

000 683



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

INSTITUTO DE ECOLOGÍA UACPyP/CCH

244615



BIBLIOTECA
INSTITUTO DE ECOLOGÍA
UNAM

**ESTRUCTURA Y VARIACIÓN GENÉTICA
EN EL COMPLEJO "JETHYS"
(LEPIDOPTERA: PAPILIONOIDEA; *Enantia*)
EN MÉXICO.**

AMÉRICA NITXIN CASTAÑEDA SORTIBRÁN

TESIS

**PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTORA EN ECOLOGÍA**

MÉXICO, D.F.

DICIEMBRE 1996

✓
**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.

ESTRUCTURA Y VARIACIÓN GENÉTICA EN EL COMPLEJO
“JETHYS” (LEPIDOPTERA: PAPILIONOIDEA, *Enantia*) EN
MÉXICO.

Dedico este trabajo a:

al amor de mis amores Armando Luis

a mi madre Esperanza

a mi hermana Xo

a Tona y Netza

a Meyali e Ireri

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quiero agradecer al Dr. Daniel Piñero, por la dirección del presente trabajo. El Dr. Piñero, me dedicó mucho de su tiempo y siempre fue paciente conmigo.

El comité Tutorial compuesto por el Dr. Piñero, el Dra. Elena Alvarez-Buylla, y el Dr. Jorge Llorente revisó y criticó los avances de este trabajo durante el proceso. A Jorge por inducirme a estudiar las mariposas y estar involucrado muy intensamente en la generación y elaboración del proyecto. A Elena, quien me ha brindado todo su apoyo gracias al cual pude realizar una estancia de investigación en la Universidad de Hawaii.

El jurado del examen compuesto por Dr. Daniel Piñero, Dra. Elena Álvarez-Buylla, Dr. Glenn Furnier, Dr. George Roderick, Dr. Luis Eguiarte y Dr. Alberto Ken Oyama por la revisión del manuscrito. En particular al George por permitirme trabajar en su laboratorio y mostrándose siempre solícito a mis necesidades en tierras lejanas, a Luis por estar siempre dispuesto a ayudarme y ser paciente conmigo, a Ken por dedicarme parte de su tiempo y por revisar con sumo cuidado la parte editorial.

A Valeria Souza quien me indujo a entrar en el posgrado en Ecología Básica, a Town por ayudarme en la elaboración del proyecto final.

En la búsqueda exhaustiva de Enantias me acompañaron: Jorge Llorente, Lalo Morales quien no solo me brindo su compañía, sino su amistad y en muchas ocasiones la frustración de no encontrar las mariposas la hizo menos triste. Armando Luis, quien me acompañó infinidad de veces y no cayó en la desesperación ante mi neura por encontrar enantias, Walter Shmith, Ernesto Vicente Vega cuyo nombre por poco provoca un divorcio, Linda Arteaga por ayudarme en la recolecta y darme hospedaje, Lamberto González, por ser tan hospitalario, Elleli Huerta quien tuvo la brillante idea de llevar su grabadora con lo que la salida se hizo más amable, Nidia Pérez,

Alejandra Vázquez me ayudo en el procesamiento de los datos y sufrió mucho con las "Fs", y realizo la mayor parte de las diapositivas, que por cierto le quedaron muy bien.. En el laboratorio, Nidia Pérez me enseñó la técnica de electroforesis en geles de almidón, y a correr el BYOSIS. En el laboratorio de Genética de la Conservación de la Universidad de Hawaii, Peter Follet y George Roderick me enseñaron la técnica de electroforesis en geles de acetato de celulosa.

A Alvaro Chaoés y Gaby Jiménez por resolver en múltiples ocasiones mis problemas con las computadoras.

A mis compañeros de generación del posgrado: Alejandro Morón, Horacio Paz, Humberto Berlanga, Alice Altesor, y Alberto Aldama. En especial a Alice por consentirme tanto en el curso de campo, a Alberto quien por ser tan buena onda.

A Jorge Soberón, Exequiel Ezcurra y Hugh Drummond, coordinadores del posgrado y a Elena Delgado y Carolina Espinosa, secretarias del mismo, por el apoyo académico y logístico. En particular quiero agradecer de una manera muy especial a Carolina que me ha resuelto muchos problemas prácticos y con la UACPyP.

A mis amigos del Laboratorio de Genética y Evolución : Nidia Pérez, Erika Aguirre, Liz Izquierdo, Carlos Fabián Vargas, Elleli Huerta, Rodolfo Salas, Fabiola, Marlene de la Cruz, César, por hacer más grata mi estancia en el laboratorio.

A Oscar Rodríguez por permitirme "flagelarlo" con chambitas.

A Virgilio, Ernesto, Gloria, Alicia, Carolina, Chelito y Paty por su apoyo en los trámites administrativos. En particular a Alicia quien ha sido muy solidaria conmigo y a Chelito por apoyarme siempre.

A mis amigos del Instituto, Nidia, Rubén, Betty, Vali, Gaby J., Leti R., Angeles, Rosalinda, Alejandra, Rosaura, Sofia, Sergio, Caroline, Alicia, Rodolfo S., Víctor, Pablo, Toño, Adriana, Memo, Eneida, Marcela, Roxana, Tino, Elsa, Amelia, Juan N. Juan F. con quien he compartido grandes momentos. En especial a Carlitos por estudiar infinidad de veces conmigo y prestarme ayuda siempre que lo necesite. A Juan Fornioni por ayudarme con las figuras.

Por su amistad y pasar ratos buenos y malos conmigo a Consuelo Bonfil por presionarme tanto para la culminación de la tesis, Pilar Rodríguez por compartir gratos momentos conmigo, Ella Vázquez por organizarme una despedida e ir a la casa siempre que la invite, Cristina Mourelle por sus invitaciones a comer y su apoyo moral, Alice Altesor, Erika Aguirre por permitirme compartir estos momentos de la gestación de su bebé y las idas a caminar, a Liz por dedicarme mucho de su tiempo, enchinarme con la tesis pero sobre todo por compartir tantas cosas y Gaby Aramoni, por ser tan solidaria y buena onda.

Quiero agradecer especialmente a Armando Luis por estar siempre a mi lado cuando lo he necesitado y por reconstruir el amor.

A mis maestros Jorge Llorente, Exequiel Ezcurra, Antonio Lazcano y Daniel Piñero por enseñarme tanto.

Quiero agradecer al CONACYT por haberme becado para estudiar el posgrado y a la UNAM que a través de su programa de apoyo al posgrado (PADEP) me financió parcialmente el trabajo de campo, al proyecto DGAPA IN-200394 por financiar parte del trabajo de campo.

A mi mamá Esperanza Sortibrán, a mis hermanos Tona y Netza por cuidarme siempre, a mi hermana Xo quien siempre me ha llamado, a mis sobrinos Ileri, Meyali, David, Sergio, Anani, Marbel, Alejandra y Abraham por darme momentos tan gratos. A mi abuela por apapacharme siempre, a mi tía Elia por su apoyo y a mi tía Lorenza quien ha sido un gran soporte para mí. A mis tías Hernández por los buenos momentos y las ricas comidas.

RESUMEN.....	1
ABSTRACT.....	2
CAPÍTULO I.....	3
INTRODUCCIÓN GENERAL.....	3
1.1 <i>Genética de poblaciones</i>	3
1.2 <i>Fuerzas evolutivas</i>	3
1.3 <i>Variación genética y electroforesis</i>	6
1.4 <i>Isoenzimas</i>	7
1.5 <i>Estructura genética de las poblaciones naturales</i>	7
1.6 <i>Estimadores usados en Genética de Poblaciones</i>	9
1.6.1 <i>Variación genética</i>	9
1.6.2 <i>Coefficiente de endogamia</i>	10
1.6.3 <i>Estadísticos F de Wright</i>	12
1.6.4 <i>Flujo génico, estimación indirecta de N_m</i>	14
1.6.5 <i>Aislamiento por distancia</i>	15
1.6.6 <i>Distancia e identidad genética</i>	16
1.7 <i>Filogenia</i>	18
1.7.1 <i>Estructura genética y filogenia</i>	18
1.7.2 <i>Filogenia como hipótesis evolutiva</i>	20
1.7.3 <i>Fenética versus cladística</i>	20
1.7.4 <i>Métodos de distancia</i>	21
1.7.5 <i>Métodos de parsimonia</i>	22
1.7.5.1 <i>Tipos de parsimonia</i>	23
1.7.5.2 <i>Confianza estadística de los árboles</i>	24
1.7.5.3 <i>Árboles de consenso</i>	24
1.7.6 <i>Filogenias con aloenzimas</i>	25

CAPÍTULO II	29
LAS MARIPOSAS: CLASIFICACIÓN, FILOGENIA, BIOLOGÍA, VARIACIÓN Y ESTRUCTURA	
GENÉTICA.	29
<i>INTRODUCCIÓN</i>	29
<i>2.1 Mariposas diurnas</i>	29
<i>2.1.1 Clasificación</i>	29
<i>2.2 Filogenia</i>	32
<i>2.3 Concepto de especie en mariposas</i>	33
<i>2.4 Biología de poblaciones en mariposas</i>	34
<i>2.5 Niveles de heterocigosidad en mariposas</i>	35
<i>2.6 Estructura genética en mariposas</i>	41
<i>2.7 Estimaciones del flujo génico en mariposas</i>	43
<i>2.7.1 Métodos directos</i>	43
<i>2.7.2 Métodos indirectos</i>	44
<i>2.8 Polimorfismos enzimáticos y selección</i>	48
<i>2.9 Distancias genéticas en mariposas y algunos insectos</i>	50

CAPÍTULO III	53
HISTORIA NATURAL, SISTEMÁTICA, DISTRIBUCIÓN Y FILOGENIA DEL COMPLEJO "JETHYS"	53
3.0 INTRODUCCIÓN.....	53
3.1 Origen del complejo "jethys".....	53
3.2 Sistemática del complejo "jethys".....	55
3.3 Historia natural de las especies que constituyen el complejo "jethys".....	59
3.4 Distribución de las especies que constituyen el complejo "jethys".....	62
3.5 Propuesta filogenética.....	68
3.6 MATERIAL Y MÉTODOS.....	69
3.6.1 Muestreo.....	69
3.6.2 Electroforesis.....	70
3.6.2.1 Electroforesis en acetato de celulosa.....	70
3.6.2.2 Electroforesis en almidón.....	70
3.7 ANÁLISIS DE DATOS.....	71
3.7.1 Diferenciación entre especies.....	71
3.7.2 Relaciones filogenéticas.....	72
3.7.2.1 Exploración inicial de las relaciones entre especies.....	72
3.7.2.2 Relaciones filogenéticas entre las especies.....	74
3.8 RESULTADOS.....	74
3.8.1 Análisis a nivel de especie (alelos compartidos).....	74
3.8.2 Análisis a nivel de población (diferenciación entre especies).....	78
3.8.2.1 Valores de F_{ST}	78
3.8.2.2 Análisis jerarquizado de la diferenciación.....	79
3.8.2.3 Medidas de distancia genética.....	80
3.8.3 Diferenciación en <i>E. mazai</i> . ¿Subespecies o especies?.....	81
3.8.4 Relaciones filogenéticas.....	85
3.8.4.1 Métodos de distancia.....	85
3.8.4.1.1 Cuatro loci.....	85
3.8.4.1.2 Diez loci.....	88
3.8.4.2 Métodos de Parsimonia.....	91
3.8.4.2.1 Cuatro loci (34 alelos o caracteres).....	93
3.8.4.2.2 Diez loci (53 alelos o caracteres).....	93
3.9 DISCUSIÓN.....	98
3.9.1 Unidades evolutivas.....	98
3.9.2 Los taxa se conservan tal como los propuso Llorente (1984).....	99
3.9.2 Diferenciación en <i>E. mazai</i> . ¿Subespecies o especies?.....	99
3.9.3 Relaciones filogenéticas.....	101

CAPÍTULO IV 103

ESTRUCTURA GENÉTICA, FLUJO GÉNICO Y PATRONES DE AISLAMIENTO POR DISTANCIA EN LAS POBLACIONES DE LAS ESPECIES QUE CONFORMAN AL COMPLEJO "JETHYS" 103

4.1 INTRODUCCIÓN..... 103

4.2 OBJETIVOS..... 106

4.3 MÉTODOS..... 106

4.3.1 Muestreo..... 106

4.3.2 Electroforesis..... 107

4.3.2.1 Electroforesis en acetato de celulosa..... 107

4.3.2.2 Electroforesis en almidón..... 107

4.4 ANÁLISIS DE DATOS..... 107

4.4.1. Variación genética..... 107

4.4.2. Coeficientes de endogamia y estadísticos *F* de Wright..... 108

4.4.3. Distancias e identidades genéticas..... 109

4.4.4. Aislamiento por distancia..... 109

4.5 RESULTADOS..... 109

4.5.1 Abundancia..... 109

4.5.2. Electroforesis..... 111

4.5.3 Variación genética..... 114

4.5.3.1 Número de alelos por locus..... 114

4.5.3.2 Variación dentro de las poblaciones..... 114

4.5.3.3 Heterogeneidad de las frecuencias alélicas entre poblaciones..... 116

4.5.4 Coeficientes de endogamia (*F*)..... 118

4.5.5. Estadísticos de Wright..... 120

4.5.6. Medidas de distancia genética y distancia geográfica..... 122

4.5.7 Aislamiento por distancia..... 126

4.8 DISCUSIÓN..... 132

4.8.1 Distribución altitudinal..... 132

4.8.2 Variación genética..... 133

4.8.3 Coeficientes de endogamia..... 134

4.8.4 Distancias genéticas, geográficas y flujo génico..... 136

4.8.5 Variación entre enzimas..... 138

4.8.6 Aislamiento por distancia..... 139

RESUMEN

Se investigó la estructura y la variación genética en poblaciones de las tres especies del género *Enantia* que constituyen al complejo "jethys" (Lepidoptera: Papilionoidea; Pieridae). en México. Se estudiaron para diez loci, doce poblaciones de *E. albania*, nueve de *E. mazai*, y tres de *E. jethys*. Las tres especies tienen aproximadamente el mismo número de alelos por locus (2) y altos niveles de heterocigosidad (0.156-0.358). Las poblaciones de *E. albania* y *E. jethys* presentan homogeneidad alélica posiblemente debida a altos niveles de flujo génico o a un origen muy reciente ($F_{ST} = 0.096$ y $F_{ST} = 0.044$ respectivamente). Las poblaciones de *E. mazai* presentan una mayor estructuración genética ($F_{ST} = 0.2325$). En esta especie, el flujo génico entre pares de poblaciones (promedio $Nm = 8.345$) está inversamente relacionada con la distancia geográfica entre poblaciones, de acuerdo al modelo de aislamiento por distancia.

Las relaciones filogenéticas entre las especies se examinaron empleando datos electroforéticos y se obtuvo que las poblaciones de las tres especies se diferencian claramente. Los métodos de distancia y de parsimonia para reconstruir la historia del grupo, mostraron congruencia indicando que las especies más cercanas son *E. mazai* y *E. jethys*.

ABSTRACT

Genetic structure and variation was analyzed in mexican populations of three species that constitute the "jethys" complex of *Enantia* (Lepidoptera: Papilionoidea; Pieridae). Twelve populations of *E. albania*, 9 of *E. mazai*, and 3 of *E. jethys* were studied for 10 enzyme loci. All three species have approximately the same number of alleles per locus (2) and high average heterozygosities (0.156-0.358). *E. albania* and *E. jethys* populations present allelic homogeneity due to high gene flow levels ($F_{ST} = 0.096$ and $F_{ST} = 0.044$ respectively). *E. mazai* populations have a greater genetic structure ($F_{ST} = 0.2325$). In this species, gene flow between population pairs (average $Nm = 8.345$) is inversely related with the geographical distance between populations according to an isolation by distance model. The phylogenetic relationships between the species that constitutes the "jethys" complex were analyzed using electrophoretic data, and it was observed the populations of the three species are well differentiated. Both distance and parsimony methods were congruent indicating that the more related species are *E. m. mazai* y *E. jethys*.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN GENERAL

1.1 Genética de poblaciones

El estudio del origen y dinámica de dicha variación es un elemento fundamental en el estudio de la evolución (Lewontin, 1974). La genética de poblaciones tiene como objetivo describir los niveles de variación genética dentro y entre poblaciones (a través de las frecuencias alélicas y genotípicas) y trata de explicar esta variación en términos de las fuerzas evolutivas (Hedrick, 1983).

La manera como se distribuye la variación genética dentro y entre poblaciones constituye su estructura genética e involucra el estudio espacial y temporal de las frecuencias genotípicas (Allendorf, 1983). Las interpretaciones de la estructura genética de las especies involucran dos aspectos relacionados entre sí: i) el filogenético, que explica cómo las distribuciones geográficas y ecológicas de los alelos reflejan la historia evolutiva entre las poblaciones bajo estudio y ii) el mecanístico, que nos permite determinar cuáles procesos evolutivos, o combinación de procesos han producido la distribución de alelos observada (Baughman et al., 1990).

1.2 Fuerzas evolutivas

El que un locus sea monomórfico o polimórfico depende de las fuerzas evolutivas que actúen sobre los individuos que porten diferentes alelos para ese locus. Las fuerzas evolutivas pueden tener efectos particulares como el incremento de la variación genética

(mutación) o decremento de la misma (deriva génica). La selección, flujo génico y los sistemas de apareamiento pueden incrementar o reducir los niveles de variación genética dependiendo de la situación en particular (Hedrick, 1983).

La mutación es la fuente primaria de variación genética. La variación genética se crea por cambios en el material genético y los cambios heredables constituyen las mutaciones (Hartl y Clark, 1989). Podemos considerar a las mutaciones en un sentido amplio, desde aquellas que afectan a las bases del ADN, hasta los cambios en los cromosomas (Ridley, 1993). Puesto que las tasas de mutación son típicamente muy pequeñas (en el orden de 10^{-4} a 10^{-6} mutaciones por gen por generación), la tendencia al cambio de las frecuencias como resultado de una mutación en el curso de unas cuantas generaciones es insignificante (Ayala y Valentine, 1979; Hartl y Clark, 1989). Por otra parte, los efectos acumulativos sobre largos períodos de tiempo pueden ser apreciables (Hartl y Clark, 1989).

La deriva génica consiste en el cambio en las frecuencias alélicas debido al azar como resultado del muestreo de gametos de generación en generación. La magnitud del cambio de las frecuencias alélicas en cada generación depende del tamaño efectivo de la población (Ayala y Valentine, 1979; Hedrick, 1983; Hartl y Clark, 1989). El tamaño efectivo de la población es el tamaño de una población ideal que tenga la misma magnitud de endogamia ó de deriva génica que la población que se está considerando (Kimura y Crow, 1963; Hartl y Clark, 1989). En términos simples, el tamaño efectivo de la población es el número de individuos que se reproducen, contribuyendo así con gametos a la siguiente generación. El resultado más importante de la deriva génica es la pérdida de heterocigosidad en las poblaciones (Hedrick, 1983).

Cuando el apareamiento entre los individuos no es al azar, sino que se da con mayor frecuencia entre parientes (endogamia) o entre individuos que no son parientes (exogamia), se genera una reorganización de los alelos dentro de los genotipos. En el

caso de la endogamia la frecuencia de homocigotos se incrementa y la frecuencia de heterocigotos se reduce relativa a las proporciones esperadas bajo apareamiento al azar (equilibrio de Hardy-Weinberg; Hedrick, 1983).

A menudo, las expresiones fenotípicas de varios genotipos incluyen diferencias en fertilidad y viabilidad. La selección natural es el proceso por el cual genotipos con mayor adecuación (i.e., mayor capacidad de sobrevivir y de reproducirse en un ambiente determinado), dejan en promedio más descendencia que genotipos con menor adecuación. Conforme los alelos favorables incrementan su frecuencia en la población, se forman más genotipos "mejor adaptados". Como resultado, los tipos y frecuencias de alelos en la población cambian para promover una mejor adaptación de la población al ambiente (Hartl y Clark, 1989). La capacidad diferencial de los genotipos parentales para contribuir con gametos funcionales y las tasas de sobrevivencia diferencial de varios gametos y/o cigotos podría cambiar las frecuencias génicas y genotípicas de la descendencia comparada con las de los progenitores (Mettler et al., 1988).

Flujo génico es un término colectivo que incluye a todos los mecanismos que resultan en el movimiento de genes de una población a otra, como el movimiento de gametos, la extinción y la recolonización de poblaciones enteras, o el movimiento de segmentos extranucleares de ADN, tales como mitocondrias, plásmidos y virus (Slatkin, 1985b). Estudios experimentales han mostrado que un flujo génico limitado y la deriva génica permiten la diferenciación genética entre poblaciones. Esta unión entre el flujo génico y la estructura genética ha sido establecida en poblaciones de plantas (Hamrick y Allard, 1972; Levin y Kerster, 1974) y de poblaciones de animales (Baughman et al., 1990; Caccone, 1985).

El flujo de genes afecta a todos los loci nucleares en el mismo sentido, pero cada locus y cada carácter fenotípico puede estar gobernado por diferentes regímenes selectivos y diferentes procesos mutacionales, dando como resultado que algunos loci pueden mostrar poca diferenciación geográfica mientras otros muestran una

diferenciación extrema (Slatkin, 1985b). Aunque el flujo génico puede restringir la evolución previniendo la adaptación a condiciones locales, también puede promoverla a través de la dispersión de nuevos genes y combinación de genes a través del área de distribución de las especies (Slatkin, 1987).

1.3 Variación genética y electroforesis

Uno de los resultados principales de los estudios de electroforesis es la extensa variación aloenzimática que se ha encontrado virtualmente en todas las poblaciones naturales estudiadas en diferentes organismos, desde bacterias y plantas, hasta animales vertebrados e invertebrados (Hedrick, 1983; Hartl y Clark, 1989). Los polimorfismos proteicos han sido utilizados para describir los cambios en las frecuencias alélicas en el tiempo y en el espacio (Murphy et al., 1990).

Los datos de frecuencias génicas a través del área de distribución de las especies proveen información valiosa acerca de la estructura genética dentro de las poblaciones, el flujo génico que existe entre ellas, y sus relaciones filogenéticas (Bonnell y Selander, 1974). También son útiles para inferir eventos históricos como “cuellos de botella” (reducciones drásticas en tamaño efectivo de una población que da origen a una nueva generación, Hedrick, 1983) así como su biogeografía histórica, es decir las explicaciones históricas de las distribuciones de los organismos, generalmente con respecto a procesos geológicos o evolutivos (Bonnell y Selander, 1974; Rosen, 1988). Desde principios de los 1960's hasta el presente muchos estudios evolutivos se han concentrado en obtener información genética de las poblaciones naturales de plantas y animales (Lewontin, 1974).

1.4 Isoenzimas.

Un método ampliamente usado para estudiar la variación genética de los organismos dentro y entre poblaciones es la electroforesis de proteínas, la cual tiene la ventaja de requerir relativamente poco tiempo y dinero comparado con las técnicas de análisis de sitios de restricción y secuenciación de ADN. Las proteínas son moléculas cargadas que pueden migrar en un campo eléctrico, donde proteínas con diferentes composiciones y conformación migran a diferentes distancias. Las enzimas son detectadas mediante la inmersión del gel (matriz) en un medio que contiene las condiciones de reacción para la enzima, tal que incorpore la tinción del producto final (Hoelzel y Dover, 1991). Las aloenzimas son variantes de polipéptidos representando diferentes alelos del mismo locus (Murphy et al., 1990).

Los genes que codifican proteínas tienen dos propiedades que les confieren ciertas ventajas como marcadores genéticos; la primera es que una fracción significativa de estos genes son polimórficos en la mayoría de los organismos y la otra es que estas diferentes formas o alelos generalmente son codominantes, lo que permite relacionar los fenotipos observados (electromorfos) con determinados genotipos (Weeden y Wendel, 1989).

1.5 Estructura genética de las poblaciones naturales.

Como mencioné anteriormente, la estructura genética de las poblaciones se refiere a la forma en la que se distribuye la variación genética dentro y entre las mismas (Allendorf, 1983). En muchas especies, las poblaciones están frecuentemente subdivididas en pequeñas unidades por factores ecológicos o de comportamiento, en estos casos la cantidad de similitud genética entre las partes puede diferir (Hedrick, 1983). Esta conexión genética depende de la migración genética efectiva o flujo de genes que tiene lugar entre los subgrupos. Cuando la población tiene subpoblaciones localizadas en las cuales existe deriva génica, o el apareamiento entre los individuos no es al azar a lo largo de la población, o si la migración no tiene probabilidades iguales a través de la población, se considera que la población está estructurada (Hedrick, 1983).

La estructura genética de una población quizás es uno de los elementos fundamentales de información para las especies amenazadas o en peligro de extinción. Cuando una especie se distribuye en poblaciones, la tarea es más sencilla si la variación genética se distribuye uniformemente entre las mismas, ya que podríamos elegir entre todas algunas para conservar. Cuando las poblaciones se encuentran diferenciadas genéticamente, al elegir una o varias de ellas, necesariamente se perderá la variación genética de las otras poblaciones que no está representada en las elegidas.

Para algunas especies, la población entera puede consistir de una sola unidad panmíctica (no hay subdivisiones dentro de la población, potencialmente todos los individuos se pueden entrecruzar); otras pueden consistir de una serie de subpoblaciones, cada una ampliamente aislada de otras subpoblaciones (el modelo de islas o el modelo stepping-stone; figuras 1 y 2) y otras pueden consistir de una población continua, pero los individuos dentro de ésta intercambian genes solamente con los organismos geográficamente próximos (el modelo de aislamiento por distancia) (Baverstok y Moritz, 1990).

Figura 1. Modelo de islas: en este modelo se considera que una población grande está dividida en muchas subpoblaciones dispersas geográficamente, como islas en un archipiélago. Se supone que todas las subpoblaciones intercambian genes en la misma magnitud, tal que la proporción de migrantes que entra en cada subpoblación cada generación es m . Suponiendo que existen k subpoblaciones, entonces la proporción de migrantes que entra de una población a otra es de $m(k-1)$ (Hedrick, 1983). Un ejemplo se muestra en la siguiente figura, donde $k=5$.

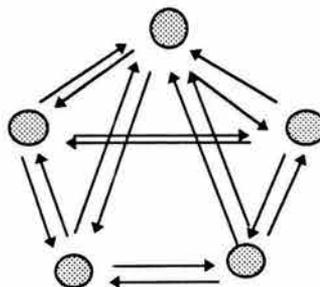
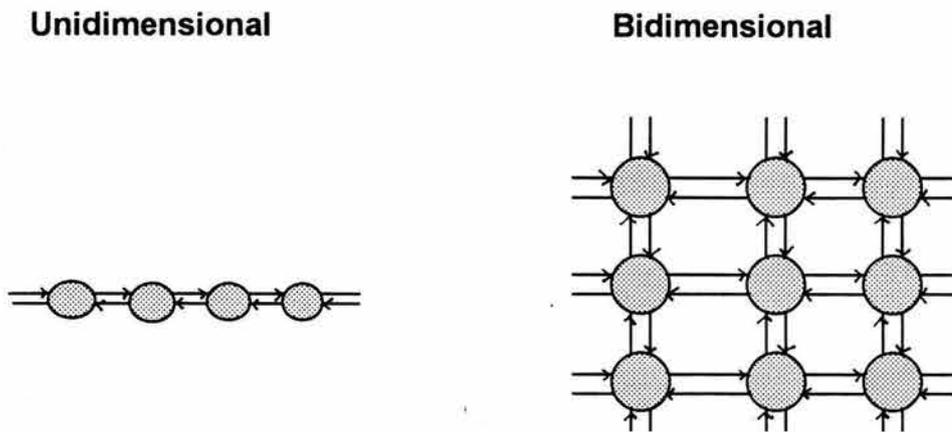


Figura 2. Modelo stepping-stone. Cuando las poblaciones están organizadas en colonias discretas o demos con migración entre ellas y sólo existe migración entre poblaciones adyacentes. El modelo stepping-stone puede ser uni o bidimensional como se muestra en la siguiente figura:



1.6 Estimadores usados en Genética de Poblaciones.

1.6.1 Variación genética.

Los índices más utilizados para conocer la variación genética dentro de una población son:

a) *La proporción de loci polimórficos.* Se dice que un locus es polimórfico si presenta más de un alelo. Puesto que en una población grande, virtualmente cada locus tiene más de un alelo presente, se toma un punto arbitrario para definir a un locus polimórfico (Crow, 1986). Los criterios más utilizados son el del 95 y 99%, es decir se dice que un locus es polimórfico si el alelo más común no excede el 95 o el 99%, respectivamente (Hedrick, 1983). Para estimar la proporción de loci polimórficos (P), para una población, se cuenta el número de loci que son polimórficos y se calcula la proporción de éstos con respecto al total: $P = x/m$, donde x es el número de loci polimórficos de una muestra de

m loci (Hedrick, 1983). Este índice toma valores entre 0 y 1. Toma el valor de cero cuando no existe variación genética, y aumenta conforme al incremento de la variación genética, hasta llegar al valor de uno en donde todos los loci analizados son polimórficos (Hartl y Clark, 1989).

b) *La heterocigosis promedio esperada*. La heterocigosis promedio esperada se refiere a la proporción estimada de locus que se espera sean heterocigos en un individuo promedio (H) (Hartl y Clark, 1989). Se puede definir para un locus como: $H = 1 - \sum p_i^2$, donde p_i es cada una de las frecuencias alélicas para este locus (Hedrick, 1983). Este índice toma valores que van de 0 a 1. Cuando no se presenta variación en ninguno de los loci estudiados toma el valor de 0 (Hartl y Clark, 1989).

c) *El promedio del número de alelos por locus A , y el promedio del número de alelos efectivos A_p* . A es simplemente el promedio de alelos por locus. A_p esta dado por la fórmula: $A_p = 1/(\sum p_i^2)$, donde p_i es la frecuencia alélica del i ésimo alelo de este locus. Este índice toma en cuenta la abundancia de cada alelo, los muy raros tienen poco peso y los comunes mucho (Hedrick, 1983).

