. Asimismo, a todas aquellas personas que me brindaron su ayuda para la culminación de esta tesis.

Agradezco el apoyo brindado del Subcomité del Instituto de Biología, UNAM., para que a través de la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA) me haya otorgado una beca para realizar estudios de Posgrado y la terminación de esta tesis.

Agradezco el apoyo financiero recibido por parte del Programa de Apoyo a las Divisiones de Estudios de Posgrado (PADEP), para realizar prácticas de campo a Oaxaca, Veracruz y Chiapas, así como, en la compra de materiales y en la impresión de esta tesis. Me otorgaron apoyo económico para participar como ponente de los resultados generados en esta investigación en tres congresos nacionales y tres internacional durante 1993, 1994 y 1995.

Al Sr. Demetrio Camarillo por su amable ayuda y las facilidades prestadas en el uso del laboratorio de fotografía.

A la M. en C. Rosa María González Monroy por su valiosa e invaluable ayuda en el trabajo de campo y laboratorio.

A los M. en C. Yolanda Hortelano, Julieta Vargas, José Antonio Santos, Francisco X. González y a la Dra. Consuelo Lorenzo por su amistad y ayuda en diversas etapas del presente trabajo.

Mi más sincera gratitud a los biólogos Norma Hernandez, Veronica Zavala y Alejandro Rojas por su amistad y valiosa ayuda en el trabajo de campo.

Al Sr. Raúl Martínez Campos por su ayuda en el trabajo de campo y por los momentos alegres en las salidas a Oaxaca.

Al Sr. Benjamin Vieyra por su amistad y ayuda en el trabajo de campo realizado en Xalapa, Veracruz.

Al M. en C Alvar González por su ayuda y entusiasmo mostrado durante nuestras visitas de trabajo de campo realizadas en Xalapa.

A los habitantes del poblado de La Esperanza en la Sierra de Juárez, Oaxaca, por las facilidades prestadas en la colecta de ejemplares.

Deseo expresar mi gratitud a los habitantes de Santa María Yacochi, Oaxaca; por el apoyo que nos brindaron y el interés que manifestaron en nuestro trabajo de campo, en especial a Carlos Martínez Chávez y familia por su amistad, hospitalidad y ayuda desinteresada durante la recolecta de ratones silvestres de ese lugar.

RESUMEN

En el presente estudio se realizó la comparación morfométrica, cromosómica y aloenzimática entre los roedores *Microtus guatemalensis*, *M. quasiater* y *M. umbrerosus* para entender sus relaciones sistemáticas así como sus patrones de distribución geográfica tan peculiares. Los especímenes de *Microtus guatemalensis* se atraparon en el Cerro Tontehuic, Chiapas, los de *M. quasiater* se recolectaron en Tacotal, Xico y Xalapa, Veracruz en tanto que los individuos de *M. umbrerosus* provienen de la montaña del Zempoaltépetl, Oaxaca.

Al comparar los estadísticos de 19 variables craneales entre *Microtus guatemalensis*, *M. quasiater* y *M. umbrerosus* no se encontraron diferencias significativas entre los sexos para la mayoría de los caracteres. En cambio, se observó variación en la edad. Por lo tanto, únicamente se examinaron a los individuos adultos en los análisis multivariados. Las funciones discriminantes presentaron un 100% de concordancia con la clasificación previa de cada individuo. Asimismo, se observó que *M. guatemalensis* y *M. umbrerosus* son más parecidos en tamaño del cráneo en comparación con *M. quasiater* que presenta un cráneo más pequeño. El primer componente principal explica el 52.50% de la variabilidad, lo cual representa la variación en tamaño; el segundo componente explica el 14.20% que expresa la influencia de la forma en el cráneo. EL carácter que tiene mayor peso es la longitud mayor del cráneo, aunque también hay otros siete caracteres que influyen en esta variabilidad. Los resultados del análisis de conglomerados sugieren una relación más cercana entre *M. guatemalensis* y *M. umbrerosus*, que la que existe entre cualquiera de las dos con *M. quasiater*.

M. guatemalensis presenta un número diploide de $2n=52$ y un número fundamental de $NF=56$; *M. quasiater* tiene $2n=62$ y $NF=66$; *M. umbrerosus* $2n=56$ y $NF=60$. El número cromosómico diploide de *M. umbrerosus* es el mismo que se ha propuesto como cariotipo antecesor hipotético en los arvicolinos ($2n=56$). Los números fundamentales indican que *M. quasiater* es el taxón que presenta el mayor número de brazos autosómicos en comparación con las otras especies de arvicolinos mexicanos. Al realizar la comparación de las bandas cromosómicas G entre *Microtus guatemalensis*, *M. quasiater* y *M. umbrerosus* con respecto a *M. oaxacensis*, se identificaron 7 probables fusiones céntricas. La heterocromatina constitutiva se localizó en las regiones centroméricas de los autosomas y el cromosoma sexual X, en cambio, en todos los taxa el cromosoma Y es heterocromático.

Se apreció un porcentaje elevado de loci polimórficos (18 de 30 loci analizados), los cuales fueron diferentes en todos los taxa. En ninguna de las especies se identificaron alelos exclusivos o fijos. La variabilidad genética para *M. guatemalensis* indica niveles bajos de heterocigocidad y de porcentaje de polimorfismo (10.0 y 0.00, respectivamente). En cambio, los valores mayores de heterocigocidad, polimorfismo y promedio de alelos por locus los tiene *M. quasiater* (53.3, 0.026 y 1.6, respectivamente). El promedio obtenido en el estadístico de Wright (F_{st}) para los taxa analizados fue de 62.9% similar al encontrado en otras especies de roedores. Los fenogramas de distancias de Cavalli-Sforza y Edwards, y el de Rogers, muestran que *M. guatemalensis* y *M. quasiater* son especies cercanamente más relacionadas entre sí, que con *M. umbrerosus*. Los resultados morfométricos y cromosómicos muestran patrones similares de relaciones de parentesco entre los tres taxa analizados.

ABSTRACT

This study analyzed morphometric, chromosomal and alloenzymatic variation among the voles *Microtus guatemalensis*, *M. quasiater* and *M. umbrosus* to know their systematic relationships, and their peculiar patterns of geographic distribution. The specimens of *M. guatemalensis* were collected in Tzontehuitz Mount, Chiapas, those of *M. quasiater*, in Teocelo, Xico and Xalapa, Veracruz; individuals of *M. umbrosus* were collected from the Zempoaltépetl Mount, Oaxaca.

Cranial measurements among the voles *M. guatemalensis*, *M. quasiater* and *M. umbrosus* did not show significant differences between sexes in any of the studied characters. In contrast, variation in age classes was observed and for this reason only adult specimens were examined through multivariate analysis. Discriminant function analysis has 100% coincidence with previous classification of the studied individuals. *M. guatemalensis* and *M. umbrosus* were more similar in cranial size than any of them with *M. quasiater*, whose skull is smaller. The first principal component explains 52.50% of total variance which represents variation in size; the second principal component explains 14.20% expressing the influence of the skull shape. The more significant character was skull length, even in the presences of seven other cranial measurements that influence this variability. The cluster analysis indicates a nearest relation between *M. guatemalensis* and *M. umbrosus*, than that between any one of the two with *M. quasiater*.

The Guatemalan vole (*M. guatemalensis*) showed $2n=52$, and $FN=56$; The Jalapan pine vole (*M. quasiater*) showed a chromosome number of $2n=52$, and $FN=66$; and the Zempoaltépetl vole (*M. umbrosus*) showed $2n=56$, and $FN=60$. The chromosome number of *M. umbrosus* is similar to hypothetical an ancestral karyotype in the arviculids ($2n=56$). The fundamental number showed that *M. quasiater* is the taxa with a greater number of autosomic arms compared with other species of voles from México. Compared G bands among *M. guatemalensis*, *M. mexicanus*, *M. quasiater* and *M. umbrosus* with an individual of *M. oaxacensis* showed seven possible centric fusions.

Allozymic variation of 30 presumptive loci was analyzed by horizontal starch-gel electrophoresis. No fixed alleles were recorded for any population. *M. quasiater* showed the highest values of heterozygosity, polymorphism, and number of alleles per locus. The average total value of genetic differentiation was 62.9% similarity an other species. A dendrogram showed that the allozymic attributes of *M. guatemalensis* are more similar to those of *M. umbrosus* than to those scored for *M. quasiater*. The results of cranial morphometrics and of chromosomes showed similar patterns of phylogenetic relationships among the three taxa analyzed.

I. INTRODUCCION

El Orden Rodentia incluye al 40% de todas las especies de mamíferos. Dentro de las cuales se incluyen a las especies del género *Microtus* que se distribuyen en Europa, Asia y Norteamérica, pertenecen a la familia Muridae y a la subfamilia Arvicolinae (Musser y Carleton, 1993). Estos ratones silvestres comunmente se conocen como metoritos y se caracterizan por ser de tamaño pequeño, con una longitud total que varía de 101 a 261 mm. Su cuerpo es robusto, sus 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 pardo oscuro a pardo claro siendo el vientre más claro (Hooper y Hart, 1962; Hall, 1981).

Actualmente, se conocen 26 géneros de Arvicolinos constituidos por 143 especies, de las cuales 23 se distribuyen en Norteamérica. De estas últimas siete se encuentran en México: *M. pennsylvanicus*, *M. californicus*, *M. mexicanus*, *M. guatemalensis*, *M. oaxacensis*, *M. quasiater* y *M. umbrosus*, siendo los tres últimos taxa endémicos y relictos de México (Musser y Carleton, 1993; Ramírez-Pulido et al. 1982; Hall, 1981).

Los primeros registros de fósiles de arvicolinos en Norteamérica se encontraron en estratos correspondientes al Plioceno temprano; en cambio, en Europa y Asia en los correspondientes al Plioceno temprano y medio (Carleton y Musser, 1984; Modi, 1987). El grupo de los arvicolinos se originó en la

región norte o centro de Asia y subsecuentemente migraron hacia Norteamérica, es decir, los arvicolininos actuales son el producto de la dispersión de la región Paleártica hacia la Neártica cruzando por el estrecho de Bering al inicio del Pleistoceno (Carleton y Musser, 1984; Zakrzewski, 1985).

La primera dispersión probablemente incluyó a los subgéneros *Phaiomys* (actualmente restringido al viejo mundo) y *Neodon* (Martin, 1974; Repenning, 1980). Entre los sobrevivientes de esta primera dispersión de los antecesores del género *Microtus* que invadieron Norteamérica a principios del Pleistoceno se incluye a *M. umbrosus* y tal vez a *M. guatemalensis*, ambas especies presentan distribución relictiva en las montañas de México y Guatemala, respectivamente. En una dispersión posterior, durante el Pleistoceno medio participaron los subgéneros *Neodon* y *Pitymys*, y sobrevivientes de este linaje ancestral, pudieron haberse originado *M. quasiater* y *M. oaxacensis*. Martin (1974) propone incluir a *M. guatemalensis* aquí, los cuales también permanecieron como relictos en el extremo sur del área de distribución del género. *M. mexicanus* es una especie que divergió durante el Pleistoceno tardío (Hoffmann y Koepl, 1985). *Microtus umbrosus* y *M. guatemalensis* son los representantes más sureños de la distribución del género *Microtus* en nuestro continente, y al igual que sus congéneres, habitan en bosques de pino-encino. En cambio, *M. oaxacensis* y *M. quasiater* habitan en bosques mesófilos de montaña; *M. mexicanus* ocupa bosques de pino encino. Al parecer todos estos taxa tuvieron una distribución

más amplia en el pasado. Como consecuencia de la contracción de los bosques templados, debido a los tres últimos períodos glaciales, la distribución de estas taxa se ha reducido a su situación actual. Por otro lado, ninguna de estas especies muestra indicios de alguna clara o cercana relación sistemática a cualquier otra especie del género (Hoffmann y Koepl, 1985).

Por medio de estudios morfométricos se tiene conocimiento que en el grupo de los arvicolininos no es común que exista dimorfismo sexual (Wilhelm, 1982; Ramírez-Pulido et al. 1991); en lo que respecta a caracteres craneales *M. mexicanus fulviventis* y *M. oaxacensis*, difieren significativamente de tamaño en todas las variables craneales, lo cual apoya que ambas especies son fenéticamente distintas entre sí. Tanto estudios cromosómicos como morfométricos, sugieren una relación sistemática no muy cercana entre sus poblaciones (Martínez, 1991).

Algo que ayuda a examinar las relaciones de parentesco entre *Microtus mexicanus*, *M. guatemalensis*, *M. oaxacensis*, *M. umbrosus* y *M. quasiater* son los estudios citogenéticos. Matthey (1957) argumentó que el número cromosómico primitivo para los arvicolininos es $2n=56$ y la morfología cromosómica es monorrámea. A través de observaciones citogenéticas previas de *Microtus* se ha mostrado que las fusiones céntricas juegan un papel importante en la evolución de este grupo y en menor frecuencia se presentan inversiones pericéntricas y fisiones (Nadler, 1969).

El mecanismo de fusión céntrica es tal vez el rearreglo cromosómico más común observado en los arvicolininos (Modi, 1987)

produciendo cromosomas birrámeos derivados de los monorrámeos. Los estudios efectuados en *M. oaxacensis* y *M. mexicanus fulviventer* apoyan esta hipótesis (Martínez, 1991).

Los cariotipos y las bandas cromosómicas G de *Microtus guatemalensis*, *M. umbrosus* y *M. quasiater*, no han sido estudiados, por lo tanto, es importante establecer sus relaciones de parentesco y, asimismo, confirmar si las fusiones céntricas son igualmente las más frecuentes en las especies por examinar. Esto permitirá, comparar el patrón de bandas cromosómicas G de las cinco especies de *Microtus* mencionadas para poder verificar las hipótesis de los rearrreglos cromosómicos observados entre especies.

Con relación al patrón de bandas cromosómicas C, las cuales se localizan en la región centromérica en algunas especies del género *Microtus* (Modi, 1987), es probable encontrar heterocromatina constitutiva en regiones centroméricas o pericentroméricas en los autosomas de las especies analizadas, como sucede en otros *Microtus*.

Es importante abordar estudios electroforéticos en estas especies de *Microtus* para diferenciarlos aloenzimáticamente y establecer sus relaciones de parentesco como se demuestra en el estudio realizado por Moore (en prensa) con siete subespecies de *M. mexicanus* (Figura 1) en donde se encontró que las cinco poblaciones que se distribuyen en México presentan un amplio nivel de diversidad genética entre ellas, es decir, la población de Coahuila y México son más similares entre sí con un valor de

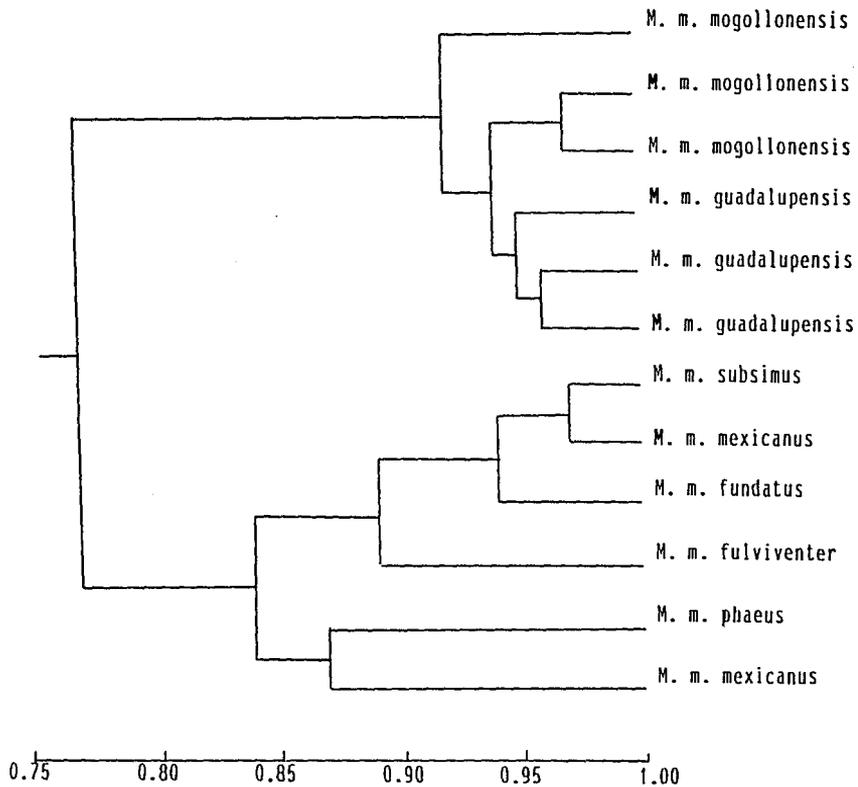


Figura 1.- Distancias genéticas (similitud genética de Rogers) entre algunas subespecies de *Microtus mexicanus* (Moore, en prensa).

similitud de Rogers $S=0.974$, que lo que este grupo lo es con las poblaciones de Michoacán y Oaxaca. Asimismo, las seis poblaciones de Nuevo México, EUA, presentan una similitud de 0.773 con respecto a las seis del grupo de México (Moore, en prensa).

Desafortunadamente, no existe este tipo de información para dos especies de las tres consideradas en este estudio. Sin embargo, es importante conocer sus relaciones de parentesco incluyendo todas las especies del sureste mexicano para conocer que tanto han divergido a través del tiempo.

Los patrones de distribución de *Microtus* en el Nuevo Mundo durante el Pleistoceno se encuentran correlacionados con los patrones ecológicos, en donde los linajes más antiguos están representados por los relictos que habitan los bosques mesófilos de México. Los habitantes de pastizales, chaparrales, bosques deciduos son linajes del Pleistoceno tardío y por ende de origen más reciente (Hoffmann y Koepl, 1985). *M. oaxacensis* habita exclusivamente en bosque mesófilo y *M. umbrosus* se encuentra en bosques de pino-encino, y estas dos especies son relictas. En contraste, *M. mexicanus* se localiza en diversos habitats tales como: zonas semiáridas, pastizales, bosques de pino, zacatonales y áreas de cultivo. De acuerdo a esto, se considera que *M. umbrosus* es la especie más antigua, seguida por *M. oaxacensis*, mientras que *M. mexicanus* es la de origen más reciente.

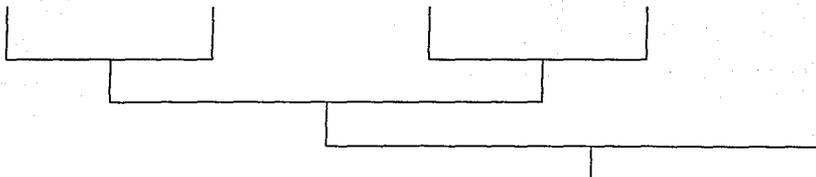
Asimismo, Hoffmann y Koepl, 1985 argumentan que *M. guatemalensis* y *M. umbrosus* aparecieron a principios del

Pleistoceno, ambas especies se encuentran principalmente en bosque de pino-encino, la primera se restringe actualmente al centro de Oaxaca (montaña del Zempoaltépetl), en la Sierra Mixe; y la segunda se localiza solamente en algunas montañas de Chiapas (cerro Tzontehuitz) y Guatemala (Figura 2). Con relación a las diferencias morfológicas externas *M. umbrosus* presenta una cola vertebral mayor que la de *M. guatemalensis*.

Por otra parte, *M. quasiater* tuvo su aparición en el Pleistoceno medio hace 1.2 millones de años (Hoffmann y Koepl, 1985), se encuentra en bosque mesófilo en los Estados de San Luis Potosí, Veracruz, Hidalgo, Puebla, y Oaxaca (Figura 2); *M. quasiater* es más pequeño en comparación con *M. mexicanus*, *M. oaxacensis*, *M. umbrosus* y *M. guatemalensis* (Bailey, 1900; Hall, 1981; Hoffmann y Koepl, 1985; Merriam, 1898). Finalmente, se supone que *M. mexicanus* se originó durante el Pleistoceno tardío (Hoffmann y Koepl, 1985).

Por lo anterior, se sugiere que *M. mexicanus* se parece más a *M. oaxacensis* formando un grupo; *M. guatemalensis* y *M. umbrosus* están más estrechamente relacionados entre sí que cualquiera de las dos con *M. quasiater*. De modo que una hipótesis de reconstrucción filogenética de las relaciones de parentesco con base en aspectos biogeográficos entre estas especies sería la siguiente:

M. mexicanus *M. oaxacensis* *M. guatemalensis* *M. umbrosus* *M. quasiater*



Con relación a la morfología dental se ha establecido que el origen del género *Microtus* es reciente de aproximadamente dos millones de años, sin embargo, se cree que presenta una migración actual rápida (Zakrzewski, 1985). La morfología dental (número de triángulos presentes en los molariformes, diferenciación de esmalte, etc.) permite comparar a las especies actuales y a las extintas.

De acuerdo a lo propuesto por Martin (1987) y Repenning (1983), las especies de *Microtus* que se encuentran en México presentan el siguiente esquema:

En un primer grupo encontramos a *M. mexicanus* por tener dos triángulos cerrados en sus molares, además de ser la especie más reciente. En el segundo grupo se encuentra a *Microtus oaxacensis* y *M. guatemalensis* por tener una diferenciación negativa o indiferenciada en el molar tres (M3), es decir, *M. oaxacensis* presenta cuatro o cinco triángulos cerrados y *M. guatemalensis* tiene tres triángulos cerrados en el M3; en el molar inferior

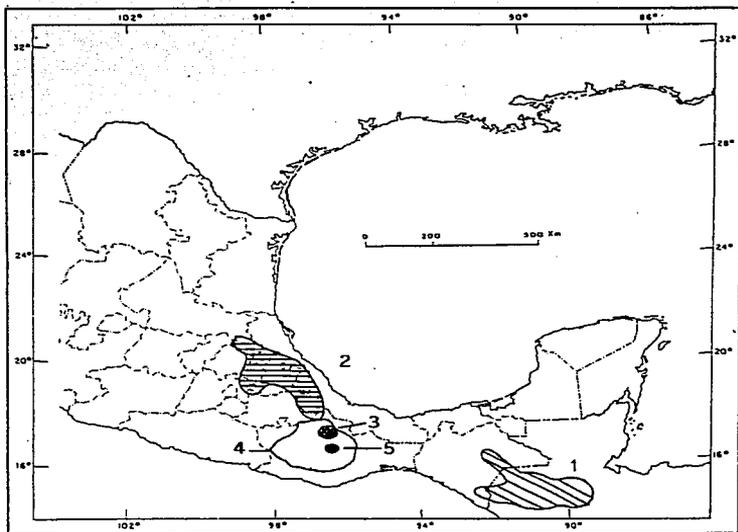


Figura 2.- Distribución geográfica de *Microtus guatemalensis* (1), *M. quasiater* (2), *M. umbrosus* (3), *M. mexicanus* en Oaxaca (4) y *M. oaxacensis* (5) Hall (1981).

Por lo anterior, este trabajo pretende examinar las relaciones filogenéticas entre *Microtus guatemalensis*, *M. umbrosus* y *M. quasiater* por medio de estudios morfométricos, citogenéticos (incluyendo estudios de citogenética convencional y bandas cromosómicas G y C) y aloenzimáticos para el mejor entendimiento de las hipótesis propuestas.

II. METODOS.

Los meteoritos se recolectaron vivos utilizando trampas Sherman (23 x 7.5 x 9 cm) y cebo conteniendo hojuelas de avena, maíz quebrado y vainilla. Se realizaron muestreos de cinco días de duración en cada sitio de colecta.

Solamente se logró recolectar un espécimen hembra de *Microtus guatemalensis* en el Cerro Tzontehuitz a 13 Km NE de San Cristóbal de las Casas, del municipio Chamula, Chiapas en 1994 (Figura 3).

La captura de *M. mexicanus* se realizó en la Sierra de Juárez, en las cercanías del aserradero Llano de las Flores y a 13 Km S de Atepec ambos lugares pertenecen al municipio San Juan Atepec, Oaxaca. Se capturaron 32 ejemplares correspondientes a 14 machos y 18 hembras en 1990 (Figura 3).

Los meteoritos de *M. oaxacensis* se capturaron en la Sierra de Juárez, a 11 Km SW de la población La Esperanza, perteneciente al municipio de Santiago Comaltepec, Oaxaca. Se obtuvieron 29 ejemplares de los cuales 12 fueron machos y 17 hembras en 1990 (Figura 3).

Especímenes de *M. umbrosus* se recolectaron en la montaña del Zempoaltépetl, en la Sierra Mixe a 4.5 Km N del poblado de Santa María Yacochi, perteneciente al municipio de Tlahuitoltepec, Oaxaca. En donde se atraparon 11 individuos de los cuales seis fueron hembras y cinco machos en 1992, 1993 y 1994 (Figura 3).

En tanto, los individuos de *M. quasiater* se recolectaron a 5

Km al W de Naolinco, municipio de Naolinco, en Teocelo, Xico y Xalapa, Veracruz, siendo en total 20 individuos, incluyendo ambos sexos (12 hembras y 8 machos), en 1993 y 1994 (Figura 3).

Los metoritos se trasladaron al Laboratorio de Mastozoología del Instituto de Biología, UNAM. Las pieles y esqueletos completos de los especímenes capturados se depositaron en la Colección Nacional de Mamíferos del Instituto de Biología, UNAM.

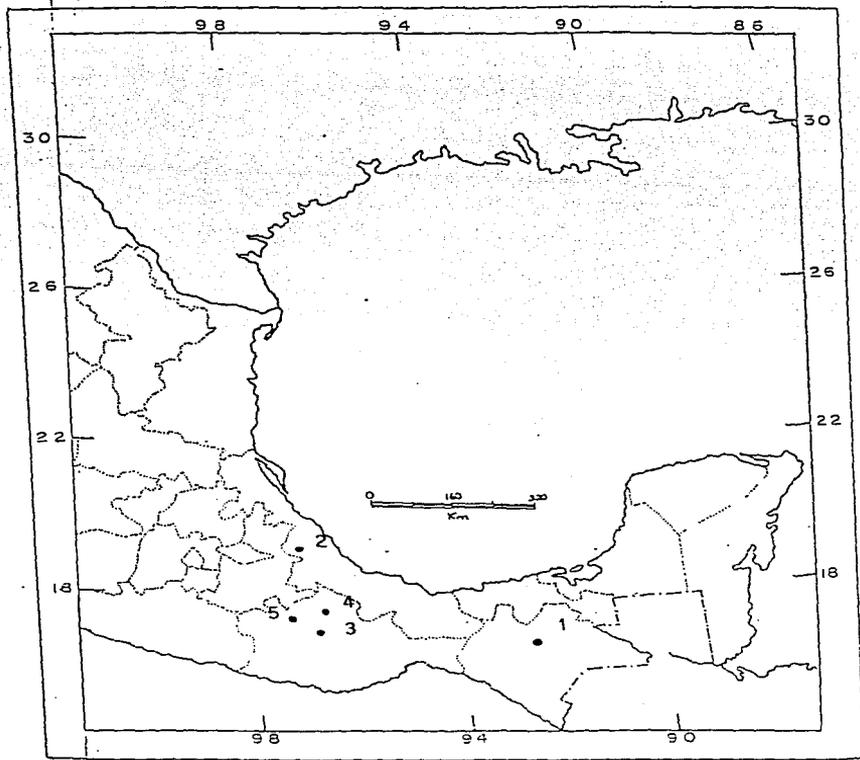


Figura 3.- Areas de colecta para los ejemplares de *Microtus guatemalensis* (1), *M. quasiater* (2), *M. umbrosus* (3), *M. mexicanus* en Oaxaca (4) y *M. oaxacensis* (5) Hall (1981).