1.6.2 Coeficiente de endogamia.

El grado de endogamia en una población comúnmente es medido por el coeficiente de endogamia F de Wright (1921), el cual expresa la cantidad de heterocigosidad perdida por el cruzamiento entre parientes (Mettler et al., 1988). El índice F , se define como: $F = 1 - (\text{proporción de heterocigos observados}/\text{proporción de heterocigos esperados})$. Este índice tiene un valor de 0 si la población se encuentra en el equilibrio de Hardy-Weinberg, dado que la heterocigosis observada es igual a la heterocigosis esperada, y puede tomar valores de -1 a +1. Es de -1 si existen exclusivamente individuos heterocigos en la población y de +1 si sólo se presentan individuos homocigos.

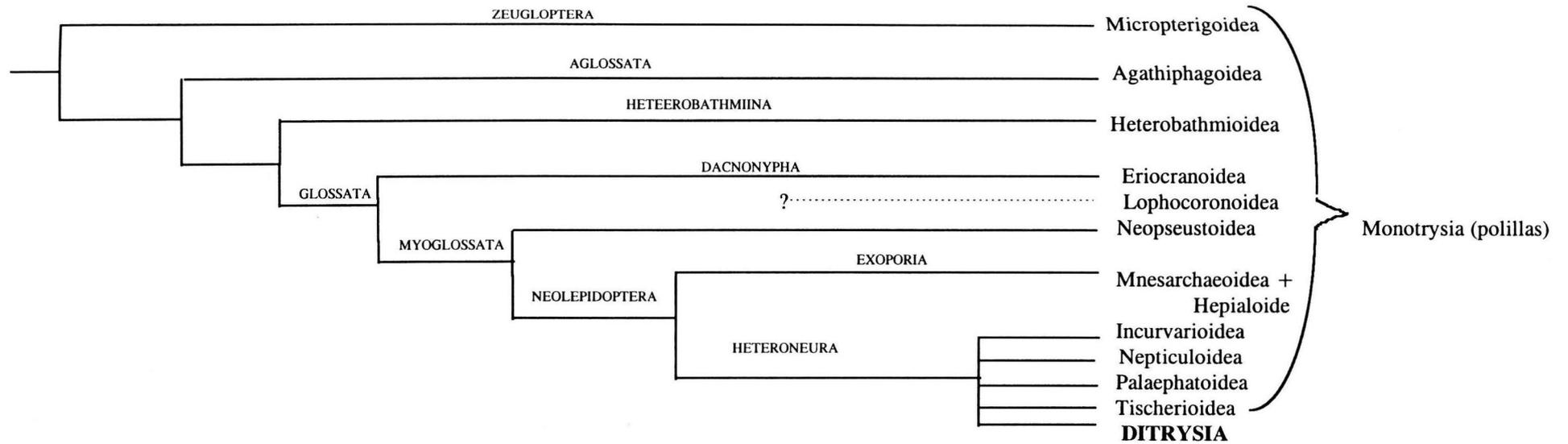


Figura 5. Cladograma de los principales linajes de Lepidoptera. (Scoble, 1992)

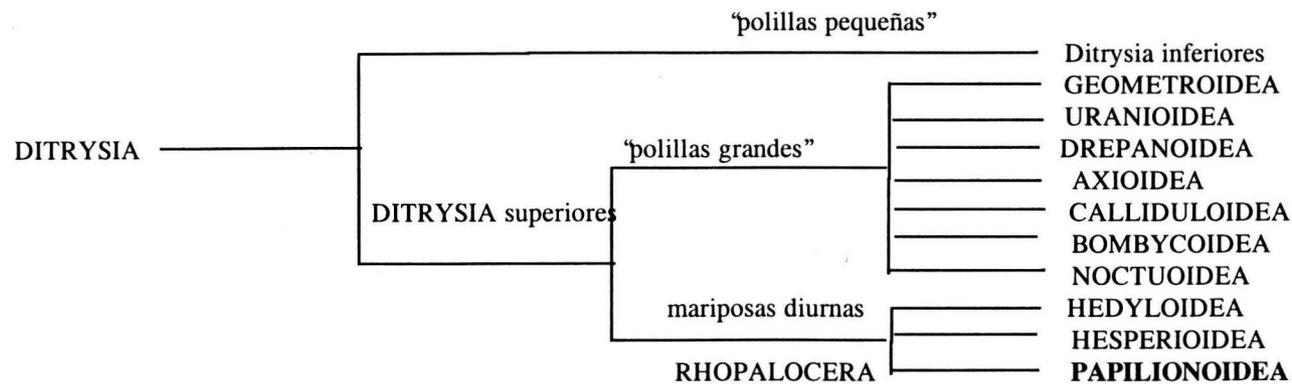


Figura 6. Ubicación de las mariposas diurnas dentro del orden Lepidoptera, sin intentar dar las relaciones filogenéticas entre las superfamilias (Scoble, 1992).



Las proporciones genotípicas en poblaciones con diferentes niveles de endogamia se presentan en el cuadro 1 y los valores de F calculados por varias generaciones de endogamia se presentan en el cuadro 2. La fórmula general de equilibrio de Wright, para las proporciones genotípicas de los siguientes genotipos, AA : Aa : aa es, $p^2 + Fpq : 2pq - F2pq : q^2 + Fpq$. Hay que notar que para una cantidad dada de endogamia, los heterocigotos se reducen por $F2pq$, y la mitad de ésta se adiciona a cada uno de los homocigotos. En una población sin endogamia F es igual a cero.

Además de expresar la endogamia promedio de todos los miembros de una población en una generación particular, el coeficiente de endogamia también es una medida de la probable identidad alélica de un sólo individuo endogámico. Por "identidad alélica" se entiende que los dos alelos presentes en un organismo diploide son idénticos por descendencia; es decir, que los dos gametos que forman el cigoto vienen de parientes y portan alelos que son productos replicados de un solo gen en un ancestro común.

Cuadro 1. Disminución de la heterocigosidad bajo autofertilización sistemática, empezando con una población en equilibrio ($p = q = 1/2$)*

Generaciones	Frecuencias genotípicas			F	q
	A/A	A/a	a/a		
0	1/4	1/2	1/4	0	1/2
1	3/8	1/4	3/8	1/2	1/2
2	7/16	1/8	7/16	3/4	1/2
3	15/32	1/16	15/32	7/8	1/2
4	31/64	1/32	31/64	15/16	1/2
n	$1 - (1/2)^{n+1}/2$	$(1/2)^n$	$1 - (1/2)^{n+1}/2$	$1 - (1/2)^n$	1/2
∞	1/2	0	1/2	1	1/2

* la frecuencia alélica no cambia con endogamia cuando toda la progenie endogámica se considera en conjunto. El coeficiente de endogamia, F , se incrementa con las generaciones hasta que todos los individuos son homocigos. Puesto que las frecuencias originales en cada alelo (p y q) son de 1/2, en este caso, se espera que cuando la F sea igual a uno, las proporciones de las dos clases de homocigos sean iguales (1/2). La aproximación al valor de uno es más lenta conforme el proceso de endogamia transcurre en las generaciones. Tomado de Mettler et al., 1988.

Cuadro 2. Frecuencias genotípicas en poblaciones con apareamiento al azar, sin endogamia, endogamia parcial, y fijación completa (Mettler et al., 1988).

Generaciones de endogamia	Frecuencias genotípicas			
	F	A/A	A/a	a/a
Ninguna (Hardy-Weinberg)	$F = 0$	p^2	$2pq$	q^2
Una o más (de acuerdo con la fórmula de equilibrio de Wright)	$1 > F > 0$	$p^2 + Fpq$	$2pq - 2Fpq$	$q^2 + Fpq$
Número infinito (completa homocigosidad)	$F = 1$	$p^2 + pq$	0	$q^2 + pq$

1.6.3. Estadísticos F de Wright.

Los estadísticos F son quizás la medida de diferenciación de la población más ampliamente usada; están basados en la partición de la varianza genética dentro y entre las poblaciones, midiendo el grado de endogamia y aislamiento en términos de la distribución de la variación genética (Costa y Ross, 1994). Estos estadísticos nos permiten analizar las proporciones de heterocigotos en tres niveles jerárquicos, dentro de cada subpoblación (F_{IS}), entre subpoblaciones (F_{ST}), y en la población en conjunto (F_{IT}).

Una población subdividida tiene tres distintos niveles de complejidad: individuos (I), subpoblaciones (S), y la población total (T). En términos de heterocigosidad son: H_I = la heterocigosidad de un individuo en una subpoblación, H_S = la heterocigosidad esperada de un individuo en una población equivalente con apareamiento al azar, H_T = la heterocigosidad esperada de un individuo en una población total equivalente con apareamiento al azar. H_I es la heterocigosidad observada promediada a través de todas las subpoblaciones. H_S representa el nivel de heterocigosidad que podría ser encontrado en una subpoblación si la subpoblación tuviese apareamiento al azar. H_T representa cual sería la heterocigosidad si todas las subpoblaciones fuesen puestas juntas y se aparearan al azar.

Para el caso de k subpoblaciones: $H_I = \Sigma H_i / k$, si $p_{i,s}$ es la frecuencia del i alelo, en la subpoblación s , y H_S es la heterocigosidad esperada en Hardy-Weinberg en la subpoblación s , entonces $H_S = 1 - \Sigma p_{i,s}^2$ donde la sumatoria es sobre todos los h alelos. H es el promedio de H_S tomado sobre todas las subpoblaciones. Finalmente si p_i es la frecuencia del alelo i , promediado sobre todas las subpoblaciones, entonces, $H_T = 1 - \Sigma p_i^2$. Los estadísticos F son calculados a partir de las frecuencias genotípicas en cada locus. F_{IS} mide la reducción relativa de la heterocigosidad con respecto a la esperada bajo apareamiento al azar. $F_{IS} = (H_S - H_I) / H_S$, donde H_S y H_I son las proporciones de heterócigos promedio observada y esperada, respectivamente, dentro de la subpoblación (Hartl y Clark, 1989). Toma un valor positivo cuando la heterocigosidad observada es menor que la esperada, o un valor negativo cuando hay un exceso de heterocigotos con respecto al equilibrio Hardy-Weinberg.

F_{IT} mide la reducción en la heterocigosidad de un individuo relativo a la población total; incluye la contribución debida al apareamiento al azar dentro de las subpoblaciones y la contribución debida a la subdivisión por sí misma ($F_{IT} = (H_T - H_S) / H_T$, donde H_S es la heterocigosidad observada en la subpoblación y H_T es la proporción de heterócigos esperada a nivel global. En términos simples, la F_{IT} mide la heterocigosidad de la población total como si se hubiera convertido en una sola unidad panmíctica (Crow, 1986).

F_{ST} mide la fijación relativa de alelos alternativos en diferentes subpoblaciones comparando el promedio de las heterocigosidades de las subpoblaciones con la heterocigosidad total esperada bajo apareamiento al azar. La magnitud de la F_{ST} por lo tanto depende de la cantidad de divergencia entre las subpoblaciones en las frecuencias alélicas $F_{ST} = (H_T - H_S) / H_T$, donde H_S es la proporción promedio de heterócigos esperada en la subpoblación y H_T es la proporción de heterócigos promedio esperada a

nivel global)(Wright, 1978; Hartl y Clark, 1989). Los estadísticos F están relacionados por la ecuación $(1-F_{IT}) = (1-F_{IS})(1-F_{ST})$ (Hartl y Clark, 1989).

Los estimadores F, theta y f (Weir y Cockerham, 1984) son equivalentes a F_{IT} , F_{ST} y F_{IS} de Wright (1978), y pueden considerar la posibilidad de diferentes tamaños de muestra en términos de las poblaciones observadas, individuos muestreados, loci registrados y alelos observados (Weir y Cockerham, 1984). Este modelo de muestreo considera lo siguiente: un número de poblaciones r , del mismo tamaño, han descendido en forma independiente de una sola población ancestral que estaba en equilibrio de ligamiento y en equilibrio Hardy-Weinberg. En consecuencia, las poblaciones se mantienen en las mismas condiciones, y las diferencias observadas se deben al muestreo genético entre generaciones y el muestreo estadístico de los individuos para observación (Weir y Cockerham, 1984).

1.6.4. Flujo génico, estimación indirecta de $N_e m$.

El flujo de genes es un componente fundamental de la estructura de las poblaciones puesto que determina el grado en el cual cada población local de una especie es una unidad evolutiva independiente. Si existe gran cantidad de flujo de genes entre las poblaciones, entonces las poblaciones en conjunto evolucionan juntas; pero si existe poco flujo de genes cada población evoluciona casi independientemente (Slatkin, 1994). El número de migrantes entrando y saliendo de cada población por generación se denota como $N_e m$ donde N_e es el tamaño efectivo de la población y m es la tasa de migración o la proporción de una población que migra por generación (Slatkin, 1985b, 1987; Hartl y Clark, 1989). Si $N_e m$ es mucho mayor a 1, el flujo de genes es superior a los efectos de la deriva y previene la diferenciación local. Si $N_e m$ es mucho menor a 1, la deriva actúa en cada población.

El método más usado para estimar el flujo de genes de forma indirecta es a partir de la F_{ST} de Wright (Slatkin, 1994). Wright (1951) supuso un modelo de islas, en el

cual un migrante de una población es igualmente probable de moverse a cualquier otra población. En el equilibrio, $F_{ST} \approx 1/(1 + 4N_e m)$; de este resultado se puede obtener una estimación de $N_e m$ a partir de la F_{ST} calculada con base en las frecuencias alélicas: $N_e m \approx 1/4(1/ F_{ST} - 1)$. Este método indirecto tiene la ventaja de incorporar todos los tipos de dispersión (eventos comunes e inusuales) y el promedio efectivo de la dispersión en el tiempo.

1.6.5. Aislamiento por distancia.

Un limitado flujo de genes entre las poblaciones permite la divergencia vía deriva génica y selección natural. Las consecuencias evolutivas de un flujo de genes limitado dependen del número de propágulos que se mueven entre las poblaciones y de las relaciones geográficas entre las poblaciones fuente y recipiente. En particular, la diferenciación se incrementa cuando los propágulos se mueven sólo entre poblaciones próximas (Hellerberg, 1994).

La frase “aislamiento por distancia” fue introducida por Sewall Wright (1943), para describir la acumulación de diferencias genéticas locales bajo dispersión geográficamente restringida. Wright originalmente visualizó este proceso ocurriendo dentro de poblaciones que se distribuyen de forma continua, pero un patrón similar de diferenciación surge entre poblaciones discretas cuando sólo las poblaciones inmediatamente adyacentes intercambian genes (el modelo “stepping stone”; Kimura y Weiss, 1964; Hellerberg, 1994).

Recientemente, Slatkin (1991, 1993), encontró que la F_{ST} puede proveer información más detallada acerca del aislamiento por distancia. La clave es calcular la F_{ST} por cada pareja de poblaciones muestreada y entonces usar el valor resultante para obtener una estimación de $N_e m$ (como se vio en el apartado anterior). Slatkin (1993), denotó a esta estimación como \hat{M} y demostró que ésta depende de las distancias geográficas entre pares de poblaciones. En un modelo stepping-stone unidimensional \hat{M}

$\approx 4N_e m/k$, donde k es la distancia que separa a dos poblaciones, y en un modelo stepping-stone bidimensional, $\hat{M} \approx 4N_e m/k^{1/2}$. Para distancias relativamente pequeñas, este autor demostró que para datos de frecuencias alélicas, puede calcularse el estadístico \hat{M} [$\hat{M} = (1/F_{ST}-1)/4$], y en poblaciones con dispersión restringida y en equilibrio génico, existe una relación decreciente simple entre \hat{M} , calculado por parejas de poblaciones, y la distancia geográfica que separa a las poblaciones en cada pareja. En el modelo de islas, en el equilibrio, este estadístico \hat{M} , estima el producto de los parámetros N_e (tamaño efectivo de la población) y m (tasa de migración) y es una medida útil del grado de flujo génico entre dos poblaciones.

Para discernir entre diferentes procesos geográficos de flujo génico de patrones espaciales de diferenciación, Slatkin y Maddison (1990) y Slatkin (1993) sugirieron el uso de M . Las simulaciones de Slatkin y Maddison (1990) demostraron, junto con el trabajo analítico de Slatkin (1991), que en un modelo stepping-stone unidimensional, la pendiente esperada de la regresión del logaritmo en base diez de \hat{M} ($\hat{M} \log_{10}$) versus el logaritmo en base diez de la distancia de separación ($d \log_{10}$), es - 1; es decir, el flujo de genes entre localidades se correlaciona inversamente con el número de pasos que separan a las poblaciones. Bajo un modelo stepping-stone bidimensional, la pendiente esperada de la regresión es aproximadamente - 0.5, es decir, el flujo de genes varía como el cuadrado inverso del número de pasos que separan a las poblaciones.

1.6.6. Distancia e identidad genética.

Además de los estadísticos F de Wright, se pueden estimar la identidad y distancia genética de las poblaciones para describir la estructura genética de las poblaciones. La distancia genética es el grado de diferencias génicas entre poblaciones o especies medidos por una cantidad numérica (Nei, 1987).

La identidad genética de Nei, I , la cual se puede definir como $I = J_{xy}/(J_x J_y)^{1/2}$, donde J_{xy} es la probabilidad de escoger un par de alelos idénticos, uno de la población X

y otro de la Y ($J_{xy} = \sum p_{ix}p_{iy}$). J_x y J_y son las probabilidades de escoger un par idéntico dentro de la población ($J_x = \sum p_{ix}^2$ y $J_y = \sum p_{iy}^2$; p_{ix} y p_{iy} son las frecuencias de los i alelos en las poblaciones X y Y). A partir de la identidad I se puede obtener la distancia genética de Nei (1972): $D = -\ln(I)$. Las identidades y distancias se pueden obtener a partir de pares de poblaciones o especies (Hedrick, 1983).

La distancia genética es el grado de diferenciación genómica entre pares de poblaciones o especies (Nei, 1987). Nei (1972, 1978) propuso la medida de distancia genética en la cual se puede estimar el número de sustituciones de codones por locus entre dos poblaciones. Utilizando esta medida de distancia Nei (1987), intentó relacionar la dinámica de las frecuencias génicas en la población, con la sustitución de codones en los genes. Es posible estimar el número de diferencias en codones por locus a partir de los datos de polimorfismo electroforético.

El principio básico de este método es que cualquier diferencia alélica manifestada en la movilidad electroforética, es causada por al menos una diferencia en codones a nivel del gen y así, el número promedio de diferencias de codones por locus puede ser estimado a partir de datos de frecuencias alélicas. Puesto que este número es una medida directa de las diferencias genéticas, un estadístico que mida estas diferencias es una buena medida de la distancia genética. La estimación del número de diferencias en codones obtenidas por electroforesis es una medida se refiere a aquellas diferencias en codones que son detectables por esta técnica.

La electroforesis detecta cerca de $\frac{1}{4} \sim \frac{1}{3}$ de las sustituciones de aminoácidos en las proteínas, por lo que para estimar el número de diferencias en codones de estos datos, debemos multiplicar las distancias genéticas obtenidas por 3 o 4. La distancia genética puede tomar valores de 0 a infinito. Si las frecuencias alélicas son iguales, D será igual a cero, y su valor irá aumentando conforme las frecuencias alélicas se vayan diferenciando. La identidad genética toma valores de 0 a 1; es de 1, si las poblaciones tienen frecuencias alélicas idénticas y de cero si no comparten alelos (Nei, 1987).

Para una proteína dada el número de sustituciones de aminoácidos en un par de especies se incrementa aproximadamente linealmente con el tiempo de divergencia de dichas especies (Margoliash, 1963). El reloj molecular puede ser utilizado para obtener estimaciones gruesas de los tiempos evolutivos de divergencia de varios organismos y también para construir árboles evolutivos (Nei, 1987). Aunque mediante la electroforesis solo se detecta una fracción de los cambios de aminoácidos en las proteínas, se ha mostrado que muchas poblaciones naturales tienen un alto grado de variación genética a nivel de proteínas (Harris, 1966; Lewontin y Hubb, 1966; Lewontin, 1974, 1991; Buth, 1984).

1.7 Filogenia.

1.7 1. Estructura genética y filogenia.

Hennig (1966) describió el análisis filogenético como un método que trata fundamentalmente con la recuperación de las relaciones descendientes entre los organismos. Este autor hizo una distinción entre las relaciones que se dan entre organismos de linajes separados genéticamente (filogenia) y las que se presentan entre linajes que se entrecruzan o recombinan (tocogenia). Uno de los prerequisites para que los dos linajes se consideren separados es que no exista flujo génico entre los organismos que los conforman, es decir que existan barreras que impidan que exista el intercambio de genes por lo que los diferentes linajes conforman diferentes especies. Templeton (1981) clasificó a los procesos de especiación en divergentes y transilentes. En la divergencia las barreras evolucionan de manera continua (pero no necesariamente lenta) con alguna forma de selección natural siendo la fuerza evolutiva que conduce al aislamiento reproductivo. La especiación transilente involucra una discontinuidad en la cual alguna clase de barrera selectiva es superada por otras fuerzas evolutivas (cuadro 3).

En particular, aunque en todos los mecanismos de especiación es importante la estructura genética de la población (cuadro 3), Templeton (1981) menciona su especial importancia en la divergencia adaptativa. Este tipo de especiación ocurre cuando la población se divide en dos subpoblaciones por barreras extrínsecas al flujo de genes (no necesariamente geográficas), tal que las dos pozas génicas evolucionan independientemente. La estructura ancestral de la población es un importante determinante de la velocidad de divergencia. Si la población ancestral está ampliamente distribuida y el flujo génico es limitado puede surgir un incipiente aislamiento reproductivo entre las razas localmente adaptadas. La estructura de la población también es importante después de que la separación ha ocurrido. Wright (1932) predijo que la rápida divergencia adaptativa ocurre cuando la población está subdividida en pequeños demos con un flujo restringido de genes entre ellos.

Cuadro 3. Tipos de especiación (tomado de Templeton, 1981).

Tipo de especiación	Mecanismo básico
1. Divergencia	
a. Adaptativa	Formación de barreras extrínsecas seguidas por microevolución independiente
b. Clinal	Selección sobre una <i>clina</i> * con aislamiento por distancia
c. Hábitat	Selección sobre hábitats múltiples sin aislamiento por distancia
2. Transilencia	
a. Genética	Efecto fundador causando una rápida deriva en un sistema genético previamente estable
b. Cromosómica	El entrecruzamiento y la deriva causan la fijación de mutaciones cromosómicas
c. Mantenimiento de híbridos	Hibridación de especies parentales incompatibles seguida por selección del mantenimiento del estado híbrido.
d. Recombinación híbrida	Hibridación de especies parentales incompatibles seguida de entrecruzamiento y selección para estabilizar los recombinantes.

* Este término se utiliza para describir a una característica que cambia de forma continua a lo largo de un gradiente (Huxley, 1939). Una *clina* está formada por una serie de poblaciones contiguas en las cuales una característica dada cambia gradualmente (Mayr y Ashlock, 1991).

1.7.2 Filogenia como hipótesis evolutiva.

Cuando inferimos una filogenia, hacemos una estimación de una historia evolutiva basados en la información disponible. El principal objetivo de los estudios filogenéticos es el reconstruir la historia evolutiva de un grupo de organismos (Hillis, 1987). Esta historia es una hipótesis de relaciones ancestro - descendiente (Swofford y Olsen, 1990). Los estudios sobre las relaciones evolutivas entre los organismos tradicionalmente se han hecho con base en la morfología de los mismos (Hillis, 1987). En la actualidad, los datos moleculares también han mostrado ser útiles para inferir filogenias (aloenzimas, hibridación ADN-ADN, métodos inmunológicos, análisis de fragmentos de restricción y secuenciación de ADN; Buth, 1984; Li y Graur, 1991; Avise, 1994). Las diferentes aproximaciones con distintos tipos de caracteres proveen información complementaria en muchas ocasiones (Li y Graur, 1991). Así por ejemplo, la información paleontológica es la única que puede proveer el marco de tiempo para estos estudios (Li y Graur, 1991).

1.7.3 Fenética versus cladística.

Una controversia en taxonomía ha sido la frecuente disputa entre los "cladistas" y los "feneticistas". El término cladismo puede ser definido como el estudio de las rutas de evolución. Los cladistas están interesados en la historia evolutiva de un grupo y la describen a través de la secuencia de ramificación del árbol filogenético (Sneath y Sokal, 1973; Forey et al., 1995). La red que expresa tales relaciones ancestro-descendiente se llama cladograma, es decir, se refiere a la topología de un árbol filogenético con raíz (Li y Graur, 1991). Los cladistas utilizan métodos de máxima parsimonia, los cuales consisten en encontrar el árbol que contenga el menor número de cambios evolutivos.

Por otra parte, la fenética es el estudio de las relaciones entre grupos de organismos con base en el grado de similitud entre ellos, sea esta similitud molecular, fenotípica o anatómica. Sin embargo, hay varios métodos que se basan en el grado de similitud o diferencias entre los taxa estudiados que no suponen una relación directa entre la similitud y las relaciones evolutivas (el método de distancia transformada y

neighbor-joining), por lo que actualmente (en particular con caracteres moleculares) se prefiere distinguir entre métodos de distancia y de parsimonia. Los métodos de distancia utilizan matrices de distancia o similitud y los de parsimonia los caracteres y sus estados (Li y Graur, 1991).

1.7.4 Métodos de distancia.

Estos métodos reducen los datos a una matriz de distancias entre taxa, y nos permiten construir un árbol a partir de esa matriz. Se caracterizan por la utilización de matrices de distancia más que por sus objetivos o suposiciones biológicas (Maddison y Maddison, 1992). Tienen la ventaja de mantener la independencia de los alelos al transformar las frecuencias alélicas en unidades de distancia genética.

Se han propuesto un gran número de medidas de distancia para transformar las frecuencias alélicas y genotípicas a distancias genéticas (Wright, 1978). La distancia comúnmente usada es la de Nei (1972, 1978). La distancia genética de Nei intenta medir el número de sustituciones de codones por locus, que han ocurrido después de la divergencia entre un par de poblaciones (taxa) (Swofford y Olsen, 1990). Esta interpretación es válida sólo si la tasa de sustitución génica por locus es uniforme a través de los loci y de los linajes (Hillis, 1984). Existen también varias formas de agrupamiento a partir de las distancias genéticas; aquí describimos las que se utilizan más: UPGMA y el método de neighbor-joining.

UPGMA (unweighted pair group method using arithmetic average). En el UPGMA se busca en la matriz de distancia el elemento que presente la menor distancia, y los OTUs involucrados se unen en un nodo interno que se dibuja en una posición adecuada a lo largo del eje de distancias. Cada vez que se selecciona un elemento de la matriz se construye una nueva con un número de OTUs igual al anterior menos uno (puesto que se toman en conjunto los OTUs que se han unido en el agrupamiento). Se revisa la matriz nuevamente y se busca el siguiente elemento más pequeño. En cada ciclo del proceso de

agrupamiento, los OTUs son agrupados de acuerdo a la distancia promedio más pequeña de los taxa involucrados (Avise, 1994). La principal suposición de este método de agrupamiento, es que la tasa de substitución de genes es constante a lo largo de todas las ramas del dendrograma (Nei, 1987; Avise, 1994) .

Neighbor-joining. Este es un algoritmo para inferir un árbol aditivo. Está conceptualmente relacionado con el UPGMA, pero permite tasas desiguales de cambio molecular entre las ramas. En términos prácticos no supone que todos los linajes han divergido en iguales cantidades. Esto lo hace construyendo en cada paso del análisis una matriz de distancias transformadas que tiene el efecto de ajustar la longitud de las ramas entre cada par de nodos. El árbol se construye uniendo los pares de nodos menos distantes en la matriz de distancias transformada (Swofford y Olsen, 1990; Avise, 1994).

Métodos Fitch-Margoliash (1967). El objetivo de estos métodos es encontrar el árbol el cual minimice la siguiente suma de cuadrados:

$$\text{suma de cuadrados} = \sum \sum n_{ij} (D_{ij} - d_{ij})^2 / D_{ij}$$

donde D es la distancia observada entre las especies i y j y d es la distancia esperada, calculada como la suma de las longitudes de los segmentos de el árbol desde la especie i hasta la especie j. Y n, es el número de veces que cada distancia ha sido replicada. En el caso general a n se le da el valor de uno. En el programa PHYLIP (Felsenstein, 1991), tanto el método FITCH como el KITSCH, llevan a cabo la suma de cuadrados antes descrita, pero el KITSCH supone “un reloj molecular” (tasas de cambio constantes a lo largo de las ramas) y el FITCH no.

1.7.5 Métodos de parsimonia.

El principio de máxima parsimonia involucra la identificación de un árbol que requiere el mínimo número de cambios evolutivos para explicar las diferencias observadas entre los

taxa estudiados. Frecuentemente se encuentra más de un árbol con el mismo número mínimo de cambios (Felsenstein, 1983; Li y Graur, 1991).

Para inferir un árbol de máxima parsimonia, se identifican los caracteres informativos (es decir, aquellos caracteres que favorecen algunos árboles sobre otros). Después, para cada árbol posible se calcula el número mínimo de cambios de cada caracter informativo. Finalmente, se suma el número de cambios sobre todos los caracteres informativos para cada árbol y se escogen los árboles con el menor número de cambios evolutivos (transformación de un estado de caracter a otro) requeridos para explicar un conjunto de datos. Un árbol que minimiza el número total de pasos también minimiza el número de pasos "extra" (homoplasias) necesarias para explicar los datos (Maddison y Maddison, 1992).

1.7.5.1 Tipos de parsimonia.

Los métodos de parsimonia comprenden un grupo con varias suposiciones acerca de la transformación de los estados de caracter. Los algoritmos empleados con mayor frecuencia y sus suposiciones son los siguientes:

- a) **Parsimonia de Wagner** (Farris, 1970). Este enfoque permite la libre reversibilidad de los estados de caracter en el árbol, con cambios en cualquier dirección igualmente probables (Avice, 1994). Esta aproximación es adecuada bajo la suposición de que las probabilidades de que un caracter cambie sean simétricas (i.e., la probabilidad de transformación del estado 0 al 1, sea equivalente al cambio del estado 1 al 0)(Swofford y Olsen, 1990).
- b) **Parsimonia Dollo** (Farris, 1977). Se permite que cada estado de caracter se origine una sola vez en el árbol, y cualquier homoplasia requerida toma la forma de reversiones a la condición más ancestral (i.e., paralelismos o convergencias no son permitidos). (Swofford y Olsen, 1990). Este método es adecuado cuando las probabilidades de cambio entre los estados de caracter son altamente asimétricas

(Avice, 1994). Por ejemplo, puesto que una mutación en cualquier nucleótido de un sitio de restricción elimina la enzima de reconocimiento, la pérdida de un sitio de restricción es más probable que su ganancia (Templeton, 1983; Avice, 1994).

- c) **Parsimonia Camin-Sokal** (1965). Esta forma de parsimonia supone que todo cambio es irreversible. El método no es muy usado con datos moleculares puesto que la mayoría de los datos probablemente viola esta suposición (Avice, 1994).

1.7.5.2 Confianza estadística de los árboles.

Para estimar la confianza estadística de una hipótesis filogenética obtenida mediante cualquiera de los tres tipos de búsquedas, se puede usar la técnica de "bootstrap" (Li y Zharkikh, 1994), la cual es un método de remuestreo. El remuestreo se hace a partir del conjunto original de datos. Los caracteres son remuestreados con reemplazamientos hasta que el conjunto de datos tenga el tamaño original, entonces se lleva a cabo la reconstrucción del árbol. El nivel de confianza para una hipótesis filogenética, puede ser estimado por el porcentaje de veces que la hipótesis es sustentada entre el número de réplicas de "bootstrap".

1.7.5.3 Árboles de consenso.

Una forma para resolver el problema de tener múltiples árboles igualmente parsimoniosos es construir árboles de consenso, éstos combinan la información contenida en dos o más diferentes árboles en uno solo.

- a) **Consenso estricto**. Contiene solo aquellos grupos que aparecen en todos los árboles rivales (Sokal y Rohlf, 1981; Page, 1989). Puede ser considerado el más conservador de las estimaciones de consenso. Si tenemos un árbol que hipotéticamente relaciona A y B como más cercanos entre sí con respecto a C (fig. 3a), y otros dos árboles apoyan la hipótesis de que B y C están más estrechamente relacionados que con A (fig. 3b y

3c), entonces el consenso estricto generará una tricotomía, es decir un árbol no resuelto (fig. 3e).

- b) **Consenso de mayoría.** Los árboles de consenso de mayoría operan con base en “la regla de mayoría” (Margush y McMorris, 1981). Los árboles de consenso pueden ser inconsistentes con uno o más de los árboles originales igualmente parsimoniosos. el árbol de consenso de mayoría tendrá la topología de la mayoría de los árboles (fig. 3d) (Wiley et al., 1991).

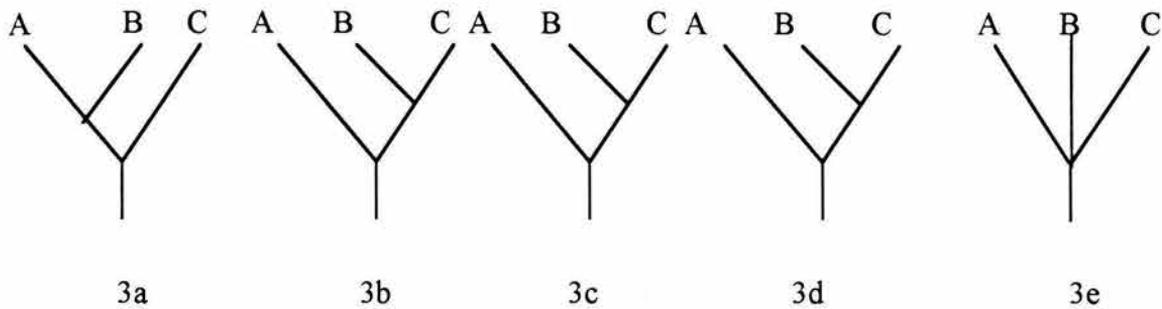


Figura 3. Tres árboles igualmente parsimoniosos (a-c), consenso de mayoría (d) y estricto (e) para los taxa A, B, y C.

1.7.6 Filogenias con aloenzimas.

Durante los 70's y 80's, la forma predominante de analizar las aloenzimas consistía en obtener una matriz de distancias y posteriormente realizar un análisis de agrupamiento (Swofford y Olsen, 1990). Con el desarrollo de los métodos basados en los estados de carácter, se planteó el usar las frecuencias de los alelos o su presencia/ausencia. Cuando los alelos se toman como carácter, su presencia/ausencia (Mickeyvich y Johnson, 1976) o su frecuencia se toma como estados de carácter. Este procedimiento no cumple con la suposición de independencia de los caracteres. En el caso de las frecuencias alélicas en un locus en un taxón dado, su suma debe ser igual a uno; si la frecuencia de un alelo aumenta, disminuye la de otro. Esta propiedad conduce a problemas, por ejemplo, cuando los alelos (usados como carácter) se someten a análisis de máxima parsimonia, se infiere frecuentemente que los ancestros no contienen alelos (codificación

presencia/ausencia) o la suma de las frecuencias no es igual a uno para algunos loci. (figura 4).

(A)

Taxón	Frecuencias alélicas					Presencia /ausencia				
	a	b	c	d	e	a	b	c	d	e
A	0.8	0	0	0	0.2	1	0	0	0	1
B	1.0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
C	0	0.5	0	0.5	0	0	1	0	1	0
D	0	0	1.0	0	0	0	0	1	0	0
E	0	0	1.0	0	0	0	0	1	0	0

(B)

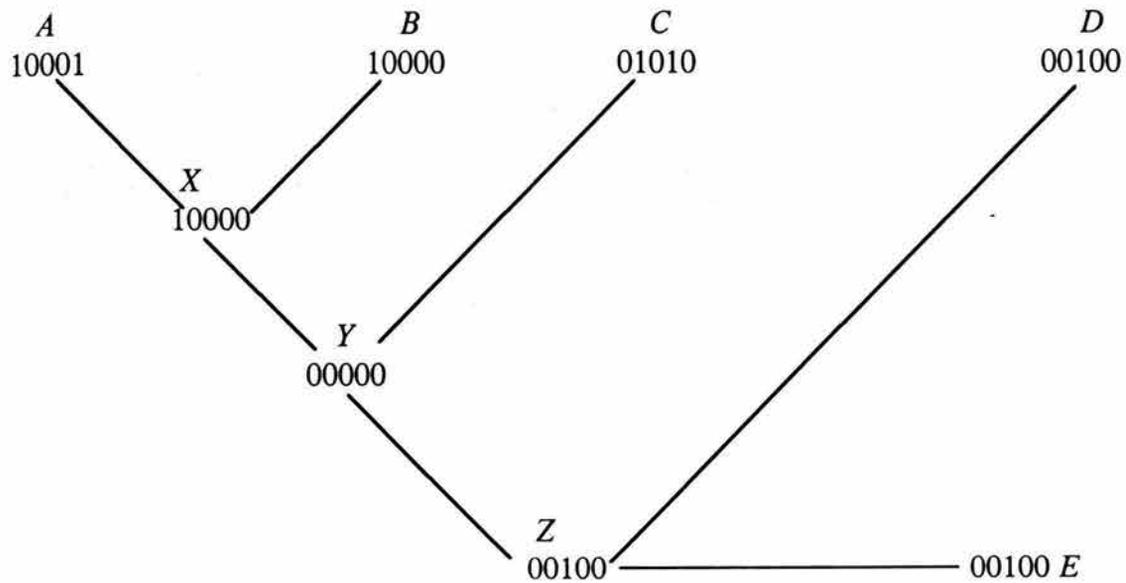


Figura 4. Demostración de uno de los problemas con la codificación de "alelos independientes"(A) Matriz resultante de las frecuencias alélicas y de la codificación presencia /ausencia (B) La reconstrucción más parsimoniosa (tomado de Swoford, et al., 1996).

Si los alelos indicados en la figura 4a se codifican como presentes o ausentes y son tratados como caracteres independientes, la forma más parsimoniosa de reconstrucción (bajo la parsimonia de Wagner) no asigna alelos al taxón ancestral *Y*. Un ejemplo similar se presenta si se usa la frecuencia de los alelos en lugar de su presencia /ausencia, en cuyo caso, la reconstrucción más parsimoniosa asigna a las frecuencias ancestrales una suma menor de uno.

Dadas las dificultades antes mencionadas Buth (1984) apoyan una propuesta que reconoce al locus como caracter y la composición alélica en cada locus en el taxón (i.e., alelos o combinación de alelos presente), como los estados de caracter. Por ejemplo, si algunos de los taxa están fijos para el alelo *a* o para el alelo *b*, mientras que otros son polimórficos para ambos alelos, entonces se reconocen tres estados: “*solo a*”, “*solo b*”, y “*a más b*”. Los estados de caracter resultantes se mantienen desordenados o se ordenan en alguna progresión lógica para su análisis subsecuente.

Rogers (1984, 1986) y Swofford y Berlocher (1987) han desarrollado métodos de análisis que usan las frecuencias de alelos observadas directamente, el análisis está basado en los caracteres y no requiere la recodificación de los mismos. El método desarrollado minimiza la cantidad total de cambios de las frecuencias en un árbol, y restringe el arreglo de las frecuencias alélicas. Para un locus particular, exige que las frecuencias alélicas en cada nodo interno, existan en el “espacio de las frecuencias alélicas” (en el cual la suma de las frecuencias alélicas es igual a uno). Se pueden elegir diferentes medidas de distancia.

Algunos autores (Mickey y Johnson, 1976) consideran que la presencia o ausencia de un alelo, tiene mayor importancia evolutiva que su frecuencia, puesto que esta última está sujeta a modificaciones por selección o deriva génica. En algunos casos, se conoce que las frecuencias alélicas varían temporalmente sobre periodos de tiempo de pocos años, y esta observación también ha sido utilizada para cuestionar la relevancia de las frecuencias alélicas en la filogenia (Crother, 1990).

Swofford et al. (1996), argumentan que las frecuencias proveen una forma de pesar la presencia/ausencia de alelos particulares. Por ejemplo, si un alelo fuese detectado esporádicamente en los taxa analizados, pero nunca en frecuencias mayores a 0.04, se dudaría respecto a la importancia de la presencia compartida de dicho alelo en esos taxa, puesto que podría fácilmente estar presente en otros taxa con similares frecuencias, pero no haberse detectado por un error de muestreo. Por otra parte un alelo que está fijo o casi fijo, es probablemente más indicativo de relaciones.

CAPÍTULO II

LAS MARIPOSAS: CLASIFICACIÓN, FILOGENIA, BIOLOGÍA, VARIACIÓN Y ESTRUCTURA GENÉTICA.

INTRODUCCIÓN.

2.1 Mariposas diurnas.

2.1.1 Clasificación.

Linneo (1758), en la décima edición del *Systema Naturae*, dio la primera gran clasificación del orden Lepidoptera. Linneo (1758), reconoció tres principales divisiones de los Lepidoptera que son la base de los nombres de las cuatro actuales superfamilias: Papilionoidea, Sphingoidea, Bombycoidea, Noctuoidea, Geometroidea, Tortricoidea, Pyraloidea, Tineoidea y Alucitoidea.

Linneo basó su clasificación en características de las antenas y las alas, particularmente la posición de las alas en el momento de descanso de las mariposas, y en si los insectos volaban de noche o de día. Actualmente todavía se distinguen a las mariposas que vuelan durante el día o diurnas y a las que lo hacen principalmente durante la noche (mariposas nocturnas o polillas).

Probablemente la principal contribución al orden hecha posteriormente a Linneo fue la de Börner (1925, 1939) quien propuso una división fundamental de los Lepidoptera en Monotrysis y Ditrysis con base en la estructura de los genitales femeninos. Los Monotrysis que incluyen solamente el 5% de los Lepidoptera no son un grupo monofilético. Pero los Dytrisia que incluyen al 95% de los Lepidoptera, se reconocen como un grupo natural (i.e. monofilético)(Scoble, figura 5 y 6).

Los Dytrisia se distinguen por que las hembras presentan dos aberturas separadas en sus genitales, una para el apareamiento y otra para la oviposición. Dentro de los Dytrisia se encuentran los Rhopalocera que incluyen a las mariposas diurnas (o verdaderas mariposas) y que se considera un grupo monofilético (figura 6).

Así vemos que el orden Lepidoptera, comprende a las mariposas que usualmente vuelan al atardecer o durante la noche (polillas) y a las mariposas que vuelan durante las horas de luz solar (mariposas diurnas). En lo subsecuente nos referiremos a las mariposas diurnas como mariposas y a las nocturnas como polillas. En las figuras 5 y 6, se muestran los principales linajes de los lepidópteros, se aprecia que una parte substancial del orden lo conforman las polillas, en tanto que las mariposas diurnas comprenden solamente cerca del diez por ciento del orden. Como vimos anteriormente, el término “mariposa” se refiere a los Rhopalocera y es generalmente aplicado a los miembros de las superfamilias Hesperioidea y Papilionoidea. Así ropalóceros es sinónimo de mariposas. Los miembros de la superfamilia Hedyloidea también son considerados mariposas por Scoble (1986), y al resto de las mariposas se les denomina “polillas” o “mariposas nocturnas”. Es difícil dar una definición clara de “mariposa” y el problema se ha acentuado con la inclusión de la superfamilia Hedyloidea, la cual se encontraba dentro de los Geometroidea. A continuación se presentan algunas características de las mariposas que reflejan esta dificultad (New, 1991):

- a) Las mariposas son activas durante el día y las polillas son activas durante la noche. Muy pocas mariposas son nocturnas, aunque algunos hespéridos y ninfálicos son crepusculares.
- b) Las mariposas nunca tienen antenas plumosas pero la masa antenal puede no estar bien definida y puede estar representada tan sólo por un gradual engrosamiento preapical. Ciertas polillas tienen antenas que se engrosan hacia la punta.
- c) Cuando descansan las mariposas tienen sus alas cerradas verticalmente por arriba de sus cuerpos. Las polillas comúnmente extienden sus alas horizontalmente a lo largo de sus cuerpos, sin embargo hay excepciones a ambas generalizaciones, en el caso de las

mariposas los hespéridos y algunos licénidos habitualmente extienden sus alas ampliamente.

2.2 Filogenia.

A continuación se presenta una propuesta de la filogenia de las mariposas, aunque existen discrepancias en las relaciones o *status* de algunos grupos, por ejemplo, la familia Hesperiiidae está considerada por Ackery, (1984) dentro de los Papilionoidea, en tanto que Miller (1987) y Scoble (1992) la consideran aparte conformando la superfamilia Hesperioidea (figuras 6 y 7).

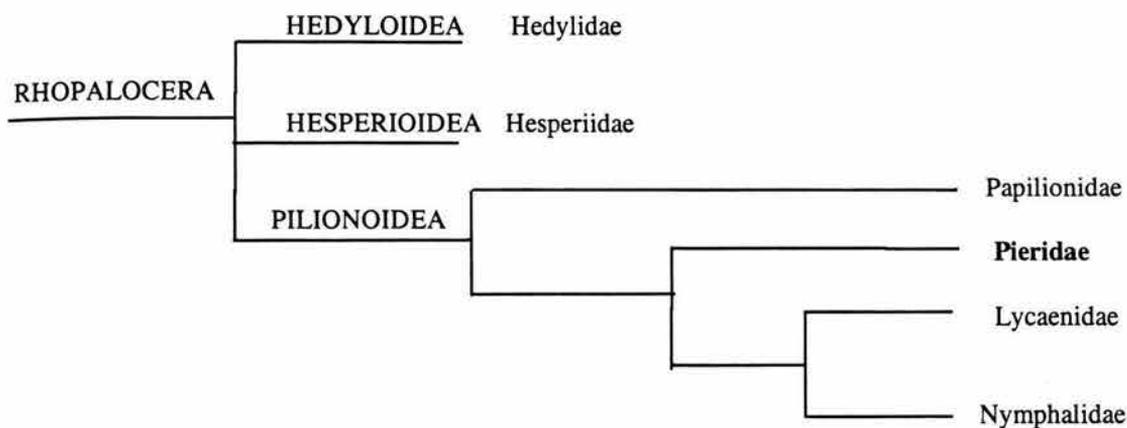


Figura 7. Filogenia de las familias de mariposas (Según Ackery, 1984).

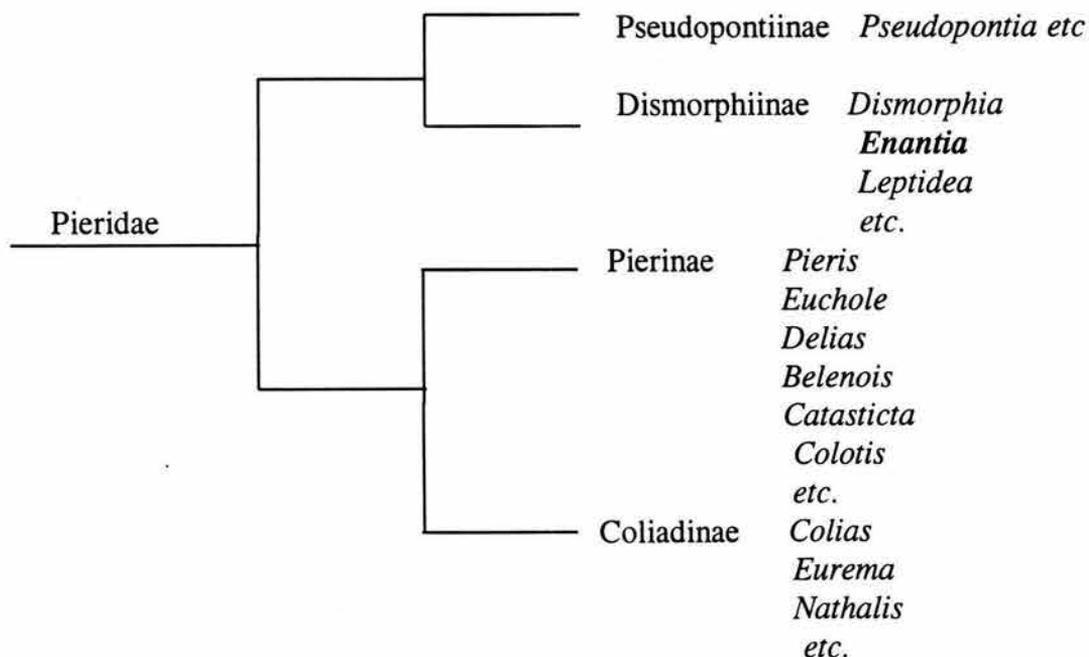


Figura 8. Filogenia de la familia Pieridae (Ehrlich y Ehrlich, 1967)

2.3 Concepto de especie en mariposas.

De todas las categorías taxonómicas, la más importante es la especie, considerada como la unidad básica en taxonomía, biología evolutiva y ecología (Crisci, 1994). Existen varios conceptos de especie y cual de ellos usar es un problema todavía no resuelto. En mariposas el concepto de especie generalmente empleado es el concepto de especie biológica, el cual se define como: *Una especie es un grupo de poblaciones que se entrecruzan naturalmente y están aislados reproductivamente de otros grupos* de acuerdo con Mayr (1963). Esta definición es difícil de aplicar, puesto que no se realizan pruebas de aislamiento reproductivo entre los individuos de diferentes poblaciones. El aislamiento geográfico se toma con frecuencia como prueba de aislamiento reproductivo, pues se infiere que individuos de poblaciones muy distantes no tienen la posibilidad de entrar en contacto físico (New, 1991).

El concepto de especie evolutiva (Simpson, 1961), el cual es ampliamente usado por los cladistas no ha sido muy utilizado. El concepto fue modificado por Wiley (1978) y está definido como: *una especie evolutiva es un linaje de poblaciones ancestro-descendiente que mantiene su identidad de otros linajes y tiene su propio destino histórico y tendencias evolutivas* (Wiley, 1978). El linaje se refiere a una serie de poblaciones que comparten una historia de descendencia no compartida por otras poblaciones (Wiley, 1981).

En la práctica, las especies de mariposas se distinguen principalmente por las estructuras genitales y los patrones de coloración de las alas, siendo los patrones de venación alar importantes para la clasificación a nivel de familia (Scoble, 1992). Los ejemplares de museos han sido la materia prima para el estudio y descripción de las nuevas especies, a partir de su morfología, aunque existen algunos ejemplos en los que se ha intentado asignar un nuevo *status* taxonómico a través de las aloenzimas (Geiger y Shapiro, 1986; Shapiro y Geiger, 1986).

2.4 Biología de poblaciones en mariposas.

La biología de las poblaciones consiste de dos partes estrechamente interrelacionadas: la demográfica y la genética. La estructura demográfica esta determinada por todos los procesos asociados con el nacimiento, muerte y dispersión, incluyendo los sistemas de apareamiento y de historias de vida (la historia de vida de un organismo está compuesta por sus patrones de crecimiento, diferenciación celular, almacenamiento de energía y reproducción; Begon et al., 1986). La estructura genética es la forma en la cual se distribuye la variación genética dentro y entre poblaciones. Al describir la estructura genética de las poblaciones, damos el primer paso para entender que fuerzas evolutivas han prevalecido en la evolución de las poblaciones de los organismos (Allendorf, 1983; Slatkin, 1994).

Mientras que el éxito reproductivo en las hembras adultas de las mariposas depende de su habilidad para localizar y usar sitios apropiados para la oviposición, el de los machos depende de su habilidad para encontrar y aparearse con hembras fértiles (Shreeve, 1992). Para cumplir con este propósito los adultos deben utilizar los recursos del hábitat, tal como alimento y sitios de percha, y durante el proceso mantener una adecuada reserva de calor para estar activos así como para evadir a los depredadores. Así, el área ocupada por una población de adultos debe consistir de al menos cuatro categorías funcionales de hábitat: áreas de apareamiento, áreas de oviposición, áreas de forrajeo, y refugios o áreas de percheo.

Para algunas poblaciones estos recursos ocurren dentro de los hábitats, pero para la mayoría ellos están en algún grado segregados, necesitando el movimiento de los adultos dentro del hábitat para el éxito reproductivo. Las conductas territoriales entre los machos también pueden afectar el movimiento de los mismos. Todas las mariposas son móviles, pero aquellas que se encuentran en hábitats donde todos sus requerimientos se presentan juntos y cuyos hospederos son plantas perennes o permanecen durante varias generaciones de mariposas tienden a ser sedentarias (como por ejemplo *Satyrium pruni*, *Cupido minimus*). Estos individuos raramente se mueven de una colonia a otra. Dada su baja movilidad estas especies tienen marcadas estructuras poblacionales. Por otro lado,

especies como *Pieris brassicae* o *Inachis io* las cuales usan hábitats temporales y plantas hospederas de corta vida tienen estructuras más abiertas. Las delimitaciones de las poblaciones en estos casos son difíciles dado el movimiento de los adultos entre los hábitats (Shreeve, 1992).

El movimiento de los individuos de una población a otra puede tener efectos significativos en la estructura genética de las poblaciones. El movimiento a gran escala de individuos fértiles puede resultar en el rompimiento del aislamiento genético. En contraste la ausencia de flujo génico (con frecuencia como resultado de la fragmentación y destrucción del hábitat) puede tener importantes consecuencias en la adaptación local de las poblaciones. El flujo génico es un componente principal en la estructura genética de las poblaciones (como se puntualizó en la sección 1.6.4 del capítulo I) puesto que determina el grado en el cual cada población local de una especie es una unidad evolutiva independiente (Slatkin, 1985).

Por la gran importancia que tiene el flujo de genes entre las poblaciones éste se ha intentado estimar en mariposas directamente a partir de las medidas de dispersión de los adultos o indirectamente a través del estudio de la diferenciación genética de las poblaciones. A continuación se darán algunos ejemplos en donde se ha estudiado la estructura demográfica y/o genética en poblaciones de mariposas, así como los niveles de variación encontrados en las mismas.

2.5 Niveles de heterocigosidad en mariposas.

Graur (1985), estudió los niveles de heterocigosidad en varios órdenes de insectos y en algunos subórdenes (cuadro 4) y encontró que en promedio los himenópteros presentan niveles de heterocigosidad esperadas menores que el resto de los insectos. Además, encontró que los tres órdenes más prósperos de insectos en la naturaleza, en términos del número de especies y tamaños de las poblaciones, también son los más variables genéticamente a nivel de población (Diptera, Coleoptera y Lepidoptera).

Cuadro 4. Heterocigosis promedio esperada para insectos (tomada de Graur, 1985)

Categoría de insecto	No. de especies	\bar{H}_{esp}
Todos los insectos	188	0.107 (.005)
Excluyendo a <i>Drosophila</i>	157	0.101 (.006)
Diploidia		
Excluyendo <i>Drosophila</i>	127	0.116 (.006)
Orthoptera	25	0.076 (.009)
Hemiptera	24	0.104 (.017)
Homoptera	6	0.098 (.026)
Heteroptera	18	0.107 (.022)
Coleoptera	5	0.191 (.032)
Lepidoptera	34	0.145 (.014)
Diptera	70	0.124 (.007)
<i>Drosophila</i>	31	0.135 (.011)
Otros dípteros	39	0.115 (.009)
Haplodiploidia		
(Hymenoptera)	30	0.036 (.004)
Solitarias	14	0.045 (.005)
Avispas	10	0.048 (.005)
Abejas	3	0.047 (.012)
Eusociales	16	0.028 (.005)
Primitivas	5	0.027 (.010)
Avispas	3	0.027 (.016)
Abejas	2	0.022 (.015)
Avanzadas	11	0.031 (.006)
Abejas	2	0.000 (.000)
Hormigas	9	0.034 (.006)
Todas las avispas	13	0.044 (.006)
Todas las abejas	7	0.026 (.010)

* los errores estándar aparecen entre paréntesis

Kitching (1985) estudió mediante electroforesis en geles de almidón la variación aloenzimática en doce especies de mariposas diurnas, la mayoría de ellas pertenecientes a la familia Danainae (los datos obtenidos por este autor se incluyen en el cuadro 5). Kitching (1985) encontró altos valores de heterocigosidad en la mayoría de las especies, y mencionó que éstos, pueden reflejar tamaños efectivos de población altos, y en la única especie que presentó un valor promedio de heterocigosidad bajo (*Danaus affinis*, $\bar{H} = 0.04$, cuadro 5) propuso que se puede deber a un efecto fundador o a un cuello de botella reciente. Kitching (1985), estudió a las poblaciones de *Danaus plexippus* anteriormente estudiadas por Eanes y Koehn (1978), y encontró que con cinco años de diferencia entre las recolectas, las frecuencias alélicas promedio para todos los loci son muy similares en ambos

estudios, por lo que él supone que las causas de la estructura genética determinan una estabilidad en las frecuencias aloenzimáticas.

Finalmente Kitching (1985), sugiere la existencia de una asociación entre el área de distribución de una especie y su grado de polimorfismo enzimático. Entre mayor sea el área mayor cantidad de polimorfismo se encontrará, si la especie tiene amplia distribución, las poblaciones pueden estar en mayor o menor grado diferenciadas, provocando que en conjunto la especie posea un mayor polimorfismo que en especies restringidas una área pequeña. En ese estudio este autor encontró que las especies que ocurren en áreas geográficas amplias, sin formar razas locales o subespecies (*D. chrysipus*) tienen heterocigosidades promedio mayores que aquellas especies que incluyen muchas razas locales (*D. affinis*, *Euploea mulciber*). Es decir a mayor fragmentación mayor polimorfismo enzimático.

En varios estudios se ha encontrado que especies de lepidópteros que presentan una amplia área de distribución, tienen heterocigosidades promedio altas (McKechnie et al., 1975; Angevine y Brussard 1979; Daly y Greeg 1985; Pashley et al., 1985; cuadro 5), y en algunos casos se ha encontrado cierto grado de fragmentación y diferenciación entre las poblaciones (Pashley, et al., 1985).

Soulé planteo tres condiciones necesarias para que se presenten altos niveles de heterocigosidad: 1) tamaños de población altos, 2) un largo período de tiempo desde el último cuello de botella en la población, y 3) una tasa de evolución relativamente baja. Al parecer estas condiciones se presentan en los lepidópteros que muestran altos niveles de variación genética (Brittnacher et al., 1978; Turner et al., 1979; Kitching, 1985).

Los bajos niveles de heterocigosidad reportados en algunas especies de lepidópteros, se han encontrado en poblaciones que han experimentado una reducción drástica de su tamaño (Harrison et al., 1983; Kitching, 1985) o en poblaciones pequeñas (Britnahcer et al., 1978). En otros casos en donde se ha reportado bajos niveles de variación aloenzimática (Pahsley, 1983; Geiger y Shapiro 1986), el número de individuos estudiados ha sido escaso (menos de 15 individuos) por lo que probablemente los valores obtenidos están sesgados y representan errores de muestreo.