1. Estudio morfométrico.

Además, de los meteoritos recolectados en el presente estudio se examinaron los ejemplares de museo depositados en las Colecciones de las siguientes instituciones: American Museum of Natural History (AMNH); Museum of Natural History, Universidad de Kansas (KU); United States National Museum, Smithsonian Institution, Washington, D. C. (USNM) e Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México (IBUNAM).

Se utilizaron un total de 486 especímenes en el análisis morfométrico, de los cuales 269 individuos corresponden a *Microtus mexicanus fulviventer*, 45 a *M. guatemalensis*, 46 a *M. oaxacensis*, 59 a *M. umbrosus* y 67 a *M. quasiater*. En cada uno de los taxa se incluyen hembras y machos.

Cada espécimen se asignó a una de cuatro categorías de edad (Choate y Williams, 1978), adulto viejo, adulto, subadulto y joven, basándose en medidas externas y de acuerdo a los siguientes criterios:

Adulto viejo: caja craneana aplanada y cráneo angular; cresta interorbital fusionada o casi fusionada; borde postorbital prominente; suturas craneales fusionadas; pelaje de adulto.

Adulto: caja craneana que tiende a ser redonda y cráneo no angular; cresta interorbital no fusionada; borde postorbital prominente; suturas craneales fusionadas; pelaje de adulto.

Subadulto: caja craneana y cráneo claramente redondos; sin cresta interorbital; borde postorbital no prominente; algunas

suturas craneales fusionadas; presenta pelaje de adulto.

Joven: caja craneana y cráneo claramente redondos; sin cresta interorbital; borde postorbital ausente; suturas craneales no fusionadas; pelaje de joven.

Las cuatro medidas somáticas se tomaron directamente del rótulo de campo y las 15 craneales se midieron utilizando un vernier electrónico (Marca Mitutoyo) con precisión de 0.01 mm. Las medidas se tomaron como las definen Durrant (1952), Armstrong (1972), Choate y Williams (1978) y Wilhelm (1982).

Medidas externas o somáticas:

Longitud total del cuerpo (LT - LT'): distancia entre la parte anterior de la nariz hasta la punta de la cola vertebral.

Longitud de la cola vertebral (LC - LC'): distancia entre la base de la cola hasta el extremo posterior de la última vértebra caudal.

Longitud de la pata trasera (LPA - LPA'): distancia entre el talón y el extremo de la última garra.

Longitud de la oreja (LO - LO'): distancia entre la escotadura de la oreja y el extremo distal de ésta.

Medidas craneales:

Longitud mayor del cráneo (LMC - LMC'): distancia desde la parte más anterior del rostro en la base de los alvéolos de los dientes incisivos, hasta la orilla más posterior del cráneo.

Longitud basilar (LB - LB'): distancia desde la orilla posterior de los alvéolos de los incisivos hasta el borde superior del forámen magno.

Longitud del diastema (LD - LD'): distancia del borde posterior del último incisivo hasta la orilla anterior del primer molar.

Longitud del forámen incisivo (LFI - LFI'): distancia mayor de los forámenes anteriores.

Longitud del palatino (LP - LP'): distancia de la parte más anterior del borde posterior del hueso palatino hasta la parte más posterior del alvéolo del incisivo.

Longitud de los nasales (LN - LN'): distancia del punto más anterior de los huesos nasales hasta la parte más posterior, tomado en la línea media del cráneo.

Longitud del rostro (LR - LR'): distancia en línea lateral al hueso lacrimal (sobre el borde de la órbita superior del arco cigomático), anteromedialmente en el extremo de los nasales del mismo lado del cráneo.

Longitud de la hilera de molares del maxilar (LHM - LMH'): distancia del borde anterior del primer molar hasta el último molar de la maxila.

Altura del cráneo (AC - AC'): distancia del límite dorsal de la caja craneana hasta el borde ventral de la bula auditiva.

Anchura interorbital (AI - AI'): distancia dorsal entre las órbitas, tomada dorsalmente.

Anchura cigomática (AZ - AZ'): distancia mayor entre las orillas de los arcos cigomáticos, tomado en ángulo recto al eje del cráneo.

Anchura prelamboideal (AP - AP'): distancia entre las orillas medias del fenestro sobre la parte posterodorsal de los huesos escamosales.

Anchura lamboidal (AL - AL'): distancia entre los puntos más laterales de la cresta lamboidal.

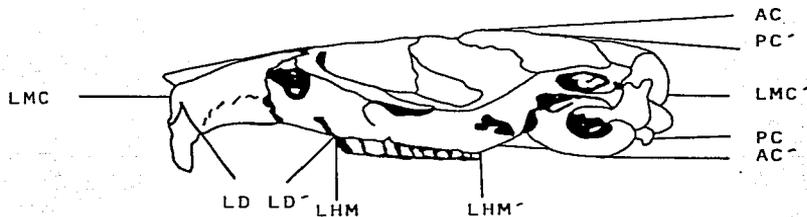
Anchura del rostro (AR - AR'): distancia transversal del rostro, incluyendo el hueso nasolacrimal, anterior a la placa cigomática.

Profundidad de la caja craneana (PC - PC'): distancia más corta del lado ventral del cráneo entre la sutura basioccipital y basifenoides hasta la superficie dorsal del cráneo (usualmente no perpendicular al eje mayor del cráneo).

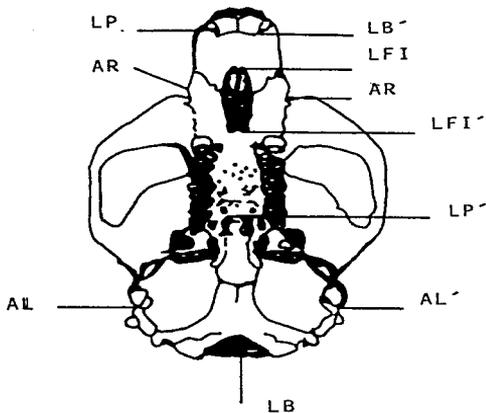
Se escogieron estas medidas porque se han utilizado en estudios previos de variación craneométrica en otros *Microtus* y mostraron variación geográfica en algunos taxa (Hamilton y Heidt, 1984; Figura 4).

Las medidas somáticas y craneales se analizaron por métodos univariados para determinar si en algún carácter existen diferencias significativas entre sexos y edades.

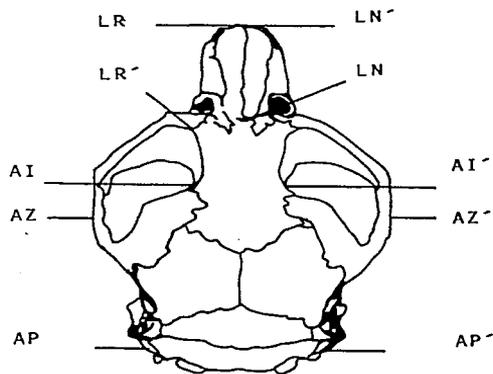
El primer análisis consistió en agrupar las medidas provenientes de machos y hembras correspondientes a las cuatro edades con la finalidad de conocer si existen diferencias significativas entre sexos, utilizando la prueba de *t* de Student



(A)



(B)



(C)

Figura 4.- Vista lateral (A), ventral (B) y dorsal (C) del cráneo de *Micotus umbrosus* (Hall, 1981). Las medidas craneales se definen en el texto.

(cuando la aproximación de las varianzas es desigual). Este procedimiento se realizó mediante la rutina T-test en el programa SAS (Statistical Analysis System), y se analizaron por separado cada uno de los taxa.

Posteriormente, se utilizó el análisis de varianza de una vía para conocer en cuáles variables existen diferencias significativas entre clases de edad, aplicando el procedimiento GENERAL LINEAR MODEL (GLM); subsecuentemente se utilizó la prueba de rango múltiple de Duncan para determinar los subgrupos que se forman en cada variable.

Para cada carácter se calculó el coeficiente de variación utilizando el procedimiento MEANS en el programa SAS, con la finalidad de examinar el grado de variabilidad individual en cada carácter estudiado. Se consideró únicamente a la categoría adulta que corresponden a las edades tres y cuatro, incluyendo a hembras y machos adultos; este análisis se obtuvo con la rutina UNIVARIATE del programa SAS. Además, se compararon las 19 variables en los cinco taxa, con la finalidad de conocer si existen diferencias significativas entre especies, mediante la rutina T-test del programa SAS.

Se aplicó el análisis de componentes principales que tiene la característica de identificar la combinación lineal de variables que aportan mayor variabilidad en espacio multivariado y se interpreta como el porcentaje de variabilidad explicada comunmente por los tres primeros componentes principales.

También, se utilizó el análisis de función discriminante el

cual nos ayuda a saber a qué especie pertenece un individuo, seleccionando un grupo de variables que indiquen las diferencias entre clases, puesto que es una herramienta útil para diferenciar especies o subespecies. Este análisis debe de probarse con datos que no generen la función discriminante. Por eso, se usa una mitad de los datos para generar la función y la otra mitad para probarla.

Asimismo, este análisis nos indica qué caracteres son los responsables en discriminar a cada una de las especies, es decir, cuáles variables permiten clasificar a los individuos examinados. Estos análisis se realizaron con la ayuda del paquete estadístico SAS (Statistical Analysis System) en una microcomputadora ACER 915P (Wilhelm, 1982; Helwig, 1985).

Finalmente, se obtuvo un fenograma mediante el análisis de agrupamiento, utilizando el programa NTSYS (Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System, ver. 1.50), empleando el método UPGMA (Rohlf, 1989).

2. Estudio citogenético.

Se analizaron 32 ejemplares de *Microtus mexicanus fulviventer* (18 hembras y 14 machos), 29 de *M. oaxacensis* (17 hembras y 12 machos), 11 de *M. umbrosus* (seis hembras y cinco machos), 20 de *M. quasiater* (12 hembras y ocho machos) y únicamente un individuo hembra de *M. guatemalensis*.

Los cariotipos de las especies analizadas se obtuvieron mediante el método convencional en médula ósea de fémures y tibias (Baker y Qumsiyeh, 1988; Baker et al. 1982). El procedimiento consistió en lo siguiente:

Cuarenta minutos antes de ser sacrificados a los roedores se les inyectó por vía intraperitoneal una solución de Colchicina (Microlab) al 0.004% en una proporción de 0.1 ml por cada 10 gramos de peso. Con esto se inhibe la formación del huso acromático y se detiene la mitosis en metafase.

Se sacrificaron a los *Microtus* por asfixia para extraer los fémures y las tibias en un tiempo no mayor de cinco minutos. Fue necesario quitar el músculo y cortar las epífisis en el extremo proximal con la ayuda de tijeras, la médula se extrajo inyectando solución hipotónica de KCl al 0.075 mol/L a 37°C con una jeringa, procurando sacar toda la médula para lo cual fue necesario inyectar ambos lados del hueso.

La médula se recogió en tubos de centrifuga de 15 ml, que contenían siete ml de solución hipotónica a 37°C, se resuspendió con jeringas de 1 ml y agujas del número 23. Se incubaron en baño María a 37°C durante 40 minutos, se agitaron suavemente los

tubos una vez que estuvieron en el baño María cada 10 minutos aproximadamente.

Se centrifugaron las muestras a $4.832 \times g$ (10,000) durante ocho minutos, se eliminó el sobrenadante y se resuspendió con un poco de líquido fijador en proporción al tamaño del paquete celular para después ser resuspendidas en solución fijadora de Carnoy (metanol absoluto y ácido acético glacial en proporción 3:1 respectivamente), la cual se aplicó cuidadosamente resbalando por la pared del tubo procurando que no cayera directamente sobre las células; se resuspendió suavemente, se utilizó una pipeta por cada tubo para evitar la contaminación. El fijador debe prepararse 30 minutos antes de ser utilizado, debe estar frío y únicamente se puede usar dos o tres horas después de preparado.

Se colocaron los tubos conteniendo la suspensión celular en el congelador durante 24 horas, se resuspendió con solución fijadora fresca y con ayuda de pipetas Pasteur se dejó caer sobre portaobjetos limpios y previamente humedecidos con agua fría desde una altura aproximada de 80 cm. Se dejaron secar a temperatura ambiente y se tiñeron con Giemsa al 5% durante cuatro minutos, se lavaron con agua destilada, se dejaron secar y después se observaron en el microscopio de campo claro.

Se hicieron cinco laminillas por cada individuo y se observaron mayor número de campos mitóticos en por lo menos un individuo macho y una hembra de cada uno de los taxa analizados.

En algunos individuos capturados se realizó en el sitio de colecta la técnica de médula ósea hasta la fijación del paquete

celular que inmediatamente se conservó en temperaturas frías (4°C aproximadamente) para su transporte, y posteriormente se realizó la obtención de los cromosomas en el laboratorio.

Los campos mitóticos seleccionados tanto de cromosomas bandeados como no bandeados se fotografiaron utilizando un fotomicroscopio Carl Zeiss. Se utilizó película Technical Pan de alto contraste, revelador HC 110 y se imprimió en papel Kodabrome II RC de grano fino F3.

La elaboración de cariotipos e idiogramas así como la determinación de la morfología de los cromosomas se hizo de la siguiente manera para cada uno de los taxa analizados:

Se seleccionaron por lo menos 10 fotografías que correspondieran a diferentes individuos de la misma especie, y que incluyeran ambos sexos.

Se realizó el mismo procedimiento para cada una de las especies analizadas: *Microtus guatemalensis*, *M. mexicanus*, *M. oaxacensis*, *M. quasiater* y *M. umbrosus*.

Los cromosomas de cada una de las fotografías se recortaron y acomodaron por pares homólogos por orden decreciente para la construcción de cariotipos.

En la elaboración de cariotipos los cromosomas se agruparon en metacéntricos, submetacéntricos, subtelocéntricos y telocéntricos; después se ordenaron de acuerdo con su longitud decreciente (Al-Aish, 1969).

Los cromosomas se midieron utilizando un vernier electrónico (Marca Mitutoyo) y después se clasificaron de acuerdo a su tamaño

y posición del centromero; utilizando el método de Al-aish, 1969; Levan et al. 1964; Naranjo et al. 1983.

En la elaboración de bandas cromosómicas G para las cinco especies de *Microtus* se utilizó la técnica convencional de tripsina descrita por DeGrouchy y Turleau, 1977; Patton y Baker, 1978.

Las laminillas con los cariotipos convencionales, pero sin teñir, se dejaron reposar durante cinco días, se colocaron en una estufa de cultivo a 60°C durante 16 horas para "deshidratar" los cromosomas y lograr un mejor patrón de bandas. Se dejó enfriar a temperatura ambiente. Se colocaron las laminillas en un vaso Coplin que contenía Tripsina Difco 0.025% durante 150 o 180 segundos ya que fueron los tiempos donde se obtuvo un mejor patrón de bandas cromosómicas. Se introdujeron y se sacaron las laminillas en dos vasos Coplin que contenían PBS (amortiguador de fosfato salino), durante 10 veces, en cada uno para eliminar el exceso de Tripsina.

Se tiñó inmediatamente, sin dejar secar, en amortiguador de Giemsa al 2% preparada según Seabright (1971), durante tres minutos. Se enjuagó brevemente en agua destilada, se dejó secar a temperatura ambiente y se observó al microscopio de campo claro

En la preparación de bandas cromosómicas C en las cinco especies de *metoritos* se utilizó el método descrito por Stefos y Arrighi, 1971; Sumner et al. 1971; Arrighi y Hsu, 1971. Las preparaciones de cariotipos convencionales se dejaron envejecer durante cinco días. Se colocaron las preparaciones en un vaso

Coplin con HCl 0.2 N durante 15 minutos para remover proteínas. Se enjuagaron tres veces en agua destilada y se dejaron secar a temperatura ambiente, se incubaron en una estufa a 65°C durante 25 minutos. Después se trataron en una solución saturada de hidróxido de bario durante 90 o 120 segundos. El hidróxido de bario actuó en la disociación de la eucromatina. Inmediatamente se pasaron las preparaciones a HCl 0.2 N para detener la reacción del hidróxido de bario. Se lavaron tres veces con agua destilada y se dejaron secar a temperatura ambiente.

Se colocaron las laminillas en un cámara húmeda (caja de Petri con papel filtro humedecido con solución salina de citrato con pH 7.0. Se dejaron caer a lo largo de la preparación cuatro gotas de solución salina de citrato, se dejó caer encima un cubreobjetos en la parte central. Se incubaron a 65°C toda la noche, se sacudió la laminilla para que se quitará el cubreobjetos y se lavaron en agua destilada tres veces.

Se lavaron las laminillas en dos vasos Coplin durante cinco minutos en cada uno conteniendo etanol al 70 y 95% respectivamente y se dejaron secar a temperatura ambiente; esto evita la formación de cristales. Se enjuagaron con agua destilada y se dejaron secar a temperatura ambiente.

Las laminillas se tiñeron con Giemsa al 4% durante ocho minutos, se enjuagaron brevemente en agua destilada y se dejaron secar a temperatura ambiente. Se observaron al microscopio de campo claro, se utilizaron filtros verdes para observar mejor las bandas claras.

Posteriormente, se realizaron comparaciones de bandas cromosómicas G considerando las cinco especies con la finalidad de identificar los posibles rearrreglos cromosómicos que hayan ocurrido. Finalmente, se obtuvo un fenograma de las relaciones de parentesco de las especies estudiadas como el propuesto para algunas especies de *Microtus* (Modi, 1987a).

3. Estudio de variación aloenzimática.

El análisis de aloenzimas se efectuó en un total de 29 individuos de los cuales cuatro corresponden a *Microtus guatemalensis*, dos a *M. umbrosus*, tres a *M. mexicanus fulviventer* y 20 a *M. quasiater*. Este análisis aloenzimático se realizó mediante la técnica de electroforesis horizontal en gel de almidón (Selander et al. 1971).

Los procedimientos realizados se describen a continuación:

El sacrificio de los especímenes se realizó en el campo, y de cada individuo se extrajeron el corazón, hígado y riñones. Se depositaron inmediatamente en un recipiente con nitrógeno líquido para transportarse al Laboratorio de Electroforesis del Instituto de Biología, UNAM, en donde se guardaron en un ultracongelador a una temperatura de -80°C .

Las soluciones de amortiguadores utilizadas fueron:

Tris citrato I con pH 6.7 se utilizó para preparar el gel en proporción 1:7, es decir, una porción de solución stock de este amortiguador y 7 porciones de agua deionizada. Del Tris citrato I con pH 6.3 se utilizaron 150 ml en la cámara para el corrimiento.

Tris citrato II, pH 8.0, en proporción 1:29 de la solución stock y solución no diluida para el electrodo de la cámara.

Poulik, pH 8.7 se utilizó para preparar el gel en solución no diluida. Del Poulik con pH 8.2 se agregaron 150 ml en la cámara para el corrimiento.

Amino citrato (morfolina) con pH 6.1 se usó para preparar el

gel en proporción 1:19 de la solución stock, y se utilizaron 150 ml de solución stock no diluida en la cámara para el corrimiento.

Tris maleato EDTA con pH 7.4 se utilizó para preparar el gel en proporción 1:9 de la solución stock y para el electrodo de la cámara se utilizó solución no diluida. Todos estos amortiguadores se prepararon de acuerdo con Selander et al. (1971); Harris y Hopkinson, (1976).

Los tejidos se homogeneizaron con el propósito de separar las enzimas y otras proteínas contenidas en las células. El hígado, parte del corazón y un riñón de cada individuo se colocaron en un tubo de centrifuga, se maceraron durante un minuto en solución homogenizadora preparada de la siguiente manera: 0.01 mol/L trizma, 0.001 mol/L sal disódica de EDTA y 1 litro de H₂O; 40 mg de NADP; 20% de propilen glicol a pH 6.8, de esta solución se agregaron dos partes del volumen del tejido a macerar, con la ayuda de un homogeneizador eléctrico. Todo este procedimiento se realizó a 4°C (Murphy et al. 1990; Selander et al. 1971).

Los tejidos homogeneizados se centrifugaron a 5°C en una centrifuga Sorvall a 2,416 x g (5000 rpm) durante 10 minutos, después por decantación se colocó el sobrenadante en criotubos previamente rotulados con los siguientes datos: número del ejemplar, especie y tipo de tejido. Posteriormente, los extractos se guardaron en un ultracongelador a -80°C. Las enzimas analizadas (Cuadro 1) se seleccionaron de acuerdo con investigaciones previas realizadas en el género *Microtus*

Cuadro 1.- Nombres, números y abreviaciones de las enzimas analizadas en *Microtus*, los nombres y números corresponden a los establecidos por la *International Union of Biochemistry* y la *Comisión de enzimas* (1984).

Enzima	Número	Locus
Aspartato aminotransferasa	2.6.1.1	AAT-1, 2
Fructosa bifosfatasa	3.1.1.11	FBP
Gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa	1.2.1.12	GAPDH
Glucosa deshidrogenasa	1.1.1.47	GDH-1, 2
Glucosa 6-fosfato deshidrogenasa	1.1.1.49	G6PDH=GD
Glutamato deshidrogenasa	1.4.1.3	GLUD
Glucosa fosfato isomerasa	5.3.1.9	GPI
Hexoquinasa	2.7.1.1	HK
Isocitrato deshidrogenasa	1.1.1.42	IDH-1, 2
Lactato deshidrogenasa	1.1.1.27	LDH-1, 2
Peptidasas:		
Leucil L-alanina (PEP-A)	3.4.11	LAL-1, 2
L-leucil-glicil-glicina (PEP-B)	3.4.11	LGG-1, 2
L-leucil-L-prolina (PEP-D)	3.4.11	PAP
Malato deshidrogenasa	1.1.1.37	MDH-1, 2
Enzima málica	1.1.1.40	ME-1, 2
Fosfoglucomutasa	2.7.5.1	PGM-1, 2
Fosfogluconato deshidrogenasa	1.1.1.44	6PGD=PGDH
Sorbitol deshidrogenasa	1.1.1.14	SDH
Superóxido dismutasa	1.15.1.1	SOD-1, 2
Xantina deshidrogenasa	1.2.3.2	XDH

(Hortelano, 1995).

La nomenclatura y numeración de las aloenzimas son las establecidas por la Comisión de Enzimas (CE) y la *International Union of Biochemistry* (UIB, 1984).

Los tejidos y soluciones amortiguadoras utilizadas para analizar los 30 loci estudiados se muestran en el cuadro 2.

La técnica de electroforesis horizontal en gel de almidón consistió en lo siguiente:

Los geles se prepararon a una concentración de 12% disolviendo 45 g de almidón de papa (Sigma Chemical Co.,) en 375 ml del amortiguador correspondiente, de acuerdo a las enzimas que se vayan a revelar (Cuadro 1). Esta solución se calentó hasta el punto de ebullición durante un minuto, después se eliminaron las burbujas de aire mediante una bomba de vacío y posteriormente se vació en un molde de acrílico.

Después que el gel se solidificó, se dividió en dos partes, se hizo un corte a 5 cm de uno de los extremos del molde, donde se colocaron las muestras de extracto de tejido, en pequeñas piezas de papel filtro (10 x 2 mm) Whatman # 3 humedecidos en cada uno de los extractos de tejido. Se colocaron durante algunos segundos sobre una hoja de papel absorbente con la finalidad de retirar el exceso de extracto.

Para el corrimiento de las aloenzimas se utilizó una fuente de poder de 300 volts, gel de almidón y solución de amortiguador iónico. El gel se colocó dentro de la cámara de electroforesis y con la fuente de poder se sometió a una corriente eléctrica; se

Cuadro 2.- Tejidos utilizados en el análisis electroforético (corazón y riñón se procesaron juntos). La preparación de los geles, amortiguadores y tinciones bioquímicas, se realizaron de acuerdo con Harris y Hopkinson (1976); Selander et al. (1971); Werth (1988).

TEJIDOS	AMORTIGUADORES		LOCUS
	GEL	ELECTRODOS	
Corazón y riñón	TRIS CITRATO pH 6.7	TRIS CITRATO pH 6.3	LDH-1, 2 MDH-1, 2 ME-1, 2
Corazón y riñón	TRIS CITRATO pH 8.0	TRIS CITRATO pH 8.0	AAT-1, 2 IDH-1, 2
Corazón y riñón	TRIS MALEATO pH 7.4	TRIS MALEATO pH 7.4	HDP G6PDH SOD-1, 2
Hígado	TRIS CITRATO pH 8.0	TRIS CITRATO pH 8.0	GAPDH GLUD GDH XDH HK
Hígado	AMINO CITRATO pH 6.1	AMINO CITRATO pH 6.1	GPI SDH PGM-1, 2
Hígado	POULIK pH 8.7	POULIK pH 8.2	LAL-1, 2 LGG-1, 2 PAP

utilizaron diferentes voltajes según el sistema de amortiguador empleado tratando de no rebasar los 75 miliampéres; la cámara se mantuvo dentro del refrigerador a 4°C durante el corrimiento para evitar el calentamiento del gel.

El gel se cortó en seis partes de 1 mm de grosor, y cada una de ellas se colocó en una charola de plástico transparente, en donde se agregaron los sustratos y reactivos correspondientes para revelar una determinada enzima; se incubaron a 37°C en la oscuridad de 15 a 30 minutos. Una vez que aparecieron las bandas sobre el gel, se desecharon los reactivos de tinción y se agregó una solución fijadora con ácido acético glacial, metanol absoluto y agua corriente, en proporción 1:5:5; se dejó durante una hora, se eliminó el fijador y el gel se enjuagó con agua corriente; finalmente se envolvió en plástico y se mantuvo en refrigeración.

El registro se realizó considerando el siguiente criterio: para los loci múltiples, la migración del locus más anódico fue designado como "A" como se ilustra en la fotografía de la enzima L-leucil, L-prolina (PAP; Figura 5).

El genotipo se infirió a partir del desplazamiento que presentaron las bandas sobre el gel, de la siguiente manera: los alelos detectados en un locus dado fueron designados alfabéticamente, el alelo anódico se designa con la letra A y a los demás alelos les corresponden las siguientes letras (B, C etc), considerando primero al alelo más anódico y después al más catódico. A los homocigotos les corresponden los genotipos AA, BB, etc; en el caso de los heterocigotos son AB, AC, según

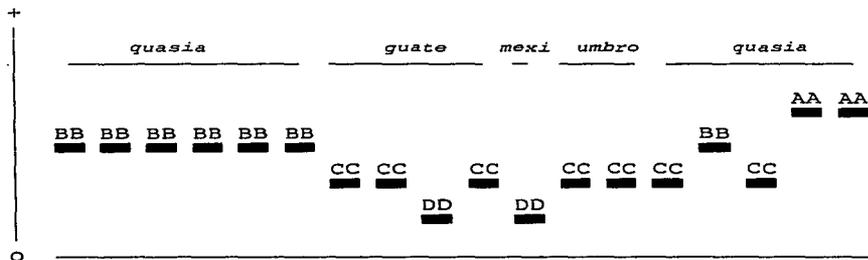


Figura 5.- Variación en la movilidad de L-leucil, L-prolina (PAP) en extractos de hígado de *Microtus mexicanus fulviventer* (mexi), *M. guatemalensis* (guate), *M. umbrosus* (umbro) y *M. quasiater* (quasia). En la parte inferior se muestra el zimograma que explica la fotografía.

corresponda, esto se ilustra en las enzimas aspartato aminotransferasa (AAT) y L-leucil, L-prolina (PAP; Figuras 5 y 6).