Cuadro 5. Algunos estimadores de la variación genética en mariposas: porcentaje de loci polimórficos para 21 especies; heterocigosis promedio observadas en 52 especies; heterocigosis promedio esperadas en 35 especies y coeficientes de endogamia (F) en 16 especies. Entre paréntesis se muestra la desviación estándar de los promedios.

Especie	# loci	% P	\overline{H}_{obs}	\overline{H}_{esp}	F	Familia	Superfamilia	Región	Referencia
<i>Heliothis zea</i>	22	86	0.27	0.327	0.17	Noctuidae	Noctuoidea	EU	Sluss et al., 1978
<i>H. virescens</i>	19	89	0.33	0.39	0.15	Noctuidae	Noctuoidea	EU	Sluss et al., 1978
<i>Speyeria adiaeste</i>	16	27.27	0.075	0.084	0.11	Nymphalidae	Papilionoidea	Costa Sur de California EU	Brittnacher et al., 1978
<i>S. atlantis irene</i>	16	45.45	0.067	0.089	0.25	Nymphalidae	Papilionoidea	Sierra Nevada EU	Brittnacher et al., 1978
<i>S. callipe callipe</i>	16	63.63	0.133	0.137	0.03	Nymphalidae	Papilionoidea	Costa Norte de California EU	Brittnacher et al., 1978
<i>S. cybele leto</i>	16	27.27	0.089	0.087	0.02	Nymphalidae	Papilionoidea	Sierra Nevada EU	Brittnacher et al., 1978
<i>S. coronis coronis</i>	16	45.45	0.141	0.109	0.30	Nymphalidae	Papilionoidea	Sierra Nevada EU	Brittnacher et al., 1978
<i>S. egleis egleis</i>	16	54.54	0.133	0.126	0.055	Nymphalidae	Papilionoidea	Sierra Nevada EU	Brittnacher et al., 1978
<i>S. hydaspe purpurascens</i>	16	54.54	0.118	0.113	0.044	Nymphalidae	Papilionoidea	Costa Norte de California EU	Brittnacher et al., 1978
<i>S. mormonia arge</i>	16	45.45	0.137	0.136	0.007	Nymphalidae	Papilionoidea		Brittnacher et al., 1978
<i>S. nokimis apacheana</i>	16	0.09	0.118	0.029	0.17	Nymphalidae	Papilionoidea	Sierra Nevada EU	Brittnacher et al., 1978
<i>S. zerene zerene</i>	16	54.54	0.137	0.106	0.02	Nymphalidae	Papilionoidea	Sierra Nevada EU	Brittnacher et al., 1978
<i>Anthocaris julia</i>	9	33	0.028	0.019	0.47	Pieridae	Papilionoidea		Geiger y Shapiro, 1986
<i>A. sara</i>	9		0.091	0.117	0.22	Pieridae	Papilionoidea		Geiger y Shapiro, 1986
<i>A. stella</i>	9		0.107	0.120	0.89	Pieridae	Papilionoidea		Geiger y Shapiro, 1986
<i>Lymantria dispar</i>	20		0.034	0.061		Lymantriidae	Noctuoidea		Harrison et al., 1983
<i>Solenobia triquetrella</i>	16			0.230		Tortricidae	Tortricoidea		Lokki et al., 1975
<i>Clepsis clemensiana</i>	15			0.131		Tortricidae	Tortricoidea		Pashley, 1983
<i>C. persicana</i>	15			0.155		Tortricidae	Tortricoidea		Pashley, 1983
<i>Cydia caryana</i>	15			0.101		Tortricidae	Tortricoidea		Pashley, 1983
<i>C. lautiscula</i>	15			0.031		Tortricidae	Tortricoidea		Pashley, 1983
<i>C. membrosa</i>	15			0.052		Tortricidae	Tortricoidea		Pashley, 1983
<i>C. pomonella</i>	15			0.145		Tortricidae	Tortricoidea		Pashley, 1983
<i>Ecdyolopha mana</i>	15			0.000		Tortricidae	Tortricoidea		Pashley, 1983
<i>Pectinophora gossypiella</i>	31			0.324		Tortricidae	Tortricoidea		Bartlett, 1981
<i>Archips argyrospilus</i>	15			0.112		Tortricidae	Tortricoidea		Pashley, 1983
<i>Argirotaenia quercifoliana</i>	15			0.155		Tortricidae	Tortricoidea		Pashley, 1983
<i>Melissopus latiferreanus</i>	15			0.125		Tortricidae	Tortricoidea		Pashley, 1983
<i>Ptycholoma peritana</i>	15			0.118		Tortricidae	Tortricoidea		Pashley, 1983
<i>P. virescana</i>	15			0.189		Tortricidae	Tortricoidea		Pashley, 1983
<i>Choristoneura retiniana</i>	18			0.164		Tortricidae	Tortricoidea		Stock y Castroville, 1981

Continuación del cuadro 5.

Especie	# loci	% P	\bar{H}_{obs}	\bar{H}_{esp}	F	Región	Referencia	
<i>C. occidentalis</i>	15-18			0.136		Tortricidae	Tortricoidea	Stock y Castroville, 1981
<i>C. fumiferana</i>	18			0.171		Tortricidae	Tortricoidea	Stock y Castroville, 1981
<i>C. biennis</i>	18			0.134		Tortricidae	Tortricoidea	Stock y Castroville, 1981
<i>C. lambertiana</i>	15			0.199		Tortricidae	Tortricoidea	Stock y Castroville, 1981
<i>Speyeria zerene bremeri</i>	16	36.36	0.104			Nymphalidae	Papilionoidea	Costa Norte de California EU Brittnacher et al., 1978
<i>S. zerene conchylatus</i>	16	36.36	0.078			Nymphalidae	Papilionoidea	Sierra Nevada EU Brittnacher et al., 1978
<i>S. zerene</i>	16	63.63	0.149			Nymphalidae	Papilionoidea	Costa Norte de California EU Brittnacher et al., 1978
<i>Speyeria liliana</i>	16	54.54	0.146			Nymphalidae	Papilionoidea	Costa Norte de California EU Brittnacher et al., 1978
<i>S. snyden</i>	16	45.45	0.094			Nymphalidae	Papilionoidea	Sierra Nevada EU Brittnacher et al., 1978
<i>Boloria improba</i>		25.6	0.0645			Nymphalidae	Papilionoidea	
<i>Boloria titania</i>		58.9	0.157			Nymphalidae	Papilionoidea	
<i>Spodoptera frugiperda</i>	22	71.2	0.150			Noctuidae	Noctuoidea	Pashley et al., 1985
<i>A. Stella</i>			0.26			Nymphalidae	Papilionoidea	Kenia Kitching, 1985
<i>A. Stella</i>			0.19			Nymphalidae	Papilionoidea	Tailandia Kitching, 1985
<i>Acraea necoda</i>			0.10			Nymphalidae	Papilionoidea	Etiopia Kitching, 1985
<i>Euploea mulciber</i>			0.11			Nymphalidae	Papilionoidea	Malasia Kitching, 1985
<i>Parantica melaneus</i>			0.15			Nymphalidae	Papilionoidea	Malasia Kitching, 1985
<i>Parantica sita</i>			0.10			Nymphalidae	Papilionoidea	Malasia Kitching, 1985
<i>Tirumala petiverana</i>			0.15			Nymphalidae	Papilionoidea	Nigeria Kitching, 1985
<i>Danaus plexippus</i>			0.17			Nymphalidae	Papilionoidea	Estados Unidos Kitching, 1985
<i>Danaus plexippus</i>			0.19			Nymphalidae	Papilionoidea	Australia Kitching, 1985
<i>Danaus chysippus</i>			0.23			Nymphalidae	Papilionoidea	Australia Kitching, 1985
<i>Danaus chysippus</i>			0.26			Nymphalidae	Papilionoidea	Kenia Kitching, 1985
<i>Danaus chysippus</i>			0.19			Nymphalidae	Papilionoidea	Tailandia Kitching, 1985
<i>D. genutia</i>			0.23			Nymphalidae	Papilionoidea	Tailandia Kitching, 1985
<i>D. melanippus</i>			0.18			Nymphalidae	Papilionoidea	Malasia Kitching, 1985
<i>D. philene</i>			0.17			Nymphalidae	Papilionoidea	Kitching, 1985
<i>D. affinis</i>			0.04			Nymphalidae	Papilionoidea	Este de Malasia Kitching, 1985
<i>D. gilippus</i>			0.20			Nymphalidae	Papilionoidea	Kitching, 1985
<i>D. chrysippus</i>			0.23			Nymphalidae	Papilionoidea	Africa Kitching, 1985
<i>Heliothis armigera</i>	26		0.11			Noctuidae	Noctuoidea	Australia Daly y Gregg, 1985

Continuación del cuadro 5.

Especie	# loci	% P	\bar{H}_{obs}	\bar{H}_{esp}	F	Región	Referencia
<i>H. punctigera</i>	26		0.11			Noctuidae Noctuoidea Australia	Daly y Gregg, 1985
<i>Heliconius erato</i>			0.24			Nymphalidae Papilionoidea Panamá, Trinidad y Oeste de Ecuador	Turner et al., 1979
<i>H. melpomene</i>			0.15			Nymphalidae Papilionoidea Panamá, T y Oeste de Ecuador	Turner et al., 1979
<i>H. aliphera</i>			0.11			Nymphalidae, Papilionoidea Panamá y Este de Ecuador	Turner et al., 1979
<i>H. atthis</i>			0.17			Nymphalidae Papilionoidea Oeste de Ecuador	Turner et al., 1979
<i>H. clysonymus</i>			0.20			Nymphalidae Papilionoidea Oeste de Ecuador	Turner et al., 1979
<i>H. numata</i>			0.12			Nymphalidae Papilionoidea Venezuela y Este de Ecuador	Turner et al., 1979
<i>H. sara</i>			0.09			Nymphalidae Papilionoidea Panamá, Trinidad y Oeste de Ecuador	Turner et al., 1979
<i>Dryas iulia</i>			0.14			Nymphalidae Papilionoidea Panamá, Trinidad, Este y Oeste de Ecuador	Turner et al., 1979
<i>Euphydryas. editha</i>			0.18			Nymphalidae Papilionoidea Centro de California	McKechnie et al., 1975
<i>E. chalcedona</i>			0.26			Nymphalidae Papilionoidea Centro de California	McKechnie et al., 1975
<i>Lethe eurydice</i>			0.17			Nymphalidae Papilionoidea	Angevine y Brussard, 1979
<i>Lethe appalachia</i>			0.15			Nymphalidae Papilionoidea	Angevine y Brussard, 1979
Promedios			0.143 (.061)	0.139 (.080)	0.193 (.224)		

En el cuadro seis se aprecia que el número de familias estudiadas tanto para las mariposas como para las polillas es muy pequeño. De las tres superfamilias de mariposas solo se ha estudiado una, y de las 37 superfamilias de polillas solo se ha estudiado una. Las familias estudiadas para mariposas son Nymphalidae y Pieridae, y para polillas son Noctuidae, Tortricidae y Lymantriidae. Aunque las heterocigosidades promedio para todas las familias son grandes, en particular para la familia Noctuidae los valores son muy altos (0.358); sin embargo hay que tomar en cuenta que el número de especies estudiadas para esta familia es muy pequeño.

Cuadro 6. Algunos estimadores de la variación genética en mariposas promedios por familia para el porcentaje de loci polimórficos, heterocigosis promedio observadas, heterocigosis promedio esperadas y coeficientes de endogamia (F). Entre paréntesis se muestra la desviación estándar de los promedios.

Familia	Superfamilia	# sps	# loci	% P	\bar{H}_{obs}	\bar{H}_{esp}	F
Pieridae	Papilionoidea	3	—	—	.075 (.042)	.085 (.057)	.052 (.34)
Nymphalidae	Papilionoidea	32	—	—	.167 (.055)	—	—
Nymphalidae	Papilionoidea	10	16 (0)	41.82 (18.75)	.112 (.026)	.101 (.032)	.100 (.105)
Noctuidae	Noctuoidea	2	20.5 (2.12)	87.5 (2.12)	.3 (.042)	.358 (.014)	.16 (.044)
Tortricidae	Noctuoidea	19	—	—	.141 (.071)	—	—
Lymantriidae	Noctuoidea	1	20	—	.034	.061	—

2.6 Estructura genética en mariposas.

En los lepidópteros la estructura genética se ha estudiado principalmente en especies económicamente importantes como lo son las plagas de cultivos y algunas especies migratorias (Pashley, 1985), aunque existen algunos estudios que han investigado las bases selectivas para polimorfismos específicos y eventos de biogeografía y especiación de algunos grupos. La estructura genética de las poblaciones ha sido inferida a partir de la distribución geográfica de las frecuencias alélicas.

En la mariposa monarca (*Danaus plexippus*), la cual es migratoria, Eanes y Koehn (1978) encontraron poca variación espacial en las frecuencias alélicas. Eanes y Koehn (1978) descubrieron que la estructura genética distintiva de las monarcas durante su residencia en el noreste de Norte América (primavera) desaparece durante la migración. La mariposas migran a México para sobrevivir el otoño y el invierno, y regresan a sus poblaciones originales en la primavera. La migración anual mezcla efectivamente las poblaciones y remueve cualquier diferenciación local.

Pashley et al. (1985) publicaron un trabajo sobre la estructura genética de la mariposa nocturna *Spodoptera frugiperda*. Esta polilla migra dentro del Este de los Estados Unidos cada año causando serios daños a las cosechas. En ese trabajo se encontró una heterogeneidad significativa entre las poblaciones del continente y la de la isla de Puerto Rico. Como hipótesis para explicar dicha diferenciación se propusieron: 1) deriva génica debida a un cuello de botella en algún punto de la historia reciente de la población de Puerto Rico, 2) la diferenciación genética de los linajes hospederos causada por aislamiento reproductivo o efectos selectivos de los diferentes hospederos, y 3) carencia de flujo génico entre las poblaciones de Puerto Rico y el continente.

Britten y Brussard (1991), estudiaron las frecuencias génicas a través del área de distribución de dos especies de mariposas, *Boloria improba* y *B. acrocnema*, en el Oeste de Norteamérica con el fin de desarrollar hipótesis sobre los posibles eventos biogeográficos que dieron origen a los procesos de especiación en el grupo. Estos autores encontraron que la distribución de las mariposas en el grupo *B. improba* es el resultado de dos procesos biogeográficos: 1) un evento vicariante en el cual los principales glaciares de Norteamérica separaron las poblaciones ancestrales, y 2) la subsecuente dispersión dentro de nuevos hábitats después que los glaciares desaparecieron. Después de comparar sus resultados con datos geológicos y palinológicos, pudieron estimar cronológicamente el tiempo aproximado que tomaron

dichos eventos, calculando que la especiación de *B. acrocneuma* tuvo lugar dentro de un período de 18,000 a 20,000 años. En este estudio también se dan propuestas de conservación. Así, se proponen experimentos de trasplante de hábitat que podrían intentar establecer nuevas colonias de *B. acrocneuma*. Se postula también que los altos niveles de similitud genética entre los miembros del clado podrían indicar cuales poblaciones pueden ser las mejores para dar propágulos exitosos de *B. acrocneuma*.

2.7 Estimaciones del flujo génico en mariposas.

2.7.1 Métodos directos.

La capacidad de dispersión de las poblaciones animales tradicionalmente ha sido estudiada utilizando las técnicas de captura-recaptura (Blower et. al., 1981) y las mariposas no han sido la excepción. En el estudio de la dispersión los métodos directos son aquellos que usan las observaciones actuales de los movimientos de los individuos, mientras que los métodos indirectos utilizan los datos genéticos para inferir el movimiento (Slatkin, 1994). Los estudios de marcado-liberación-recaptura (o de captura-recaptura) pueden dar estimaciones de la distancia promedio entre dos puntos, el de liberación y el de recaptura. Estas estimaciones de distancias de dispersión se pueden convertir en estimaciones del flujo génico si se supone que los individuos que se dispersan tienen la misma oportunidad de aparearse que los residentes (Slatkin, 1994). Los métodos directos para estudiar el flujo génico tienen la ventaja de estar basados en observaciones actuales (Roderick, 1996), sin embargo tienen algunas desventajas :

- 1) La dispersión puede no ser un buen indicador del flujo génico (Endler, 1979; Levin, 1981). Las medidas de la emigración pueden tender a sobrestimar el flujo de genes, puesto que los emigrantes no solo deben llegar a otros sitios, sino que tienen que reproducirse en ellos para contribuir al flujo (Ehrlich & Raven, 1969; Endler, 1979; Slatkin, 1987).

2) Al medir el movimiento de los individuos durante un intervalo de tiempo, estos métodos pueden fallar y no incluir eventos poco comunes, tales como el fomento de la emigración debido a sequías severas o la destrucción de las plantas de alimentación u hospederas, por lo que pueden subestimar el flujo de genes promedio a largo plazo, (Pashley et al., 1985).

3) Estos métodos tampoco son adecuados cuando la probabilidad de recaptura es baja (animales muy pequeños o animales con una alta densidad en sus poblaciones).

4) Son relativamente costosos, tardados y prácticamente imposibles de llevar a cabo en poblaciones grandes distribuidas sobre áreas geográficas amplias (Pashley, et al., 1985; Richardson et. al., 1986; Baverstok y Moritz, 1990).

2.7.2 Métodos indirectos.

En contraste con los métodos directos, los indirectos no están basados en la dispersión de los organismos, sino en la similitud genética entre las poblaciones. Ellos permiten la estimación del nivel promedio de flujo de genes a partir de un modelo matemático de la interacción del flujo génico y otras fuerzas para predecir cuanto del flujo de genes debe estar ocurriendo para generar los patrones de datos observados en el presente (Slatkin, 1994). Cuando se comparan las estimaciones obtenidas a partir de los métodos directos e indirectos no siempre hay coincidencias. Ese es el caso de la mariposa *Euphydryas editha*, se han reportado niveles de dispersión de restringidos (Ehrlich, 1961) a moderados (Gilbert y Singer, 1973), en diferentes localidades; sin embargo las estimaciones indirectas indican altos niveles de flujo génico.

Ehrlich y sus colaboradores han reiterado que el flujo de genes en *E. editha* es de poca importancia para determinar las frecuencias génicas (Ehrlich et al., 1975, McKechnie et al., 1975). De acuerdo con McKechnie et al. (1975) y a la teoría de genética de poblaciones (Hartl y Clark, 1989), los altos valores de F_{ST} (0.118) reportados para *E. editha*, nos indican diferenciación entre las poblaciones; la

diferenciación según estos autores se debe a la ausencia de flujo génico y a la selección natural.

Por otra parte, Slatkin (1985b), al retomar los datos electroforéticos de McKechnie et al. (1975) para esta especie, estimó que el valor de $N_e m$ es de 3.7, lo que indicaría que el flujo de genes es alto y tiende a homogeneizar las poblaciones locales de esta especie. De acuerdo con Slatkin (1985b), si existiera selección a favor de los heterocigotos, esto se reflejaría en un exceso de ellos, lo cual no se presenta. Las discrepancias en este caso, según Slatkin, se pueden deber a los fenómenos de extinción y recolonización que han ocurrido en algunas poblaciones de esta especie, por condiciones de sequía inusuales. Los métodos indirectos, en este caso, pueden revelar los niveles de flujo génico reales. Slatkin (1985b) enfatizó que hay que estudiar más estos fenómenos para llegar a conclusiones generales.

En la mariposa nocturna *Plutella xylostella*, tanto los métodos directos como los indirectos para estimar el flujo génico mostraron ser consistentes, sugiriendo que existe un flujo de genes substancial entre las poblaciones de las islas de Hawaii (Caprio y Tabashnik, 1992).

Pashley et al. (1985), muestran un cuadro comparativo de los valores de F_{ST} en algunas especies de lepidópteros, los valores estimados para este estadístico van de 0.006 a 0.118 (cuadro 7). Los valores bajos de F_{ST} en la mariposa monarca se explican por la estructura de apareamiento durante la migración. Los valores bajos encontrados en *Alabama argillacea*, *Spodoptera exempta*, *Pieris rapae*, y *Anticarsia gemmatalis*, de acuerdo con estos autores, sugieren niveles de entrecruzamiento altos entre las poblaciones muestreadas. En el cuadro 7 también se presentan las estimaciones de F_{ST} obtenidas en otros trabajos, tanto de insectos en general como de lepidópteros, en donde se aprecia que en dípteros, lepidópteros y coleópteros los valores son muy similares y están en el intervalo de 0.007 a 0.154. En hemípteros sólo se muestra un

caso que también cae dentro de tal intervalo, para himenópteros se presentan valores relativamente altos (0.294 - 0.380) comparados con el resto de los insectos.

Cuadro 7. Valores del estadístico F_{ST} de Wright estimado para 38 especies de insectos

Especies	F_{ST}	Región	Referencia
Diptera			
<i>D. robusta</i>	0.055	Este y Centro de EU	citado en Eanes y Koehn (1978)
<i>Musca autumnalis</i>	0.023		Bryant et al (1981)
<i>Rhagoletis completa</i> (rango nativo)	0.007		Berlocher (1984)
<i>R. completa</i> (rango introducido)	0.054		Berlocher (1984)
<i>Prosimulium fuscum</i>	0.003		Synder y Linton (1984)
<i>P. mixtum</i>	0.096		Synder y Linton (1984)
<i>Drosophila willistoni</i>	0.022		citado en Ayala (1982)
<i>D. pseudoobscura</i>	0.028	Este de EU	citado en Ayala (1982)
<i>D. equinoxialis</i>	0.029		citado en Ayala (1982)
<i>D. obscura</i>	0.067		citado en Ayala (1982)
<i>D. pavani</i>	0.126		citado en Ayala (1982)
<i>D. melanogaster</i>	0.044	Este de EU	citado en Eanes y Koehn (1978)
PROMEDIO	0.046 (.036)		
Lepidoptera			
<i>Danaus plexippus</i>	0.009	Este de EU	Eanes y Koehn (1978)
<i>D. plexippus</i>	0.032	Australia	Hughes y Zalucki (1984)
<i>D. plexippus</i>	0.0069	Australia	Zalucki et al., (1987)
<i>Spodoptera frugiperda</i>	0.084	Caribe, México, Este de EU	Pashley et al., (1985)
<i>S. exempta</i>	0.006	Kenia, Tanzania, Zimbaue	Den Boer (1978)
<i>Alabama argillacea</i>	0.007	México, Brasil	Pashley et al., (1985)
<i>Pieris rapae</i>	0.014	EU continental	citado en Eanes y Koehn (1978)
<i>Anticarsia gemmatalis</i>	0.021	Este de EU, México	Pashley et al., (1985)
<i>Heliothis virescens</i>	0.048	Sureste y Oeste de EU, Noreste de México	citado en Pashley et al., (1985)
<i>Cydia pomonella</i>	0.066	Africa, Europa, EU y Australia	Sluss y Graham (1979), Pashley (1980)
<i>Euphydryas chalcedona</i>	0.090	Centro de California	Eanes y Koehn (1978)
<i>E. editha</i>	0.118	Centro de California	Eanes y Koehn (1978)
<i>E. editha</i>	0.064		valor F_{ST} reestimado por Slatkin 1985
<i>Plutella xylostella</i>	0.038 G_{ST}		Caprio y Tabashnik 1992
<i>Plutella xylostella</i>	0.029 θ		Caprio y Tabashnik 1992
<i>Plutella xylostella</i>	0.028 F_{ST} Wright		Caprio y Tabashnik 1992
<i>Boloria acrocne</i>	0.002		Britten y Brussard (1991)
<i>Erebia embla</i>	0.02		Dowes y Stille (1988)
<i>Euphilotes enoptes</i>	0.007-0.3	EU	Peterson, 1995
<i>Pectinophora scutigera</i>	0.03	Australia	Hughes et al., (1989)
<i>P. napi</i>	0.0226	Europa	Porter y Geiger, 1995
<i>P. bryoninae</i>	0.0277	Europa	Porter y Geiger, 1995
<i>P. meridionalis</i>	0.0052	Europa	Porter y Geiger, 1995
<i>P. britannica</i>	0.1322	Gran Bretaña	Porter y Geiger, 1995
<i>P. adalwinda</i>	0.1010	Europa	Porter y Geiger, 1995
PROMEDIO	0.04 (.035)		

Continuación del cuadro 7.

Especies	F_{ST}	Región	Referencia
Coleoptera			
<i>Dendroctonus ponderosae</i>	0.030		Stock et al., (1984)
<i>D. frontalis</i>	0.068		Anderson et al., (1979)
<i>Ips calligraphus</i>	0.011		Anderson et al., (1979)
<i>Diabrotica barberi</i>	0.098		McDonald et al., (1985)
<i>Lepinotarsa decemlineata</i>	0.068		Jacobson y Hsiao (1983)
<i>Pissodes strobi</i>	0.098		Phillips y Lanier (1985)
<i>Tetraopes tetraophthalmus</i>	0.154		McCauley y Eanes (1987)
PROMEDIO	0.075 (.047)		
Hemiptera			
<i>Limnoporous canaliculatus</i>	0.082		Zera (1981)
Hymenoptera			
<i>Rhytidoponera confusa</i>	0.294		Ward (1980)
<i>R. chalybaea</i>	0.380		Ward (1980)
PROMEDIO	0.337 (0.60)		

Hughes y Zalucki (1984) y Zalucki et al. (1987), estudiaron los niveles de flujo génico en poblaciones de la mariposa monarca en Australia. La mariposa monarca fue introducida en Australia alrededor de 1870, y estableció un patrón anual de reproducción, expansión del área de distribución y contracción. Hughes y Zalucki (1984) estudiaron una población durante la primavera en el sureste de Queensland (Australia). Estos autores consideraron a esta población como estructurada en subpoblaciones ($F_{ST} = 0.032$). Propusieron que la diferenciación entre las subpoblaciones o parches se puede deber a selección de los parches dependiendo del genotipo, pero no extendieron ese estudio para comprobar si efectivamente existe un comportamiento diferencial entre los diferentes genotipos con respecto al tipo de parche (que puede tener preferentemente plantas jóvenes o viejas). Los tres loci que mostraron diferencias significativas entre los sitios también exhibieron diferencias entre los sexos, y sugirieron que pueden estar actuando diferentes presiones de selección para hembras y machos (los genes estudiados no se encuentran ligados al sexo).

Posteriormente Zalucki et al. (1987), estudiaron la misma población de Queensland durante la primavera ($F_{ST} = 0.0073$) y el verano ($F_{ST} = 0.0065$). Estos autores hallaron altos niveles de flujo génico en ambas estaciones, y además encontraron que las condiciones ambientales influyen las frecuencias de genotipos particulares en hembras y machos. Hay diferencias entre los genotipos en tiempos de actividad de vuelo, debido a diferencias de sus enzimas a temperaturas extremas. Desafortunadamente, los dos estudios no son directamente comparables porque en el primero (Hughes y Zalucki, 1984) se estudiaron cuatro loci y en el segundo (Zalucki et al., 1987) se estudiaron dos de los cuatro anteriormente estudiados, además los sitios de estudio no fueron exactamente los mismos y se estudiaron a una escala diferente (las distancias entre las localidades en el segundo estudio fueron menores).

Sin embargo, Zalucki et al. (1987) mencionan que ambos trabajos sugieren que existen grandes cambios de la variación genética año con año y estación con estación. Así mismo estos autores (Zalucki et al., 1987) mencionan que las condiciones ambientales en el momento de la colecta son muy importantes, ya que a diferentes horas del día están activos diferentes genotipos, por lo que las estimaciones pueden estar sesgadas de acuerdo a la hora del día y las condiciones ambientales en las que se recolectaron los individuos. En otros trabajos también se han reportado diferencias en las frecuencias de los genotipos dependiendo de las condiciones ambientales (Watt, 1977), que podrían conducir a la observación de diferencias entre sitios si se recolectasen en días con condiciones ambientales contrastantes.

2.8 Polimorfismos enzimáticos y selección.

Varios investigadores han estudiado el significado adaptativo de la variación aloenzimática en animales, investigando las diferencias bioquímicas y fisiológicas entre genotipos (Brakefield y Shreeve, 1992).

En mariposas, el estudio más detallado realizado en una enzima es el de Watt y sus colaboradores en la fosfoglucoasa isomerasa (PGI), esta enzima convierte la fructosa-6-fosfato a glucosa-6-fosfato y viceversa por lo que juega un papel muy importante en el abastecimiento de estos metabolitos del néctar (Watt, 1983; Watt et al., 1985, 1986) . Watt, investigó las posibles diferencias funcionales y ecológicas entre aloenzimas.

Watt (1977) descubrió que se presentan de cuatro a seis alelos de PGI en varias poblaciones naturales de *Colias* e identificó diferencias funcionales entre las enzimas codificadas por diferentes alelos, las cuales se correlacionaban con su estabilidad al calor y su función cinética o eficiencia en la catálisis. Estas diferencias fueron consistentes con la frecuencia de alelos. Así, ciertas aloenzimas sensibles al calor se encontraron con mayor frecuencia en poblaciones de *C. meadii* de la tundra, en donde el sobrecalentamiento de los adultos es muy raro, en tanto que las aloenzimas relativamente resistentes al calor son comunes en poblaciones de *C. alexandra* pertenecientes a Colorado, en donde el verano es muy cálido.

Watt (1986), demostró que existían diferencias en sobrevivencia, actividad de vuelo y éxito reproductivo entre los diferentes genotipos. La dirección de las diferencias entre genotipos varía con la temperatura, por ejemplo, ciertos heterócigos los cuales son cinéticamente más efectivos a bajas temperaturas comienzan a volar más temprano en el día y son más activos en un período de tiempo más amplio que otros genotipos, estos machos también tienden a obtener mayor número de apareamientos. A altas temperaturas sin embargo estos genotipos sobreviven menos que los térmicamente estables. Los resultados sugieren que la ventaja del heterócigo en combinación con los cambios en la selección asociados con fluctuaciones temporales en el ambiente son responsables del mantenimiento del polimorfismo de esta enzima (Watt, 1983; Watt et al., 1985, 1986).