Después de registrar la variación de las bandas, se tomaron fotografías de cada uno de los geles, conservando los negativos y las impresiones en papel.

El análisis genético se hizo utilizando una microcomputadora personal, mediante el programa BIOSYS-1 (Swofford y Selander, 1981), y la prueba de Chi-cuadrada para el estadístico de Wright F_{st} se realizó con el programa Lotus.

Se calcularon las frecuencias alélicas por locus, el número promedio de alelos por locus (el número total de alelos entre el número total de loci); los polimórficos (aplicando el criterio de 0.05). La heterocigosidad se calculó por el método de conteo directo de los alelos.

El nivel de significancia en las diferencias de los F_{st} se analizó mediante la prueba de Chi-Cuadrada (X^2) con un $P \leq 0.05$ (Waples, 1987).

Las matrices de distancias genéticas se calcularon considerando los loci tanto monomórficos como polimórficos, utilizando el coeficiente de distancia genética de Rogers (1972) y el coeficiente de distancia *Chord distance* de Cavalli-Sforza y Edwards (1967).

El coeficiente de Rogers se calculó para comparar los resultados obtenidos con estudios realizados previamente, sin embargo, el coeficiente de Cavalli-Sforza y Edwards es el que más

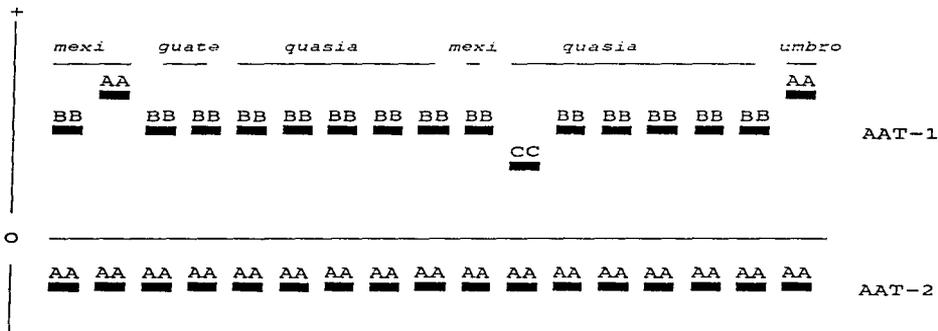


Figura 6.- Variación en la movilidad de Aspartato aminotransferasa (AAT-1 y AAT-2) en extractos de corazón y riñón de *Microtus mexicanus fulviventer* (*mexi*), *M. guatemalensis* (*guate*), *M. umbrosus* (*umbro*) y *M. quasiater* (*quasia*). En la parte inferior se muestra el zimograma que explica la fotografía.

se adecuó a las características de la presente investigación, ya que permitió trabajar con tamaños de muestra pequeños y redujo el sesgo en los resultados.

Los fenogramas se obtuvieron utilizando el programa BIOSYS-1, mediante el método de agrupamiento de UPGMA (unweighted pair group method using arithmetic average; Rohlf et al. 1982).

Existen dos tipos posibles de errores en estadística: el Error Tipo I es rechazar la hipótesis nula (H_0) cuando es verdadera y el Error tipo II es aceptar la H_0 cuando es falsa, a menudo la H_0 es aceptada cuando es falsa debido al tamaño de muestra pequeño. En la H_0 de esta investigación se considerarán a las cuatro especies como iguales. La forma de conocer si el diseño es adecuado para no cometer un error tipo II es a través del cálculo del poder estadístico, el cual se refiere a la probabilidad de rechazar una H_0 falsa y se calculó como $1 - \beta$ (Taylor y Gerrodete, 1993).

Se utilizó el método de Bootstrap (Palumbi et al. 1991), para probar la significancia del estadístico G_{st} de diversidad genética en los haplotipos obtenidos a partir de la movilidad de las aloenzimas (alelos) mediante los programas G_{st-I} y G_{st-II} (proporcionados por Luis Medrano, Facultad de Ciencias, UNAM); los métodos y resultados se describen en el apéndice I.

III. RESULTADOS

1. Estudio morfométrico.

1.1 Análisis univariados.

1.1.1 Variación con la edad.

Para cada uno de los taxa analizados se consideraron 19 variables de las cuales cuatro corresponden a medidas externas y las otras 15 restantes fueron medidas craneales, incluyendo a los dos sexos (machos y hembras). A continuación se describen los caracteres que mostraron diferencias estadísticamente significativas en las categorías de edad:

En *Microtus guatemalensis* sólo se analizaron individuos de la categoría de edad tres y cuatro, mediante la prueba de análisis de varianza utilizando la rutina GENERAL LINEAR MODEL los resultados muestran que los adultos viejos (categoría cuatro) presentaron valores mayores en 14 variables con respecto a los de la categoría tres, mientras que, en cinco variables los individuos de la edad tres (adultos) fueron mayores que los individuos de la edad cuatro. Por otra parte, existen diferencias significativas entre la edad tres y cuatro para las siguientes variables: longitud de la oreja, longitud mayor del cráneo, longitud basilar, longitud del diastema, longitud palatilar, longitud del rostro y anchura cigomática (Cuadro 3).

En los individuos de *Microtus mexicanus* los resultados muestran que para 19 variables y cuatro edades, los adultos viejos (categoría cuatro) tuvieron valores mayores para casi

todas las variables, excepto para la anchura interorbital. Los individuos correspondientes a la edad tres (adultos) fueron mayores que los individuos de edad cuatro. Además, existen diferencias significativas entre adultos viejos y adultos para las siguientes variables: longitud mayor del cráneo, longitud basilar, longitud del diastema, longitud de nasales, longitud del rostro y anchura cigomática, determinados mediante la prueba de análisis de varianza con la rutina GLM (Cuadro 4).

Para los especímenes de *Microtus oxacensis* únicamente se determinaron individuos de la edad dos (subadultos) y tres (adultos), los resultados muestran que los adultos presentan valores mayores que los subadultos para casi todas las variables, con excepción de la altura del cráneo y la anchura interorbital, en donde, los subadultos presentan incremento en tamaño con respecto a los adultos. Estos resultados sugieren que existen diferencias significativas entre subadultos y adultos para 15 variables, utilizando la prueba de análisis de varianza (Cuadro 5).

En *Microtus umbrosus* se determinaron individuos correspondientes a las edades tres y cuatro, los resultados indican que los especímenes de la edad cuatro fueron más grandes en comparación con la edad tres para 13 variables, en cambio, la longitud de la cola vertebral, longitud de la hilera de molares, altura del cráneo, anchura prelamboïdal, anchura lamboïdal y profundidad de la caja craneana, los individuos subadultos fueron mayores que los adultos. Solamente para la anchura prelamboïdal

existen diferencias significativas entre subadultos y adultos, utilizando el análisis de varianza (Cuadro 6).

En *Microtus quasiater* únicamente se examinaron individuos correspondientes a la edad dos y tres, los resultados muestran que los adultos presentan valores mayores que los subadultos para casi todas las variables analizadas, con excepción de la longitud palatilar, anchura interorbital, anchura cigomática y profundidad de la caja craneana. Los subadultos presentan incremento en tamaño con respecto a los adultos, estos resultados indican que existen diferencias significativas entre adultos y subadultos para tres variables, mediante la prueba de análisis de varianza con la rutina GLM (Cuadro 7).

Cuadro 3.- Comparación de 4 variables somáticas y 15 craneales (por variable) entre las categorías de edad de *Microtus guatemalensis*, considerando hembras y machos. Las categorías de edad se definen en el texto. VAR = variable; n = número de individuos; CV = coeficiente de variación; DUNCAN = estadístico de Duncan (las medias con la misma letra indican que no existen diferencias significativas); P = nivel de significancia.

VAR	EDAD	n	PROMEDIO	CV	DUNCAN	P
LT	4	13	146.62	4.14	A	0.1139
	3	17	142.53	5.11	A	
LC	4	13	36.23	7.48	A	0.1424
	3	17	34.47	10.05	A	
LPA	4	13	20.31	3.26	A	0.7856
	3	17	20.24	3.72	A	
LO	4	9	16.89	3.56	A	0.0018 *
	3	10	15.90	3.57	B	
LMC	4	15	27.10	2.07	A	0.0044 *
	3	26	26.14	4.39	B	
LB	4	14	23.83	2.56	A	0.0069 *
	3	24	22.95	4.53	B	
LD	4	15	7.83	4.11	A	0.0272 *
	3	30	7.54	5.73	B	
LFI	4	15	4.64	5.74	A	0.0521
	3	30	4.44	7.28	A	
LP	4	15	13.64	3.36	A	0.0022 *
	3	30	13.10	4.14	B	
LN	4	15	7.55	4.99	A	0.1542
	3	30	7.38	4.90	A	
LR	4	15	8.91	3.40	A	0.0068 *
	3	30	9.60	4.27	B	

Cuadro 3.- Continuación.

VAR	EDAD	n	PROMEDIO	CV	DUNCAN	F
LHM	4	15	7.12	3.28	A	0.8509
	3	31	7.14	4.52	A	
AC	4	15	10.88	4.30	A	0.5939
	3	28	10.94	3.05	A	
AI	4	15	3.84	4.08	A	0.0010
	3	31	4.05	5.03	A	
AZ	4	15	15.56	3.03	A	0.0006 *
	3	30	14.93	3.92	B	
AP	4	15	11.24	1.70	A	0.0724
	3	28	11.09	2.49	A	
AL	4	14	12.26	2.42	A	0.0970
	3	26	12.05	3.41	A	
AR	4	15	5.32	4.19	A	0.4649
	3	30	5.26	5.52	A	
PC	4	14	7.98	5.31	A	0.6042
	3	28	8.05	4.56	A	

Cuadro 4.- Comparación de 4 variables somáticas y 15 craneales (por variable) entre las categorías de edad de *Microtus mexicanus*, considerando hembras y machos. Las categorías de edad se definen en el texto. VAR = variable; n = número de individuos; CV = coeficiente de variación; DUNCAN = estadístico de Duncan (las medias con la misma letra indican que no existen diferencias significativas); P = nivel de significancia.

VAR	EDAD	n	PROMEDIO	CV	DUNCAN	P
LT	4	60	146.13	5.54	A	0.0001
	3	176	141.86	5.93	A	
	2	23	126.35	6.02	B	
	1	7	103.29	7.73	C	
LC	4	58	34.32	10.58	A	0.0001
	3	176	33.70	10.98	A	
	2	23	30.57	9.95	B	
	1	7	25.14	18.14	C	
LPA	4	60	19.76	4.36	A	0.0001
	3	176	19.38	4.36	A	
	2	23	18.59	4.77	B	
	1	7	17.14	8.54	C	
LO	4	16	13.38	7.66	A	0.0001
	3	92	13.29	7.12	A	
	2	13	11.69	6.42	B	
	1	3	10.00	10.00	C	
LMC	4	57	26.48	3.44	A	0.0001
	3	155	25.72	3.43	B	
	2	22	20.40	3.89	C	
	1	6	17.82	3.55	D	
LB	4	56	23.30	3.44	A	0.0001
	3	155	22.50	3.80	B	
	2	22	20.40	4.45	C	
	1	6	17.82	4.81	D	
LD	4	60	7.90	4.25	A	0.0001
	3	174	7.61	5.12	B	
	2	23	6.93	5.33	C	
	1	7	5.86	5.78	D	

Cuadro 4.- Continuación.

VAR	EDAD	n	PROMEDIO	CV	DUNCAN	P
LP	4	60	14.12	3.43	A	0.0001
	3	171	13.02	4.02	B	
	2	22	12.02	4.11	B	
	1	7	10.65	4.62	C	
LN	4	60	7.45	5.39	A	0.0001
	3	174	7.17	4.78	B	
	2	23	6.60	3.40	C	
	1	7	5.72	7.28	D	
LR	4	60	8.55	5.18	A	0.0001
	3	172	8.20	4.80	B	
	2	23	7.47	5.01	C	
	1	7	6.60	8.35	D	
LHM	4	60	6.93	3.63	A	0.0001
	3	175	6.78	4.22	A	
	2	23	6.33	4.40	B	
	1	7	5.77	2.62	C	
AC	4	58	9.72	3.81	A	0.0001
	3	158	9.56	3.83	A	
	2	22	9.21	3.72	B	
	1	7	8.55	6.88	C	
AI	4	60	3.59	5.77	A	0.0007
	3	167	3.68	4.68	AB	
	2	23	3.75	4.50	B	
	1	7	3.63	4.88	AB	
AZ	4	57	15.37	3.49	A	0.0001
	3	165	14.84	3.68	B	
	2	23	13.63	3.78	C	
	1	7	12.03	3.35	D	
AP	4	58	10.46	3.79	A	0.0001
	3	156	10.45	3.40	A	
	2	22	10.25	2.94	A	
	1	7	9.73	1.82	B	

Cuadro 4.- Continuación.

VAR	EDAD	n	PROMEDIO	CV	DUNCAN	P
AL	4	56	11.50	4.26	A	0.0001
	3	158	11.24	4.07	A	
	2	21	10.44	3.18	B	
	1	7	9.56	2.21	C	
AR	4	60	5.28	4.13	A	0.0001
	3	173	5.18	4.40	A	
	2	23	4.90	4.36	B	
	1	7	4.51	2.32	C	
PC	4	58	7.82	4.05	A	0.0001
	3	158	7.80	3.79	A	
	2	22	7.60	3.76	B	
	1	7	6.94	6.28	C	

Cuadro 5.- Comparación de 4 variables somáticas y 15 craneales (por variable) entre las categorías de edad de *Microtus oaxacensis*, considerando hembras y machos. Las categorías de edad se definen en el texto. VAR = variable; n = número de individuos; CV = coeficiente de variación; DUNCAN = estadístico de Duncan (las medias con la misma letra indican que no existen diferencias significativas); P = nivel de significancia.

VAR	EDAD	n	PROMEDIO	CV	DUNCAN	P
LT	3	42	163.86	8.18	A	0.0001
	2	5	135.20	9.99	B	
LC	3	41	37.00	12.75	A	0.0001
	2	5	31.40	22.24	B	
LPA	3	44	22.25	4.45	A	0.0001
	2	5	20.60	4.34	B	
LO	3	44	13.50	13.93	A	0.0357
	2	5	11.60	13.07	B	
LMC	3	42	28.14	2.54	A	0.0001
	2	5	22.51	1.88	B	
LB	3	41	24.63	3.03	A	0.0001
	2	5	22.24	2.06	B	
LD	3	44	8.00	3.72	A	0.0001
	2	5	7.01	2.02	B	
LFI	3	44	4.77	5.75	A	0.0025
	2	5	4.36	5.88	B	
LP	3	43	14.42	3.25	A	0.0001
	2	5	13.13	2.74	B	
LN	3	47	7.50	3.76	A	0.0001
	2	5	6.57	1.91	B	
LR	3	44	8.84	3.07	A	0.0001
	2	5	7.85	3.06	B	

Cuadro 5.- Continuación.

VAR	EDAD	n	PROMEDIO	CV	DUNCAN	P
LHM	3	46	7.68	3.40	A	0.0001
	2	5	7.04	3.50	B	
AC	3	45	9.80	2.97	A	0.0001
	2	5	9.63	1.66	A	
AI	3	45	4.00	5.37	A	0.0001
	2	5	4.44	5.63	B	
AZ	3	46	16.20	2.45	A	0.0001
	2	5	15.00	2.13	B	
AP	3	46	10.84	2.99	A	0.0020
	2	5	10.70	3.19	A	
AL	3	46	11.90	2.97	A	0.0020
	2	5	11.22	1.59	B	
AR	3	46	5.72	6.95	A	0.0728
	2	5	5.40	6.05	A	
PC	3	46	7.60	3.39	A	0.9057
	2	5	7.58	2.63	A	

Cuadro 6.- Comparación de 4 variables somáticas y 15 craneales (por variable) entre las categorías de edad de *Microtus umbrosus*, considerando hembras y machos. Las categorías de edad se definen en el texto. VAR = variable; n = número de individuos; CV = coeficiente de variación; DUNCAN = estadístico de Duncan (las medias con la misma letra indican que no existen diferencias significativas); P = nivel de significancia.

VAR	EDAD	n	PROMEDIO	CV	DUNCAN	P
LT	4	2	186.50	1.14	A	0.5729
	3	21	179.00	10.13	A	
LC	4	2	57.50	1.23	A	0.5678
	3	19	59.26	7.06	A	
LFA	4	2	23.00	0.00	A	0.9282
	3	21	22.90	6.31	A	
LO	3	9	15.00	3.33	-	-----
LMC	4	2	28.00	1.26	A	0.6082
	3	18	27.73	2.54	A	
LB	4	2	24.27	0.52	A	0.3423
	3	18	23.67	3.59	A	
LD	4	2	8.14	1.30	A	0.9409
	3	21	8.12	4.26	A	
LFI	4	2	4.73	2.09	A	0.7532
	3	21	4.67	5.61	A	
LP	4	2	14.35	0.29	A	0.6098
	3	21	14.09	5.03	A	
LN	4	2	8.09	6.12	A	0.0914
	3	21	7.65	4.24	A	
LR	4	2	9.75	3.55	A	0.1181
	3	21	9.21	4.87	A	

Cuadro 6.- Continuación.

VAR	EDAD	n	PROMEDIO	CV	DUNCAN	P
LHM	4	2	7.04	3.32	A	0.8759
	3	21	7.07	4.27	A	
AC	4	2	9.63	2.49	A	0.8663
	3	18	9.66	2.24	A	
AI	4	2	4.41	9.94	A	0.3926
	3	20	4.26	4.84	A	
AZ	4	2	15.68	0.90	A	0.5225
	3	18	15.49	2.57	A	
AP	4	2	10.26	1.99	A	0.0088 *
	3	18	10.70	1.87	B	
AL	4	2	11.55	0.97	A	0.4185
	3	18	11.76	2.94	A	
AR	4	2	5.80	1.10	A	0.4481
	3	21	5.69	4.23	A	
PC	4	2	7.78	1.36	A	0.4578
	3	18	7.93	3.44	A	

Cuadro 7.- Comparación de 4 variables somáticas y 15 craneales (por variable) entre las categorías de edad de *Microtus quasiater*, considerando hembras y machos. Las categorías de edad se definen en el texto. VAR = variable; n = número de individuos; CV = coeficiente de variación; DUNCAN = estadístico de Duncan (las medias con la misma letra indican que no existen diferencias significativas); P = nivel de significancia.

VAR	EDAD	n	PROMEDIO	CV	DUNCAN	P
LT	3	24	128.41	5.68	A	0.0659
	2	42	125.38	5.33	A B	
LC	3	24	19.08	10.58	A	0.0521
	2	42	18.88	12.61	A	
LPA	3	24	17.92	3.26	A	0.0223
	2	42	17.50	3.63	A	
LO	3	24	14.66	13.59	A	0.4251
	2	42	14.05	13.34	A	
LMC	3	18	25.46	3.04	A	0.0231 *
	2	40	24.90	3.75	A B	
LB	3	18	22.20	4.54	A	0.2153
	2	40	21.46	8.88	A	
LD	3	25	7.35	5.32	A	0.0162 *
	2	42	7.08	5.94	A B	
LFI	3	25	4.31	7.60	A	0.2715
	2	42	4.18	7.28	A	
LP	3	25	12.39	5.22	A	0.0236
	2	41	12.99	4.68	A	
LN	3	25	6.81	6.54	A	0.0187
	2	41	6.46	8.68	A	
LR	3	25	7.86	6.59	A	0.0134
	2	41	7.53	5.15	A	

Cuadro 7.- Continuación.

VAR	EDAD	n	PROMEDIO	CV	DUNCAN	P
LHM	3	25	6.20	5.79	A	0.2809
	2	42	6.10	4.03	A	
AC	3	19	10.17	4.02	A	0.8130
	2	40	10.16	6.46	A	
AI	3	25	4.07	5.31	A	0.0243 *
	2	41	4.21	5.68	A B	
AZ	3	25	14.57	4.31	A	0.8987
	2	40	14.73	5.21	A	
AP	3	17	11.79	3.38	A	0.1586
	2	40	11.57	3.85	A	
AL	3	17	10.83	4.13	A	0.1057
	2	40	10.65	4.16	A B	
AR	3	25	5.05	4.76	A	0.2385
	2	42	4.88	9.69	A	
PC	3	20	7.32	6.78	A	0.5283
	2	40	7.39	4.77	A	

1.1.2 Variación sexual secundaria.

En *Microtus guatemalensis* se examinaron 19 variables de ambos sexos con la finalidad de ampliar el tamaño de muestra para este análisis se agruparon las edades tres y cuatro, considerando que en la mayoría de las variables no existen diferencias significativas entre estos grupos. Los resultados indicaron que los machos presentan medidas mayores que las hembras en casi todas las variables, con excepción de la anchura interorbital.

No existen diferencias significativas entre sexos en ninguna variable, determinadas mediante la prueba *t* de Student (Cuadro 8). Por ello en las siguientes fases del estudio se agruparon hembras y machos juntos para la realización de los análisis multivariados.

En *Microtus mexicanus* se consideraron 19 variables en ambos sexos adultos. Igualmente se agruparon las edades tres y cuatro asumiendo que en la mayoría de las variables no existían diferencias significativas. Los resultados mostraron que los machos presentaban nuevamente medidas mayores que las hembras en casi todas las variables, con excepción de la longitud de la hilera de molares de la maxila y altura del cráneo, en donde las hembras los presentaban ligeramente mayores (Cuadro 9).

Existen diferencias significativas entre sexos en cuatro variables (longitud del rostro, longitud de la hilera de molares, anchura cigomática y anchura del rostro), examinadas mediante la prueba de *t* de Student (Cuadro 9). No obstante, las diferencias encontradas no resultaron suficientes para separar hembras y

machos.

En los individuos correspondientes a *Microtus oaxacensis* se examinaron 19 variables entre hembras y machos adultos (en donde se agrupan individuos de las edades tres y cuatro), los resultados indicaron que los machos presentaban valores mayores que las hembras en 12 variables, mientras que, las hembras tenían valores ligeramente mayores en siete caracteres.

Por lo anterior, se aprecia que existen diferencias significativas entre sexos en seis variables (longitud total del cuerpo, longitud de la pata trasera, longitud mayor del cráneo, longitud basilar, longitud del rostro y anchura lamboidal); al realizar la prueba t de Student (Cuadro 10). Para esta investigación consideramos que estas diferencias no fueron suficientes para separar hembras y machos.

Al analizar 19 variables correspondientes a *Microtus umbrosus* entre sexos, los resultados mostraron que los machos tenían valores mayores que las hembras en 13 variables, mientras que, las hembras fueron mayores en la longitud total del cuerpo, longitud de la pata trasera, anchura interorbital y anchura prelambooidal; además, se encontró que las hembras y los machos presentan el mismo tamaño en la longitud de la oreja y en la altura del cráneo.

Sin embargo existen diferencias significativas en la longitud de la pata trasera y la longitud de la oreja, mediante la prueba t de Student (Cuadro 11). Las diferencias encontradas no fueron suficientes para separar hembras y machos.

En los individuos de *Microtus quasiater* los resultados indicaron al examinar 19 variables entre hembras y machos adultos, se encontró que las hembras presentaban valores mayores que los machos en 12 variables, mientras que los machos lo tenían ligeramente mayores en la longitud de la oreja, altura del cráneo, anchura interorbital y anchura lamboidal.

Por otra parte, la longitud de la pata trasera, anchura del rostro y profundidad de la caja craneana presentaron el mismo valor en hembras y machos. Se aprecian diferencias significativas entre sexos en la longitud del foramen incisivo, longitud de los nasales y anchura del rostro. Al realizar la prueba *t* de Student (Cuadro 12), estas diferencias no fueron suficientes para separar hembras de machos.

Cuadro 8.- Comparación de 4 variables somáticas y 15 craneales (por variable) entre hembras y machos, considerando solamente individuos adultos para *Microtus guatemalensis*.
 VAR = variable; n = número de individuos; H = hembra; M = macho; S = desviación estándar; t = estadístico de Student; F = estadístico de Fisher; P = probabilidad; * diferencias significativas ($P \leq 0.05$).

VAR	SEXO	n	MEDIA	S	CUANDO LAS		Ho: CUANDO LAS
					VARIANZAS SON: DISTINTAS	VARIANZAS SON: IGUALES	
LT	H	14	140.36	5.54	t=3.3989	t=3.3665	F=1.32
	M	16	147.75	6.37	P=0.0021	P=0.0022	P=0.62
LC	H	14	43.64	2.34	t=2.8670	t=2.8011	F=2.02
	M	16	36.62	3.32	P=0.0080	P=0.0091	P=0.21
LPA	H	14	20.10	0.59	t=1.1901	t=1.1685	F=1.72
	M	16	20.40	0.78	P=0.2442	P=0.2525	P=0.33
LO	H	9	16.11	0.78	t=1.4306	t=1.4395	F=1.25
	M	10	16.60	0.70	P=0.1716	P=0.1682	P=0.74
LMC	H	22	26.06	1.04	t=3.0352	t=3.0026	F=1.24
	M	19	26.98	0.90	P=0.0043	P=0.0047	P=0.54
LB	H	20	22.87	0.76	t=2.8057	t=2.8525	F=1.88
	M	18	23.72	0.48	P=0.0086	P=0.0071	P=0.19
LD	H	24	7.48	0.43	t=2.9743	t=2.9253	F=1.65
	M	21	7.81	0.33	P=0.0048	P=0.0055	P=0.26
LFI	H	24	4.45	0.28	t=1.2437	t=1.2619	F=1.54
	M	21	4.57	0.35	P=0.2212	P=0.2138	P=0.32
LP	H	24	13.06	0.52	t=2.9206	t=2.9227	F=1.02
	M	21	13.52	0.53	P=0.0056	P=0.0055	P=0.94
LN	H	24	7.30	0.33	t=2.8018	t=2.8239	F=1.26
	M	21	7.59	0.36	P=0.0078	P=0.0072	P=0.59
LR	H	24	8.58	0.31	t=2.6006	t=2.6397	F=1.56
	M	21	8.85	0.39	P=0.0132	P=0.0115	P=0.30

Cuadro 8.--Continuación.

VAR	SEXO	n	MEDIA	S	CUANDO LAS VARIANZAS SON:		Ho: CUANDO LAS VARIANZAS SON IGUALES
					DISTINTAS	IGUALES	
LHM	H	24	7.12	0.29	t=0.3110	t=0.3119	F=1.13
	M	22	7.14	0.30	P=0.7573	P=0.7566	P=0.76
AC	H	23	10.86	0.37	t=1.1503	t=1.1560	F=1.15
	M	20	10.99	0.39	P=0.2570	P=0.2544	P=0.75
AI	H	24	3.98	0.20	t=0.1180	t=0.9090	F=1.40
	M	22	3.97	0.23	P=0.1159	P=0.9083	P=0.43
AZ	H	23	14.85	0.53	t=3.6181	t=3.6255	F=1.20
	M	22	15.45	0.58	P=0.0008	P=0.0008	P=0.68
AP	H	23	11.03	0.26	t=3.5557	t=3.4690	F=2.06
	M	20	11.27	0.18	P=0.0010	P=0.0012	P=0.12
AL	H	20	11.99	0.35	t=2.3470	t=2.3470	F=1.17
	M	20	12.26	0.38	P=0.0243	P=0.0242	P=0.74
AR	H	24	5.23	0.22	t=1.2717	t=1.2996	F=1.93
	M	21	5.33	0.31	P=0.2117	P=0.2007	P=0.13
PC	H	22	7.93	0.39	t=1.6970	t=1.6891	F=1.21
	M	20	8.13	0.35	P=0.0975	P=0.0990	P=0.68

Cuadro 9.- Comparación de 4 variables somaticas y 15 craneales (por variable) entre hembras y machos, considerando solamente individuos adultos de *Microtus mexicanus fulviventer*.
 VAR = variable; n = número de individuos; H = hembra; M = macho;
 S = desviación estándar; t = estadístico de Student;
 F = estadístico de Fisher; P = probabilidad; * diferencias significativas $P \leq 0.05$

VAR	SEXO	n	MEDIA	S	CUANDO LAS VARIANZAS SON:		Ho: CUANDO LAS VARIANZAS SON IGUALES
					DISTINTAS	IGUALES	
LT	H	115	141.86	8.92	t=1.9082	t=1.9128	F=1.21
	M	121	143.98	8.12	P=0.0576	P=0.0070	P=0.31
LC	H	114	33.41	3.61	t=1.7721	t=1.7708	F=1.06
	M	120	34.26	3.72	P=0.7777	P=0.0779	P=0.76
LPA	H	115	19.40	0.84	t=1.3699	t=1.3688	F=1.06
	M	121	19.55	0.84	P=0.1720	P=0.1724	P=0.74
LO	H	48	13.20	1.00	t=0.1336	t=0.1352	F=1.23
	M	60	12.23	0.90	P=0.8990	P=0.8927	P=0.44
LMC	H	104	25.79	0.97	t=1.9392	t=1.9413	F=1.12
	M	108	26.04	0.91	P=0.0538	P=0.0536	P=0.56
LB	H	103	22.53	0.97	t=2.8004	t=2.8099	F=1.33
	M	108	22.88	0.84	P=0.0056	P=0.0054	P=0.14
LD	H	116	7.61	0.41	t=2.7466	t=2.7489	F=1.22
	M	118	7.75	0.37	P=0.0065	P=0.0065	P=0.28
LFI	H	116	4.50	0.28	t=1.9207	t=1.9209	F=1.02
	M	118	4.57	0.27	P=0.0560	P=0.0560	P=0.90
LP	H	115	13.09	0.56	t=1.3845	t=1.3849	F=1.15
	M	116	13.19	0.53	P=0.1676	P=0.1674	P=0.46
LN	H	115	7.19	0.37	t=1.8938	t=1.8936	F=1.01
	M	119	7.28	0.37	P=0.0595	P=0.0595	P=0.94
LR	H	114	8.24	0.47	t=1.6057	t=1.6115	F=1.53
	M	118	8.33	0.38	P=0.1098	P=0.1084	P=0.02 *

Cuadro 9.- Continuación.

VAR	SEXO	n	MEDIA	S	CUANDO LAS VARIANZAS SON:		Ho: CUANDO LAS
					DISTINTAS	IGUALES	VARIANZAS SON IGUALES
LHM	H	115	6.83	0.31	t=0.6511	t=0.6541	F=1.53
	M	120	6.80	0.25	P=0.5156	P=0.5137	P=0.02 *
AC	H	107	9.61	0.36	t=0.3585	t=0.3584	F=1.09
	M	109	9.59	0.38	P=0.7203	P=0.7204	P=0.64
AI	H	112	3.64	0.18	t=1.2172	t=1.2167	F=1.06
	M	115	3.67	0.18	P=0.2248	P=0.2250	P=0.76
AZ	H	111	14.94	0.65	t=0.7967	t=0.7967	F=1.59
	M	111	15.00	0.51	P=0.4265	P=0.4265	P=0.01 *
AP	H	106	10.45	0.37	t=0.0467	t=0.0467	F=1.04
	M	108	10.45	0.36	P=0.9628	P=0.9628	P=0.83
AL	H	106	11.25	0.50	t=1.4600	t=1.4613	F=1.21
	M	108	11.35	0.45	P=0.1458	P=0.1454	P=0.32
AR	H	115	5.15	0.24	t=2.8514	t=2.8591	F=1.53
	M	118	5.24	0.20	P=0.0048	P=0.0046	P=0.02 *
PC	H	107	7.76	0.30	t=1.5743	t=1.5748	F=1.07
	M	109	7.82	0.29	P=0.1169	P=0.1168	P=0.72

Cuadro 10.- Comparación de 4 variables somáticas y 15 craneales (por variable) entre hembras y machos, considerando solamente individuos adultos de *Microtus oaxacensis*.
 VAR = variable; n = número de individuos; H = hembra; M = macho;
 S = desviación estándar; t = estadístico de Student;
 F = estadístico de Fisher; P = probabilidad; * diferencias significativas $P \leq 0.05$

VAR	SEXO	n	MEDIA	S	CUANDO LAS		Ho: CUANDO LAS
					VARIANZAS	SON:	VARIANZAS SON
					DISTINTAS	IGUALES	IGUALES
LT	H	24	164.45	16.57	t=0.3649	t=0.3321	F=4.57
	M	18	163.05	7.64	P=0.7175	P=0.7415	P=0.002 *
LC	H	23	35.82	4.64	t=1.7809	t=1.7743	F=1.06
	M	18	38.38	4.51	P=0.0831	P=0.0838	P=0.91
LPA	H	26	13.65	2.03	t=0.7247	t=0.4597	F=1.53
	M	18	13.25	1.64	P=0.4728	P=0.6981	P=0.007 *
LO	H	26	13.65	2.03	t=0.7247	t=0.6969	F=1.53
	M	18	13.25	1.64	P=0.4728	P=0.4897	P=0.36
LMC	H	24	28.10	0.51	t=0.2891	t=0.3128	F=3.32
	M	18	28.17	0.93	P=0.7749	P=0.7560	P=0.008 *
LB	H	23	24.54	0.52	t=0.7365	t=0.7882	F=3.36
	M	18	24.73	0.96	P=0.4683	P=0.3534	P=0.008 *
LD	H	26	7.93	0.29	t=0.3966	t=0.3962	F=1.01
	M	18	7.96	0.29	P=0.6939	P=0.6939	P=1.00
LFI	H	26	4.74	0.29	t=0.8097	t=0.7862	F=1.38
	M	18	4.81	0.24	P=0.4229	P=0.4362	P=0.50
LP	H	25	14.33	0.46	t=1.4938	t=1.4921	F=1.01
	M	18	14.54	0.46	P=0.1437	P=0.1433	P=0.99
LN	H	27	7.49	0.24	t=0.0931	t=0.0972	F=1.81
	M	20	7.48	0.33	P=0.9264	P=0.9230	P=0.16
LR	H	26	8.85	0.19	t=0.2492	t=0.2755	F=3.30
	M	18	8.82	0.35	P=0.8053	P=0.7843	P=0.006 *

Cuadro 10.- Continuación.

VAR	SEXO	n	MEDIA	S	CUANDO LAS VARIANZAS SON:		Ho: CUANDO LAS
					DISTINTAS	IGUALES	VARIANZAS SON IGUALES
LHM	H	26	7.71	0.22	t=1.1610	t=1.2078	F=1.84
	M	20	7.62	0.30	P=0.2538	P=0.2336	P=0.15
AC	H	25	9.66	0.31	t=0.8859	t=0.8663	F=1.49
	M	20	9.59	0.25	P=0.3806	P=0.3912	P=0.37
AI	H	26	3.95	0.22	t=1.1807	t=1.1543	F=1.33
	M	19	4.03	0.19	P=0.2444	P=0.2548	P=0.53
AZ	H	26	16.14	0.32	t=0.6606	t=0.6960	F=2.09
	M	19	16.23	0.47	P=0.5139	P=0.4883	P=0.08
AP	H	26	10.82	0.33	t=0.2112	t=0.2092	F=1.16
	M	20	10.85	0.31	P=0.8337	P=0.8353	P=0.75
AL	H	26	11.81	0.26	t=1.2796	t=1.3581	F=2.61
	M	20	11.95	0.43	P=0.2105	P=0.1813	P=0.02 *
AR	H	27	5.63	0.42	t=1.8516	t=1.7589	F=1.81
	M	19	5.83	0.31	P=0.0708	P=0.0855	P=0.19
PC	H	26	7.55	0.23	t=1.0290	t=1.0502	F=1.36
	M	20	7.63	0.27	P=0.3101	P=0.2993	P=0.46

Cuadro 11.- Comparación de 4 variables somáticas y 15 craneales (por variable) entre hembras y machos, considerando solamente individuos adultos para *Microtus umbrosus*.

VAR = variable; n = número de individuos; H = hembra; M = macho; S = desviación estándar; t = estadístico de Student; F = estadístico de Fisher; P = probabilidad; * diferencias significativas ($P \leq 0.05$).

VAR	SEXO	n	MEDIA	S	CUANDO LAS VARIANZAS SON:		Ho: CUANDO LAS
					DISTINTAS	IGUALES	VARIANZAS SON IGUALES
LT	H	12	180.92	21.64	t=0.3648	t=0.3563	F=3.15
	M	11	178.27	12.20	P=0.7196	P=0.7252	P=0.08
LC	H	11	57.82	4.19	t=1.6020	t=1.5872	F=1.46
	M	10	60.50	3.47	P=0.1258	P=0.1290	P=0.58
LPA	H	12	22.96	1.80	t=0.1659	t=0.1608	F=5.37
	M	11	22.86	0.77	P=0.8704	P=0.8738	P=0.01 *
LO	H	3	15.00	0.00	t=0.0000	t=0.0000	F=0.00
	M	6	15.00	0.63	P=1.0000	P=1.0000	P=0.00 *
LMC	H	11	27.50	0.64	t=2.0065	t=1.9969	F=1.10
	M	9	28.06	0.61	P=0.0605	P=0.0612	P=0.92
LB	H	11	23.49	0.96	t=1.5984	t=1.5100	F=3.35
	M	9	24.02	0.53	P=0.1296	P=0.1484	P=0.09
LD	H	12	8.02	0.38	t=1.5284	t=1.4966	F=2.72
	M	11	8.22	0.23	P=0.1435	P=0.1494	P=0.13
LFI	H	12	4.67	0.31	t=0.1121	t=0.1094	F=3.29
	M	11	4.68	0.17	P=0.9120	P=0.9139	P=0.07
LP	H	12	13.86	0.79	t=2.0008	t=1.9507	F=3.51
	M	11	14.38	0.42	P=0.0616	P=0.0646	P=0.06
LN	H	12	7.65	0.29	t=0.5653	t=0.5747	F=2.13
	M	11	7.73	0.42	P=0.5790	P=0.5716	P=0.23
LR	H	12	9.19	0.48	t=0.7222	t=0.7201	F=1.14
	M	11	9.33	0.45	P=0.4781	P=0.4794	P=0.84

Cuadro 11.- Continuación.

VAR	SEXO	n	MEDIA	S	CUANDO LAS VARIANZAS SON:		Ho: CUANDO LAS
					DISTINTAS	IGUALES	VARIANZAS SON IGUALES
LHM	H	12	7.04	0.34	t=0.3460	t=0.3405	F=2.06
	M	11	7.09	0.24	P=0.7331	P=0.7368	P=0.26
AC	H	11	9.65	0.17	t=0.0099	t=0.0103	F=2.30
	M	9	9.65	0.26	P=0.9923	P=0.9919	P=0.22
AI	H	11	4.32	0.22	t=0.8569	t=0.8569	F=1.04
	M	11	4.24	0.22	P=0.4017	P=0.4017	P=0.95
AZ	H	10	15.42	0.38	t=1.0800	t=1.0800	F=1.02
	M	10	15.60	0.38	P=0.2944	P=0.2944	P=0.98
AP	H	11	10.70	0.20	t=0.8297	t=0.8611	F=2.08
	M	9	10.61	0.28	P=0.4208	P=0.4005	P=0.28
AL	H	11	11.56	0.29	t=3.1584	t=3.1172	F=1.28
	M	9	11.95	0.25	P=0.0055	P=0.0060	P=0.73
AR	H	12	5.62	0.18	t=2.3674	t=2.3564	F=1.23
	M	11	5.80	0.16	P=0.0276	P=0.0282	P=0.76
PC	H	11	7.86	0.28	t=0.9244	t=0.9104	F=1.34
	M	9	7.97	0.24	P=0.3676	P=0.3747	P=0.70

Cuadro 12.- Comparación de 4 variables somáticas y 15 craneales (por variable) entre hembras y machos, considerando solamente individuos adultos para *Microtus quasiater*.
 VAR = variable; n = número de individuos; H = hembra; M = macho; S = desviación estándar; t = estadístico de Student; F = estadístico de Fisher; P = probabilidad; * diferencias significativas ($P \leq 0.05$).

VAR	SEXO	n	MEDIA	S	CUANDO LAS VARIANZAS SON:		Ho: CUANDO LAS VARIANZAS SON IGUALES
					DISTINTAS	IGUALES	
LT	H	28	127.71	6.74	t=1.3956	t=1.3787	F=1.16
	M	39	125.31	7.25	P=0.1679	P=0.1727	P=0.70
LC	H	28	19.18	1.98	t=0.8081	t=0.7823	F=1.48
	M	39	18.74	2.41	P=0.4221	P=0.4369	P=0.29
LPA	H	28	17.64	0.62	t=0.0115	t=0.0114	F=1.16
	M	39	17.64	0.67	P=0.9908	P=0.9909	P=0.70
LO	H	28	14.25	1.99	t=0.1197	t=0.1208	F=1.12
	M	39	14.30	1.88	P=0.9052	P=0.9042	P=0.73
LMC	H	24	25.20	1.08	t=0.9711	t=1.0245	F=1.78
	M	35	24.94	0.81	P=0.3373	P=0.3099	P=0.12
LB	H	24	21.59	2.37	t=0.2291	t=0.2605	F=5.10
	M	35	21.71	1.05	P=0.8204	P=0.7954	P=0.00 *
LD	H	29	7.22	0.49	t=0.7212	t=0.7446	F=1.54
	M	39	7.14	0.39	P=0.4740	P=0.4592	P=0.21
LFI	H	29	4.26	0.37	t=0.5599	t=0.5843	F=2.06
	M	39	4,21	0.26	P=0.5816	P=0.5609	P=0.04 *
LP	H	28	12.16	0.72	t=0.2640	t=0.2759	F=1.72
	M	39	12.12	0.55	P=0.7929	P=0.7835	P=0.12
LN	H	28	6.61	0.66	t=0.3050	t=0.3238	F=2.11
	M	39	6.56	0.45	P=0.7618	P=0.7472	P=0.03 *
LR	H	28	7.66	0.46	t=0.0952	t=0.0947	F=1.07
	M	39	7.65	0.47	P=0.9245	P=0.9248	P=0.88

Cuadro 12.- Continuación.

VAR	SEXO	n	MEDIA	S	CUANDO LAS VARIANZAS SON:		Ho: CUANDO LAS VARIANZAS SON IGUALES
					DISTINTAS	IGUALES	
LHM	H	29	6.20	0.28	t=1.5263	t=1.5138	F=1.12
	M	39	6.09	0.29	P=0.1320	P=0.1349	P=0.77
AC	H	24	10.13	0.60	t=0.5036	t=0.5085	F=1.10
	M	36	10.20	0.57	P=0.6168	P=0.6131	P=0.79
AI	H	29	4.11	0.21	t=1.7699	t=1.7259	F=1.45
	M	38	4.21	0.25	P=0.0815	P=0.0891	P=0.31
AZ	H	29	14.97	0.78	t=0.8847	t=0.8934	F=1.17
	M	37	14.80	0.72	P=0.3800	P=0.3750	P=0.65
AP	H	24	11.64	0.49	t=0.1571	t=0.1629	F=1.51
	M	34	11.62	0.40	P=0.8759	P=0.8712	P=0.27
AL	H	24	10.67	0.41	t=0.1571	t=0.1629	F=1.51
	M	34	10.71	0.49	P=0.7141	P=0.7225	P=0.37
AR	H	29	4.94	0.26	t=0.0474	t=0.0437	F=3.33
	M	39	4.94	0.49	P=0.9624	P=0.9653	P=0.001 *
PC	H	25	7.36	0.42	t=0.0849	t=0.0855	F=1.09
	M	36	7.36	0.40	P=0.9327	P=0.9321	P=0.80

1.1.3 Variación individual.

Después de realizar un análisis univariado no se encontraron diferencias estadísticamente significativas a nivel individual en cada uno de los taxa analizados. Lo anterior se confirma por los coeficientes de variación (CV) menores al 14% encontrados para los caracteres somáticos en los taxa estudiados, similarmente en los caracteres craneales los valores obtenidos del coeficiente de variación fueron menores al 10%, lo cual nos indica que no presentan variación individual (Cuadro 13).

Cuadro 13.- Comparación de 4 medidas somáticas y 15 craneales (por variable) entre *Microtus umbrosus*, *M. oaxacensis*, *M. guatemalensis*, *M. mexicanus* y *M. quasiater*; incluyendo hembras y machos juntos. VAR = Variable; SP = especie; n = número de individuos; CV = Coeficiente de variación. Las variables se definen en el texto.

<i>Microtus umbrosus</i>			
VAR	n	Promedio	CV
LT	23	179.65	9.70
LC	21	59.09	6.79
LPA	23	22.91	6.02
LO	9	15.00	3.33
LMC	20	27.76	2.43
LB	20	23.76	3.47
LD	23	8.12	4.07
LFI	23	4.67	5.37
LP	23	14.11	4.82
LN	23	7.69	4.56
LR	23	9.26	4.97
LHM	23	7.07	4.14
AC	20	9.65	2.20
AI	22	4.28	5.20
AZ	20	15.51	2.47
AP	20	10.66	2.23
AL	20	11.74	2.84
AR	23	5.70	3.32
PC	20	7.91	3.33

Cuadro 13.- Continuación.

<i>Microtus oaxacensis</i>			
VAR	n	Promedio	CV
LT	82	163.93	8.21
LC	78	36.74	12.81
LPA	86	22.25	4.48
LO	86	13.50	13.99
LMC	84	28.14	2.53
LB	82	24.63	3.00
LD	86	7.94	3.72
LFI	86	4.77	5.79
LP	86	14.42	3.23
LN	90	7.49	3.82
LR	86	8.84	3.09
LHM	90	7.68	3.42
AC	88	9.64	2.98
AI	88	3.99	5.34
AZ	90	16.18	2.43
AP	90	10.84	2.97
AL	88	11.89	2.92
AR	90	5.72	6.98
PC	90	7.60	3.32

Cuadro 13.- Continuación.

<i>Microtus guatemalensis</i>			
VAR	n	Promedio	CV
LT	30	144.30	4.84
LC	30	35.23	9.18
LPA	30	20.27	3.37
LO	19	16.27	4.65
LMC	41	26.49	4.05
LB	38	23.27	4.27
LD	45	7.64	5.48
LFI	45	4.50	7.02
LP	45	13.28	4.29
LN	45	7.43	4.99
LR	45	8.70	4.31
LHM	45	7.14	4.16
AC	42	10.93	3.54
AI	45	3.97	5.21
AZ	44	15.14	4.18
AP	42	11.14	2.34
AL	39	12.12	3.21
AR	45	5.28	5.09
PC	41	8.02	4.83

Cuadro 13.- Continuación.

<i>Microtus mexicanus</i>			
VAR	n	Promedio	CV
LT	218	143.18	5.95
LC	216	33.94	11.02
LPA	218	19.50	4.50
LO	101	13.21	7.21
LMC	212	25.93	3.67
LB	211	22.71	4.07
LD	219	7.70	5.14
LFI	219	4.54	6.33
LP	219	13.15	4.19
LN	219	7.24	5.13
LR	219	8.30	5.21
LHM	219	6.82	4.23
AC	214	9.60	3.90
AI	216	3.66	5.13
AZ	215	14.98	3.96
AP	213	10.45	3.51
AL	210	11.30	4.27
AR	218	5.21	4.06
PC	214	7.79	3.87

Cuadro 13.- Continuación.

<i>Microtus quasiater</i>			
VAR	n	Promedio	CV
LT	66	126.48	5.40
LC	66	18.95	11.83
LPA	66	17.65	3.65
LO	66	14.27	13.49
LMC	58	25.07	3.66
LB	58	21.69	7.87
LD	67	7.18	5.95
LFI	67	4.23	7.49
LP	66	12.14	5.11
LN	66	6.59	8.26
LR	66	7.66	6.09
LHM	67	6.14	4.79
AC	59	10.17	5.75
AI	66	4.16	5.75
AZ	65	14.89	5.01
AP	57	11.63	3.78
AL	57	10.70	4.18
AR	67	4.94	8.27
PC	60	7.37	5.48

1.1.4 Variación interespecífica.

La comparación de los estadísticos de las 19 variables entre *Microtus guatemalensis*, *M. mexicanus*, *M. oaxacensis*, *M. umbrosus* y *M. quasiater* muestran diferencias significativas de medias para las 19 variables lo cual permite distinguir a estas especies entre sí.

M. umbrosus tiene 12 caracteres de mayor tamaño que *M. guatemalensis* y que *M. quasiater*, sin embargo, *M. guatemalensis* en la longitud de la oreja, longitud basilar, longitud de la hilera de molares, altura del cráneo, anchura prelamboïdal, anchura lamboïdal y profundidad de la caja craneana es de mayor tamaño que *M. umbrosus*; *M. oaxacensis* presenta mayor tamaño que *M. mexicanus* en todos los caracteres; y *M. quasiater* es más pequeño en 15 variables con respecto a las otras cuatro especies.

Por lo tanto, los resultados indican que existen diferencias significativas en 19 variables entre los taxa examinados mediante el análisis de varianza (Cuadro 14).

Cuadro 14.- Comparación de 4 variables somáticas y 15 craneales (por variable) entre cinco taxa de *Microtus*, considerando hembras y machos juntos. VAR = variable; SP = especie; U = *Microtus umbrosus*, O = *M. oaxacensis*, G = *M. guatemalensis*, M = *M. mexicanus* y Q = *M. quasiater*; n = número de individuos; CV = Coeficiente de variación; DUNCAN = estadístico de Duncan (las medias con la misma letra indican que no existen diferencias significativas); P = nivel de significancia.

VAR	SP	n	PROMEDIO	CV	P	DUNCAN
LT	U	23	179.65	9.70	0.0001	A
	O	82	163.93	8.21		B
	G	30	144.30	4.84		C
	M	218	143.18	5.95		C
	Q	66	126.48	5.40		D
LC	U	21	59.09	6.79	0.0001	A
	O	78	36.74	12.81		B
	G	30	35.23	9.18		B
	M	216	33.94	11.02		C
	Q	66	18.95	11.83		D
LPA	U	23	22.91	6.02	0.0001	A
	O	86	22.25	4.48		B
	G	30	20.27	3.37		C
	M	218	19.50	4.50		D
	Q	66	17.65	3.65		E
LO	U	9	15.00	3.33	0.0001	B
	O	86	13.50	13.99		C
	G	19	16.37	4.65		A
	M	101	13.21	7.21		D
	Q	66	14.27	13.49		C
LMC	U	20	27.76	2.43	0.0001	B
	O	84	28.14	2.53		A
	G	41	26.49	4.05		C
	M	212	25.93	3.67		D
	Q	58	25.07	3.66		E

Cuadro 14.- Continuación.

VAR	SP	n	PROMEDIO	CV	P	DUNCAN	
LB	U	20	23.76	3.47	0.0001	B	
	O	82	24.63	3.00			
	G	38	23.27	4.27			A
	M	211	22.71	4.07			C
	Q	58	21.69	7.87			D
LD	U	23	8.12	4.07	0.0001	A	
	O	86	7.94	3.72			
	G	45	7.64	5.48			B
	M	219	7.70	5.14			C
	Q	67	7.18	5.95			D
LFI	U	23	4.67	5.37	0.0001	A	
	O	86	4.77	5.79			
	G	45	4.50	7.02			
	M	219	4.54	6.33			B
	Q	67	4.23	7.49			C
LP	U	23	14.11	4.82	0.0001	A	
	O	86	14.42	3.23			
	G	45	13.28	4.29			
	M	219	13.15	4.19			B
	Q	66	12.14	5.11			C
LN	U	23	7.69	4.56	0.0001	A	
	O	90	7.49	3.82			
	G	45	7.43	4.99			B
	M	219	7.24	5.13			C
	Q	66	6.59	8.26			D
LR	U	23	9.26	4.97	0.0001	A	
	O	86	8.84	3.09			
	G	45	8.70	4.31			B
	M	219	8.30	5.21			C
	Q	66	7.66	6.09			D
LHM	U	23	7.07	4.14	0.0001	A	
	O	90	7.68	3.42			
	G	45	7.14	4.16			B
	M	219	6.82	4.23			C
	Q	67	6.14	4.79			D

Cuadro 14.- Continuación.

VAR	SP	n	PROMEDIO	CV	F	DUNCAN
AC	U	20	9.65	2.20	0.0001	C
	O	88	9.64	2.98		C
	G	42	10.93	3.54		A
	M	214	9.60	3.90		C
	Q	59	10.17	5.75		B
AI	U	22	4.28	5.20	0.0001	A
	O	88	3.99	5.34		C
	G	45	3.97	5.21		C
	M	216	3.66	5.13		D
	Q	66	4.16	5.75		B
AZ	U	20	15.51	2.47	0.0001	B
	O	90	16.18	2.43		A
	G	44	15.14	4.18		C
	M	215	14.98	3.96		D
	Q	65	14.89	5.01		D
AP	U	20	10.66	2.23	0.0001	D
	O	90	10.84	2.97		C
	G	42	11.14	2.34		B
	M	213	10.45	3.51		A
	Q	57	11.63	3.78		E
AL	U	20	11.74	2.84	0.0001	B
	O	88	11.89	2.92		B
	G	39	12.12	3.21		A
	M	210	11.30	4.27		C
	Q	57	10.70	4.18		D
AR	U	23	5.70	3.32	0.0001	A
	O	90	5.72	6.98		A
	G	45	5.28	5.09		B
	M	218	5.21	4.06		B
	Q	67	4.94	8.27		C
PC	U	20	7.91	3.33	0.0001	A
	O	90	7.60	3.32		B
	G	41	8.02	4.83		C
	M	214	7.79	3.87		A
	Q	60	7.37	5.48		B
						D

1.2 Análisis multivariados.

Una vez que se analizó la variación individual para cada una de las especies consideradas en este estudio, es necesario considerar que en algunos taxa se encontraron diferencias significativas para algunos caracteres. Para propósitos de esta investigación estas diferencias significativas no fueron consideradas. Entonces, se procedió a examinar a los cinco taxa a través de métodos multivariados en donde sólo se incluyeron los 15 caracteres craneales, hembras y machos y únicamente individuos de la categoría de edad adulta, es decir, en algunos taxa se consideraron a las edades tres y cuatro.