2.9 Distancias genéticas en mariposas y algunos insectos.

Los datos aloenzimáticos han sido utilizados para esclarecer relaciones genealógicas entre especies así como para definir su *status* taxonómico (Richmond y Page, 1995). En el caso de las mariposas se ha utilizado la distancia genética en estudios de sistemática, llegando incluso a postular nuevas especies a partir de poblaciones muy diferenciadas genéticamente (Geiger y Shapiro, 1986; Pashley et al., 1990). En el cuadro ocho se muestran algunos valores obtenidos en lepidópteros y algunos insectos, entre poblaciones, subespecies, especies y subfamilias.

Cuadro 8. Distancias genéticas de Nei, entre poblaciones, subespecies, especies y géneros en lepidópteros y *Drosophila*.

Taxa	No. de taxa	No. de loci	D	Referencia
A. Poblaciones				
	#pob			
<i>Plutella xylostella</i>	15	4	.01-.31	Caprio y Tabashnik, 1992
<i>Euphydryas editha</i>	41	19	.001-.12	Baughman et al., 1990
<i>Anthocaris sara</i>	8	20	000-.17	Geiger y Shapiro, 1986**
* <i>Drosophila willistoni</i> (grupo)		31	.008-.049	Ayala et al., 1974
B. Subespecies				
<i>Speyeria zerene</i>	4	16	.018	Brittnacher et al., 1978.
<i>Speyeria callipe</i>	2	16	.017	Brittnacher et al., 1978.
<i>Speyeria coronis</i>	2	16	.071	Brittnacher et al., 1978.
<i>Euphydryas editha</i>	3	28	.03	Brussard et al., 1985
<i>E. anicia</i>	2	28	.036	Brussard et al., 1985
<i>E. chalcedona</i>	3	28	.078	Brussard et al., 1985
<i>E. phaeton</i>	2	28	.009	Brussard et al., 1985
<i>E. phaeton</i>	2	25	.033	Vawter y Wright, 1986
<i>Pieris napi-bryoniae</i>	2	20	.008	Geiger, 1981
C. Especies				
* <i>Drosophila</i>				
Especies hermanas				
grupo <i>willistoni</i>	-	31	.54 ± .05	Ayala et al., 1974
<i>pseudoobscura</i> vs <i>persimilis</i>	2	24	.05	Prakash, 1969
Especies no hermanas				
grupo <i>obscura</i>	5	68	.29-.99	Cabrera et al., 1983
<i>Speyeria</i>	15	16	0.182 ± .013	Brittnacher et al., 1978
<i>Lethe</i>	2	7	0.145	Angevine y Brussard, 1979
<i>Diatrea</i>	2	14	0.36	Pashley et al., 1990
<i>Lethe</i>	2	7	0.145	Angevine y Brussard, 1979
<i>Pieris</i>	2	20	0.12	Geiger, 1981
<i>Pontia</i>	2	23	.08	Shapiro y Geiger, 1986
<i>Vanessa</i>	2	22	0.157	Shapiro y Geiger, 1989
<i>Callosamia</i>	3	18	0.22	Johnson et. al., 1996
complejo <i>Coenonympha tullia</i>	4	21	0.034	Porter y Geiger, 1988
especies hermanas de <i>Diatrea</i>	2	14	0.36	Pashley et al., 1990

Continuación del cuadro 8.

Taxa	No. de taxa	No. de loci	D	Referencia
especies hermanas de <i>Diorytria</i>	4	12	0.074	Richmond y Page, 1995
D. Géneros				
<i>Planotortrix excessana</i> y <i>Ctenopseustis obliquana</i>	2	2	.535	White y Lambert, 1994
E. Subfamilias				
Pieridae	4	20	0.755	Geiger, 1981

las especies que no tienen ninguna marca corresponden a lepidópteros

* especies de dípteros

** estos autores a partir de las distancias genéticas obtenidas propusieron que se separara en tres especies a *Anthocaris sara*.

**FALTA
PAGINA**

52

CAPÍTULO III

HISTORIA NATURAL, SISTEMÁTICA, DISTRIBUCIÓN Y FILOGENIA DEL COMPLEJO “*JETHYS*”

3.0 INTRODUCCIÓN.

3.1 Origen del complejo “jethys”.

El complejo “jethys” pertenece al género *Enantia* de la tribu¹ Dismorphiini (Dismorphiinae-Pieridae). Los Dismorphiini son un grupo antiguo y tal vez se originaron entre el Paleoceno y el Eoceno. Con el progreso de la deriva continental los Dismorphiinae quedaron disyuntos, unos en la Región Paleártica y otros en la Neotropical. El aislamiento de los Dismorphiini en la Región Neotropical ocurrió durante casi todo el Cenozoico (Llorente, 1984; cuadro 9). El origen de este grupo en México no se extiende más allá de finales del Mioceno. Según Llorente (1984) los Dismorphiini en México han seguido dos rutas de dispersión, una por tierras bajas (Neotropical Típico) y otra por tierras de altitud media (Mesoamericano de Montaña). En cada una de ellas las comunidades de mariposas que los siguen están más o menos ligadas a las comunidades de selva alta perennifolia y bosque mesófilo de montaña, respectivamente (Llorente, 1984).

Los Dismorphiini se encuentran representados en México por los siguientes géneros: *Pseudopieris*, *Enantia*, *Lieinix* y *Dismorphia*. Las larvas de esta tribu están estrechamente ligadas a la planta hospedera de sus larvas, *Inga* (género de leguminosas considerado como primitivo: Hutchinson, 1969) y géneros cercanos (*Calliandia* por ejemplo, Llorente com. pers.). Los adultos generalmente se alimentan de diversos géneros de Compositae que crecen en los claros o en la periferia de las comunidades forestales.

1 Se denomina tribu a la categoría taxonómica entre género y subfamilia (Mayr y Ashlock, 1991)

Cuadro 9. Aparición de los Dismorphiinae.

Era	Periodo	Época	Millones de años	
Cenozoico	Cuaternario	Reciente	.01	Dismorphiini en México
		Pleistoceno	1.8	
	Terciario	Plioceno	5	
		Mioceno	24	Diversificación de los Dismorphiini
		Oligoceno	37	
		Eoceno	54	
		Paleoceno	65	probable origen de los Dismorphiinae
Mesozoico	Cretácico		144	
	Jurásico		213	
	Triásico		248	

Escala de tiempo, a partir de Harland et. al., 1982.

3.2 Sistemática del complejo "jethys".

La sistemática de las mariposas ha sido ampliamente estudiada, siendo los Pieridae una de las familias de mariposas mejor conocidas. A pesar de esto, existen puntos de vista divergentes sobre las relaciones y *status* de varios taxa a diferentes rangos jerárquicos (Geiger, 1981).

Según Klots (1933), Ehrlich (1958), y Lamas (1979), los Dismorphiinae constituyen una subfamilia de los Pieridae más primitivos, la cual se reconoce hoy por los géneros *Leptidea* Dalman, *Pseudopieris* G. & S., *Enantia* Huebner, *Lieinix* Gray, *Dismorphia* Huebner, *Moschoneura* Butler y *Patia* Klots. El primero forma la tribu Leptideini es de afinidad paleártica y el resto (Dismorphiini) tiene sus áreas de distribución en la Región Neotropical, de la que son característicos.

En México se encuentran representados los cuatro primeros de filiación neotropical, según Hoffmann (1940) y Lamas (1979). De acuerdo con Llorente (1984), en México existen once especies de Dismorphiini, repartidas en los cuatro géneros antes mencionados, siendo éstas: *Pseudopieris nehemia* Boisduval, *Enantia licinia* Huebner, *Enantia albania*, Bates *Enantia mazai*, *Enantia jethys* Boisduval, *Lieinix nemesis* Latreille, *Lieinix lala* G. y S., *Dismorphia amphiona* Cramer, *Dismorphia euone* Doubleday, *Dismorphia crisis* Drury y *Dismorphia theucharila* Doubleday. De acuerdo con De la Maza (1985) existe una especie más: *Lieinix neblina* de Atoyac Guerrero (México).

De acuerdo con Llorente (1984), todas las especies de estos géneros siguen dos patrones de distribución en México: uno por las tierras bajas hasta los 600 msnm, en el que se encuentran estrechamente ligadas al bosque tropical perennifolio, y subperennifolio, y otro que sigue principalmente las áreas submontanas de las vertientes Pacífico y/o del Golfo de las Sierras Madre, hasta una altitud máxima de 2200 msnm, principalmente en el bosque mesófilo de montaña.

La palabra "complejo" en sistemática se refiere a un término neutral (respecto a la jerarquía taxonómica) que comprende una serie de unidades taxonómicas relacionadas, en

las cuales la taxonomía es difícil o confusa (Mayr y Ashlock, 1991). En el caso del complejo "jethys" existen controversias respecto a si efectivamente está conformado por una o varias especies, o si son una o varias subespecies (Lamas, 1979).

Godman y Salvin (1889) consideraron que en México se presentaban dos especies; *Enantia jethys* y *E. albania*. Sin embargo, Llorente (1984) consideró que los ejemplares melánicos de *Enantia mazai* eran confundidos y mezclados con *E. jethys*, de distribución restringida a los bosques mesófilos de la vertiente del Golfo.

En la primera revisión de la subfamilia Dismorphiinae realizada por Butler (1899), se consideró que lo que ahora conocemos como el complejo "jethys", estaba conformado por una sola especie. Este autor mencionó que *Dismorphia citrinella*, *D. albania* y *D. jethys* (complejo *jethys*) eran formas o variaciones de la misma especie, en tanto que *D. melite* y *D. theugenis* eran especies claramente distintas (Llorente, 1984).

Hoffmann (1940) aunque citó tres especies para México (*D. (E.) citrinella* (*E. melite* var A de Boisduval, 1836), *D. (E.) jethys* y *D. (E.) mita*), cometió varios errores en la designación de las mismas, por ejemplo consideró una subespecie del noreste de Sudamérica que no llega a Centroamérica (*E. citrinella* actualmente considerada como coespecífica de *melite*) y a *E. mita*, la consideró como una forma femenina de *jethys* (actualmente se considera que *E. mita* es un sinónimo de *albania*; Llorente, 1984).

Lamas (1979), al trabajar con el complejo "jethys", utilizó el concepto de especie politípica, es decir una especie que contiene dos o más subespecies con distribución disyunta. Este autor reconoció para México únicamente una subespecie mesoamericana, bajo el nombre de *Enantia melite jethys* con una amplia gama de variabilidad. Este autor mencionó que con base en características morfológicas los fenotipos que encontró corresponden a poblaciones bastante variables. No obstante Lamas dejó abierta la posibilidad de que exista aislamiento reproductivo entre dos o más de los fenotipos, considerando necesarios más datos biológicos y genéticos para esclarecer las relaciones entre estos "morfos".

De acuerdo con Llorente (1984), a partir de un estudio morfológico de los genitales masculinos, del contorno alar, del diseño de la coloración alar y de los huevecillos, además de ciertas evidencias ecológicas (fenología y variación ecogeográfica) y biogeográficas, concluyó que se pueden admitir tres especies para México: *Enantia mazai* Llorente, 1984, *Enantia albania* (Bates, 1861) y *Enantia jethys* (Boisduval, 1836), la primera y la segunda de ellas con dos subespecies reconocidas hasta la fecha para Meosamérica. Recientemente (Llorente y Lamas com. pers.) parecen haber reconocido una subespecie de *albania* del Ecuador y el Norte de Perú. Llorente mencionó que la amplísima variación que se manifiesta en algunas de las marcas melánicas de *Enantia mazai* es lo que ha suscitado los innumerables sinónimos, controversias y decisiones taxonómicas acerca del complejo "jethys". En la figura 9 se presenta una fotografía de las especies que conforman al complejo "jethys", reconocidas por Llorente (1984).

Según Llorente (1984) las especies del complejo "jethys" (cercanas entre sí), cuyas áreas de distribución son mesoamericanas, se han separado específicamente de las sudamericanas por las distinciones morfológicas del octavo terguito abdominal, de algunas características de los genitales masculinos (edeago, harpagones, etc.), de la conformación del diseño de la coloración alar dado por los pigmentos oscuros en la superficie dorsal (bordes del ápice y del termen) y por la dispersión de las manchas sin forma de líneas en la superficie ventral de las alas posteriores, lo cual es típico de los ejemplares sudamericanos revisados hasta el momento, a excepción de la población registrada del Perú y Ecuador. Un estudio de los genitales femeninos de González y Llorente (en prep.) confirma los hallazgos de Llorente (1984) y refutan las decisiones de Beutelspacher (1988), quien sólo reconoció dos especies al sinonimizar a *E. mazai*.

La electroforesis de aloenzimas ha probado ser útil en la estimación de divergencia genética y relaciones filogenéticas de insectos a varios niveles taxonómicos (Pashley, 1983; Berlocher, 1984). En los Pieridae se han utilizado las enzimas para reforzar o esclarecer relaciones taxonómicas a nivel de especie (v. gr. Geiger, 1981; Shapiro y Geiger, 1989). El examen de éste y otros conjuntos de caracteres podría refutar o apoyar cualquiera de las hipótesis descritas, el complejo "jethys" esta conformado por ¿una, dos o tres especies?

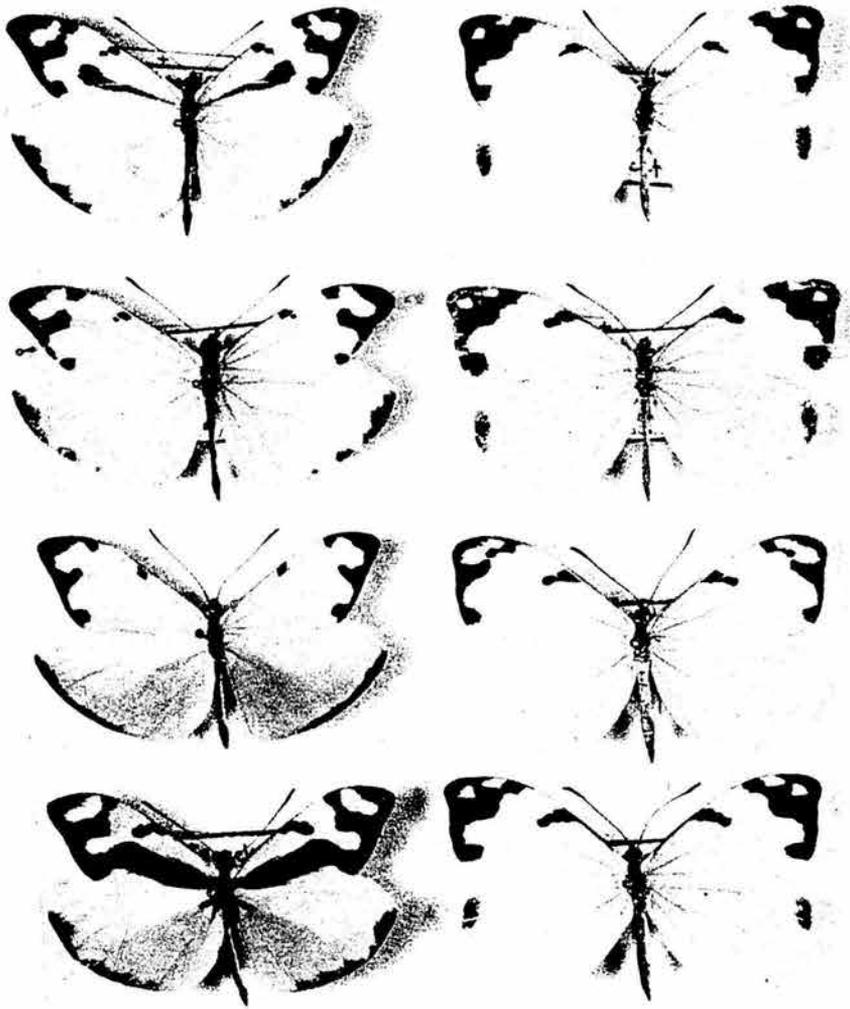


Figura 9. Especies que conforman al complejo "jethys".
De arriba hacia abajo ♂ y ♀ de *Enantia mazai mazai*,
E. mazai diazi, *E. albania* y *E. jethys* (tomada de Llorente, 1984)

3.3 Historia natural de las especies que constituyen el complejo "jethys".

Al igual que en muchas mariposas, el hábitat que ocupan los miembros del complejo "jethys", esta dividido en sitios de apareamiento, oviposición, áreas de forrajeo, y refugios o sitios de descanso. Como grupo, las mariposas están relativamente especializadas a los taxa de plantas utilizados para el alimento de las larvas. Esta especialización incluye el reconocimiento de los hospederos por parte de los adultos, respuestas gustativas y tolerancia digestiva por parte de las larvas (Gilbert, 1984). Los Dismorphiini se han especializado en ovipositar en los árboles de *Inga* spp. Las especies del complejo "jethys" se encuentran en lugares adyacentes a sitios con abundantes Ingas y en lugares cercanos efectúan conductas de forrajeo, territorialidad y apareamiento. Los sitios de forrajeo se caracterizan por ser áreas abiertas, con gran número de plantas arvenses (generalmente pertenecientes a la familia Compositae).

Los sitios de forrajeo al estar expuestos a una abundante radiación solar también son utilizados como sitios de percheo (o lugares de termorregulación) y los machos con frecuencia se colocan en lugares particulares (sitios de percheo) en los que hay abundancia de recursos alimentarios para los adultos (compuestas) y para sus larvas (*Inga*), y ocasionalmente vuelan por encima de las flores para la localización de hembras, pero generalmente se muestran sésiles en su lugar de percheo o alimentación y esperan que la hembra sea atraída por los recursos que ofrece su territorio, cuando una hembra vuela en su territorio se elevan e intentan interceptarla para aparearse con ella. En cambio ante la presencia de otro macho de la misma especie e incluso ante la presencia de cualquier otra mariposa amarilla, los machos despliegan un comportamiento agresivo y persiguen al intruso hasta que logran su huida. Cuando dos machos de este complejo se encontraban ascendían vertical y rápidamente, regresando apresuradamente a su lugar de percheo, en una tradicional maniobra de "combate aéreo" de acuerdo a los comportamientos que ha descrito Baker (1972). Al igual que en este estudio Llorente (1984) también observó despliegues territoriales intra e interespecíficos.

Los machos presentan un comportamiento territorial a lo largo de los sitios de percha, defendiendo un pequeño territorio. Aunque no se tomaron medidas precisas entre los parches, se podían colectar diferentes machos a menos de tres metros de distancia lineal. Dado el comportamiento territorial de los machos se espera poco movimiento de éstos entre parches de compuestas, en cambio las hembras tienen que volar hacia lugares más cerrados en busca de las plantas de oviposición, aunque en ocasiones estos lugares están muy próximos dado que las plantaciones de café (que son lugares más o menos abiertos) conservan al chalahuite o *Inga* spp para dar sombra al cultivo. Las hembras ovipositan sólo un huevo por foliolo y ovipositan entre 80 y 150 huevecillos durante su vida (Llorente, 1984).

Es en los lugares de forrajeo y percha donde es más fácil la captura de individuos, ya sea porque se encuentran alimentando o porque es más fácil la localización de los machos que al agredir a otros machos vuelan haciéndose más conspicuos. Aunque no fue mi propósito dar un análisis detallado del comportamiento territorial, observé que si se perturbaba a los machos en su lugar de percha estos volaban por un rato (segundos) y posteriormente regresaban a la flor o sitio de percha en donde descansaban. Igualmente si se capturaba a un macho y se escapaba o dejaba volar a unos metros de distancia de su territorio, éste después de unos minutos regresaba al mismo lugar.

El hecho que sean multivoltinas (i.e., varias generaciones al año o "épocas de vuelo"), favorece el contacto entre individuos pertenecientes a diferentes generaciones durante todo el año. Se desconoce si el aumento temporal de la densidad de los individuos debido al solapamiento de las generaciones conlleva a que los individuos entren en competencia por alimento, sitios de apareamiento y percha. De acuerdo con Llorente (1984) las poblaciones son más abundantes de julio a septiembre y menos abundantes de febrero a mayo.

Se ha observado en mariposas que especies que presentan una gran similitud ecológica presentan en ocasiones una estratificación a lo largo de las pendientes

montañosas o verticalmente dentro del bosque, o segregadas entre estados sucesionales dentro de un área (Gilbert y Singer, 1975). En el caso del complejo "jethys", parece haber una segregación altitudinal, donde *E. albania* se localiza en el intervalo inferior (de 0 a 800 m), *E. m. mazai* es más abundante en el intervalo medio (de 700 a 1,300m) y *E. jethys* es más frecuente en el intervalo superior (de 1200 a 1550m; Llorente, 1984). Sin embargo es difícil descartar la competencia por alimento, puesto que además de existir sitios de solapamiento completo de las poblaciones de las tres especies, se observaron parches en donde se encontraban las tres especies simultáneamente.

En otras mariposas se ha registrado que bajo las mismas condiciones existen diferencias de actividad dependiendo de la pigmentación de las alas de las mariposas (Kingsolver, 1983), lo que podría evadir la competencia por recursos. En el complejo "jethys", las observaciones reportadas muestran que las actividades de termorregulación, alimentación y apareamiento se distribuyen de una forma más o menos constante a lo largo del día (Llorente, 1984), aunque estas actividades varían dependiendo de las condiciones ambientales. En el complejo "jethys", las diferencias en pigmentación de las especies podrían conducir a diferencias en actividades, que propicien la evasión de interacción competitiva entre las especies. Desafortunadamente no hay estudios cuantitativos en el complejo, respecto a preferencias de actividad de vuelo durante el día por parte de las distintas especies.

Las poblaciones estudiadas están asociadas al bosque mesófilo de montaña y al bosque tropical perennifolio, cuya área ha sido reducida considerablemente durante los últimos veinte años. En particular, existe un estudio documentado sobre la deforestación en la Sierra de los Tuxtlas (Dirzo y García, 1992), aunque al parecer este patrón lo podemos encontrar en varias zonas del país de acuerdo con los datos de Masera et al. (1992). En la actualidad, a las especies del complejo "jethys" se les puede encontrar en los tipos de vegetación antes mencionados y en los sitios perturbados en donde anteriormente existía el bosque mesófilo de montaña, pero que ahora ha sido sustituido por plantaciones de café de sombra en donde todavía se mantienen plantas de *Inga* para dar sombra al café. En estos lugares más abiertos, si bien es más fácil para las mariposas

encontrar lugares de percha y cópula, también es más fácil ser encontradas por sus depredadores, que son generalmente arañas y chinches (arañas del género *Misumena* y chinches del género *Phymata*; Llorente, 1984).

3.4 Distribución de las especies que constituyen el complejo "jethys".

En el género *Enantia* se pueden distinguir claramente dos tipos de patrones biogeográficos en México: 1) los de penetración de tierras bajas, con *E. licinia marion* ligada al subrefugio pleistocénico de la Lacandonia y *E. l. hoffmanni* que se encuentra en el área del Soconusco y 2) y los de penetración de tierras altas, *E. jethys* ligada estrechamente a áreas submontanas muy húmedas, y *E. albania* y *E. mazai* cuya afinidad submontana es menos exclusiva (Llorente, 1984).

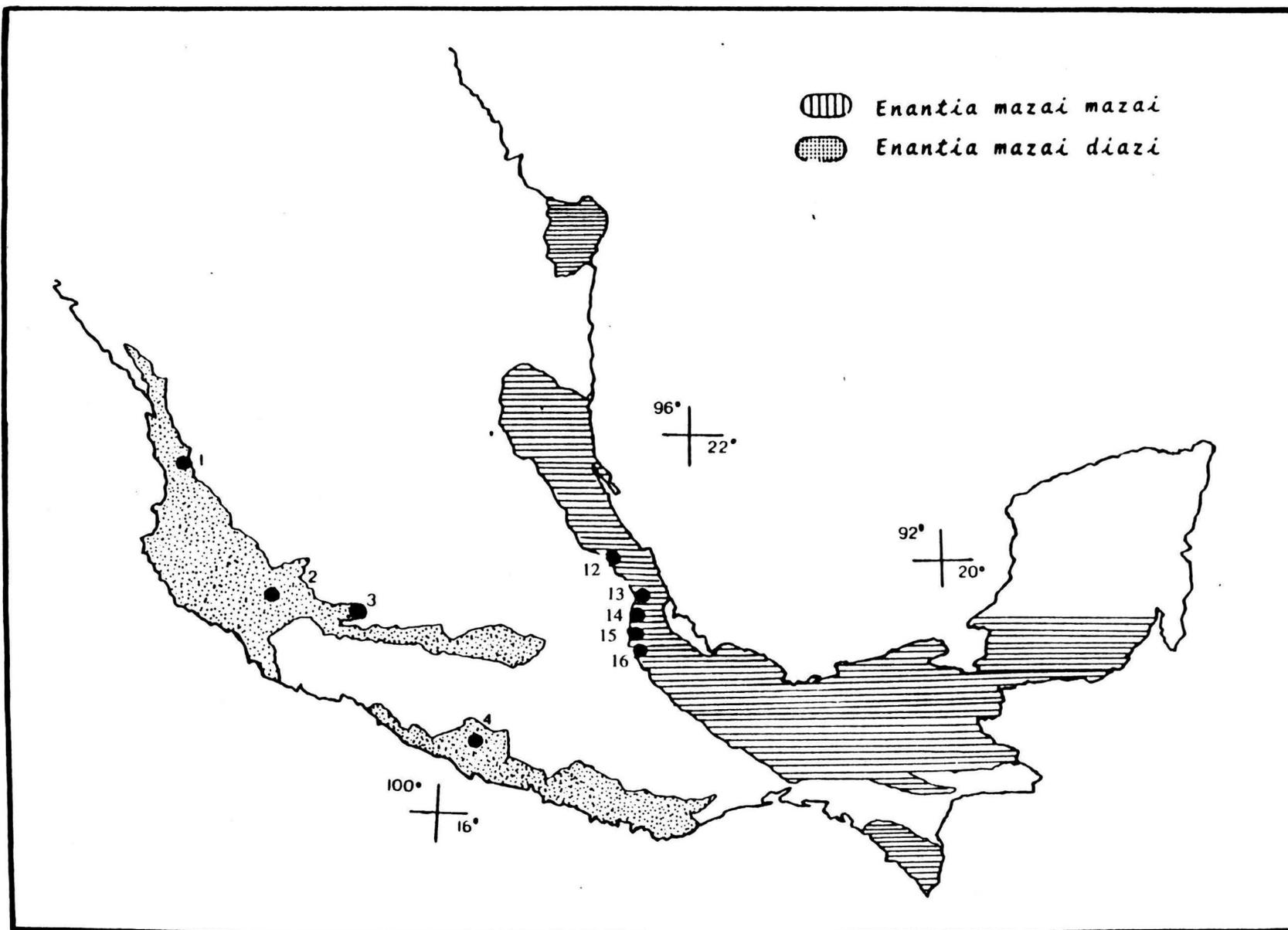
Las especies que analizamos en el presente trabajo han sido agrupadas en el complejo "jethys" fundamentalmente por sus similitudes morfológicas y distribución mesoamericana (Llorente, 1984). *E. mazai* es la especie con mayor distribución altitudinal y latitudinal, se distribuye por la vertiente del Pacífico y por la vertiente del Golfo de México; se ha propuesto que en estas distribuciones disyuntas se presentan subespecies diferentes por lo que se espera que exista mayor diferenciación entre ambas vertientes que entre las poblaciones que se encuentran en cada una de ellas. *E. jethys* se circunscribe a las "islas" submontanas de la vertiente del Golfo de México y *E. albania* se distribuye por la vertiente del Golfo y en el Pacífico sólo se encuentra en la región del Soconusco.

Las tres especies se distribuyen a lo largo de un gradiente altitudinal y en ellas se puede observar un elemento de clina de los caracteres fenotípicos con respecto a la pigmentación negra (Llorente, 1984). Llorente observó que conforme aumenta la altitud se incrementa la coloración melánica de las especies, siendo *E. jethys* la especie más melánica, y *E. albania*, que se encuentra en altitudes inferiores, la más albina. Este autor también observó una correlación entre la humedad y la temperatura, a mayor humedad (estacional y/o geográfica), mayor pigmentación. A continuación se describe con mayor detalle la distribución de cada una de las especies del complejo "jethys".

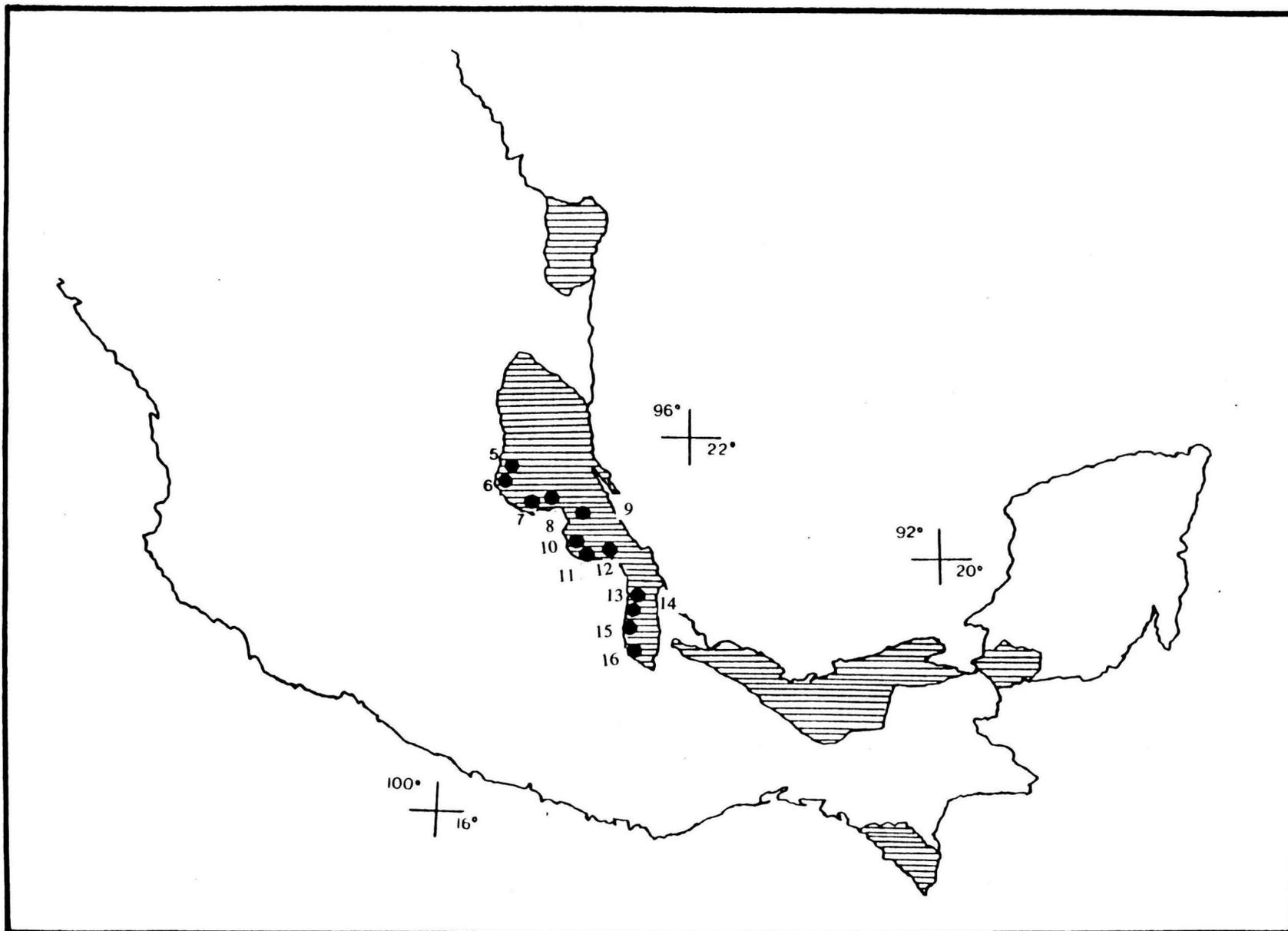
♦ *Enantia mazai*.- En México, esta especie se encuentra en el intervalo de 0 - 2000 metros sobre el nivel del mar (msnm) (Barrera y Díaz Batres, 1977) por las dos vertientes costeras. Esta especie presenta dos subespecies: *Enantia mazai mazai* y *Enantia mazai diazi*. Por el lado del Atlántico, *E. m. mazai* se distribuye desde el sureste de México hasta el sureste de Texas, aunque este último reporte data de 1863 (Reakirt, 1863; Llorente, 1984). Esta distribución es discontinua y se presenta en dos partes. La más extensa abarca desde el sur de la Península de Yucatán hasta el sur de Tamaulipas, y la de extensión más reducida se presenta en forma de "isla" en el noreste del estado de Tamaulipas y parte del sur de Texas. Por el lado del Pacífico, *E. m. diazi* se distribuye desde el sur de Oaxaca hasta el sur de Sinaloa (excluyendo el área del Istmo de Tehuantepec). Esta distribución presenta una discontinuidad en parte del sureste del estado de Guerrero (mapa 1), en el área más xérica de la parte baja de la Depresión del Balsas. De acuerdo con Llorente (1984), a esta especie se le puede observar tanto en la vegetación riparia de selva alta perennifolia (poco frecuente), como en los sitios más húmedos de la selva baja caducifolia, pasando por las selvas medianas y el bosque mesófilo de montaña en donde es muy abundante (mapa 4)

♦ *Enantia albania*.- Cuenta con dos subespecies, *E. a. amalia* circunscrita a Centroamérica y *E. a. albania* fundamentalmente en México. *E. a. albania*, se encuentra por la vertiente atlántica hasta el sureste de Texas (Kendall, 1974) y por la vertiente del Pacífico únicamente se le ha registrado en el área chiapaneca del Soconusco (mapa 2). En el lado del Atlántico, su distribución es discontinua, solapándose completamente con la distribución de *E. mazai mazai* en Tamaulipas y el sur de Texas, y la simpatría es parcial en el resto del Atlántico. Según Llorente (1984) esta especie prefiere altitudes de los 200 a los 1,150 msnm pero se le puede encontrar desde los cero hasta los 1,300 msnm. Las comunidades vegetales que son características para *E. albania* en orden de importancia son: la selva mediana subperennifolia, el bosque mesófilo de montaña y la selva alta perennifolia (mapa 4).

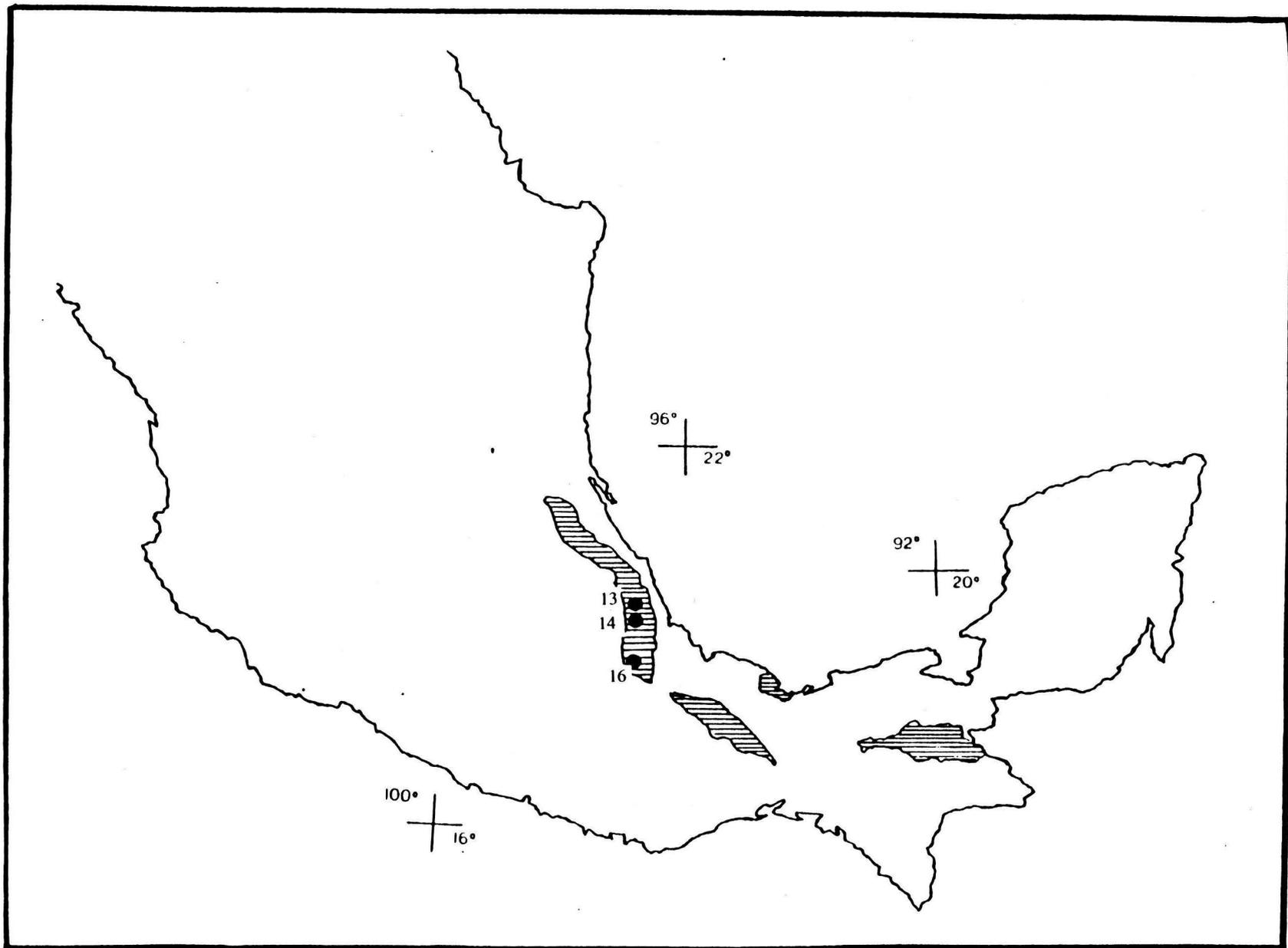
♦ *Enantia jethys*.- Esta especie se encuentra distribuida desde la parte montañosa del norte de Centroamérica hasta la Sierra Norte de Puebla e Hidalgo, correspondiente a la Sierra Madre Oriental en su vertiente atlántica. La distribución de este especie se presenta en cuatro "parches" o "islas submontanas" que se ubican en la Sierra de Los Tuxtlas, el sistema montañoso del norte de Oaxaca, la Sierra Madre Oriental y el Macizo Central de Chiapas (Llorente, 1984; los nombres de las provincias biogeográficas fueron tomadas de Rzedowski, 1978; mapa 3). Sigue altitudes de los 1000 a los 1800 msnm por el bosque mesófilo de montaña, aunque Llorente (1984) anotó que esta especie prefiere las altitudes que van de los 1150 a los 1550 msnm.



Mapa 1. Localización de las poblaciones de *Enantia mazai*. Por la vertiente del Pacífico, *E. m. diazi*, donde 1 = CUA, 2 = LZM, 4 = NDH, y por la vertiente del Golfo de México, *E. m. mazai* donde 12 = CUE, 13 = TEO, 14 = XIC, 15 = FOR, 16 = SOC.



Mapa 2. Localización de las poblaciones de *Enantia albania* por la vertiente del Golfo de México, donde 5 = LCH, 6 = XIL, 7 = PIL1, 8 = PIL2, 9 = TLA1, 10 = TLA2, 11 = AHU, 12 = CUE, 13 = TEO, 14 = XIC, 15 = FOR, 16 = SOC.



Mapa 3. Localización de las poblaciones de *Enantia jethys* por la vertiente del Golfo de México, donde 13 = TEO, 14 = XIC, 16 = SOC.

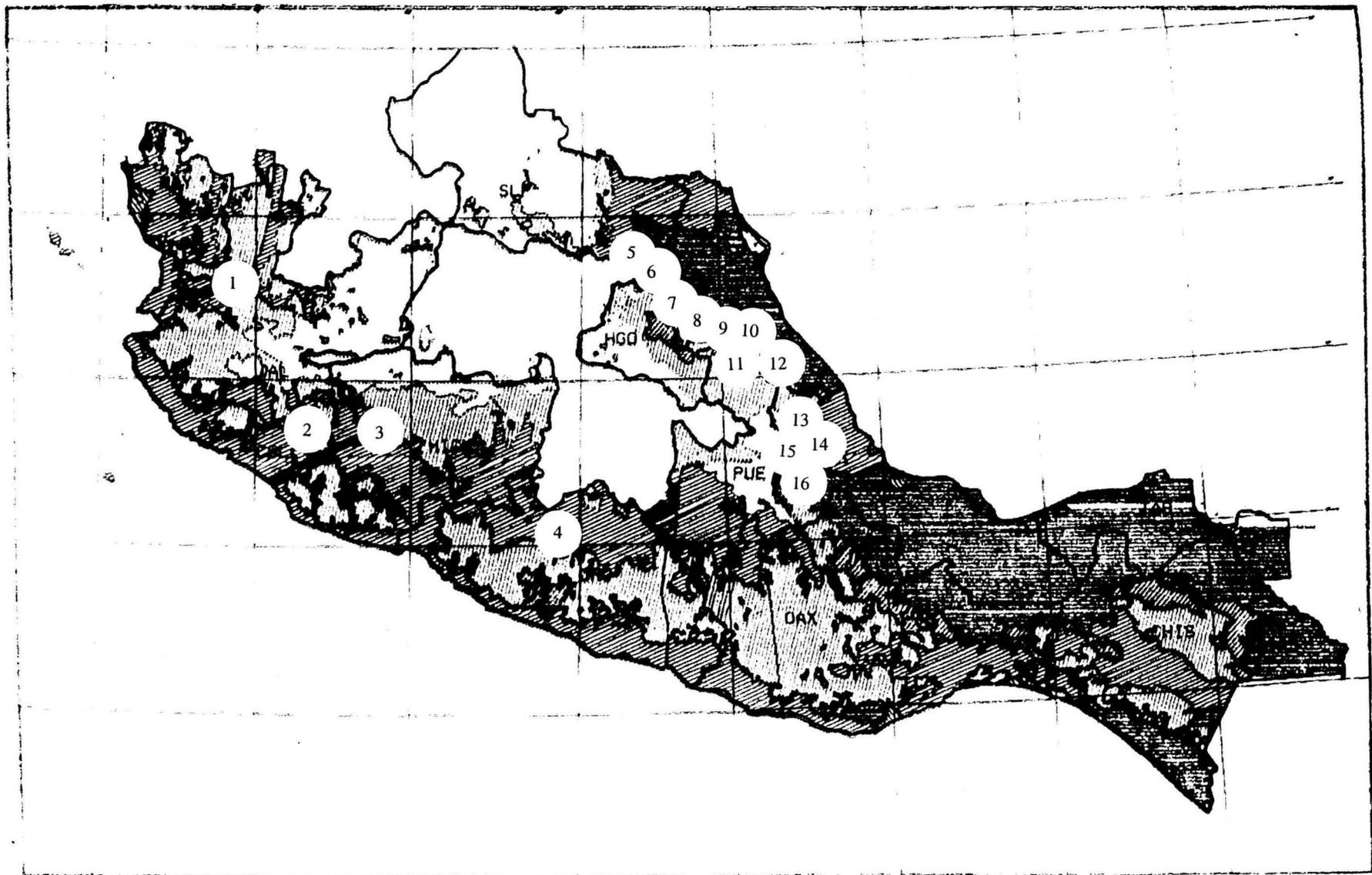


Fig 3b Zonas ecológicas de las poblaciones colectadas. ■ Tropico cálido húmedo-Selva Alta perennifolia, ■ Trópico calido seco-Selva Baja Caducifolia ■ Templado húmedo- Bosque Mesófilo de Montaña, ▨ Templado subhúmedo, Bosque de Pino, Bosque de Encino y Bosque Pino-Encino. ▤ Arida-Semiarida, ▧ Transición tierra-mar - Humedales. Manglares. Poblaciones colectadas para *Enantia albama*, *Enantia mazari mazari*, *Enantia mazari diazi*, y *Enantia jethys* 1= CUA. 2= LMZ. 3=ZUM. 4=NDH. 5=LCH. 6=XIL. 7= PIL1, 8= PIL2, 9= TLA1, 10 = TLA2, 11 = AHU, 12 = CUE, 13 = TEO, 14 = XIC, 15 = FOR, 16 =SOC.

3.5 Propuesta filogenética.

En realidad el único autor que hasta el momento reconoce formalmente que el complejo “jethys” esta conformado por *E. albania*, *E. mazai* y *E. jethys* es Llorente (1984). Este autor utiliza además de la conformación del diseño de la coloración de las alas, algunas características de los genitales masculinos y femeninos para separar a estas especies (Lorente, 1984; Llorente y González en preparación). Llorente (com. pers.) opina que las especies del complejo se relacionan de la siguiente manera:

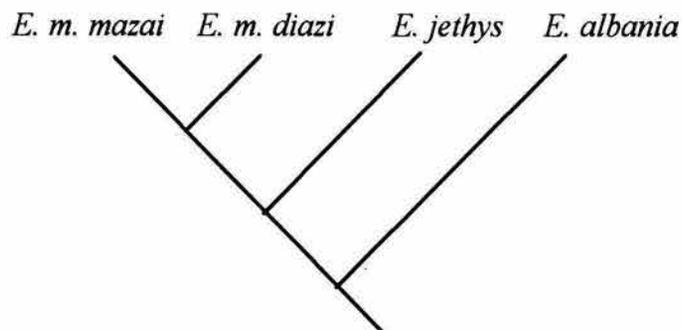


Figura 10. Propuesta de las relaciones filogenéticas entre las especies del complejo “jethys” (Llorente, com. pers.)

Lo que define a una especie es su identidad evolutiva y diferenciación de otros linajes, tal que se encuentra aislada reproductivamente de otras especies. Por esto, en el presente trabajo lo que se predice es que no exista flujo génico entre las especies aún en poblaciones simpátricas.

Objetivos

- Estimar el grado de diferenciación genética entre las poblaciones de las distintas especies.
- Proponer las relaciones filogenéticas existentes entre las especies que constituyen el complejo “jethys”.

3.6 MATERIAL Y MÉTODOS.

3.6.1 Muestreo.

La recolecta de especímenes se llevo a cabo de la siguiente forma:

- 1) Se recolectaron ejemplares de las tres especies que conforman el complejo "jethys".
- 2) Se recolectaron poblaciones disyuntas de *Enantia mazai* por la vertiente del Golfo y del Pacífico.
- 3) Se recolectaron especímenes de *E. albania*, *E. mazai mazai* y *E. jethys* en poblaciones en donde las tres especies se encuentran en simpatría.

Se excluyeron de la planeación de recolecta a las poblaciones de *E. albania* y *E. m. mazai* que se encuentran reportadas al norte de Tamaulipas y al sur de Texas, ya que estos últimos registros son inciertos y uno de ellos data de 1863. Entre 1992 y 1993, se recolectaron ejemplares adultos de doce poblaciones de *Enantia albania*, cinco poblaciones de *Enantia mazai mazai*, cuatro poblaciones de *Enantia mazai diazi* y tres poblaciones de *Enantia jethys*. En tres de las poblaciones se encuentran las tres especies en simpatría y en cinco de ellas (incluyendo las tres anteriores) se encuentran *E. albania* y *E. m. mazai*. La lista de localidades se presenta en el cuadro 10.

Cuadro 10. Poblaciones estudiadas para el complejo "jethys".

Población ^a	N	Número de ejemplares			
		<i>E. albania</i>	<i>E. m. mazai</i>	<i>E. m. diazi</i>	<i>E. jethys</i>
Cuarenteño (CUA)	1			34	
Los Mazos (LMZ)	2			13	
Zumpimito (ZUM)	3			34	
Nueva Delhi (NDH)	4			27	
La Conchita(LCH)	5	22			
Xilitlilla (XIL)	6	29			
Pilcuatla 1 (PIL1)	7	8			
Pilcuatla 2 (PIL2)	8	27			
Tlaxcalantongo1(TLA1)	9	30			
Tlaxcalantongo2(TLA2)	10	30			
Ahuaxentitla (AHU)	11	26			
Cuetzalan (CUE)	12	19	16		
Xico (XIC)	14	20	24		11
Teocelo (TEO)	13	21	32		34
Fortin (FOR)	15	23	26		
Sochiapa (XOC)	16	15	24		27

a entre paréntesis se muestra la abreviatura utilizada en el presente trabajo

Los ejemplares fueron recolectados con redes entomológicas y fueron transportados vivos en bolsas de papel glacil hasta el momento de su congelación en nitrógeno líquido a -180°C . En el momento de la recolecta se determinó el sexo de cada uno de los individuos. Después de sacrificar a los individuos y quitarles las alas, los cuerpos se transportaron en nitrógeno líquido y se almacenaron en un ultracongelador a -70°C hasta que la electroforesis se llevó a cabo. Las alas se conservaron en bolsas de papel glacil, con base en ellas se determinaron los ejemplares.

3.6.2 Electroforesis.

3.6.2.1 Electroforesis en acetato de celulosa.

En *Enantia albania*, *E. mazai mazai*, y *E. jethys*, la cabeza y tórax de los ejemplares se maceraron con 40 microlitros de agua destilada en tubos de microcentrífuga de 1ml. El homogenado se centrifugó por 10 minutos a 6000 r.p.m. Se utilizó el sobrenadante (5 microlitros por individuo). Las muestras se corrieron en geles de acetato de celulosa a 5 miliamperes durante 30 minutos para la enzima ME, 40 para G6PD y PGM, y durante 60 min. para IDH, PGI y GOT (cuadro 11). La técnica utilizada fue la de Richardson et al., 1986. Los sistemas amortiguadores se muestran en el apéndice, y las recetas utilizadas para la tinción son de Herbert y Beaton (1989).

3.6.2.2 Electroforesis en almidón.

Para *Enantia mazai diazi* la cabeza y tórax de los individuos se maceraron en seis gotas de agua destilada. Los tejidos macerados fueron absorbidos en wicks de papel para cromatografía Whatman de $3 \times 10\text{mm}$ (núm. cat. 3030614). Los wicks fueron colocados en tubos eppendorf y congelados a -70°C hasta el momento de la electroforesis. Los wicks se insertaron en geles de almidón al 10% y se corrieron horizontalmente por 6 horas a 225 volts en el caso de las enzimas GOT y PGI (sistema amortiguador C2, ver cuadro 11); y durante 8 horas a 25 miliamperes para las enzimas IDH y PGM (sistema amortiguador D, ver cuadro 11). Transcurrido el tiempo del corrimiento los geles se cortaron horizontalmente, obteniendo 5 rebanadas y a cada una de ellas se le aplicó una

receta particular para teñir una enzima específica. Las recetas de las enzimas se enlistan en el apéndice.

Cuadro 11. Enzimas, sistemas amortiguadores y número de loci estudiados.

Enzima	locus	Número	Sistema amortiguador celulosa	Sistema amortiguador almidón	
				electrodo	gel
Isocitrato deshidrogenasa	IDH-1	E.C. 1.1.1.42	A		
Isocitrato deshidrogenasa	IDH-2		A	D1	D2
Fosfoglucosa isomerasa	PGI	E.C. 5.3.1.9	K	C1	C2
Glutamato oxaloacetato transaminasa	GOT	E.C. 2.6.1.1	K	C1	C2
Fosfoglucosa mutasa	PGM-1	E.C. 5.4.2.2.	K	D1	D2
Fosfoglucosa mutasa	PGM-2		K		
Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa	G6PD-1	E.C.1.1.1.49	C		
Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa	G6PD-2		C		
Enzima málica	ME-1	E.C.1.1.1.40	A		
Enzima málica	ME-2		A		

Sistemas amortiguadores

A = 10mM Na₂HPO₄, 2.5 mM ácido cítrico ph=6.4

K = 15mM Tris, 7mM ácido maléico ph=7.2

C = 50mM Tris, 20mM ácido maléico ph=7.8

C1 = 0.19M ácido bórico, 0.04M hidróxido de litio (1.6g/l/pH ajustar con LiOH) pH=8.3

C2 = 9:1 amortiguador Tris-ácido cítrico: amortiguador del electrodo

amortiguador Tris-ácido cítrico = 0.05M Trizma base, 0.007M ácido cítrico H₂O pH=8.3

D1 = 0.065M L-histidina; 0.007M ácido cítrico (Ca 1.5 g/L: ajustar pH con ácido cítrico)

D2 = 0.016M L-histidina; 0.002M ácido cítrico H₂O (1:3 dilución de la solución amortiguadora del electrodo).

3.7 ANÁLISIS DE DATOS.

3.7.1 Diferenciación entre especies.

Se estimaron las frecuencias alélicas, a partir de los electromorfos (genotipos inferidos) y fueron utilizadas como base para correr el programa BIOSYS-1 (Swofford y Selander, 1981). Se calculó un índice del número de alelos compartidos A_c , a través de la fórmula $A_c = \# \text{ alelos compartidos por la especie A y B} / \text{el número de alelos en la especie A} + \text{número de alelos en la especie B}$. A partir de éste índice se realizó un agrupamiento con UPGMA. Se estimó el estadístico F_{ST} de Wright (1978), con el fin de establecer si existe diferenciación entre las poblaciones de las distintas especies. Posteriormente se

realizó un análisis jerárquico de la diferenciación, para esto se establecieron tres grupos conformados por: poblaciones, especies y el género. Se construyeron dos tablas, una que muestra los componentes de la varianza (σ^2_{XY}) y los estadísticos F (F_{XY}) para cada uno de los niveles jerárquicos relativo a los otros por locus y otra que muestra un resumen para todos los loci. Este procedimiento se efectuó con el paso Wright78 del programa BIOSYS-1 (Swofford y Selander, 1981).

3.7.2 Relaciones filogenéticas.

3.7.2.1 Exploración inicial de las relaciones entre especies.

Se tomo como grupo externo a una especie de la misma tribu a la que pertenece el complejo "jethys" (tribu Dismorhiini): *Lieinix nemesis* Latreille, por poseer varios ejemplares de esta especie (8 individuos). Se construyó una matriz de presencia/ausencia de alelos por especie y con base en ella se llevo a cabo una búsqueda de tipo exhaustiva con el programa PAUP (Swofford, 1990). La confianza estadística se estimo por el porcentaje de veces que la hipótesis es sustentada entre el número de réplicas (bootstrap).

A continuación se describen brevemente los tres métodos de búsqueda que se usan dependiendo del número de taxa que se estén estudiando:

- 1) Búsqueda exhaustiva. Se puede realizar cuando el número de taxa es igual o menor a once. Permite la evaluación de todos los árboles posibles (estrictamente dicotómicos). El algoritmo consiste en conectar los tres primeros taxa de la matriz de caracteres que forman el único árbol posible sin raíz. Después se adiciona el cuarto taxón a cada una de las ramas del árbol de tres taxa inicial, generando todos los posibles árboles sin raíz para los primeros cuatro taxa (i.e. tres árboles). Se continua la adición de los siguientes taxa a cada una de las ramas de los árboles que se generan en cada paso. El orden de adición no tiene importancia; la adición se puede hacer al azar o por cercanía (Swofford, 1985; Li y Graur, 1991).
- 2) Búsqueda "branch and bound". Es recomendable cuando el número de taxa varía entre 11 y 25. Este método se diferencia del anterior en que si durante la búsqueda, un arreglo de taxa origina un árbol de mayor longitud que la de un árbol inicial

generado al azar, entonces no se continua la búsqueda en esa topografía, ya que al conectar los taxa adicionales no será posible disminuir la longitud de dicho árbol.

3) Búsqueda heurística. Se utiliza cuando tenemos más de 25 taxa. Generalmente las búsquedas heurísticas utilizan un árbol inicial para comenzar el proceso; en este árbol se realizan distintos arreglos de tal manera que se reduce el número de pasos y si un arreglo es exitoso en encontrar un árbol de menor longitud, se inician arreglos en este último árbol. Cuando no hay manera de mejorar el árbol, la búsqueda se detiene, y se puede reiniciar con otro árbol. La desventaja de éste método es que no se puede saber si el árbol final más corto es realmente el árbol más corto posible, ya que puede tratarse de un árbol óptimo local y no un óptimo global. Existen dos estrategias básicas para optimizar una búsqueda heurística: a) realizar varias repeticiones de la búsqueda iniciando cada vez con árboles distintos y b) especificar distintas opciones de arreglar los clados.

“Branch swapping.” (cambio de ramas).

Dados los problemas de óptimos locales de la forma de adición de las ramas (stepwise-addition) en la que es posible el no encontrar los árboles óptimos, en el programa PAUP, existe la opción de cambiar las ramas (branch swapping) mejorando la estimación inicial al crear un conjunto de arreglos predefinidos. Estos métodos son:

- 1) Intercambio de ramas con el vecino más cercano (nearest neighbor interchanges, NNI)
- 2) Podar las ramas e injertarlas (subtree pruning-regrafting, SPR)
- 3) Bisectar y reconectar el árbol (tree bisection-reconnection, TBR).

Para estimar la confianza estadística de una hipótesis filogenética obtenida mediante cualquiera de los tres tipos de búsquedas, se puede usar la técnica de “bootstrap” (Li y Zharkikh, 1994), la cual es un método de remuestreo. El remuestreo se hace a partir del conjunto original de datos. Los caracteres son remuestreados con reemplazo hasta que el conjunto de datos tenga el tamaño original, entonces se lleva a cabo la reconstrucción del árbol. El nivel de confianza para una hipótesis filogenética, puede ser estimado por el porcentaje de veces que la hipótesis es sustentada entre el número de réplicas de “bootstrap”.

3.7.2.2 Relaciones filogenéticas entre las especies.

Para conocer las relaciones filogenéticas entre las especies que constituyen al complejo "jethys" se emplearon los métodos de distancia y de parsimonia. En ambos casos se utilizaron los cuatro loci disponibles para *E. albania*, *E. jethys*, *E. m. mazai* y *E. m. diazi* y los diez loci encontrados para las especies anteriores exceptuando la subespecie *E. m. diazi*. Con los métodos de distancia se utilizaron las frecuencias alélicas como base para construir matrices de distancias genéticas, y posteriormente se utilizaron dos métodos de agrupamiento: UPGMA (unweighted pair group method) y neighbor-joining. La distancia genética utilizada fue la de Nei (1972), se empleo esta distancia con fines comparativos ya que es la que se ha utilizado en un mayor número de trabajos en lepidópteros (cuadro 8, capítulo II).

Con el método de parsimonia se utilizaron a los alelos como caracteres y a su presencia/ausencia como estados de carácter. Se utilizó a *Lieinix nemesis* Latreille, como grupo externo. Cuando analizamos a todo el complejo "jethys" (24 poblaciones) se realizó una búsqueda heurística y una búsqueda branch & bound en el caso de *E. albania*, *E. m. mazai* y *E. jethys* (21 poblaciones). En ambos casos se utilizó el programa PAUP (phylogenetic analysis using parsimony; Swofford, 1990; opción tree bisection reconnection TBR).