Los resultados obtenidos mediante el procedimiento estadístico del análisis de componentes principales en el cual se consideraron únicamente las medidas craneales de las cinco especies, mostraron que el primer componente principal explica el 52.50% de la varianza total, por lo cual, puede ser interpretado como una variable de tamaño ya que todos los elementos de su eigenvector presentan signo positivo. El segundo componente principal explica el 14.20% de la varianza, expresa la relación entre la forma del cráneo, en donde los elementos de este eigenvector corresponden a medidas de longitud que presentan valores negativos, mientras que los elementos correspondientes con anchuras tienen valores positivos (Cuadro 15; Figura 7).

Se encontró que la longitud mayor del cráneo, es el carácter que más peso tiene en el componente uno para explicar la variabilidad existente en relación al tamaño del cráneo, aunque

también hay otras siete variables (LP, LB, LD, LR, LHM, AZ y AL) que influyen para explicar esta variabilidad (Cuadro 16). Para explicar la variación en forma, la cual se observa reflejada en el componente dos; la anchura prelamboideal tiene el valor mayor y es la responsable para explicar esta variabilidad, aunque existen otros caracteres responsables tales como: anchura cigomática y la anchura interorbital (Cuadro 16).

Los resultados del análisis de función discriminante indican que *M. mexicanus*, *M. guatemalensis*, *M. umbrosus* y *M. oaxacensis* son más parecidos en el tamaño del cráneo, en comparación con *M. quasiater* que presenta un cráneo más pequeño. Por otro lado, *M. mexicanus* y *M. guatemalensis* son más similares con respecto a la forma del cráneo (Figura 8).

Por otra parte, los resultados indican que todos los individuos examinados se clasificaron adecuadamente, es decir, ningún espécimen se asignó por el análisis a otro grupo, sino al que había sido asignado en la determinación taxonómica (Cuadro 17).

La mayor distancia estadística de Mahalanobis es la que se presenta entre *Microtus umbrosus* y *M. quasiater* de 86.62; siguiendo la que existe entre *M. oaxacensis* y *M. quasiater* de 85.85. Por lo cual, *M. quasiater* es la especie más diferenciada con respecto a las otras cuatro especies, como se observa en el Cuadro 18 y Figura 7.

Los valores de los discriminantes múltiples que se obtuvieron en este análisis en cada una de las variables

craneales considerando hembras y machos adultos, nos indican que la longitud de la hilera de los molares de la maxila es el carácter de mayor importancia en la clasificación entre especies, esto es similar en el análisis de componentes principales en donde existen además otras variables que ayudan a explicar la separación entre las cinco especies de *Microtus*. También es importante notar que los valores canónicos son muy similares (Cuadro 19; Figura 8), y en la proyección de las variables canónicas no es clara la separación de las especies.

Mediante el análisis de conglomerados en 15 variables craneales, los resultados sugieren que existe una relación más cercana entre *M. mexicanus* y *M. guatemalensis* que con los otros tres taxa; otro grupo cercanamente relacionado es *M. umbrosus* y *M. oaxacensis*; en cambio *M. quasiater* es la especie menos relacionada en la comparación de los taxa examinados (Figura 9).

Cuadro 15.- Análisis de componentes principales para *Microtus umbrosus*, *M. oaxacensis*, *M. guatemalensis*, *M. mexicanus fulviventer* y *M. quasiater*. CP1 = Primer componente principal; CP2 = segundo componente principal.

	EIGENVALOR	DIFERENCIA	PROPORCION (%)	PROPORCION ACUMULATIVA
CP1	7.87	5.742	52.48	52.48
CP2	2.13	0.881	14.20	66.68
CP3	1.25	0.555	8.32	72.02
CP4	0.69	0.113	4.62	79.64
CP5	0.58	0.068	3.86	83.50
CP6	0.51	0.114	3.41	86.91
CP7	0.39	0.017	2.65	89.56
CP8	0.38	0.073	2.53	92.10
CP9	0.30	0.060	2.04	94.14
CP10	0.25	0.086	1.63	95.78
CP11	0.16	0.007	1.06	96.86
CP12	0.15	0.018	1.01	97.85
CP13	0.13	0.032	0.89	98.75
CP14	0.10	0.014	0.67	99.42
CP15	0.08	0.58	100.00

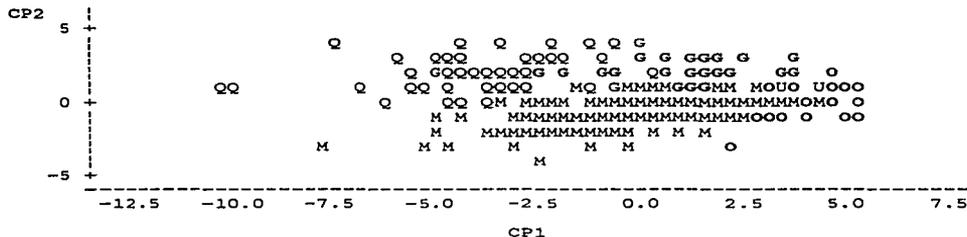


Figura 7.- Proyección de los individuos de *Microtus*.
M = *Microtus mexicanus fulviventer*, G = *M. guatemalensis*,
O = *M. oaxacensis*, U = *M. umbrosus* y Q = *M. quasiater* en el plano
de los dos primeros componentes principales utilizando las
medidas craneales. CP1 = Componente principal uno; CP2 =
Componente principal dos.

Cuadro 16.- Eigenvectores de los tres primeros componentes resultantes del análisis de componentes principales para *Microtus mexicanus fulviventer*, *M. guatemalensis*, *M. oaxacensis*, *M. umbrosus* y *M. quasiater*, basado en 15 variables craneales incluyendo hembras y machos. CP1 = Componente principal 1; CP2 = Componente principal 2; CP3 = Componente principal 3. Las variables se definen en el texto. El asterisco indica a las variables que tienen mayor peso para diferenciar entre especies.

VARIABLES	CP 1	CP 2	CP 3
LMC	0.3352 *	0.0351	-.1382
LB	0.3242 *	0.0179	-.0692
LD	0.2961 *	-.1041	0.0860
LFI	0.2559	-.1154	-.0655
LP	0.3289 *	-.0834	-.0941
LN	0.2754	-.1094	0.2253
LR	0.3060 *	-.0449	0.0940
LHM	0.2988 *	-.0739	-.0980
AC	0.0318	0.5479	0.3485
AI	0.0163	0.4784	-.3839
AZ	0.3016 *	0.1334	-.1803
AP	0.0190	0.5932	-.1618
AL	0.2931 *	0.1704	0.1890
AR	0.2639	-.0270	-.2082
PC	0.1179	0.1390	0.6924

Cuadro 17.- Clasificación de los especímenes de las cinco especies de *Microtus*. Mediante el análisis de Función Discriminante. G = *guatemalensis*; M = *mexicanus*; O = *oaxacensis*; Q = *quasiater*; U = *umbrosus*.

	G	M	O	Q	U	TOTAL
G	38 100.00					38 100.00
M	0 0.00	199 100.00				199 100.00
O	0 0.00	0 0.00	82 100.00			82 100.00
Q	0 0.00	0 0.00	0 0.00	54 100.00		54 100.00
U	0 0.00	0 0.00	0 0.00	0 0.00	19 100.00	19 100.00

Cuadro 18.- Discriminantes múltiples para 15 variables craneales utilizando análisis de correlación canónica, en donde se compararon individuos de *Microtus guatemalensis*, *M. mexicanus*, *M. oaxacensis*, *M. umbrosus* y *M. quasiater*, considerando hembras y machos adultos. CAN1 = Variable canónica 1; CAN2 = Variable canónica 2. Las variables se definen en el texto.

VARIABLES	CAN 1	CAN 2
LMC	0.5292	0.6120
LB	0.5087	0.4785
LD	0.5298	0.1618
LFI	0.4644	0.2250
LP	0.6747 *	0.5031
LN	0.5774 *	0.1335
LR	0.6045	0.3414
LHM	0.7268 *	0.5022
AC	-0.4086	-0.0097
AI	-0.3583	0.6393
AZ	0.3421	0.6188
AP	-0.6659 *	0.4132
AL	0.5126	0.2560
AR	0.5110	0.4846
PC	0.2839	-0.2850

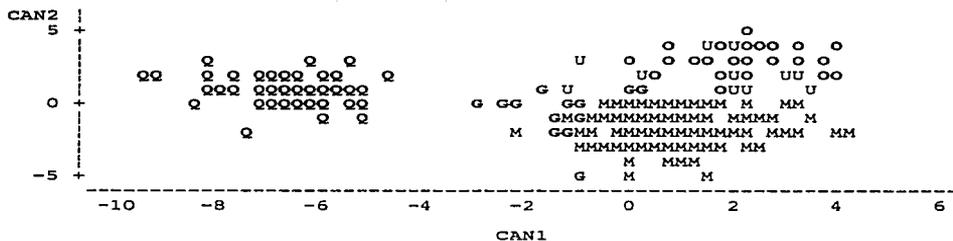


Figura 8.- Proyección de los individuos de *Microtus*.
 M = *Microtus mexicanus fulviventer*, G = *M. guatemalensis*,
 O = *M. oaxacensis*, U = *M. umbrosus* y Q = *M. quasiater* en el plano
 de las dos primeras variables canónicas. CAN1 = Variable
 canónica uno; CAN2 = Variable canónica dos.

Cuadro 19.- Análisis de correlación canónica y los valores de distancia de Mahalanobis entre cinco taxa de *Microtus*, con base en 15 medidas craneales, incluyendo unicamente hembras y machos adultos. G = *Microtus guatemalensis*, M = *M. mexicanus*, O = *M. oaxacensis*, Q = *M. quasiater* y U = *M. umbrosus*.

ESPECIE	G	M	O	Q	U
G	0				
M	20.622	0			
O	40.026	26.524	0		
Q	60.109	65.827	85.856	0	
U	41.433	29.071	19.340	86.617	0

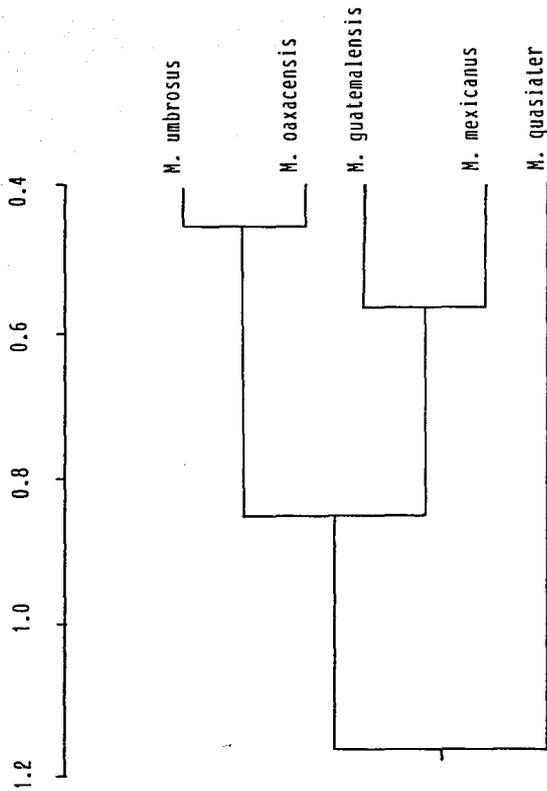


Figura 9.- Fenograma mostrando las relaciones de parentesco entre las cinco especies de *Microtus* con base en variables craneales en UPGMA.

2. Estudio citogenético.

El metorito *Microtus mexicanus fulviventer* presentó un número cromosómico de $2n=48$ y número fundamental de 58 (Figura 10; Cuadro 20). Los cromosomas birrámeos fueron 4 pares metacéntricos y dos pares de submetacéntricos de tamaño pequeño a grande, mientras que los cromosomas monorrámeos fueron 17 pares de telocéntricos de pequeños a grandes. El cromosoma sexual X es un telocéntrico grande, mientras que el cromosoma Y es un telocéntrico pequeño, no se aprecian satélites o constricciones secundarias.

Los autosomas grandes y los cromosomas sexuales mostraron patrón de bandas cromosómicas G característicos, confirmando la correcta identificación de los pares homólogos, en cambio, los cromosomas pequeños presentaron pocas bandas G, únicamente presentan de una hasta tres bandas (Figura 11).

Además, los autosomas de *M. mexicanus fulviventer* manifestaron heterocromatina constitutiva (bandas C) en la región centromérica o pericentromérica, similar para el cromosoma X. El cromosoma Y es completamente heterocromático (Figura 12).

El metorito *Microtus guatemalensis* tuvo un $2n=52$ y un número fundamental de $NF=56$ (Figura 13; Cuadro 21), presentaron 25 pares de autosomas telocéntricos de pequeños a grandes. El cromosoma sexual X fue submetacéntrico mediano y el cromosoma Y es desconocido, porque únicamente se capturó a una hembra. No se apreciaron satélites o constricciones secundarias.

Los autosomas de *M. guatemalensis* presentaron un patrón de

bandas cromosómicas G propio, que ayudan a la correcta identificación de los pares homólogos (Figura 14).

Todos los autosomas presentaron heterocromatina constitutiva en su región centromérica, también el cromosoma sexual X, en cambio el cromosoma Y es heterocromático (Figura 15).

Microtus oxacensis presentó un número cromosómico diploide de $2n=30$ y número fundamental de $NF=56$ (Figura 16; Cuadro 22). Todos sus autosomas fueron birrámeos, incluyendo 13 pares de metacéntricos pequeños a grandes y un par submetacéntrico grande. El cromosoma X fue subtlocéntrico de tamaño mediano, mientras el cromosoma Y es telocéntrico pequeño y no se identificaron satélites o constricciones secundarias. En *M. oxacensis* cada par de cromosomas tiene un patrón de bandas G exclusivo (Figura 17).

En el cariotipo de *M. oxacensis* se apreció que nueve cromosomas presentan heterocromatina constitutiva en su región centromérica, sin embargo, en cinco pares autosómicos aparentemente no se observó heterocromatina. El cromosoma sexual X presentó heterocromatina en posición centromérica y el cromosoma Y es totalmente heterocromático (Figura 18).

Microtus umbrosus presentó un número cromosómico diploide de $2n=56$ y un número fundamental de $NF=60$ (Figura 19; Cuadro 23). Presentó 3 pares de autosomas metacéntricos de pequeños a medianos y 24 pares de telocéntricos de pequeños a grandes. El cromosoma sexual X fue metacéntrico grande, mientras que el cromosoma Y es telocéntrico pequeño. No se detectaron

constricciones secundarias o satélites.

Esta especie tuvo un patrón de bandas cromosómicas G característico lo cual ayudó a identificar a los pares homólogos más fácilmente (Figura 20).

Similarmente, las bandas cromosómicas C se encontraron en la región pericentromérica en todos los autosomas, el cromosoma Y fue heterocromático (Figura 21).

El metorito *M. quasiater* presentó un número cromosómico de $2n=62$ y un número fundamental de $NF=66$ (Figura 22; Cuadro 24). Los cromosomas birrámeos fueron 2 pares de metacéntricos pequeños y tiene 27 pares de cromosomas telocéntricos de pequeños a medianos. El cromosoma X fue un submetacéntrico grande, mientras que el cromosoma Y es subtlocéntrico grande. No se presentaron satélites o constricciones secundarias.

Los individuos de *M. quasiater* tuvieron bandas cromosómicas G características que ayudaron a una correcta identificación de sus pares homólogos (Figura 23).

Todos los autosomas poseen heterocromatina constitutiva en su región centromérica, también el cromosoma sexual X, el cromosoma Y fue heterocromático (Figura 24).

El análisis comparativo de las bandas cromosómicas G de *Microtus oaxacensis* con respecto a las otras cuatro especies indica que en *M. guatemalensis* se presentan dos fusiones céntricas en los cromosomas 4 y 10 de *M. oaxacensis*.

En cambio se encontró semejanza en las bandas del cromosoma 3 de *M. oaxacensis* con las bandas del 8 y 13 de *M. mexicanus*,

probablemente producido por una fusión en tandem. El cromosoma 16 de *M. mexicanus* se parece al brazo corto de *M. oaxacensis* y el 12 al brazo largo, esto mediante una posible fusión-fisión céntrica. El brazo corto del cromosoma 5 de *M. oaxacensis* corresponde al 20 y el brazo largo al 17 de *M. mexicanus*, involucrando una fusión céntrica. El cromosoma 6 de *M. oaxacensis* corresponde al 19 y el brazo largo al 9 de *M. mexicanus*, se sugiere que ocurrió una fusión en tandem, la diferencia en tamaño podría deberse a pérdida o adición de segmentos eucromáticos. El cromosoma 7 es muy parecido al 6 de *M. mexicanus*. El brazo corto del cromosoma 9 es muy similar al 23 y el brazo largo es muy parecido al 21 de *M. mexicanus*, lo cual puede deberse a través de una fusión céntrica. El cromosoma 12 de *M. oaxacensis* corresponde al 18 en el brazo corto y el 7 para el brazo largo de *M. mexicanus*, se sugiere una fusión céntrica. Para el brazo corto del cromosoma 13 de *M. oaxacensis* corresponde el 15 y para el brazo largo el 14 de *M. mexicanus*, donde pudo haber ocurrido una fusión céntrica.

El cromosoma X de *M. oaxacensis* corresponde al X de *M. mexicanus*, con una probable inversión pericéntrica la cual explica la posición del centrómero. El cromosoma Y de *M. oaxacensis* es semejante en tamaño al cromosoma Y de *M. mexicanus*, la diferencia entre ambos radica en que, *M. mexicanus* presenta tres bandas a diferencia de *M. oaxacensis* que sólo tiene una.

Por otra parte, para los cromosomas 2, 5, 10, 11 y 22 de *M. mexicanus* no se encontró correspondencia con el complemento

cromosómico de *M. oaxacensis*. Similarmente, para los cromosomas 1, 8 y 14 del cariotipo de *M. oaxacensis* no se identificó correspondencia de ninguno de los complementos de las cuatro especies analizadas (Figura 25; Cuadro 26).

Por otra parte al comparar los cromosomas de *M. oaxacensis* con los cromosomas de *M. umbrosus* se identificaron cinco posibles fusiones céntricas en los cromosomas 4, 5, 6, 7 y 8 de *M. oaxacensis*. El patrón de bandas cromosómicas G para los cromosomas sexuales en *M. umbrosus* son muy similares al compararlos con *M. oaxacensis*; y para los demás cromosomas no se encontró correspondencia con ningún autosoma del complemento cromosómico de *M. oaxacensis* (Figura 25; cuadro 26).

Finalmente, no se encontró ningún rearrreglo cromosómico en *M. quasiater*, aunque algunos autosomas presentan el mismo patrón de bandas cromosómicas G. Asimismo, algunos cromosomas no se les pudo identificar ninguna correspondencia con los autosomas de *M. oaxacensis* (Figura 25; Cuadro 26).

Cuadro 20.- Tamaño y variación de los brazos cromosómicos de *Microtus mexicanus fulviventis*.

Par	LRp	DSp	LRq	DSq	LRp+q	DSp+q	IC	C
1	3.52	1.67	4.86	1.81	8.20	3.49	1.32	m
2	3.29	1.89	3.62	1.78	6.91	3.67	1.10	m
3	1.02	0.44	1.21	0.43	2.23	0.87	1.18	m
4	0.85	0.32	0.89	0.29	1.74	0.61	1.04	m
5	3.26	1.46	5.41	2.08	8.57	3.54	1.65	sm
6	2.34	1.55	4.45	2.58	6.79	4.13	1.90	sm
7			7.67	2.81	7.67	2.81		t
8			5.04	1.89	5.04	1.89		t
9			4.57	1.69	4.57	1.69		t
10			4.05	1.47	4.05	1.47		t
11			3.79	1.05	3.79	1.05		t
12			3.37	1.63	3.37	1.63		t
13			2.89	1.11	2.89	1.11		t
14			2.87	0.98	2.87	0.98		t
15			2.86	1.05	2.86	1.05		t
16			2.82	1.23	2.82	1.23		t
17			2.79	1.26	2.79	1.26		t
18			2.65	1.25	2.65	1.25		t
19			2.57	1.06	2.57	1.06		t
20			2.45	1.03	2.45	1.03		t
21			2.39	0.95	2.39	0.95		t
22			2.34	1.21	2.34	1.21		t
23			2.20	0.97	2.20	0.97		t
X			5.75	3.19	5.75	3.19		t
Y			2.27	1.67	2.27	1.67		t

LRp = longitud relativa promedio del brazo corto.

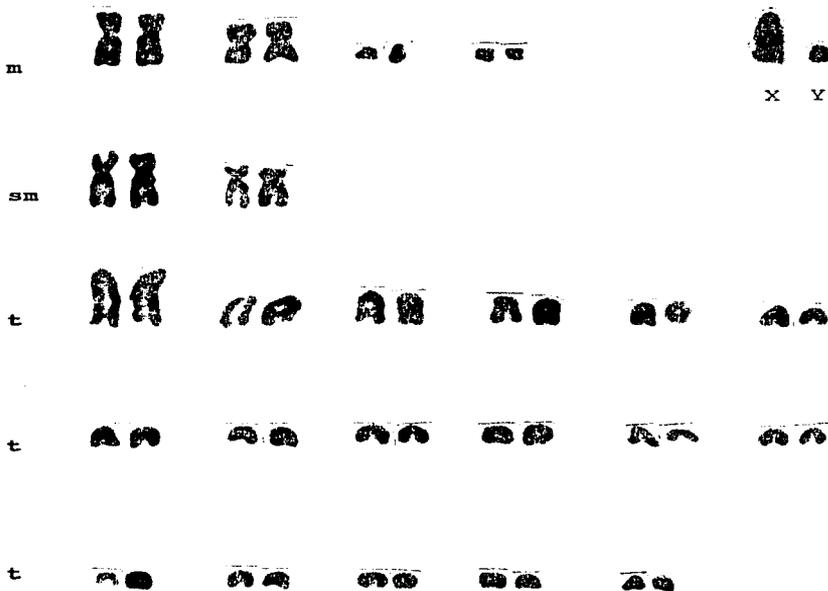
LRq = longitud relativa promedio del brazo largo.

LRp+q = longitud relativa promedio del cromosoma.

IC = índice centromérico.

C = morfología del cromosoma.

m = metacéntrico, sm = submetacéntrico y t = telocéntrico.



10.0 μ

Figura 10.- Cariotipo de un macho de *Microtus mexicanus fulviventer* (IBUNAM 27441) proveniente de 13 km S Atepec, Mpio. Atepec, Oaxaca, 2820 m. m = metacéntrico, sm = submetacéntrico, t = telocéntrico, X y Y = cromosomas sexuales.

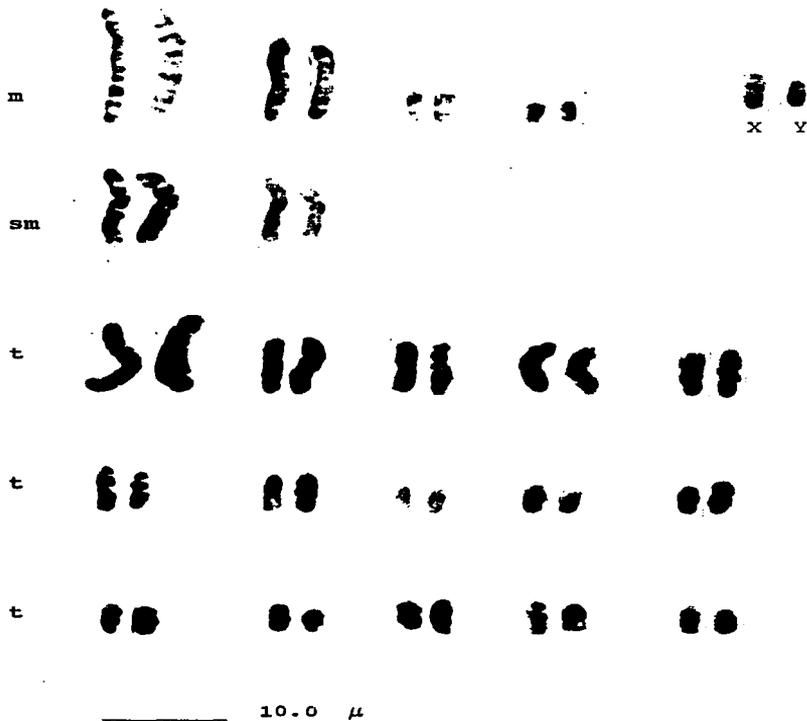


Figura 11.- Cariotipo con bandas cromosómicas G de un macho de *Microtus mexicanus fulviventer* (IBUNAM 27441) proveniente de 13 km S Atepec, Mpio. Atepec, Oaxaca, 2820 m. m = metacéntrico, sm = submetacéntrico, t = telocéntrico, X y Y = cromosomas sexuales.



Figura 12.- Cariotipo con bandas cromosómicas C de un macho de *Microtus mexicanus fulviventer* (IBUNAM 27441) proveniente de 13 km S Atepec, Mpio. Atepec, Oaxaca, 2820 m. m = metacéntrico, sm = submetacéntrico, t = telocéntrico, X y Y = cromosomas sexuales.

Cuadro 21.- Tamaño y variación de los brazos cromosómicos de *Microtus guatemalensis*.

Par	LRp	DSp	LRq	DSq	LRp+q	DSp+q	IC	C
1	3.52	1.67	4.86	1.81	8.20	3.49	1.32	m
2	3.29	1.89	3.62	1.78	6.91	3.67	1.10	m
3	1.02	0.44	1.21	0.43	2.23	0.87	1.18	m
4			0.89	0.29	0.89	0.29		t
5			5.41	2.08	5.41	2.08		t
6			4.45	2.58	4.45	4.45		t
7			7.67	2.81	7.67	2.81		t
8			5.04	1.89	5.04	1.89		t
9			4.57	1.69	4.57	1.69		t
10			4.05	1.47	4.05	1.47		t
11			3.79	1.05	3.79	1.05		t
12			3.37	1.63	3.37	1.63		t
13			2.89	1.11	2.89	1.11		t
14			2.87	0.98	2.87	0.98		t
15			2.86	1.05	2.86	1.05		t
16			2.82	1.23	2.82	1.23		t
17			2.79	1.26	2.79	1.26		t
18			2.65	1.25	2.65	1.25		t
19			2.57	1.06	2.57	1.06		t
20			2.45	1.03	2.45	1.03		t
21			2.39	0.95	2.39	0.95		t
22			2.34	1.21	2.34	1.21		t
23			2.20	0.97	2.20	0.97		t
24			2.01	0.98	2.01	0.98		t
25			2.00	0.94	2.00	0.94		t
X	1.03	0.40	2.14	0.90	3.17	1.30	2.00	sm
Y								?