3.8 RESULTADOS.

3.8.1 Análisis a nivel de especie (alelos compartidos).

El cuadro 12 muestra los alelos compartidos por las especies del complejo "jethys" y *Lieinix nemesis*. Al incluir a todas las especies y subespecies en el análisis, tuvimos que eliminar algunos loci, ya que para realizar la comparación solo teníamos cuatro loci disponibles para *E. m. diazi*, así es que esta parte del análisis se base únicamente en los datos para PGI, GOT, PGM-1 e IDH-2.

Cuadro 12. Alelos presentes en las especies que conforman al complejo "jethys".

Locus	alelo	<i>Enantia albania</i>	<i>Enantia jethys</i>	<i>Enantia m. mazai</i>	<i>Enantia m. diazi</i>	<i>Lieinix nemesis</i>
IDH-1	A	A	A	A		
	B	B	B	B	*	B
	C	C	C	C		
IDH-2	A	A	A	A	A	
	C	C	C	C	C	B
	D	D	D	D	D	E
PGI	A	A				
	B		B			
	C				C	D
	E	E				
	F		F			
	G			G	G	
	H	H				H
	I		I			
	J			J	J	
	K	K				
	L	L	L			
M	M	M				
GOT	A	A				
	B			B	B	
	C	C				C
	D		D	D	D	
	E	E				
	F		F	F	F	
	G	G				
	H			H	H	
	I	I				
	J			J	J	
	K			K		
PGM-1	B	B	B	B	B	A
	C	C	C	C	C	B
	D	D	D	D	D	C
	E		E	E		D
PGM-2	A	A	A	A		A
	B	B			*	B
	C	C				C
	D	D				
ME-1	A	A				
	B	B		B	*	B
	C		C	C		
	D		D	D		
ME-2	A	A			*	A
	B	B	B	B		B
G6PD-1	A	A	A	A		A
	B	B	B	B	*	B
	C	C	C	C		C
	D	D		D		
G6PD-2	A	A	A	A		
	B	B			*	B

* Estos loci no fueron legibles en almidón.

El porcentaje más alto de alelos compartidos lo presentan las dos subespecies de *E. mazai* (cuadro 13), esto es lógico si pensamos que todavía existe flujo de genes entre ellas o que el tiempo de divergencia entre ellas ha sido muy reciente. Le sigue el porcentaje de alelos compartidos por *E. jethys* y *E. m. mazai* y finalmente el de *E. albania* y *E. jethys*. Es sobresaliente, sin embargo el alto porcentaje de alelos compartidos entre *E. albania* y *Lieinix nemesis* (28%), este porcentaje es igual al que comparten *E. albania*, *E. m. mazai*, y *E. jethys* con *E. m. mazai* y es aún mayor al que se presenta entre *E. albania* y *E. m. diazi*. Una explicación a estos resultados es que el número de loci utilizados es bajo (4) y no se toman en cuenta algunos en los que existe mucha diferenciación (PGM-2, G6PD-1 y ME-1), también sería bueno ponderar de alguna manera la presencia de los alelos dependiendo de su frecuencia, ya que hay alelos detectados en muy baja frecuencia en algunas especies (frecuencia menor a 0.05, como por ejemplo: el alelo *D* de IDH-2, *L* en PGI en *E. albania*, *F* de GOT en *E. jethys*, y *D* de IDH-2, y *J* de GOT en *E. m. mazai*, ver cuadros 37-40 del apéndice). Por lo que es posible que en otros taxa se encuentren los mismos alelos también en frecuencias muy bajas, pero que no se hayan detectado por simple error de muestreo.

Cuadro 13. Porcentaje de alelos compartidos (Ac) entre las distintas especies que conforman al complejo "jethys" y el grupo externo que utilizamos (*Lieinix nemesis*).

	<i>E. jethys</i>	<i>E. m. mazai</i>	<i>E. m. diazi</i>	<i>Lieinix nemesis</i>
<i>E. albania</i>	0.30	0.28	0.24	0.28
<i>E. jethys</i>	—	0.37	0.28	0.19
<i>E. m. mazai</i>		—	0.45	0.20
<i>E. m. diazi</i>			—	0.13

Realizando un agrupamiento con UPGMA a partir de los datos del cuadro 13, obtenemos el dendrograma de la figura 11, en el cual se aprecia que las dos subespecies

se encuentran muy cercanas y a su vez son más similares con *E. jethys*, y es interesante que *E. albania* se agrupe con *Lieinix nemesis*.

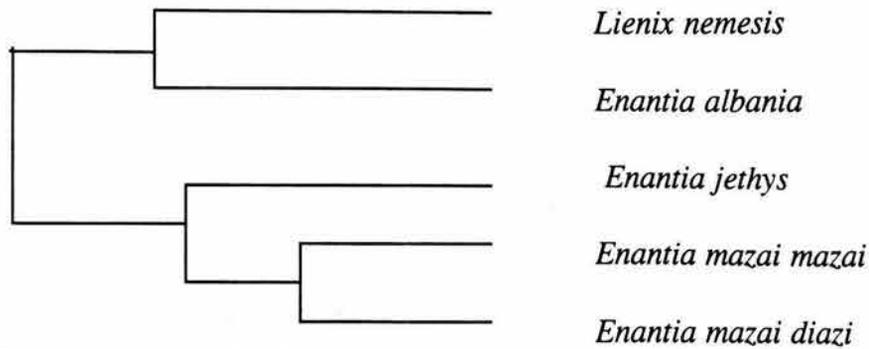


Figura 11. Dendrograma que muestra las relaciones entre las especies cuando se utilizan los alelos compartidos entre especies.

Se construyó la siguiente matriz de presencia/ausencia de alelos por especie

<i>Lieinix nemesis</i>	0100100010001000000001000100011110
<i>Enantia albania</i>	1011010001001001101010001010001110
<i>Enantia jethys</i>	1011001000100100110001010000001111
<i>Enantia m. mazai</i>	1011000000010010000101010101101111
<i>Enantia m. diazi</i>	1011000100010010000101010101001110

A partir de esta matriz se realizó una búsqueda de los árboles más parsimoniosos con el programa PAUP (opción búsqueda exhaustiva; Swofford, 1990) y se obtuvieron los árboles igualmente parsimoniosos que se muestran en la figura 12, donde se muestra la longitud, los índices de consistencia (CI) y de retención (IR).

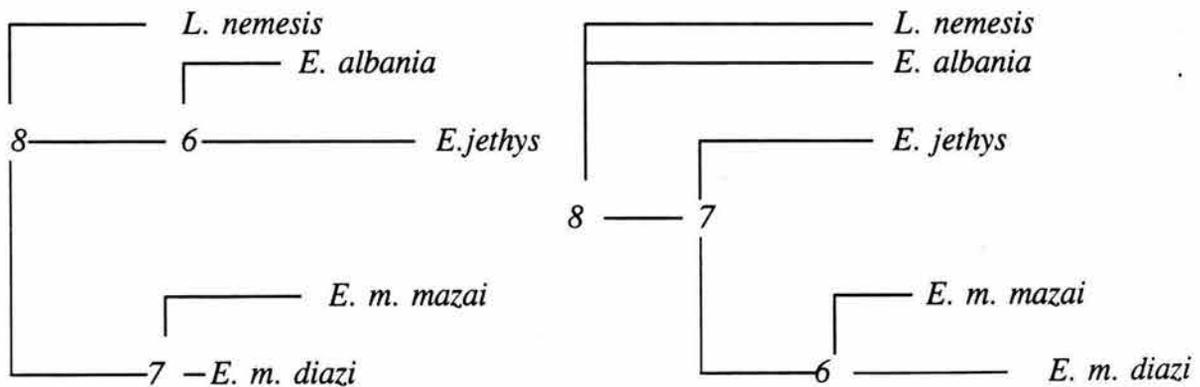


Figura 12. Árboles igualmente parsimoniosos después de realizar una búsqueda de tipo exhaustivo con el programa PAUP (Swofford, 1990). Longitud: doce pasos, CI= .75, IR= .667

Después de realizar un bootstrap (1000 réplicas) con la regla de consenso de mayoría del 50% se obtuvo el árbol de la figura 13, en el cual se muestra que la rama en la que se encuentran las dos subespecies de *E. mazai* está muy bien soportada. En estos resultados aunque parece no haber congruencia entre las hipótesis de relación obtenidas por los diferentes métodos, hay que recordar que el número de loci mostrados fue bajo y que además tomamos la presencia/ausencia de alelos por especie y no por población. Cuando se analizan las poblaciones, de alguna manera se pondera la presencia de alelos raros que no están presentes en todas las poblaciones de las especies por lo que el análisis es más robusto como lo muestran los resultados de la 3.6.3.3.

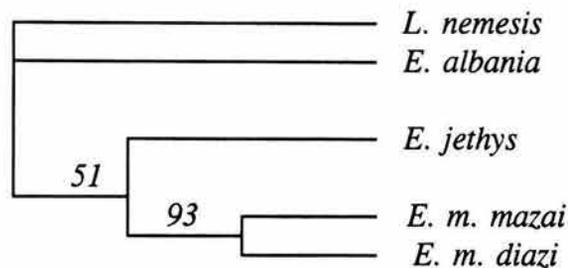


Figura 13. Árbol después de realizar 1000 bootstrap para las especies del complejo “jethys”(34 caracteres).

3.8.2 Análisis a nivel de población (diferenciación entre especies).

3.8.2.1 Valores de F_{ST} .

Cuando se estimaron los valores de F_{ST} para las poblaciones de todas las especies estudiadas se obtuvieron valores de diferenciación muy altos, estos resultados son lógicos, puesto que se espera que las poblaciones de las distintas especies se encuentren diferenciadas, los altos valores de F_{ST} se mantienen cuando se analizaron tanto los diez loci disponibles para *E. albania*, *E. m. mazai*, y *E. jethys* y para los cuatro loci disponibles para las especies antes mencionadas y para *E. m. diazi* (cuadros 14 y 15). En ambos casos aunque hay valores bajos para algunos loci, en la mayoría se observan valores muy altos de F_{ST} y en promedio el valor de la F_{ST} es más alto que cualquier otro

valor reportado en la literatura de mariposas para poblaciones de la misma especie. Cuando consideramos cuatro loci los valores de F_{ST} disminuyen, debido a que no se consideran loci altamente diferenciados (PGM-2, ME-1 y G6PD-1) que no son comparables para *E. m. diazi* ya que en esta subespecie no fueron detectados debido a que se utilizo otra técnica de electroforesis (almidón). Pero hay que notar que tanto si consideramos diez como cuatro loci la diferenciación entre las poblaciones es muy grande.

Cuadro 14. Valores de la F_{ST} para todas las poblaciones estudiadas a excepción de las poblaciones de *E. m. diazi*.

locus	IDH-1	IDH-2	PGI	GOT	PGM-1	PGM-2	G6PD-1	G6PD-2	ME-1	ME-2	X
F_{ST}	.050	.653	.517	.513	.091	.954	.401	.019	.818	.049	.559

Cuadro 15. Valores de la F_{ST} para todas las poblaciones estudiadas de *E. albania*, *E. jethy*, *E. m. mazai* y *E. m. diazi*.

locus	PGI	GOT	PGM-1	IDH-2	X
F_{ST}	.526	.504	.087	.624	.476

3.8.2.2 Análisis jerarquizado de la diferenciación

Para confirmar que los niveles de diferenciación entre las poblaciones están explicados por la diferenciación de las poblaciones entre especies y no por la diferenciación entre poblaciones de la misma especie se realizó un análisis jerarquizado de la diferenciación. En este análisis encontramos que los tres grupos conformados por: poblaciones, especies y el género muestran diferentes niveles de diferenciación. Siendo la diferenciación entre poblaciones de diferentes especies la que explica los niveles de F_{ST} encontrados en el inciso anterior (cuadros 16 y 17). Es decir, las diferencias encontradas a nivel del complejo "jethys" se deben a la diferenciación entre especies y no a la de poblaciones dentro de cada una de las especies. En el cuadro 17, se presenta un resumen de la diferenciación encontrada en el complejo "jethys", en él se aprecia que la mayor parte de la diferenciación se presenta entre especies, el valor promedio de la F_{ST} entre poblaciones

es muy pequeño (0.945) y el calculado entre especies es muy alto (0.527). Estos resultados confirman que el complejo "jethys" esta conformado por tres especies, como lo planteo Llorente (1984) y no por una sola especie como había sido anteriormente propuesto.

Cuadro 16. Análisis jerarquizado de la diferenciación en el complejo "jethys".

locus	pob-especie F_{PS}	esp-género F_{SG}	pob-género F_{PG}
IDH-1	.014	.012	.026
IDH-2	.001	.645	.645
PGI	.006	.507	.504
GOT	.039	.481	.502
PGM-1	.068	.002	.070
PGM-2	.020	.957	.958
G6PD-1	.031	.367	.387
ME-1	.318	.725	.812

Cuadro 17. Resumen de los valores de diferenciación para el complejo "jethys".

Entre loci	F_{ST}
población-especie	.045
especie-género	.527
población-género	.549

3.8.2.3 Medidas de distancia genética.

Los valores de distancias genéticas entre las poblaciones de la misma especie son bajos (en *E. albania*, *E. jethys* y cada una de las subespecies de *E. mazai*), y son similares a los que se encuentran en otras especies de lepidópteros (cuadro 18 de este capítulo y cuadro 8, capítulo II). Por otra parte, los valores promedio entre especies son particularmente grandes ($0.514 \pm .183$) y son más altos que cualquier otro valor reportado para mariposas, pero se encuentran dentro de los valores reportados para otras especies de insectos (cuadro 8, capítulo II). Por otro lado, la distancia genética que separa a las dos subespecies de *E. mazai* es superior a las reportadas entre subespecies de lepidópteros y se encuentra dentro del intervalo de valores reportados para las especies de lepidópteros (cuadro 8 capítulo II).

Cuadro 18. Distancias promedio entre poblaciones para las especies del complejo "jethys".

Especie	Distancia genética promedio entre poblaciones de una especie (Nei, 1978)
<i>E. albania</i>	0.007 (.004)
<i>E. jethys</i>	0.015 (.009)
<i>E. m. mazai</i>	0.012 (.028)
<i>E. m. diazi</i>	0.038 (.020)
<i>E. mazai</i>	0.114 (.057)*

*distancia total de *E. mazai*

3.8.3 Diferenciación en *E. mazai*. ¿Subespecies o especies?

Como vimos en el inciso anterior, las subespecies de *E. mazai* muestran distancias genéticas mayores a cualquier otra distancia para subespecies reportada para lepidópteros, y se asemeja más a las encontradas entre especies. Con respecto a los estadísticos de Wright, se aprecia que hay una fuerte estructuración en esta especie, revelada por el valor de la F_{ST} (0.132; cuadro 19). Es decir, las poblaciones que pertenecen a ambas subespecies se encuentran muy diferenciadas.

Cuadro 19. Modificaciones de Weir de los estadísticos F de Wright (Wright, 1965), para *Enantia mazai*. Los intervalos de confianza para los valores promedio de las F_{ST} se obtuvieron mediante bootstrap y se muestran entre paréntesis. * es el error estándar para el valor promedio de $N_e m$

locus	F_{IS}	F_{ST}	F_{IT}	$N_e m$
PGI	-.0341	-.0571	.0231	5.42
GOT	.2827	.0443	.2528	.6074
PGM-1	.3926	.3742	.0295	4.219
IDH-2	.5381	.2109	.4182	.288
promedio	.339	.1320	.2325	2.633
	(.098 a .483)	(-.018 a .293)	(.024 a .352)	(2.229)*

Cuando se analizan las distancias genéticas, así como en el dendrograma generado a partir de ellas mediante UPGMA (cuadro 20, figura 14), se observa que se forman dos grupos bien definidos: uno perteneciente a las poblaciones de subespecie *E. m. mazai*, que se distribuye por la vertiente del Golfo de México (FOR, XIC, TEO, SOC y CUE) y el otro

conformado por las poblaciones de *E. m. diazi* que se distribuye por la vertiente del Pacífico (CUA, LMZ, NDH y ZUM).

Cuadro 20. Arriba de la diagonal se presentan las distancias genéticas de Nei (1972) y bajo la diagonal se presentan las identidades genéticas de Nei (1972), entre parejas de poblaciones de *Enantia mazai* en México

Población	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1FOR	****	.021	.006	.008	.095	.466	.441	.292	.295
2XIC	.979	****	.008	.012	.049	.345	.313	.191	.209
3TEO	.994	.992	****	.009	.070	.393	.370	.239	.246
4SOC	.992	.988	.991	****	.081	.394	.366	.226	.254
5CUE	.909	.952	.933	.922	****	.402	.374	.253	.249
6CUA	.628	.708	.675	.675	.669	****	.012	.064	.051
7LMZ	.643	.731	.693	.693	.688	.988	****	.039	.031
8NDH	.747	.826	.798	.798	.776	.938	.962	****	.062
9ZUM	.745	.811	.782	.776	.780	.950	.969	.940	****

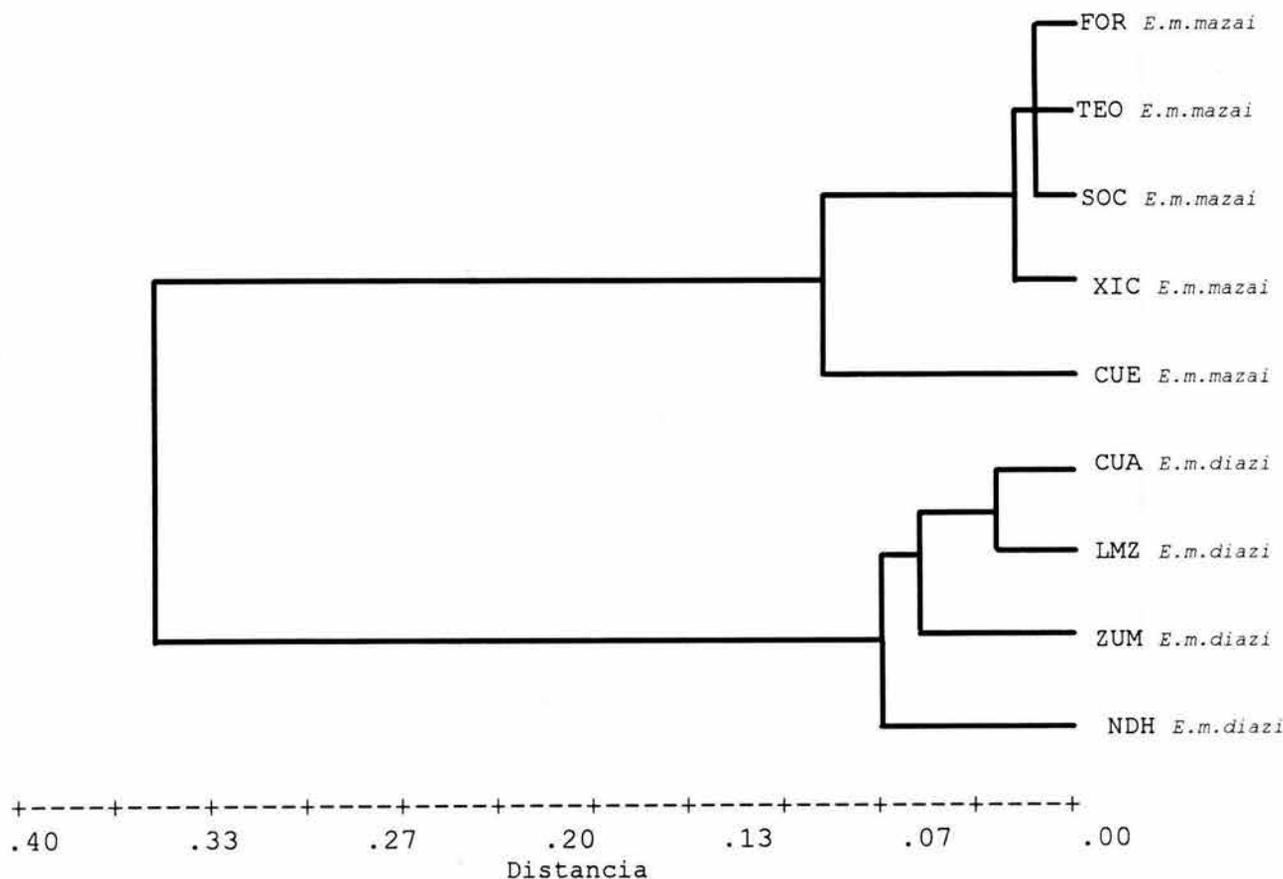


Figura 14. Dendrograma que resume las distancias genéticas de Nei (1972) agrupadas por el método de UPGMA, para doce poblaciones de *Enantia mazai mazai* en México.

Calculamos los valores de M , para estimar si existe aislamiento por distancias y para conocer los niveles de flujo génico que existen entre las poblaciones de esta especie por la vertiente del Pacífico y las del Atlántico. Al calcular los valores de M para parejas de poblaciones observamos que cuando comparamos las poblaciones de las dos vertientes costeras los valores decrecen drásticamente, es decir, existe mayor flujo génico entre las poblaciones que pertenecen al Atlántico y las que pertenecen al Pacífico, que el flujo de genes que se presenta entre las poblaciones de las dos vertientes.

Cuando se graficaron los logaritmos de los valores de M para todos los pares de poblaciones versus los logaritmos de las distancias geográficas se encontró un patrón claro de aislamiento por distancia. Este patrón resultó ser significativo al realizar la prueba de Mantel ($r^2 = 0.81$, $p = 0.007$), es decir conforme aumenta la distancia geográfica disminuye el flujo de genes entre las poblaciones (fig. 15). Sin embargo la $N_e m$ es de 2.633 (error estándar = 2.29) lo cual podría indicar que todavía existe flujo génico entre las poblaciones o que la separación y diferenciación de las dos subespecies es muy reciente.

Puesto que las distancias geográficas que separan a las poblaciones de *E. mazai* por la vertiente del Golfo y del Pacífico son prácticamente imposibles de salvar por estas mariposas, suponemos que la diferenciación observada y los niveles de flujo génico obtenidos están reflejando un tiempo de divergencia muy corto. Podemos decir que ambas subespecies forman entidades evolutivas independientes, por lo que sugerimos que

se revise su *status* taxonómico ya que se podrían considerar diferentes especies (según la definición filogenética de especie).

Cuadro 21. Arriba de la diagonal se presentan las distancias geográficas entre los pares de poblaciones y bajo la diagonal se presentan los valores de M , para todas las parejas de poblaciones estudiadas en *Enantia mazai* en México.

Población	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1FOR	-	80	76	32	180	1196	932	728	516
2XIC	19.53	-	8	48	116	1168	924	720	552
3TEO	4.45	6.28	-	40	128	1176	932	724	552
4SOC	5.92	7.96	4.9	-	160	1184	932	688	724
5CUE	.67	.55	.52	.59	-	1068	844	668	544
6CUA	.82	.68	.62	.68	10.88	-	360	520	319
7LMZ	.73	.59	.54	.60	27.39	31.5	-	208	572
8NDH	6.28	.52	.48	.54	18.26	31.53	89.02	-	544
9ZUM	7.96	4.90	.73	.83	2.77	2.77	3.93	3.51	-

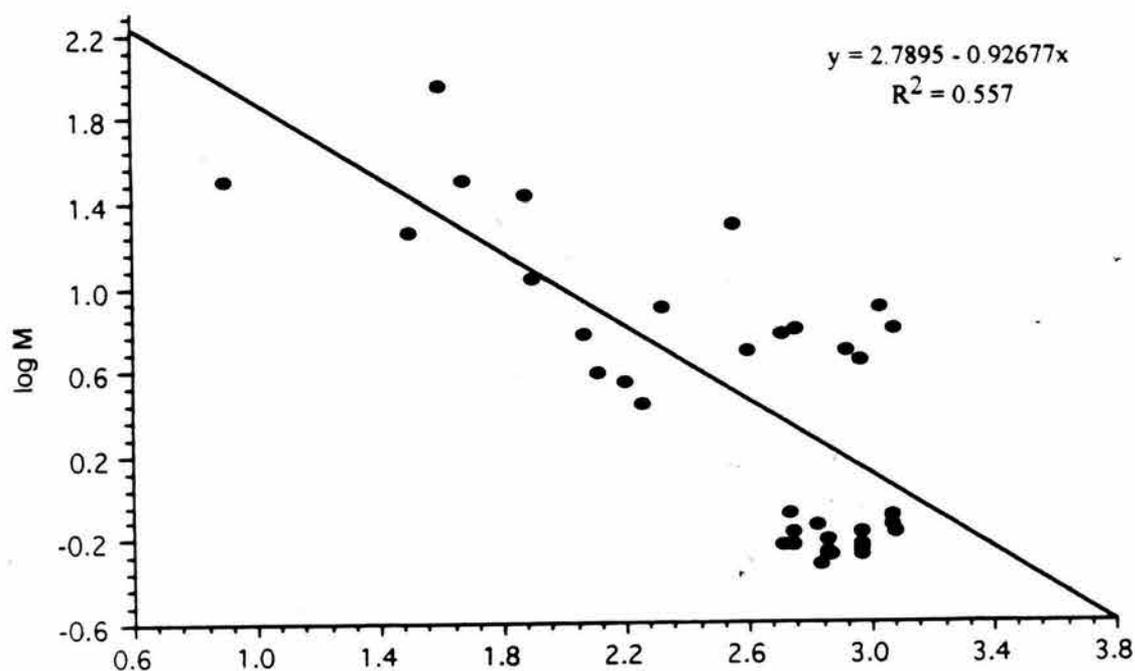


Figura 15 Estimaciones de las tasas de migración entre parejas de poblaciones como una función de la distancia geográfica entre poblaciones. Se graficó el logaritmo de \hat{M} ($\hat{M} = (1/F_{ST} - 1)/4$) versus el logaritmo de la distancia geográfica (en kilómetros). *Enantia mazai* recolectada en 9 poblaciones en la vertiente del Golfo y del Pacífico (México).

3.8.4 Relaciones filogenéticas

3.8.4.1 Métodos de distancia.

Cuando se utilizaron las frecuencias alélicas para obtener las matrices de distancias éstas se analizaron con dos métodos UPGMA y neighbor-joining. Los loci que se pudieron obtener y que comparten *E. albania*, *E. mazai mazai*, *E. mazai diazi* y *E. jethys* son cuatro: En el caso de *E. albania*, *E. mazai mazai* y *E. jethys* se tiene 10 loci. Esto se debió que *E. mazai diazi* se analizó con geles de almidón y sólo se obtuvieron cuatro loci. En tanto que para *E. mazai mazai*, *E. albania* y *E. jethys* se pudieron leer diez loci en acetatos de celulosa.

3.8.4.1.1 Cuatro loci.

Cuando se utilizaron los métodos cuantitativos, los dos métodos de agrupamiento se forman cuatro grupos, cada uno de ellos comprende a las diferentes especies del complejo *jethys*. Sin embargo, las relaciones entre las especies son diferentes en cada uno de los casos:

- 1) Neighbor-joining. La especie *E. albania*, se encuentra más cercana a *E. m. diazi*, después ambas se asemejan más a *E. mazai mazai* que a *E. jethys* (fig. 16).
- 2) UPGMA. Las especies más emparentada son *E. mazai mazai* y *E. mazai diazi*, después *E. albania* y finalmente *E. jethys* (fig. 17).

Los resultados de los dos métodos pueden diferir debido a que con UPGMA se suponen tasas de substitución constantes a los largo de las ramas del dendrograma, en tanto que el neighbor-joining permite tasas desiguales de cambio, no supone que todos los linajes han divergido en cantidades iguales. En ambos casos sin embargo hay que recordar que solo se toman en cuenta cuatro loci, excluyendo a loci muy diferenciados entre especies.