LRp = longitud relativa promedio del brazo corto.

LRq = longitud relativa promedio del brazo largo.

LRp+q = longitud relativa promedio del cromosoma.

IC = índice centromérico.

C = morfología del cromosoma.

m = metacéntrico, sm = submetacéntrico y t = telocéntrico.



Figura 13.- Cariotipo de una hembra de *Microtus guatemalensis* (IBUNAM 35262) proveniente del Cerro Tzontehuitz a 13 km NE San Cristóbal de las Casas, Mpio. Chamula, Chiapas, 2880 m. m = metacéntrico, sm = submetacéntrico, t = telocéntrico y X = cromosoma sexual.



Figura 14.- Cariotipo con bandas cromosómicas G de una hembra de *Microtus guatemalensis* (IBUNAM 35262) proveniente del Cerro Tzontehuitz a 13 km NE San Cristóbal de las Casas, Mpio. Chamula, Chiapas, 2880 m. m = metacéntrico, sm = submetacéntrico, t = telocéntrico y X = cromosoma sexual.

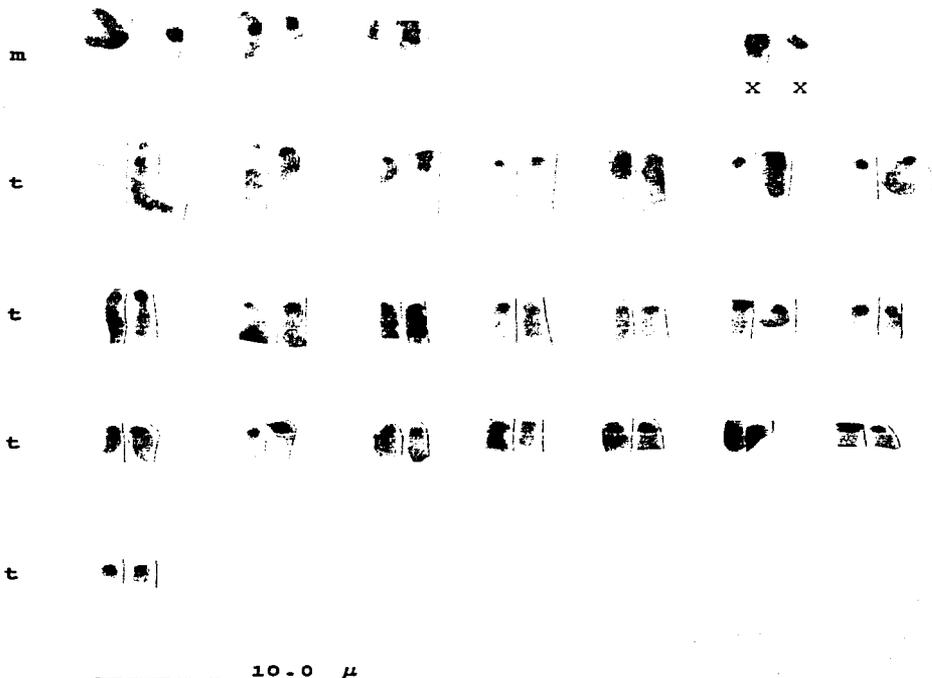


Figura 15.- Cariotipo con bandas cromosómicas C de una hembra de *Microtus guatemalensis* (IBUNAM 35262) proveniente del Cerro Tzontehuitz a 13 km NE San Cristóbal de las Casas, Mpio. Chamula, Chiapas, 2880 m. m = metacéntrico, sm = submetacéntrico, t = telocéntrico y X = cromosoma sexual.

Cuadro 22.- Tamaño y variación de los brazos cromosómicos de *Microtus oaxacensis*.

Par	LRp	DSp	LRq	DSq	LRp+q	DSp+q	IC	C
1	6.21	0.89	7.06	1.48	13.27	2.37	1.62	m
2	4.74	1.22	5.39	1.20	10.13	2.42	1.09	m
3	4.48	1.03	5.09	0.96	9.57	1.99	1.06	m
4	3.03	0.68	3.45	0.68	6.48	1.36	1.12	m
5	2.78	0.54	3.16	0.69	5.94	1.23	1.12	m
6	2.53	0.68	2.88	0.49	5.41	1.17	1.19	m
7	2.44	0.39	2.77	0.64	5.21	1.03	1.02	m
8	2.43	0.51	2.76	0.60	5.19	1.11	1.05	m
9	2.35	0.68	2.67	0.50	5.02	1.18	1.11	m
10	1.13	1.40	1.28	0.26	2.41	1.66	1.07	m
11	1.04	1.29	1.18	0.08	2.22	1.37	1.04	m
12	3.25	3.70	8.58	1.97	11.83	5.67	2.69	sm
13	2.94	2.23	3.34	0.89	6.28	3.12	1.73	sm
14	2.76	2.04	3.14	0.90	5.90	2.94	1.75	sm
X	1.13	1.29	3.80	1.29	4.93	2.58	3.60	st
Y			2.84	1.00	2.84	1.00		t

LRp = longitud relativa promedio del brazo corto.

LRq = longitud relativa promedio del brazo largo.

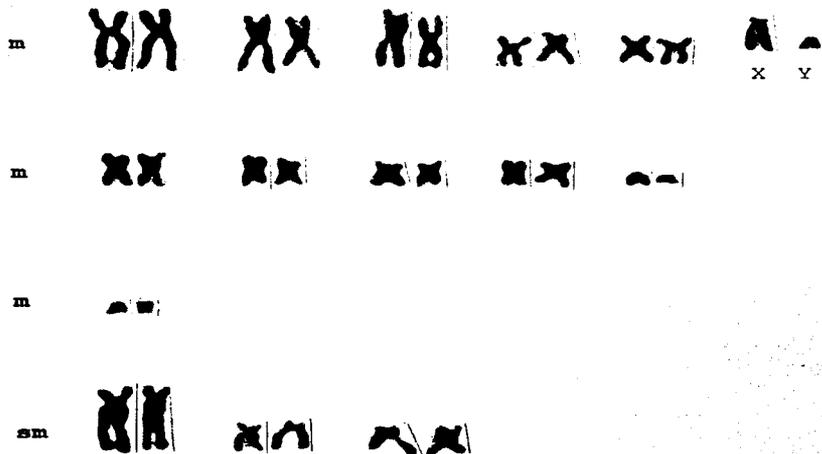
LRp+q = longitud relativa promedio del cromosoma.

IC = índice centromérico.

C = morfología del cromosoma.

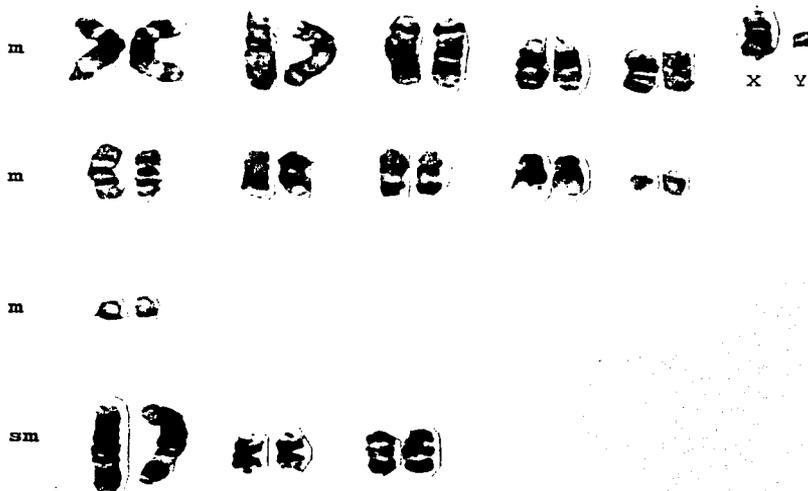
m = metacéntrico, sm = submetacéntrico, st = subteloecéntrico y

t = telocéntrico.



10.0 μ

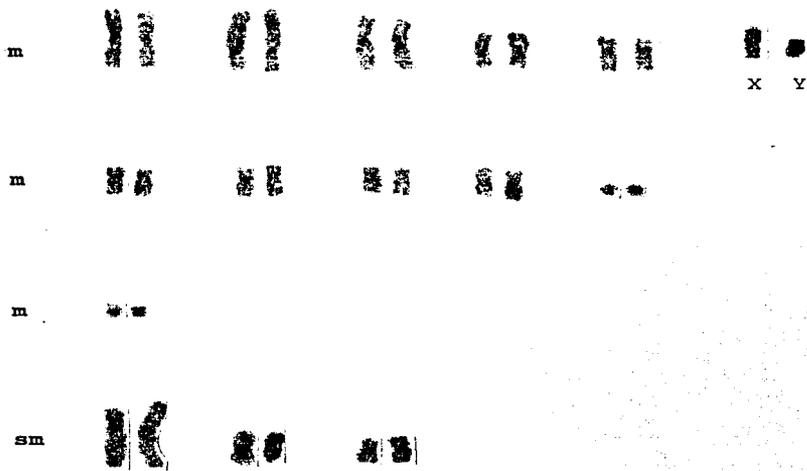
Figura 16.- Cariotipo de un macho de *Microtus oaxacensis* (IBUNAM 27414) proveniente de 11 km SW La Esperanza, Mpio. Santiago Comaltepec, Oaxaca, 2000 m. m = metacéntrico, sm = submetacéntrico, st = subtelocéntrico, t = telocéntrico, X y Y = cromosomas sexuales.



10.0 μ

Figura 17.- Cariotipo con bandas cromosómicas G de un macho de *Microtus oxacensis* (IBUNAM 27414) proveniente de 11 km SW La Esperanza, Mpio. Santiago Comaltepec, Oaxaca, 2000 m.

m = metacéntrico, sm = submetacéntrico, st = subtlocéntrico, t = telocéntrico, X y Y = cromosomas sexuales.



10.0 μ

Figura 18.- Cariotipo con bandas cromosómicas C de un macho de *Microtus oxacensis* (IBUNAM 27414) proveniente de 11 km SW La Esperanza, Mpio. Santiago Comaltepec, Oaxaca, 2000 m.
 m = metacéntrico, sm = submetacéntrico, st = subtlocéntrico,
 t = telocéntrico, X y Y = cromosomas sexuales.

Cuadro 23.- Tamaño y variación de los brazos cromosómicos de *Microtus umbrinus*.

Par	LRp	DSp	LRq	DSq	LRp+q	DSp+q	IC	C
1	3.52	1.67	4.86	1.81	8.20	3.49	1.32	m
2	3.29	1.89	3.62	1.78	6.91	3.67	1.10	m
3	1.02	0.44	1.21	0.43	2.23	0.87	1.18	m
4			0.89	0.29	0.89	0.29		t
5			5.41	2.08	5.41	2.08		t
6			4.45	2.58	4.45	2.58		t
7			7.67	2.81	7.67	2.81		t
8			5.04	1.89	5.04	1.89		t
9			4.57	1.69	4.57	1.69		t
10			4.05	1.47	4.05	1.47		t
11			3.79	1.05	3.79	1.05		t
12			3.37	1.63	3.37	1.63		t
13			2.89	1.11	2.89	1.11		t
14			2.87	0.98	2.87	0.98		t
15			2.86	1.05	2.86	1.05		t
16			2.82	1.23	2.82	1.23		t
17			2.79	1.26	2.79	1.26		t
18			2.65	1.25	2.65	1.25		t
19			2.57	1.06	2.57	1.06		t
20			2.45	1.03	2.45	1.03		t
21			2.39	0.95	2.39	0.95		t
22			2.34	1.21	2.34	1.21		t
23			2.20	0.97	2.20	0.97		t
24			2.01	0.98	2.01	0.98		t
25			2.00	0.94	2.00	0.94		t
26			1.98	0.99	1.98	0.99		t
27			1.88	0.99	1.88	0.99		t
X	3.26	1.67	5.75	3.18	5.75	3.18	1.56	m
Y			2.27	1.67	2.27	1.67		t

LRp = longitud relativa promedio del brazo corto.

LRq = longitud relativa promedio del brazo largo.

LRp+q = longitud relativa promedio del cromosoma.

IC = índice centromérico.

C = morfología del cromosoma.

m = metacéntrico, sm = submetacéntrico y t = telocéntrico.



10.0 μ

Figura 19.- Cariotipo de un macho de *Microtus umbrosus* (IBUNAM 30000) proveniente del Cerro Zempoaltépetl a 4.5 km N Santa María Yacochi, Mpio. Tlahuitoltepec, Oaxaca, 2450 m. m = metacéntrico, sm = submetacéntrico, t = telocéntrico, X y Y = cromosomas sexuales.

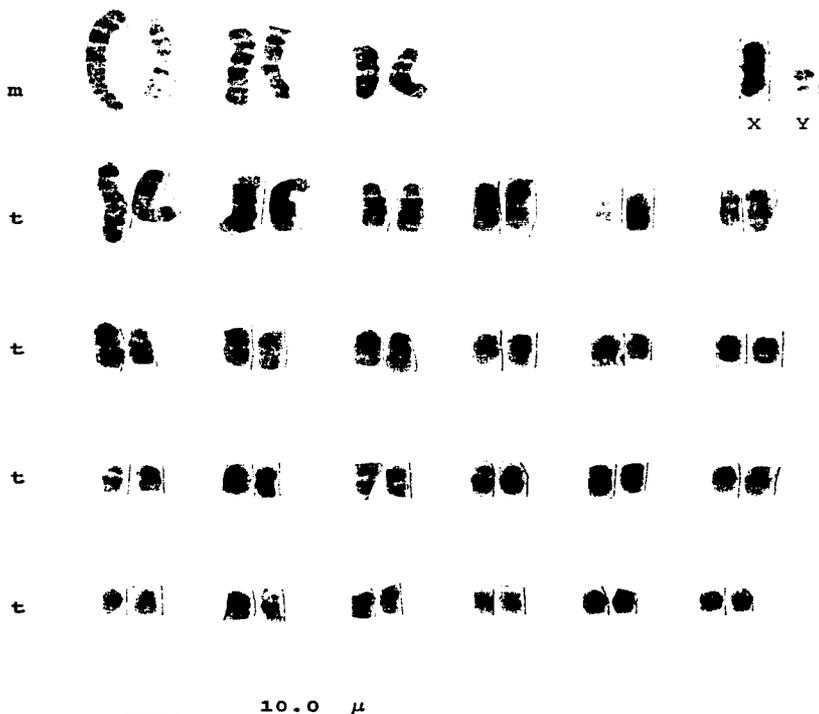


Figura 20.- Cariotipo con bandas cromosómicas G de un macho de *Microtus umbrosus* (IBUNAM 35257) proveniente del Cerro Zempoaltépetl a 4.5 km N Santa María Yacochi, Mpio. Tlahuitoltepec, Oaxaca, 2450 m. m = metacéntrico, sm = submetacéntrico, t = telocéntrico, X y Y = cromosomas sexuales.

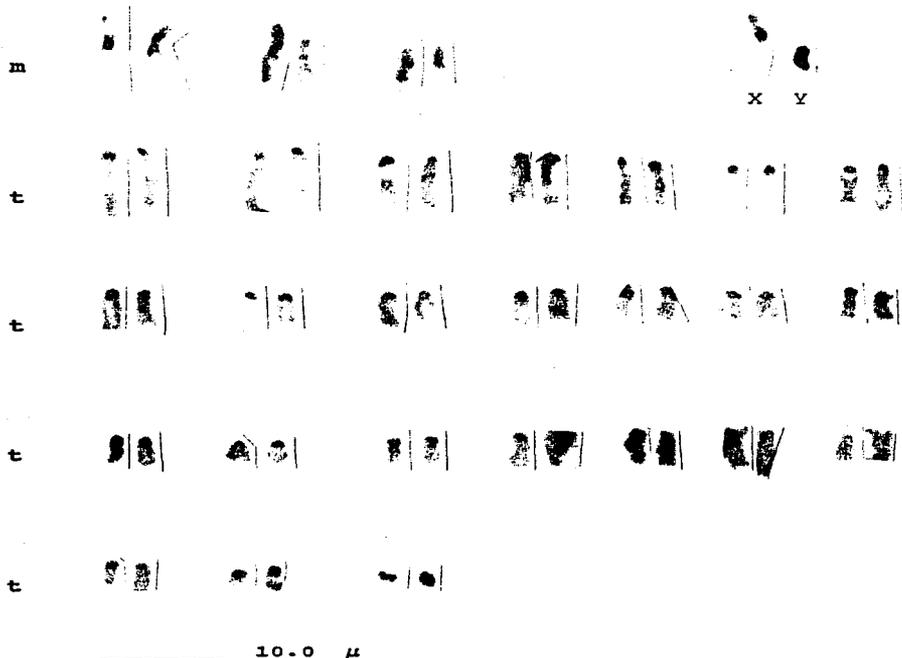


Figura 21.- Cariotipo con bandas cromosómicas C de un macho de *Microtus umbrosus* (IBUNAM 30002) proveniente del Cerro Zempoaltépetl a 4.5 km N Santa María Yacochi, Mpio. Tlahuitoltepec, Oaxaca, 2450 m. m = metacéntrico, sm = submetacéntrico, t = telocéntrico, X y Y = cromosomas sexuales.

Cuadro 24.- Tamaño y variación de los brazos cromosómicos de *Microtus quasiater*.

Par	LRp	DSp	LRq	DSq	LRp+q	DSp+q	IC	C
1	3.52	1.67	4.86	1.81	8.20	3.49	1.32	m
2	3.29	1.89	3.62	1.78	6.91	3.67	1.10	sm
3	1.02	0.44	1.21	0.43	2.23	0.87	1.18	sm
4			0.89	0.29	0.89	0.29		t
5			5.41	2.08	5.41	2.08		t
6			4.45	2.58	4.45	4.45		t
7			7.67	2.81	7.67	2.81		t
8			5.04	1.89	5.04	1.89		t
9			4.57	1.69	4.57	1.69		t
10			4.05	1.47	4.05	1.47		t
11			3.79	1.05	3.79	1.05		t
12			3.37	1.63	3.37	1.63		t
13			2.89	1.11	2.89	1.11		t
14			2.87	0.98	2.87	0.98		t
15			2.86	1.05	2.86	1.05		t
16			2.82	1.23	2.82	1.23		t
17			2.79	1.26	2.79	1.26		t
18			2.65	1.25	2.65	1.25		t
19			2.57	1.06	2.57	1.06		t
20			2.45	1.03	2.45	1.03		t
21			2.39	0.95	2.39	0.95		t
22			2.34	1.21	2.34	1.21		t
23			2.20	0.97	2.20	0.97		t
24			2.01	0.98	2.01	0.98		t
25			2.00	0.94	2.00	0.94		t
26			1.98	0.99	1.98	0.99		t
27			1.88	0.99	1.88	0.99		t
X	3.26	1.67	5.75	3.18	5.75	3.18	1.56	sm
Y			2.27	1.67	2.27	1.67		t

LRp = longitud relativa promedio del brazo corto.

LRq = longitud relativa promedio del brazo largo.

LRp+q = longitud relativa promedio del cromosoma.

IC = índice centromérico.

C = morfología del cromosoma.

m = metacéntrico, sm = submetacéntrico y t = telocéntrico.

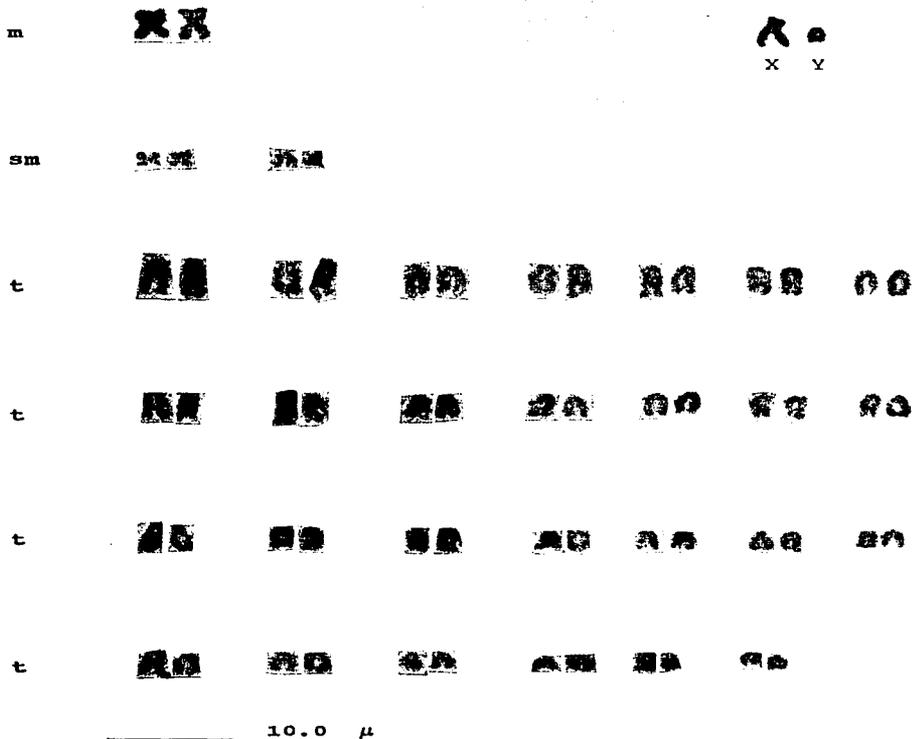


Figura 22.- Cariotipo de un macho de *Microtus quasiater* (IBUNAM 35267) proveniente de 5 km W Naolinco, Mpio. Naolinco, Veracruz, 1650 m. m = metacéntrico, sm = submetacéntrico, t = telocéntrico, X y Y = cromosomas sexuales.

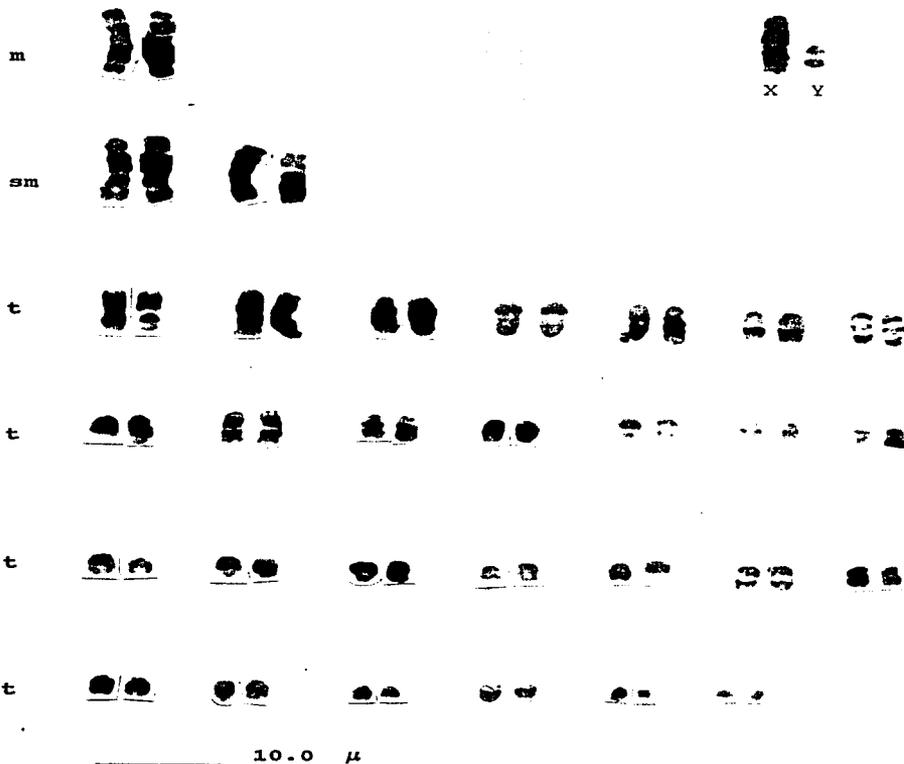


Figura 23.- Cariotipo con bandas cromosómicas G de un macho de *Microtus quasiater* (IBUNAM 35266) proveniente de 5 km W Naolinco, Mpio. Naolinco, Veracruz, 1650 m. m = metacéntrico, sm = submetacéntrico, t = telocéntrico, X y Y = cromosomas sexuales.

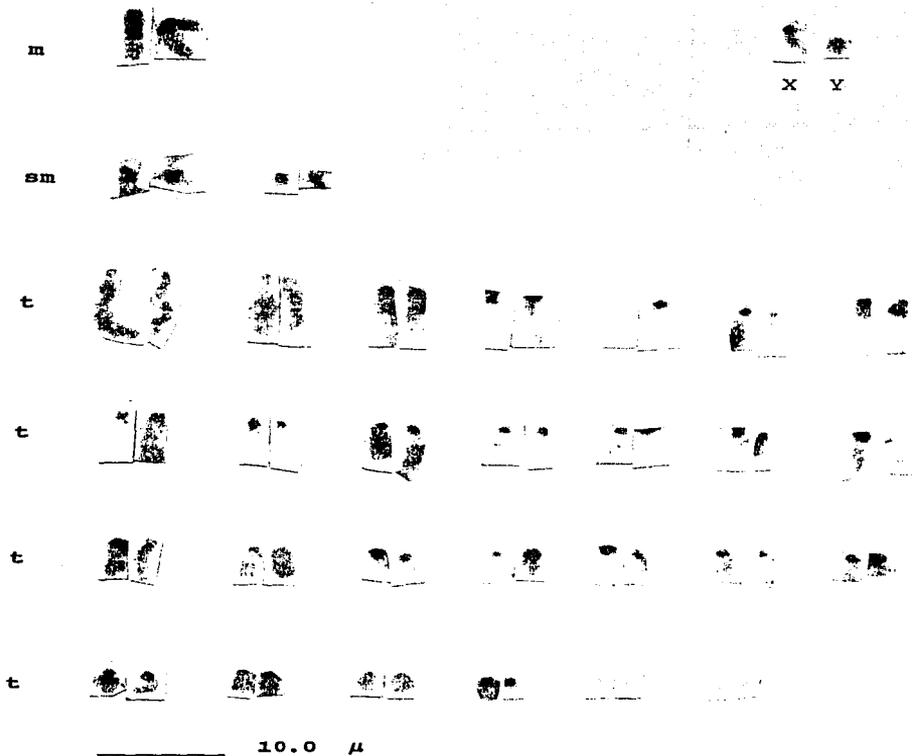


Figura 24.- Cariotipo con bandas cromosómicas C de un macho de *Microtus quasiater* (IBUNAM 35266) proveniente de 5 km W Naolinco, Mpio. Naolinco, Veracruz, 1650 m. m = metacéntrico, sm = submetacéntrico, t = telocéntrico, X y Y = cromosomas sexuales.

Cuadro 25.- Comparación cromosómica entre cinco especies de metoritos *Microtus mexicanus*, *M. guatemalensis*, *M. oxacensis*, *M. umbrosus* y *M. quasiater*. 2n = Número diploide; NF = Número fundamental; m = metacéntrico; sm = submetacéntrico; t = telocéntrico; st = subtlocéntrico; X = Cromosoma sexual X; Y = Cromosoma sexual Y.

	2n	NF	m	sm	t	X	Y
<i>Microtus mexicanus</i> Martínez, 1991.	48	58	4	2	17	t	t
<i>Microtus guatemalensis</i> Presente estudio.	52	56	3		22	sm	?
<i>Microtus oxacensis</i> Martínez, 1991.	30	56	11	3		st	t
* <i>Microtus umbrosus</i> Presente estudio.	56	60	3		24	m	t
* <i>Microtus quasiater</i> Presente estudio.	62	66	1	2	27	sm	t

* Datos recientemente publicados por Cervantes, F. A., J. Martínez y R.M. González. 1994. Acta Theriologica

Cuadro 26.- Rearreglos cromosómicos hipotéticos identificados entre las cinco especies de *Microtus*.

	oaxacensis	guatemalensis	mexicanus	umbrosus	quasiater
PAR 1					
2					
3			Fusión tándem		
4		Fusión céntrica	Fusión céntrica	Fusión céntrica	
5			Fusión céntrica	Fusión céntrica	
6			Fusión tándem	Fusión céntrica	
7				Fusión céntrica	
8					
9			Fusión céntrica	Fusión céntrica	
10		Fusión céntrica			
11					
12			Fusión céntrica		
13			Fusión céntrica		
14					
X			Inversión pericéntrica		
Y					

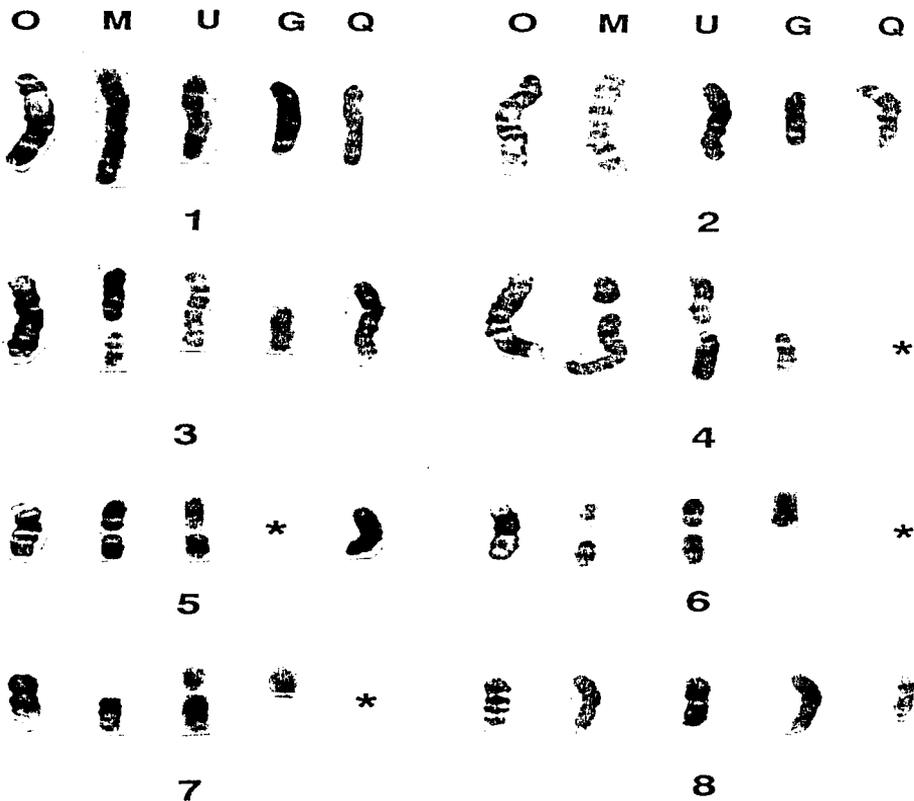


Figura 25.- Comparación de bandas cromosómicas G entre *Microtus mexicanus fulviventer* (M), *M. guatemalensis* (G), *M. umbrosus* (U), *M. oaxacensis* (O) y *M. quasiater* (Q).

Figura 25.- Continuación.

O	M	U	G	Q	O	M	U	G	Q
				*					
		9					10		
			*	*					
		12					11		
			*	*					
		13					14		
			?	*				?	
		X					Y		

3. Estudio de variación aloenzimática.

Se analizaron un total de 30 loci para *Microtus mexicanus*, *M. guatemalensis*, *M. oaxacensis* y *M. umbrosus* (Cuadro 1). De los cuales 17 loci fueron polimórficos para estas cuatro especies de metoritos (Cuadro 27). En cambio, 13 loci fueron monomórficos (GADPH, GPI, IDH-2, LDH-1 y 2, MDH-1, GD, SOD-1 y 2, 6PGD, GDH-2, PGM-2 y LGG-2) para todas las especies analizadas y no se incluyeron en el Cuadro 1, pero sí se consideraron para los cálculos de los coeficientes de distancia genética; el locus con mayor polimorfismo fue PAP-1 con 4 alelos. En ninguna de las cuatro especies examinadas se presentaron alelos fijos (Cuadro 27).

Se obtuvo la estimación de la variabilidad genética para cada especie de metorito, incluyendo el número promedio de alelos por locus, el porcentaje de heterocigosidad y la proporción de loci polimórficos por especie (Cuadro 28).

La variabilidad genética para *Microtus guatemalensis* indica niveles bajos de heterocigosidad y polimorfismo (10.0 y 0.00, respectivamente). Los valores mayores de heterocigosidad, polimorfismo y promedio de alelos por locus los presentó *M. quasiater* (53.3, 0.026 y 1.6, respectivamente; Cuadro 28).

El porcentaje promedio de loci polimórficos y la heterocigosis media que se encontró para *M. mexicanus* (30.0 y 0.011), *Microtus guatemalensis* (10.0 y 0.00); *M. umbrosus* (10.0 y 0.033) y *M. quasiater* (53.3 y 0.026).

El promedio de alelos por locus para las especies analizadas

indica que *Microtus quasiater* presentó un valor de 1.6 que es el valor más elevado en comparación con las otras especies examinadas (Cuadro 28).

Los resultados obtenidos mediante el análisis estadístico de Wright (1965) muestran un valor promedio de $F_{st}=0.625$, lo cual indica una variabilidad genética significativa entre las cuatro especies de metoritos examinadas (Cuadro 29).

En los valores de los coeficientes de distancia genética intraespecífica de Rogers (Figura 26; Cuadro 30) se observa que las especies se separan en tres grupos comprendidos de la siguiente manera: primer grupo comprendido por *Microtus guatemalensis* y *M. mexicanus*; el segundo por *M. quasiater*; y el tercer grupo únicamente con *M. umbrosus*. La distancia más pequeña se presenta entre *M. mexicanus* y *M. guatemalensis* con un valor de 0.181; en cambio, la mayor distancia genética es la que se presenta entre *M. umbrosus* y *M. mexicanus* que es de 0.307 (Cuadro 30).

El fenograma obtenido mediante el coeficiente de distancia de Cavalli-Sforza y Edwards *Chord distance* fue similar al coeficiente de Rogers, solamente con distintos valores de distancias genéticas (Figura 27; Cuadro 30).

Cuadro 27.- Frecuencias alélicas en 17 loci que presentaron variabilidad genética para cuatro especies de *Microtus*. Los alelos se presentan a una frecuencia de 1.0, el alelo más anódico es un locus asignado como A.

LOCUS	ALELOS	<i>Microtus</i>			
		<i>mexicanus</i>	<i>guatemalensis</i>	<i>umbrosus</i>	<i>quasiater</i>
AAT-1	3	B	B	B/.5 C/.5	A/.053 B/.947
AAT-2	3	A/.333 B/.667	B	B	B/.947 C/.053
HDP	2	A	A	A	A/.938 B/.062
GLUD	3	A/.667 B/.333	A	C	A/.438 B/.562
IDH-1	2	A/.333 B/.667	A/.5 B/.5	A/.5 B/.5	A/.111 B/.889
LAL-1	3	A/.667 B/.333	A/.5 B/.5	B	A/.056 B/.944
LAL-2	2	A/.667 B/.333	B	A	A/.067 B/.933
LGG-1	3	A	C	B	B/.647 C/.353
MDH-1	2	A/.333 B/.667	B/.333 C/.667	B	B

Cuadro 27.- Continuación.

LOCUS	ALELOS	<i>Microtus</i>			
		<i>mexicanus</i>	<i>guatemalensis</i>	<i>umbrosus</i>	<i>quasiater</i>
ME-1	2	A/.667 B/.333	A	A	A/.438 B/.562
ME-2	3	A/.833 B/.167	A	A	A/.281 B/.656 C/.063
PAP	4	C	C	C/.5 D/.5	A/.117 B/.883
XDH	3	B	B	A	B/.947 C/.053
HK	3	B	A	A	B/.944 C/.053
SDH	2	A	A	A	A/.944 B/.056
PGM-1	2	A	B	B	B
GDH-1	3	A	A	B	B/.889 C/.111

Cuadro 28.- Variabilidad genética encontrada para 30 loci en cuatro especies de *Microtus*.

ESPECIE	TAMAÑO DE MUESTRA PROMEDIO POR LOCUS	PROMEDIO DE ALELOS POR LOCUS	PORCENTAJE DE LOCI POLIMORFICOS	HETOROCIGOSIS POR CONTEO DIRECTO
<i>mexicanus</i>	2.9	1.3 + 0.1	26.7	0.011
<i>guatemalensis</i>	2.8	1.1 + 0.1	10.0	0.000
<i>umbrosus</i>	1.8	1.1 + 0.1	10.0	0.033
<i>quasiater</i>	17.4	1.5 + 0.1	50.0	0.026

Cuadro 29.- Resultados obtenidos a partir del estadístico de Wright F_{ST} para cada locus polimórfico entre *Microtus mexicanus*, *M. guatemalensis*, *M. umbrosus* y *M. quasiater*. La estimación de significancia de F_{ST} es indicada para los valores de Chi cuadrada (X^2).

ESPECIES	LOCUS	F_{ST}	X^2	G.L.
<i>M. mexicanus</i> ,	AAT-1	0.379	42.45 *	6
<i>M. guatemalensis</i> ,	AAT-2	0.229	25.65 *	6
<i>M. umbrosus</i> y	HDP	0.048	2.21	3
<i>M. quasiater</i>	GLUD	0.617	56.76 *	6
	IDH-1	0.110	5.50 *	3
	LAL-1	0.537	53.70 *	6
	LAL-2	0.710	29.82 *	3
	LGG-1	0.825	39.60 *	6
	MDH-2	0.200	10.40 *	3
	ME-1	0.326	15.65 *	3
	ME-2	0.456	43.78 *	6
	PAP	0.646	73.65 *	9
	XDH	0.937	104.95 *	6
	HK	0.951	95.10 *	6
	SDH	0.042	2.02	3
	PGM-1	1.000	54.00 *	3
	GDH-1	0.906	94.23 *	6
	MEDIA	0.629	14794.08 *	34

G.L. = grados de libertad.

* Diferencias significativas $P \leq 0.05$

Correlación cofenética = 0.804

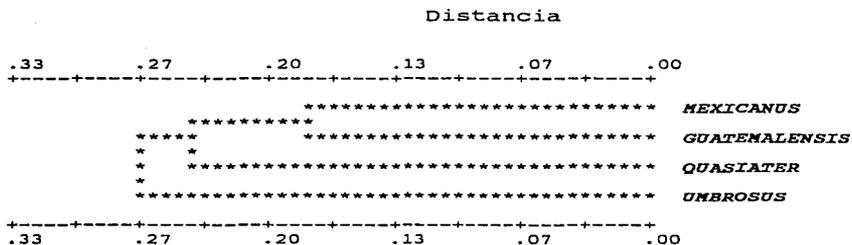


Figura 26.- Fenograma con base en relaciones genéticas entre los cuatro taxa de *Microtus* examinadas, utilizando el coeficiente de distancia genética de Rogers (1972), mediante el análisis de agrupamiento de UPGMA y la correlación cofenética es 0.804.

Cuadro 30.- Coeficientes de distancia genética de Rogers, 1972 (arriba del asterisco), y distancia de Cavalli-Sforza & Edwards "Chord distance" (abajo del asterisco) entre las cuatro especies de *Microtus* examinadas.

ESPECIES	<i>mexicanus</i>	<i>guatemalensis</i>	<i>umbrosus</i>	<i>quasiater</i>
<i>mexicanus</i>	*	0.349	0.460	0.378
<i>guatemalensis</i>	0.181	*	0.428	0.397
<i>umbrosus</i>	0.307	0.240	*	0.413
<i>quasiater</i>	0.236	0.240	0.245	*

Correlación cofenética = 0.907

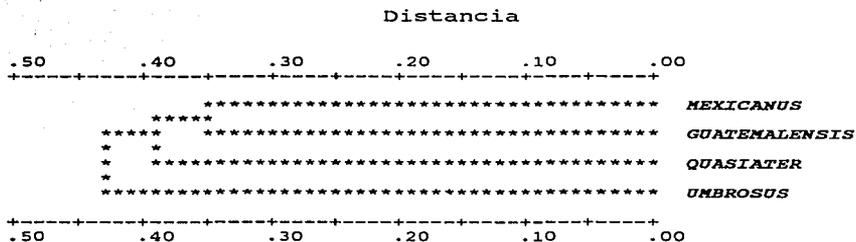


Figura 27.- Fenograma con base en relaciones genéticas entre los cuatro taxa de *Microtus* analizados, utilizando el coeficiente de distancia "Chord distance" de Cavalli-Sforza & Edwards (1967), mediante el análisis de agrupamiento de UPGMA y la correlación cofenética de 0.907.

IV. DISCUSION.

Estudio morfométrico.

En los taxa analizados las categorías de edad tres y cuatro se agruparon al no presentar diferencias significativas, esta agrupación fue similar a la realizada en *Microtus ochrogaster* (Choate y Williams, 1978).

En lo que se refiere a la variabilidad en función del sexo en las cinco especies de *Microtus*, se obtuvieron resultados similares al estudio previo realizado en poblaciones de *M. mexicanus* de Jalisco (Hamilton y Heidt, 1984), en ellos realizaron este análisis y obtuvieron resultados semejantes al separar y agrupar ambos sexos. En otro estudio morfométrico realizado en poblaciones de *M. quasiater* se encontró que los cráneos de hembras y machos no difieren significativamente en tamaño (Ramírez-Pulido et al. 1991).

Por otra parte, en todos los taxa examinados se encontró que la anchura interorbital (AI) disminuye con la edad, al contrario de lo que sucede con otros caracteres craneales. Choate y Williams (1978), encontraron el mismo patrón en poblaciones de *M. ochrogaster*. Ramírez-Pulido et al. (1991) en *M. quasiater* ellos explican que la constricción está aparentemente relacionada con el desarrollo de la anchura interorbital típicas de esta especie.

En poblaciones de *M. quasiater* es clara la presencia de la constricción interorbital en individuos muy viejos y generalmente del sexo masculino (Ramírez-Pulido et al. 1991), tendencia

igualmente encontrada en los taxa analizados en esta investigación, por lo que la explicación de la disminución de la contricción interorbital debe estar más relacionada con otros procesos alométricos.

El único caso en donde se encontró variabilidad craneal considerable entre sexos se presentó en los individuos de *Microtus oaxacensis* en donde, la longitud total del cuerpo, longitud de la pata, longitud mayor del cráneo, longitud del rostro y la anchura lamboidal fueron estadísticamente significativos. Se encontró el mismo patrón al realizar los análisis separando hembras y machos, por lo que en este estudio se agruparon para los análisis subsecuentes.

En el grupo de los arvicolininos no es común que exista dimorfismo sexual secundario (Wilhelm, 1982). En ninguna de las cinco especies estudiadas en este trabajo, se encontraron diferencias significativas entre los sexos en la mayoría de los caracteres. Estos resultados concuerdan con la ausencia de dimorfismo sexual de otras especies de roedores del género *Peromyscus* (Koh y Peterson, 1983; Schmidly et al. 1985; Williams y Ramírez, 1984) o bien con su manifestación débil y sólo en algunos caracteres (Ralls, 1977). De acuerdo a lo anterior, los especímenes hembras de *Microtus mexicanus fulviventer* presentan mayor talla en la longitud de la hilera de los molares y altura del cráneo. Únicamente cuatro variables muestran diferencias estadísticamente significativas con los machos.

En *M. quasiater* no se presentó variación intraespecífica

significativa ya que sólo encontramos tres caracteres asociados con diferencias entre sexos en cada grupo de edad. Se debe señalar que los machos son ligeramente más pequeños que las hembras en la mayoría de los caracteres estudiados y los igualan en tamaño hasta la edad adulta. Esta característica es similar a la que se presenta en algunas poblaciones de *M. quasiater* analizadas por Ramírez-Pulido et al. (1991); de *M. ochrogaster* por (Choate y Williams, 1978; y de *M. californicus* por (Airoidi y Hoffmann, 1984).

De acuerdo con Ralls (1977), la variación intraespecífica relacionada con el sexo en los roedores es baja o moderada y el macho suele sobrepasar en dimensiones a la hembra. En contraposición, Ralls (1977) menciona que diferentes presiones selectivas pueden actuar sobre el aumento en las dimensiones de los caracteres en las hembras y, por tanto, se favorece que ellas alcancen mayor tamaño que los machos, lo que es más ventajoso para la especie.

En *M. quasiater* la talla del macho es menor en las primeras fases del desarrollo pero es inexistente el dimorfismo sexual en la edad adulta (Ramírez-Pulido et al. 1991). En los otros taxa analizados se observa el mismo patrón.

En general, los estudios han mencionado dimorfismo sexual secundario de cero a unos pocos caracteres de varios examinados, pero no se ha encontrado un sexo que sea consistentemente mayor que otro. Los resultados univariados de este estudio y de otros no han demostrado un patrón consistente de dimorfismo sexual.

Asimismo, los datos de esta investigación indican que existe un débil dimorfismo sexual que sugiere se analicen tamaños de muestra más grandes para demostrar la significancia estadística.

La variabilidad morfométrica individual encontrada en las cinco especies analizadas en el presente estudio fue pequeña, lo cual es consistente con resultados previos en *M. ochrogaster* (Choate y Williams, 1978) y en poblaciones de *M. quasiater* (Ramírez-Pulido et al. 1991).

Las variables externas o somáticas provienen de diferentes apreciaciones de los colectores cuando los especímenes son medidos, es por ello que se detecta sesgo en la medición por lo cual no es recomendable considerar estos caracteres en los análisis multivariados.

Por lo anterior, en este estudio no se consideró la existencia de dimorfismo sexual, ni variación individual en los cinco taxa analizados. Por consiguiente en los análisis multivariados se agruparon individuos hembras y machos, sólo se consideraron a los individuos adultos y únicamente se incluyeron caracteres craneales.

El hecho de que los individuos de las cinco especies fueran correctamente asignados en su clasificación taxonómica nos indica que existe por una parte poca variación intraespecífica y por otra, una separación significativa a nivel del cráneo.

Las distancias morfométricas de Mahalanobis (distancia cuadrada generalizada) entre cada par de taxa mostró que *Microtus oaxacensis* y *M. umbrosus* están más cercanamente relacionados con

un valor de 19.34. Esta relación de parentesco no fue similar a ninguna de las reconstrucciones filogenéticas. Por otra parte, las especies que más difieren craneométricamente son *M. quasiater* y *M. umbrosus* con valor de 86.62. Esta relación de manera general concuerda con lo propuesto con base en caracteres oclusales de los molares y con aspectos biogeográficos.

El fenograma obtenido por análisis de conglomerados a partir del método UPGMA, demuestra que las especies más relacionadas morfométricamente son *M. umbrosus* y *M. oaxacensis*, relación que resulta diferente con la información proveniente de los caracteres dentales, en la cual, se menciona que las especies más estrechamente relacionadas son *M. guatemalensis* y *M. oaxacensis* (Martín, 1987). En cambio, con base en estudios biogeográficos los taxa más relacionados son *M. oaxacensis* y *M. mexicanus*, en otro clado se encuentra *M. guatemalensis* junto con *M. umbrosus* y *M. quasiater* es el taxón más diferenciado (Hoffmman y Koeppel, 1985).

La única relación de parentesco con respecto a las variables craneales es la encontrada entre *M. mexicanus* y *M. guatemalensis*, que concuerda con datos de aloenzimas. Este rearrreglo también coincide con datos citogenéticos, en donde, *M. mexicanus* presenta un $2n=48$, $NF=58$ y *M. guatemalensis* tiene un $2n=52$ y $NF=56$ ambos datos están muy cercanos.

Estudio citogenético.

El grupo de los *Microtus* presenta el siguiente panorama a nivel citogenético (Cuadro 32), al realizar la comparación de las especies analizadas en esta investigación con otras taxa del género *Microtus*.

El número cromosómico diploide de *Microtus umbrosus* es el mismo que se ha propuesto como cariotipo ancestral hipotético en los arvicolinos ($2n=56$). El número diploide para *M. quasiater* es mayor ($2n=62$) en comparación con el ancestral y *M. longicaudus* también exhibe un complemento cromosómico alto ($2n=62$) que es similar al encontrado en *M. quasiater* (Gaines, 1985; Cervantes et al. 1994). *M. mexicanus* tiene un $2n=48$ que se ubica en un nivel intermedio en comparación con los otros arvicolinos del género *Microtus* (Cervantes et al. 1994).

Microtus quasiater presenta un número cromosómico alto en cromosomas monorrámeos en comparación con las otras tres especies de *Microtus* tropicales y *M. mexicanus* (Cuadro 25). En contraste, *M. mexicanus* presenta pocos pares de estos autosomas. El número de cromosomas birrámeos de este cariotipo es dos veces mayor al que se encuentra en *M. quasiater* y *M. umbrosus* (Cervantes et al. 1994).

El número diploide encontrado para *M. guatemalensis* es $2n=52$ que es un poco mayor en comparación con el complemento cromosómico ancestral. Por otro lado, *M. oaxacensis* tiene $2n=30$ que se encuentra entre los más bajos dentro del género *Microtus*, junto con *M. oregoni* ($2n=17, 18$), *M. montanus* ($2n=22, 24$), *M.*

Cuadro 32.- Comparación cromosómica entre especies de *Microtus* que se encuentran en Norteamérica.

Especie	2n	NF	Referencia
<i>Microtus agrestis</i>	50	50	Arrighi et al 1970
<i>M. californicus</i> (California)	54	62	Modi, 1987
<i>M. canicaudus</i> (Oregon)	24	44	Modi, 1986
<i>M. guatemalensis</i> (Chiapas)	52	56	Presente estudio
<i>M. longicaudus</i> (Utah)	62	108	Modi, 1987
<i>M. mexicanus</i> (Nuevo Mexico)	44	54	Judd, 1980
<i>M. mexicanus</i> (Jalisco)	48	58	Modi, 1987
<i>M. mexicanus</i> (Oaxaca)	48	58	Martínez, 1991
<i>M. montanus</i> (Oregon)	24	44	Judd et al 1980
<i>M. ochrogaster</i> (Illinois)	52	64	Modi, 1987
<i>M. oeconomus</i> (Alaska)	30	54	Modi, 1987
<i>M. oregoni</i> (Oregon)	17,18	32	Modi, 1987
<i>M. oaxacensis</i> (Oaxaca)	30	56	Martínez, 1991
<i>M. pennsylvanicus</i> (Delaware)	46	50	Modi, 1986
<i>M. pinetorum</i> (Nueva York)	62	62	Modi, 1987
<i>M. pinetorum</i> (Virginia)	62	64	Modi, 1987
<i>M. quasiater</i> (Veracruz)	62	66	Presente estudio *
<i>M. richardsoni</i> (Oregon)	56	58	Modi, 1987
<i>M. umbrosus</i> (Oaxaca)	56	60	Presente estudio *

* Datos previamente publicados por Cervantes, F. A., J. Martínez y R. M. González. 1994. Acta Theriologica.

canicaudus ($2n=24$), y es similar a *M. oeconomus* ($2n=30$), sin embargo, estas especies aparentemente surgieron en el Pleistoceno tardío junto con *M. mexicanus* (Hoffmann y Koepl, 1985; Gaines, 1985).

M. oaxacensis surgió en el Pleistoceno medio junto con *M. californicus* ($2n=52, 53$ y 54) y *M. ochrogaster* ($2n=54$). Por lo tanto, los rearrreglos cromosómicos en *M. oaxacensis* pudieron haber tenido lugar independientemente con la edad del linaje, de una manera similar a la encontrada en otros roedores (Modi, 1987a).

Los números fundamentales indican que *M. quasiater* es el taxón que presenta el mayor número de brazos autosómicos en comparación con otras especies de arvicolininos mexicanos (Cuadro 25; Cervantes et al. 1994). Sin embargo, *M. umbrosus* y *M. californicus* presentan el mismo número de brazos autosómicos; asimismo, los valores en número fundamental de *M. mexicanus* y *M. pennsylvanicus* están más cercanos a *M. umbrosus*. De las especies examinadas *M. oaxacensis* presenta el número fundamental más bajo con $NF=56$ (Cervantes et al. 1994).

El cromosoma sexual X no muestra un patrón definido en las especies analizadas, dado que este cromosoma puede ser metacéntrico, submetacéntrico, subtelocéntrico y telocéntrico. Esto concuerda con estudios previos realizados en otras especies de *Microtus* (Modi, 1987a). En contraste, el cromosoma sexual Y se considera como telocéntrico de tamaño pequeño, lo cual coincide con cuatro taxa examinados en el presente estudio. En

M. guatemalensis no se examinaron individuos machos por lo consiguiente se desconoce la morfología del cromosoma sexual Y.

Los resultados obtenidos en la comparación de las bandas cromosómicas G entre cuatro especies de *Microtus* con respecto a *M. oaxacensis*, se identificaron los posibles rearrreglos cromosómicos hipotéticos: en *M. guatemalensis* dos fusiones céntricas; en *M. mexicanus* cinco fusiones céntricas, dos fusiones en tandem y una inversión pericéntrica presente en el cromosoma sexual X; en *M. umbrosus* cinco fusiones céntricas y en *M. quasiater* ningún rearrreglo cromosómico fue identificado debido a que ocho autosomas presentan el mismo patrón de bandas cromosómicas G que en *M. oaxacensis* así como el cromosoma sexual Y.

El patrón de bandas cromosómicas C en las especies analizadas mostró heterocromatina constitutiva en la región pericentromérica o centromérica de los autosomas, esto es similar a lo encontrado en algunas especies de *Microtus* (Modi, 1987b), y en poblaciones de *M. agrestis* (Cooper y Hsu, 1972), es decir, en todos los pares cromosómicos se aprecian bandas de heterocromatina constitutiva, aunque su cantidad es variable, lo cual fue observado mediante la intensidad de tinción en ciertos pares de autosomas. El cromosoma sexual X presenta heterocromatina constitutiva alrededor del centrómero, lo cual concuerda en un estudio realizado en algunas especies de *Microtus* (Modi, 1987b). El cromosoma sexual Y es heterocromático en los taxa analizados en el presente estudio. Esto coincide con lo

mencionado en la literatura existente sobre *Microtus* (Modi, 1987b; Cooper y Hsu, 1972).

Estudio de variación aloenzimática.

Se aprecia un porcentaje elevado de loci polimórficos (17 de 30 loci analizados), los cuales fueron variables en todos los taxa (Cuadro 26). Esto es similar a lo encontrado en otros roedores, como por ejemplo en especies de *Microtus* (Moore y Janecek, 1990); *Peromyscus* (Rogers y Engstrom, 1992); *Pappogeomys* (Honeycutt y Williams, 1982) y en otros mamíferos de tamaño mediano a grande, como los coyotes (Hamilton, 1984), en donde casi el 50% de loci examinados fueron monomórficos.

Microtus quasiater presenta mayor porcentaje de loci polimórficos y *M. guatemalensis* y *M. umbrosus* presentan el menor porcentaje de polimorfismo. El promedio de heterocigosidad (H) por conteo directo en las especies analizadas ha sido menor que el encontrado en otros estudios realizados en roedores.

La frecuencia de heterocigosidad está estrechamente relacionada al tamaño de la población (Weir, 1990), con base en este argumento *M. guatemalensis* presenta un valor de heterocigosidad muy bajo (0.00) posiblemente se deba a que presenta un tamaño poblacional reducido.

Estas medidas de variabilidad genética (polimorfismo y heterocigosidad) demuestran que existen pocos individuos heterocigotos, así como poca cantidad de alelos por locus en las poblaciones estudiadas. La deficiencia en heterocigotos puede

deberse principalmente a la presencia de alelos nulos (Hart et al. 1993), que en esta investigación no fue posible identificar.

Microtus quasiater presenta mayor número de alelos por locus, mayor porcentaje de polimorfismo y fue considerado como la especie más variable genéticamente de los taxa analizados. En contraste, *M. umbrosus* es el taxón menos variable por tener pocos alelos por locus y menor porcentaje de polimorfismo, esto puede deberse a que posiblemente se aisló a lo largo de su evolución a una área reducida, donde pudo haber sufrido los efectos de la deriva genética.

El promedio de F_{st} obtenido en el análisis de estos taxa analizados en la presente investigación fue de 62.9% (Cuadro 27). Estos resultados fueron similares a los encontrados en algunas poblaciones de tuzas con 41% (Patton y Yang, 1977); y se encontraron valores mucho más altos que los obtenidos en los perritos de las praderas con 10% (Chester, 1983). Valores de F_{st} altos indican que posiblemente no exista flujo génico entre los taxa analizados y, por lo tanto, existe una mayor probabilidad de variabilidad genética.

Se ha argumentado que los valores de magnitud de F_{st} pueden ser afectados por barreras en el flujo génico, fijación de alelos alternativos y combinación de unidades de entrecruzamiento en los taxa (Hamilton y Kennedy, 1987). En ninguna de las especies examinadas se identificaron alelos fijos o exclusivos (Cuadro 22), contrario a lo encontrado por Moore y Janecek (1990) quienes observaron tres alelos fijos (ADH, SDH y GP-2) en algunas

poblaciones de *Microtus mexicanus* de Nuevo Mexico, EUA. En este estudio se analizaron dichas enzimas y no se encontró tal situación.

Los fenogramas de distancias de Cavalli-Sforza y Edwards; y de Rogers, (Figuras 25 y 26) demuestran que *Microtus mexicanus* y *M. guatemalensis* son especies que están más cercanamente relacionadas entre sí, lo cual coincide con datos morfológicos del cráneo y probablemente con aspectos biogeográficos.

Al realizar un análisis comparativo entre ambos fenogramas de distancias genéticas se encontraron las mismas relaciones de parentesco para las especies analizadas, los cuales difieren únicamente en los valores obtenidos para las distancias genéticas.

Por otra lado, *Microtus quasiater* muestra una gran variabilidad genética (Cuadro 24), con base en datos citogenéticos dado que es una especie que presenta un $2n=62$, mayor al propuesto como condición primitiva para los arvicolinos, lo que indica una divergencia genética.

M. guatemalensis presenta una homocigocidad completa y porcentaje bajo de polimorfismo en comparación con las otras especies analizadas (Cuadro 27). Estos resultados casi coinciden con datos morfológicos y cromosómicos de esta investigación.

En cambio, *Microtus oaxacensis* presenta una homocigocidad completa y porcentaje elevado de polimorfismo (28.57%), lo cual concuerda con datos cromosómicos y morfométricos (Martínez, 1991; Hortelano, 1995), con base en datos electroforéticos se considera

que presenta modificaciones en su acervo genético, al compararlo con el complemento cromosómico ancestral propuesto para los arvicolinos (Matthey, 1957). Además, los datos citogenéticos apoyan la tendencia a la reducción en el número cromosómico lo que se confirma a través de las fusiones céntricas identificadas.

Tanto los datos cromosómicos como los datos aloenzimáticos indican que *M. oaxacensis* no es un taxón conservador sino que presenta una gran variabilidad genética, a pesar de ser una especie antigua, con distribución reducida y se estima que presenta un tamaño poblacional pequeño (Martínez, 1991; Hortelano, 1995).

Consideraciones finales.

Las relaciones de parentesco examinadas a través de tres enfoques sistemáticos: morfología craneal, citogenética (incluyendo bandas cromosómicas G y C) y análisis aloenzimático, en esta investigación se encontraron resultados diferentes. Es cierto que utilizando estas técnicas se pueden llegar a conocer las relaciones de similitud entre taxa en una forma integral, pero no se puede dar mayor validez a ninguna de ellas. Por lo cual, la diferencia en los resultados se puede deber al grado de variación en la tasa de cambio a nivel evolutivo.

La tasa de evolución cariotípica es baja dado que no se han manifestado cambios en el número de sus cromosomas y no han variado drásticamente aún en la diversificación del género. En cambio, las tasas de evolución morfológica y aloenzimática han sido altas en comparación con la evolución cromosómica ya que se han producido cambios a nivel de morfología craneal y en la movilidad de proteínas.

El hecho que no se haya encontrado un resultado similar entre las tres técnicas, no significa que alguna de ella sea más adecuada que otra, ya que cada una se fundamenta con diferentes bases. El enfoque morfométrico craneal considera únicamente las diferencias del cráneo entre las especies. En cambio, la técnica citogenética incluye sólo las diferencias a nivel cromosómico, así como, los rearrreglos cromosómicos que han ocurrido en la evolución de la especie. La técnica electroforética determina el nivel de variación proteínica por sustituciones de aminoácidos.

Los resultados obtenidos satisfacen el objetivo de conocer las relaciones de parentesco entre los tres taxa examinados a través de tres herramientas sistemáticas (morfometría, Citogenética y electroforesis). Además, se consideró información existente en la literatura sobre análisis de aloenzimas en *Microtus oxacensis* y *M. umbrosus* para establecer un panorama amplio de similitudes entre los cinco taxa con la finalidad de integrar la información para entender los procesos de especiación que han ocurrido en los *Microtus* que actualmente se distribuyen en México y que forman parte importante de la fauna silvestre de nuestro territorio.

Por lo tanto, la información obtenida en esta investigación es importante por las diferencias que se encontraron al realizar las tres técnicas. Esto conlleva a que en un futuro se continúen estudios con otras técnicas moleculares tales como: secuenciación de microsátélites, secuencias de DNA mitocondrial y nuclear e hibridación de DNA.

V. CONCLUSIONES.

Los resultados obtenidos mediante el análisis estadístico univariado y multivariado confirman las diferencias craneales entre las cinco especies de *Microtus*. La variación craneal encontrada se aprecia en relación al tamaño del cráneo, las variables que explican estas diferencias entre las cinco especies son: la longitud mayor del cráneo, longitud del palatino, longitud basilar y longitud del rostro.

En ninguna de las especies analizadas se presenta dimorfismo sexual lo cual concuerda con otras investigaciones previas.

Los resultados sugieren una relación más cercana entre *Microtus mexicanus* y *M. guatemalensis* que con los otros tres taxa; otro grupo cercanamente relacionado es *M. umbrosus* y *M. oaxacensis*; en contraste *M. quasiater* es la especie menos relacionada en la comparación de los taxa analizados con base en caracteres craneales. Estas relaciones de similitud difieren de las propuestas a través de datos biogeográficos y de caracteres oclusales de los molares.

El análisis de los cromosomas teñidos convencionalmente en las especies analizadas demostró que existe una relación más estrecha entre *Microtus mexicanus* y *M. guatemalensis* por su cercanía entre su número cromosómico diploide y su número fundamental.

Los rearrreglos cromosómicos que probablemente se observaron en las especies examinadas en *Microtus* fueron las fusiones

céntricas, fisiones e inversiones pericéntricas. En la comparación del patrón de bandas cromosómicas G se identificaron los siguientes arreglos cromosómicos hipotéticos: cinco fusiones céntricas, dos fusiones en tandem y una inversión pericéntrica en el cromosoma sexual X de *M. mexicanus*, lo cual indica una estrecha relación cromosómica entre estas especies.

En los cinco taxa analizados la heterocromatina constitutiva se localiza en la región pericentromérica, este patrón es similar al encontrado en otros estudios.

Los resultados electroforéticos indican que *Microtus quasiater* es el taxon más variable, en cambio, *M. umbrosus* es menos variable. Este patrón se parece de manera general al propuesto por aspectos biogeográficos.

Los valores de similitud genética mostraron que *Microtus guatemalensis* y *M. mexicanus* están más cercanamente relacionados con *M. quasiater* y cualquiera de ellos está menos relacionado con *M. umbrosus*. Esto difiere con lo que se esperaba con base en antecedentes biogeográficos. Pero se parece de manera general en las relaciones de parentesco con base en caracteres oclusales de los dientes.

Los datos citogenéticos, craneométricos y aloenzimáticos de la presente investigación sugieren una similitud más cercana entre *Microtus guatemalensis* y *M. umbrosus* que cualquiera de las dos con *M. quasiater*, solamente considerando a estos taxa.

Por otra parte, si consideramos la información generada en esta investigación y la proporcionada por la literatura para los

cinco taxa tenemos diferencias en los datos y no concuerdan las relaciones de similitud entre las diferentes fuentes de información.

Por lo tanto, se recomienda incluir en análisis posteriores a las especies de *Microtus* que se distribuyen en el Viejo Mundo principalmente a las especies más antiguas, con la finalidad de obtener un panorama más amplio de su relaciones cariotípicas, es decir, hacer el análisis de bandas cromosómicas G considerando especies de distribución neártica y paleártica para identificar los posibles rearrreglos cromosómicos que han ocurrido en la evolución cromosómica del género *Microtus*.

Se considera que la evolución cariotípica en los arvicolininos no necesariamente va acompañada de la evolución morfológica del cráneo.

Con el propósito de complementar esta investigación se recomienda utilizar la técnica de secuenciación de DNA para entender más ampliamente la evolución cromosómica, morfométrica craneal y aloenzimática en este grupo de roedores silvestres con distribución restringida.

LITERATURA CITADA.

Airoidi, J. P. y R. S. Hoffmann. 1984. Age variation in voles (*Microtus californicus*, *M. ochrogaster*) and its significance for systematic studies. Occasional Papers of the Museum of Natural History, The University of Kansas, 111:1-45.

Al-Aish, M. 1969. Human chromosome morphology. I. Studies on normal chromosome characterization, clasification and karyotyping. Canadian Journal of Genetics and Cytology, 11:370-381.

Arrighi, F. E. y T. C. Hsu. 1971. Distribution of constitutive heterocromatin in mammalian chromosomes. Chromosoma, 34:243-253.

Arrighi, F. E., T. C. Hsu, P. Saunders y G. F. Saunders. 1970. Localization of repetitive DNA in the chromosomes of *Microtus agrestis* by means of *in situ* hybridization. Chromosoma, 32:224-236.

Armstrong, D. M. 1972. Distribution of mammals in Colorado. Monography of Museum Natural History, The University of Kansas, 3:1-415.

- Bailey, V. 1900. Revision of American voles of the genus *Microtus*. North American Fauna, 17:1-88.
- Baker, R.J. y M. B. Qumsiyeh. 1988. Methods in chiropteran mitotic chromosomal studies. Pp. 425-435, in Ecological and behavioral methods for the study of bats (T. H. Kunz, ed.). Smithsonian Institution Press, Washington, D. C., 533 pp.
- Baker, R. J., M. W. Haiduk, L. W. Robbins, A. Cadena y B. F. Koop. 1982. Chromosomal studies of South American bats and their systematic implications. Pp. 303-327, in Mammalian Biology in South America (M. A. Mares y H. H. Genoways, eds.). Pymatuning Laboratory of Ecology, vol. IV. Pymatuning, Pennsylvania, 539 pp.
- Carleton, M. D. y G. G. Musser. 1984. Muroid rodents. Pp. 289-380, in Orders and families of recent mammals of the world. (S. Anderson y J. K. Jones, Jr., eds.). John Wiley & Sons, New York, 686 pp.
- Cavalli-Sforza, L. L. y A. W. F. Edwards. 1967. Phylogenetic analysis: Models and estimation procedures. *Evolution*, 21:550-570.

- Cervantes, F. A., J. Martínez y R. M. González. 1994. Karyotypes of the Mexican tropical voles *Microtus quasiater* and *M. umbrosus* (Arvicolinae:Muridae). *Acta Theriologica*, 39(4):373-377.
- 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.
- Choate, J. R. y S. L. Williams. 1978. Biogeographic interpretation of variation within and among population of the prairie vole *Microtus ochrogaster*. *Occasional Papers Museum Texas Tech University*, 49:1-25.
- Cooper, J. E. y T. C. Hsu. 1972. The C-band and G-band patterns of *Microtus agrestis* chromosomes. *Cytogenetic*, 11:295-304.
- DeGrouchy, J. y C. Turleau. 1977. *Clinical Atlas of Human Chromosomes*. John Wiley and Sons, New York. U.S.A., 270-271 pp.

Dizon, A. E., M. Gregory, O. Corry-Crowe y B. L. Taylor. 1994.

Why statistic power is necessary to link analyses of molecular variation to decisions about population structure. International workshop to assess population management using genetic data. Southwest fisheries science center, La Jolla, California.

Durrant, S. D. 1952. Mammals of Utha: Taxonomy and Distribution. University of Kansas, Publications of the Museum Natural History, 6:1-549.

Gaines, M. S. 1985. Genetics. Pp. 845-883. in Biology of the new world *Microtus*. (R. H. Tamarin, ed.). Special Publications. No. 8. The American Society of Mammalogists. Lawrence. Kansas, 893 pp.

Hall, E. R. 1981. The mammals of North America. 2a. ed. John Wiley & Sons, New York, 2:601-1181+90 pp.

Hamilton, M. J. 1984. Genic variation in the Carnivora: I. Genic variability in the raccoon, *Procyon lotor*; II. Genic variation in the coyote, *Canis latrans*, in Tennessee. Master thesis, Memphis State University, Memphis, Tennessee, 108 pp.

- Hamilton, M. J. G. A. Heidt. 1984. Microgeographic variation in the Mexican vole, *Microtus mexicanus*. Proceeding Arkansas Academic Science, 28:45-48.
- Hamilton, M. J. y M. L. Kennedy. 1987. Genic variability in the raccoon *Procyon lotor*. The American Midland Naturalist, 118(2):266-274.
- Hart, G. B., F. Suchentrunk, K. Nadlinger y R. Willing. 1993. An integrative analysis of genetic differentiation in the brown hare *Lepus europaeus* based on morphology, allozymes, and mitochondrial DNA. Acta Theriologica 38, suppl. 2:33-57.
- Harris, H. y D. A. Hopkinson. 1976. Handbook of enzyme electrophoresis in human genetics. American Elsevier Publishing Co., Inc. Nueva York.
- Helwig, J. T. 1985. SAS Introductory Guide. 3 ed. Cary, North of Carolina, U.S.A., 99 pp.
- Hoffmann, R. y J. Koepl. 1985. Zoogeography. Pp. 84-115, in: Biology of New World *Microtus*. (R. H. Tamarin, ed.). Special Publications No. 8. The American Society of Mammalogists, Lawrence, Kansas, 893 pp.

- Honeycutt, R. L. y S. L. Williams. 1982. Genic differentiation in pocket gophers of the genus *Pappogeomys*, in the subfamily Geomyinae. *Journal of Mammalogy*, 63:208-217.
- Hooper, E. T. y B. S. Hart. 1962. A synopsis of Recent North American microtinae rodents. *Miscellaneous Publications of the Museum of Zoology, University of Michigan*, 120:1-68.
- Hortelano, M. Y. 1995. Variación de aloenzimas entre *Microtus mexicanus*, *M. coxacensis* y *M. umbrosus* (Rodentia:Muridae). Tesis de Maestría, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F. 43 pp. International Union of Biochemistry, Nomenclature Committee. 1984. *Enzyme nomenclature*. Academic Press. New York.
- Judd, R. S. 1980. Observations of the chromosome variation in *Microtus mexicanus*. *Mammals Chromosomes Newsletter*, 21:110-114.
- Judd, S. R., S. P. Cross, and S. Pathak. 1980. Non-Robersonian chromosomal variation in *Microtus montanus*. *Journal of Mammalogy*, 61:109-113.
- Koh, H. S. y R. L. Peterson. 1983. Systematic studies of deer mice *Peromyscus maniculatus* Wagner (Cricetidae, Rodentia): analysis of age and secondary sexual variation in

morphometric characters. Canadian Journal of Zoology,
61:2618-2628.

Levan, A., K. Fredga y A. A. Sandberg. 1964. Nomenclature for
centromeric position on chromosomes. Hereditas,
52(1):201-220.

Martin, R. A. 1974. Fossil mammals from the Coleman IIA fauna,
Sumter Country. Pp. 35-99, in Pleistocene mammals of
Florida (S. D. Webb, ed.). University of Florida Press,
Gainesville, 270 pp

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 fulviventor* y *Microtus oaxacensis*.
Tesis de Maestría, Facultad de Ciencias, Universidad
Nacional Autónoma de México, México, D. F., 56 pp.

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

- Merriam, C. H. 1898. Descriptions of two new subgenera and three new species of *Microtus* from Mexico and Guatemala. Proceeding of the Biological Society of Washington, 12:105-108.
- Modi, W. S. 1986. Karyotypic differentiation among two sibling species pairs of New World microtine rodents. *Mammalia*, 49:357-363.
- Modi, W. S. 1987a. Phylogenetic analysis of chromosomal banding patterns among the Nearctic Arvicolidae (Mammalia: Rodentia). *Systematic Zoology*, 36:109-136.
- Modi, W. S. 1987b. C-Banding analysis the evolution of heterochromatin among arvicolid rodents. *Journal of Mammalogy*, 68:704-714.
- Moore, D. W. En prensa. A systematic and biogeographic interpretation of the genic variation in *Microtus mexicanus*.
- Moore, R. W. y L. L. Janecek. 1990. Genic relationships among North American *Microtus* (Mammalian:Rodentia). *Annals of Carnegie Museum*, 59(3):249-259.

- Murphy, R. W., J. W. Sites, Jr., D. G. Buth y C. H. Haufler. 1990. Proteins: Isozyme electrophoresis. Pp. 45-126. in Molecular Systematics (D. Hillis y C. Moritz, eds.). Sinauer Associates, Inc. Publishers, Sunderland, Masschusetts, USA., 588 pp.
- Musser, G. G. y M. D. Carleton. 1993. Family Muridae. Pp. 501-755. in Mammals species of the world: a taxonomic and geografpic reference. (D. E. Wilson y D. M. Reeder, eds.). 2a. ed. Smithsonian Institution Press in association with the American Society of Mammalogists, Washington, 1206 pp.
- Nadler, C. H. 1969. Chromosomal evolution in rodents. Pp. 277-309. in Comparative Mammalian Cytogenetics. (K. Benirschke, ed.). Springer-Verlag, New York, U.S.A., 473 pp.
- Naranjo, C. A., L. Poggio y P. E. Brandham. 1983. A practical method of chromosome classification on the bases of centromero position. *Genetica*, 62:51-53.
- Palumbi, S. R., A. P. Martin, B. Kessing y W. O. McMillan. 1991. Detecting population structure using mitochondrial DNA. Report International Whale communittee (special issue), 13:271-278.

- Patton, J. C. y R. J. Baker. 1978. Chromosomal homology and evolution of phyllostomatoid bats. *Systematic Zoology*, 27:449-462.
- Patton, J. L. y J. Y. Yang. 1977. Genetic variation in *Thomomys bottae* pocket gophers: macrogeographic patterns. *Evolution*, 31:697-720.
- Ralls, K. 1977. Sexual dimorphism in mammals: Avian models and unanswered questions. *The American Naturalist*, 111:917-938.
- Ramírez-Pulido, J., A. Castro y M. Martínez. 1991. Variación no geográfica de *Microtus quasiater* (Rodentia: Arvicolidae) con notas sobre su ecología y reproducción. *Anales del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Serie Zoología*, 62(2):341-364.
- Ramírez-Pulido, J., R. López-Wilchis, C. Mudiespacher y I. Lira. 1982. Catálogo de los mamíferos terrestres nativos de México. Trillas y Universidad Autónoma Metropolitana, México, D. F., 126 pp.
- Repenning, C. A. 1980. Fauna exchanges between Siberia and North America. *Canadian Journal of Anthropology*, 1:37-44.

- Repenning, C. A. 1983. *Pitymys meadensis* Hibbard from the Valley of Mexico and the classification of North American species of *Pitymys* (Rodentia:Cricetidae). *Journal of Vertebrate Paleontology*, 2:471-482.
- Roff, D. y P. Bentzen. 1989. The statistical analysis of mitochondrial DNA polymorphisms: χ^2 and the problem of small samples. *Molecular Biology and Evolution*, 6(5):539-545.
- Rogers, J. S. 1972. Measures of genetic similarity and genetic distance. *Stude in genetics VII*, the University of Texas Publication, 7213:145-153.
- Rogers, D. S. y M. D. Engstrom. 1992 Evolutionary implications of allozymic variation in tropical *Peromyscus* of the Mexican species group. *Journal of Mammalogy*, 73(1): 55-69.
- Rohlf, F. J. 1989. NTSYS-PC (Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System, ver. 1.50). Exeter Publishing, LTD., Nueva York, U.S.A., 96 pp.
- Rohlf, F. J., J. Kishpaugh y D. Kirk. 1982. Numerical taxonomy system of multivariate statistical programs. State University of New York, Stony Brook.

- Seabright, M. 1971. Rapid banding for human chromosomes. *Lancet* ii:971.
- Selander, R. K., M. H. Smith, S. Y. Yong, 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*, the University of Texas Publication, 7103:49-90.
- Schmidly, D. J., M. R. Lee, W. S. Modi y E. G. Zimmerman. 1985. Systematics and notes on the biology of *Peromyscus hooperi*. *Occasional Papers Museum, Texas Tech University*, 97:1-40.
- Stefos, K. y F. E. Arrighi. 1971. Heterocromatic nature of the W chromosome in birds. *Experimental of Cell Research*, 68:228-231.
- Sumner, A. T., H. J. Evans y R. Buckland. 1971. New Technique for distinguishing between human chromosomes. *Nature New Biology*, 232:31-32.
- Swofford, D. L. y R. B. Selander. 1981. BIOSYS-1: a computer program for the analysis of allelic variation in genetics. IBM PC Release 1.7, Department of Genetics and Development, University of Illinois, Urbana, Illinois, 65 pp.

- Taylor, B. L. y T. Gerrodette. 1993. The use of stadistical power in conservation biology: the vaquita and northerm spotted owl. *Conservation Biology*, 7:489-500.
- Waples, R. S. 1987. A multispecies approach to the analysis of gene flow in marine shore fishers. *Evolution*, 41:385-400.
- Weir, B. S. 1990. Genetic data analysis: methods for discrete population genetic data. Sinauer Associates, Inc. Sunderland, Massachusetts, USA., 377 pp.
- Wert, 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 Museum Texas Tech University, 75:1-30.
- Williams, S. L. y J. Ramírez-Pulido. 1984. Morphometric variation in the volcano mouse, *Peromyscus (Neotomodon) alstoni* (Mammalia, Cricetidae). *Annals Carnegie Museum Natural History*, 53:163-183.

Zakrzewski, R. J. 1985. The fossil record. Pp. 1-51. in *Biology of new world Microtus*. (R. H. Tamarin, ed.). Special Publications No. 8. The American Society of Mammalogists, Lawrence, Kansas, 893 pp.

Apéndice I.

A través del programa Gst-I se analizó la variabilidad genética de un conjunto de cuatro especies de *Microtus* de acuerdo a los procedimientos de Palumbi et al. (1991) y Roff y Bentzen (1989). Posteriormente, se calculó la distribución de la variable Gst a partir de una matriz de datos de frecuencias alélicas de un conjunto de cuatro especies.

Se calculó la Gst crítica en donde el error de tipo I es $\alpha = 0.05$ el cual se basa en el procedimiento realizado por Dizon et al (1994). Entonces, la Gst generada al azar por 5000 muestreos con reemplazo sin mezcla el cual se obtuvo con el programa Gst-II. La Gst generada se comparó con la Gst crítica considerando una $\alpha = 0.05$ obtenida por la Gst-I.

A los valores obtenidos de diversidad genética (Gst) se calcularon los valores de Chi cuadrada para conocer si fueron estadísticamente significativos. Se consideró la diversidad genética global a partir de los siguientes haplotipos en los cuatro taxa: *Microtus mexicanus* (cuatro haplotipos y seis individuos), *M. guatemalensis* (seis haplotipos y nueve individuos), *M. umbrosus* (cuatro haplotipos y cuatro individuos) y *M. quasiater* (24 haplotipos y 34 individuos).

Se realizaron comparaciones por pares de especies considerando en total seis comparaciones y se calcularon los valores α y β para conocer si se cometía error de tipo I o error de tipo II en el análisis de los haplotipos.

En total se hicieron seis comparaciones por pares de especies (*Mm-Mg*, *Mm-Mq*, *Mm-Mu*, *Mg-Mq*, *Mg-Mu* y *Mq-Mu*), se

calcularon los valores de Chi cuadrada para probar la significancia estadística.

Los resultados obtenidos de diversidad genética (G_{st}), alfa y beta para los cuatro taxa y para cada par de especies comparadas se obtuvieron los valores de Chi cuadrada para probar la significancia estadística y estimar si se acepta la H_0 cuando es falsa (Error de Tipo I) o la probabilidad de cometer el Error de Tipo II (Cuadro 31).

Cuadro 31.- Diversidad genética encontrada en los haplotipos de las especies analizadas de *Microtus*.

Especies	Gst	Alfa (Chi)	Alfa (Gst)	Beta (Gst)
<i>Mm, Mg, Mu, Mq</i>	0.206	<0.01	0.03	<0.01
<i>Mm, Mg</i>	0.175	<0.03	0.02	0.07
<i>Mm, Mu</i>	0.144	>0.10	0.40	0.02
<i>Mm, Mq</i>	0.127	<0.05	0.01	0.20
<i>Mg, Mu</i>	0.135	<0.05	0.51	0.03
<i>Mg, Mq</i>	0.165	<0.02	<0.01	0.36
<i>Mu, Mq</i>	0.113	>0.05	0.30	0.09

Gst = Diversidad genética.

Alfa (Chi) = Probabilidad de cometer error Tipo I

Alfa (Gst) = Probabilidad de cometer error Tipo I

Beta (Gst) = Probabilidad de cometer error Tipo II

Mg = *Microtus guatemalensis*

Mm = *M. mexicanus*

Mq = *M. quasiater*

Mu = *M. umbrosus*