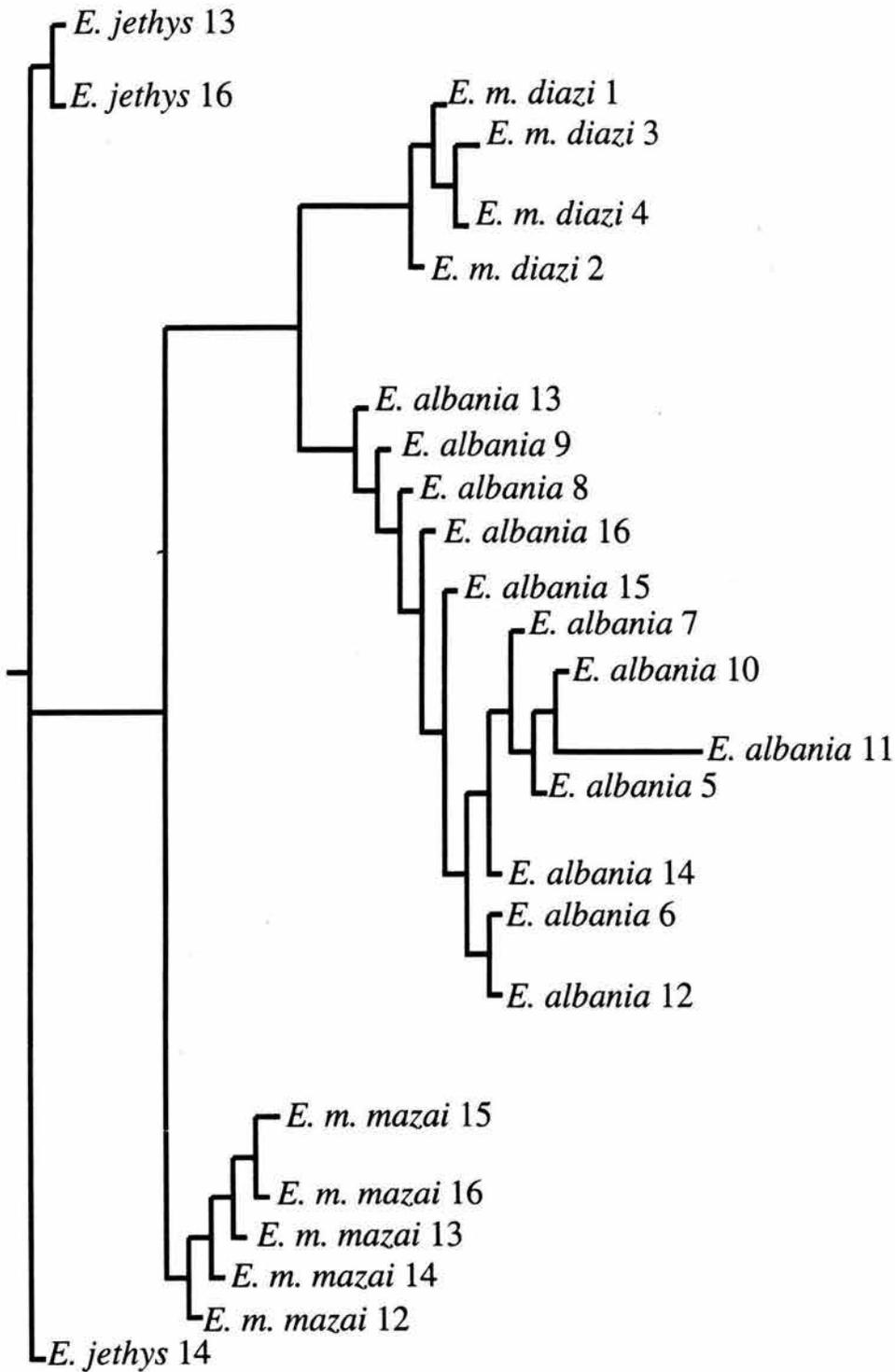


Figura 16. Relaciones filogenéticas propuestas después de realizar un agrupamiento neighbor-joining para todas las especies del complejo "jethys".

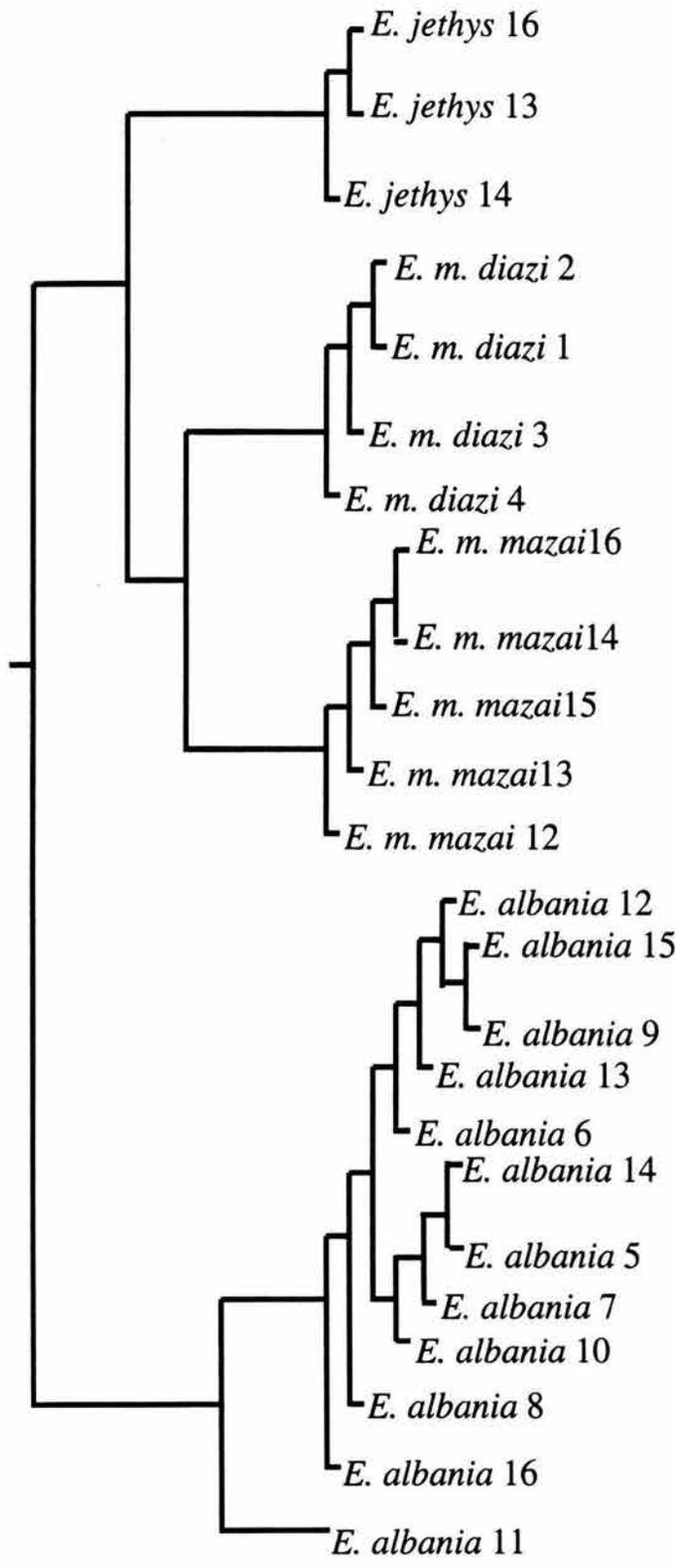


Figura 17. Relaciones filogenéticas propuestas después de realizar un agrupamiento UPGMA para todas las especies del complejo "jethys".

3.8.4.1.2 Diez loci.

Cuando se incluyen a todos los loci disponibles para *E. albania*, *E. jethys* y *E. mazai* (10), los resultados con el UPGMA y con el neighbor-joining son distintos. Con el UPGMA las poblaciones de las diferentes especies se agrupan en diferentes clados, pero con el neighbor-joining las poblaciones de diferentes especies se mezclan. En este último caso se observó que la población de Cuetzalan perteneciente a *E. m. mazai* se agrupa con las poblaciones de *E. jethys*.

Al calcular las distancias genéticas obtuvimos que la población de Cuetzalan se separa del resto de su especie, además como veremos en el próximo capítulo Cuetzalan muestra una marcada diferenciación del resto con respecto al locus ME-1. Al eliminar a este locus que no se encuentra en equilibrio Hardy-Weinberg y que posiblemente está bajo selección (o una parte del genoma asociada a él) los resultados son congruentes, así, tanto si suponemos tasas constantes de cambio (substitución de aminoácidos) con el UPGMA, como si no las suponemos (neighbor-joining), las poblaciones de las diferentes especies se agrupan en clados diferentes las poblaciones se agrupan en clados diferentes con neighbor-joining y UPGMA. Las relaciones entre las especies coinciden con ambos métodos de agrupamiento, siendo *E. jethys* y *E. m. mazai* especies hermanas (figuras 18 y 19).

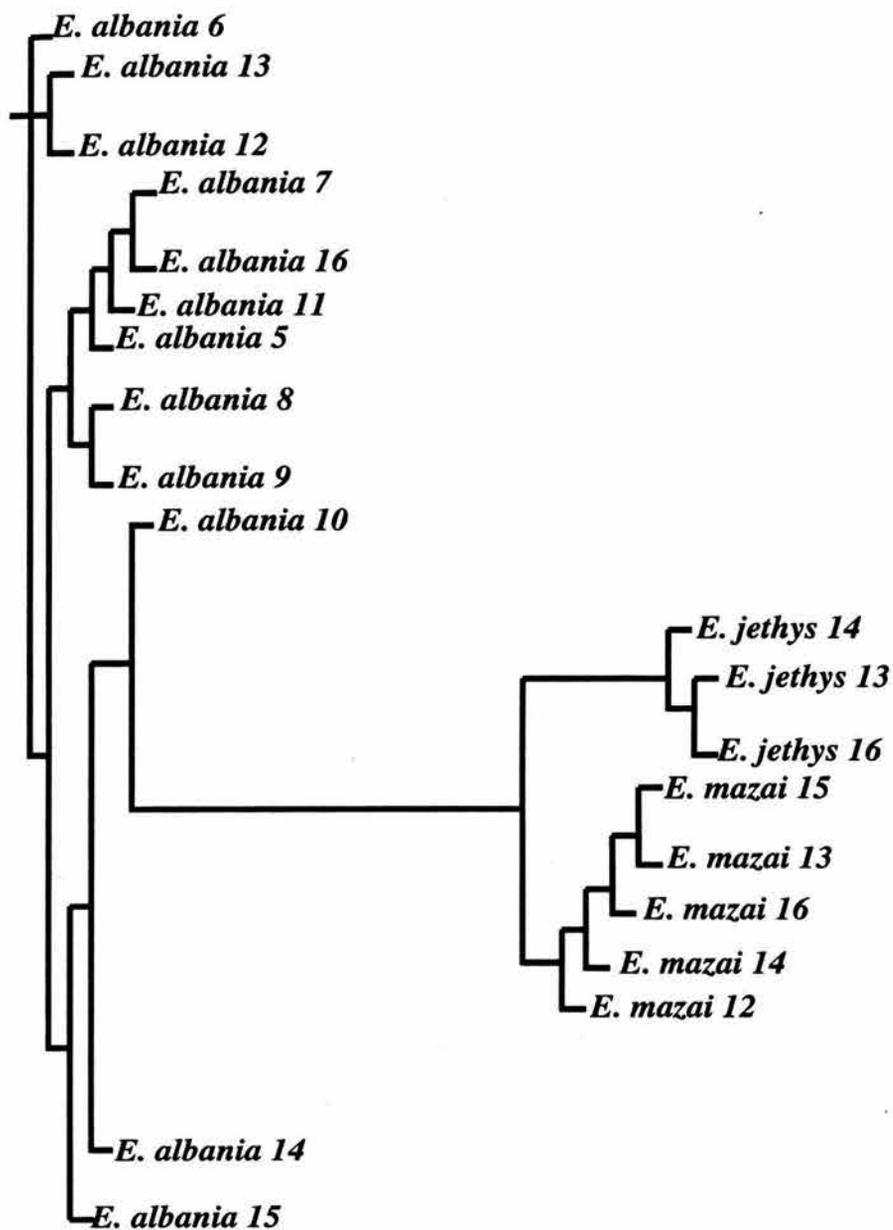


Figura 18. Relaciones filogenéticas propuestas después de realizar un agrupamiento neighbor-joining para todas las especies del complejo "jethys". Se utilizaron nueve loci.

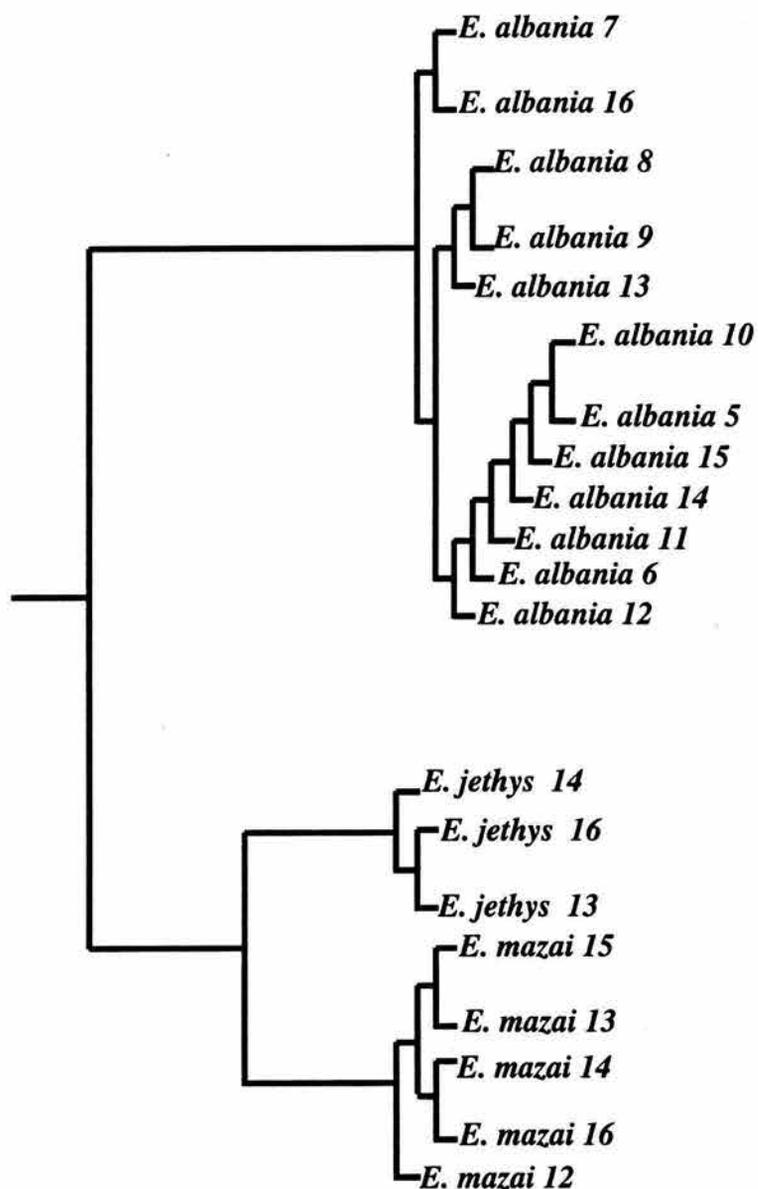


Figura 19. Relaciones filogenéticas propuestas después de realizar un agrupamientoUPGMA para todas las especies del complejo "jethys". Se utilizaron diez loci.

3.8.4.2 Métodos de Parsimonia.

En el caso de los métodos de parsimonia, se utilizaron los alelos como caracteres. Este procedimiento se utilizó fundamentalmente porque al usar los loci como caracteres y los alelos como estados de carácter el número de árboles igualmente parsimoniosos era inmenso (mayor a 1,5000 árboles), en tanto que al usar a los alelos como caracteres el número de árboles bajo substancialmente.

Se contó con cuatro loci (34 caracteres) para todas las especies y con 10 loci (53 caracteres) para todas las especies a excepción de *E. m. diazi*. Las matrices de presencia/ausencia de alelos se muestran en el cuadro 22 y 23.

Cuadro 22. Matriz de presencia ausencia para todas las poblaciones estudiadas (34 caracteres)

<i>Lieinix</i>	010010001000100000000100000000111110
<i>E. albania7</i>	0010000001001000001010100000000110
<i>E. albania8</i>	0010010001001000001010100010001110
<i>E. albania10</i>	1011010001001000001010101000001110
<i>E. albania11</i>	1010000001001001001010000000001100
<i>E. albania9</i>	0010010001001001101010100000001110
<i>E. albania5</i>	1011000001001000001010100000000110
<i>E. albania6</i>	0010010001001000001010000000001110
<i>E. albania15</i>	1010010001001000101010101000001110
<i>E. albania14</i>	1010000001001001101010100000001110
<i>E. albania13</i>	0010000001001000001010101000001110
<i>E. albania16</i>	1010000001001000001010001000001110
<i>E. albania12</i>	1010000001001000001010000000001110
<i>E. m. mazai15</i>	1011000000010010000100010100001110
<i>E. m. mazai14</i>	1011000000010010000101010101001101
<i>E. m. mazai13</i>	1011000000010010000101010100001100
<i>E. m. mazai16</i>	1010000000010010000100010100001111
<i>E. m. mazai12</i>	1010000000010010000100000100101100
<i>E. jethys14</i>	1010001000100100100010100000000110
<i>E. jethys13</i>	1010001000100100110010100000001110
<i>E. jethys16</i>	1011001000100100100010100000001111
<i>E. m. diazi1</i>	0010000000010010000100010001001110
<i>E. m. diazi2</i>	0010000100010010000101010000001100
<i>E. m. diazi4</i>	0011000100010010000100010100001110
<i>E. m. diazi3</i>	0111000100010010000100010100001100

Cuadro 23. Matriz de presencia ausencia para todas las poblaciones estudiadas a excepción de las poblaciones pertenecientes a *E. m. diazi* (53 caracteres)

<i>Lieinix</i>	01001001000100010000000100000000111101110010011111001
<i>E. albania7</i>	01000100000010010000010101000000001100100010011010110
<i>E. albania8</i>	01000100100010010000010101000100011100100010001111110
<i>E. albania10</i>	01010110100010010000010101010000011100110010001111110
<i>E. albania11</i>	01110100000010010010010100000000011000100010001111110
<i>E. albania9</i>	01100100100010010011010101000000011100101010011110110
<i>E. albania5</i>	01010110000010010000010101000000001100100010001111110
<i>E. albania6</i>	01000100100010010000010100000000011100110010001111111
<i>E. albania15</i>	01010100100010010001010101010000011100101010001111110
<i>E. albania14</i>	11010100000010010011010101000000011100100110001111111
<i>E. albania13</i>	01000100000010010000010101010000011101110010001110011
<i>E. albania16</i>	01110100000010010000010100010000011100100010001110110
<i>E. albania12</i>	01110100000010010000010100000000011100100010001111110
<i>E. m. mazai15</i>	11110110000000100100001000101000011101000010001010010
<i>E. m. mazai14</i>	11010110000000100100001010101010011011000010001111110
<i>E. m. mazai13</i>	11110110000000100100001010101000011001000010001010010
<i>E. m. mazai16</i>	11010100000000100100001000101000011111000011001010010
<i>E. m. mazai12</i>	11010100000000100100001000001001011001000011101110010
<i>E. jethys14</i>	11110100010001001001000101000000001101000001101100010
<i>E. jethys13</i>	01010100010001001001100101000000011101000001001111010
<i>E. jethys16</i>	01010110010001001001000101000000011111000001101101010

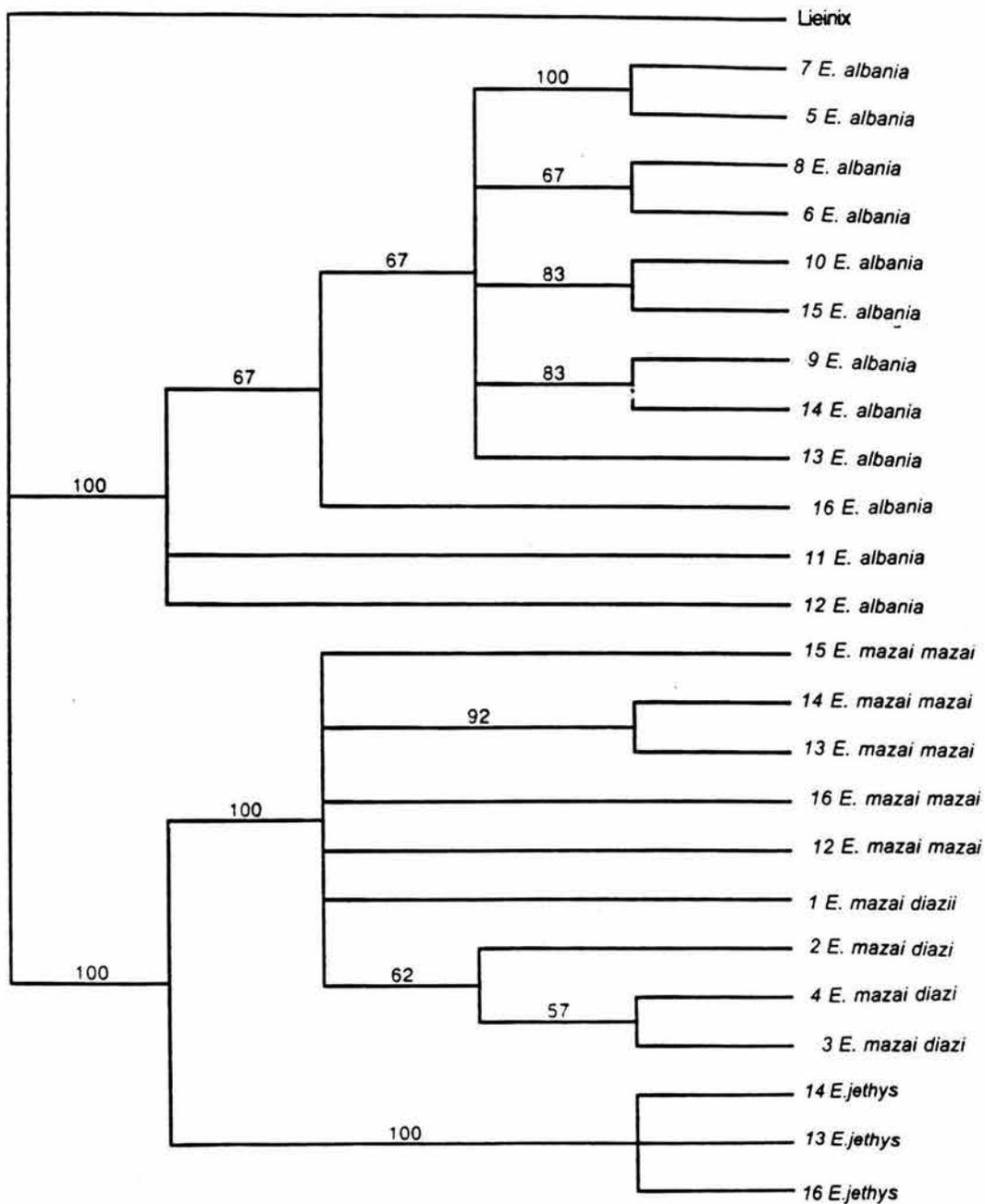


Figura 20. Topología que muestra el árbol de consenso (regla de mayoría) derivado de 546 igualmente parsimoniosos obtenidos mediante una búsqueda heurística (TBR). Se trataron 34 caracteres (4 loci).

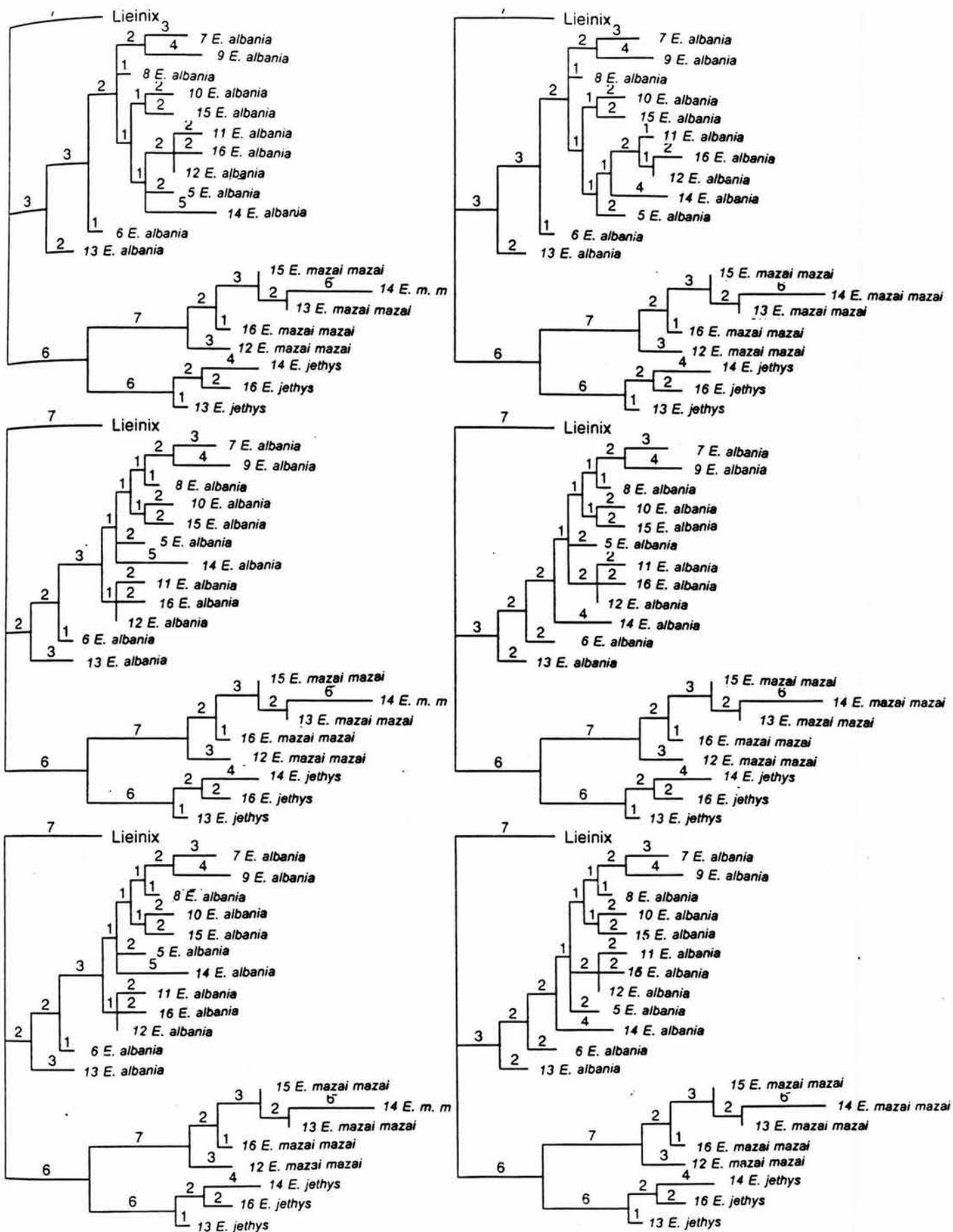


Figura 21. Seis árboles igualmente parsimoniosos, obtenidos por el método de búsqueda branch & bound (secuencia de adición del más lejano), con 53 caracteres (10 loci), se excluye a *E. m. diazi*. Los números en cada rama indican el número de pasos.

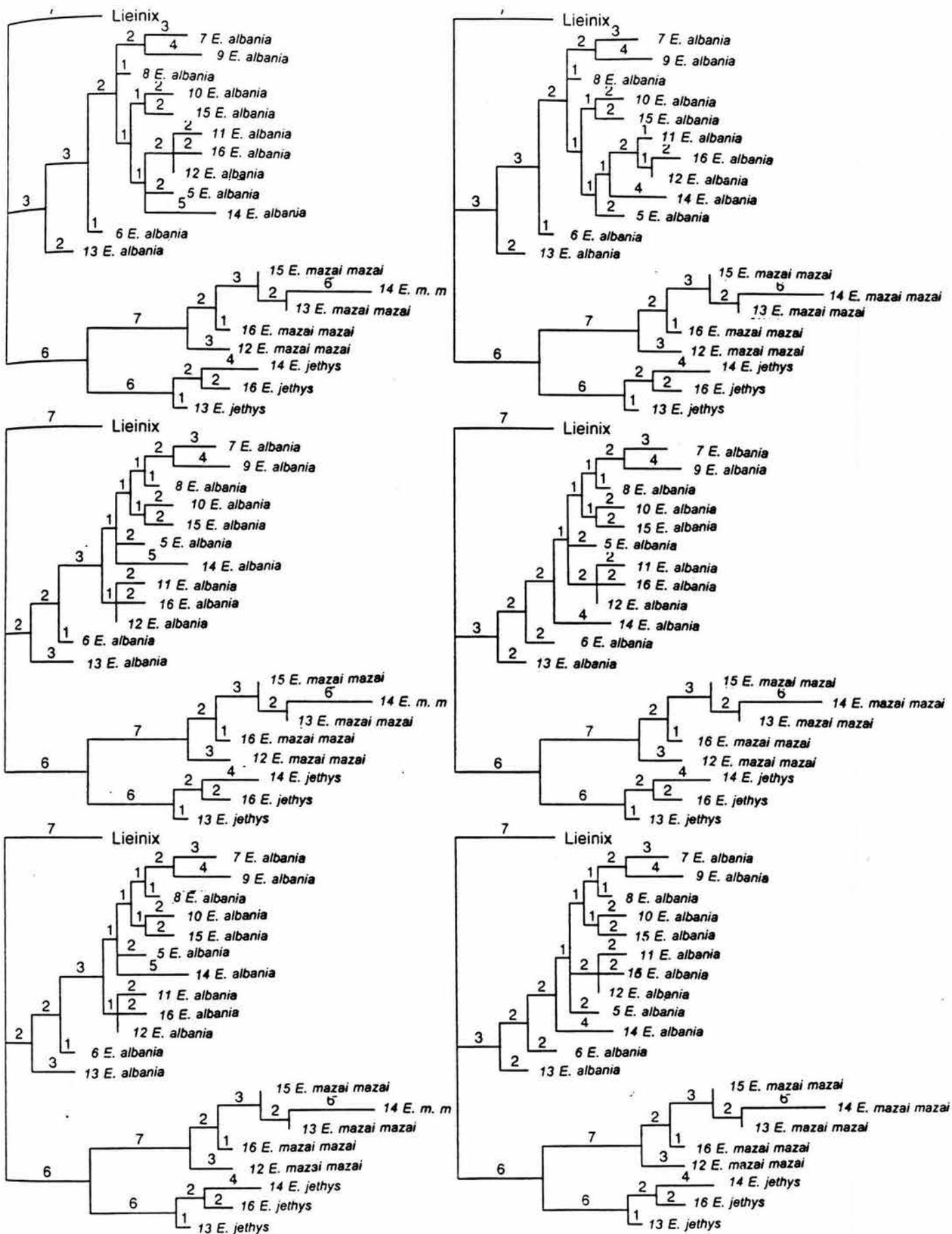


Figura 21. Seis árboles igualmente parsimoniosos, obtenidos por el método de búsqueda branch & bound (secuencia de adición del más lejano), con 53 caracteres (10 loci), se excluye a *E. m. diazi*. Los números en cada rama indican el número de pasos.



BIBLIOTECA
INSTITUTO DE ECOLOGIA
UNAM

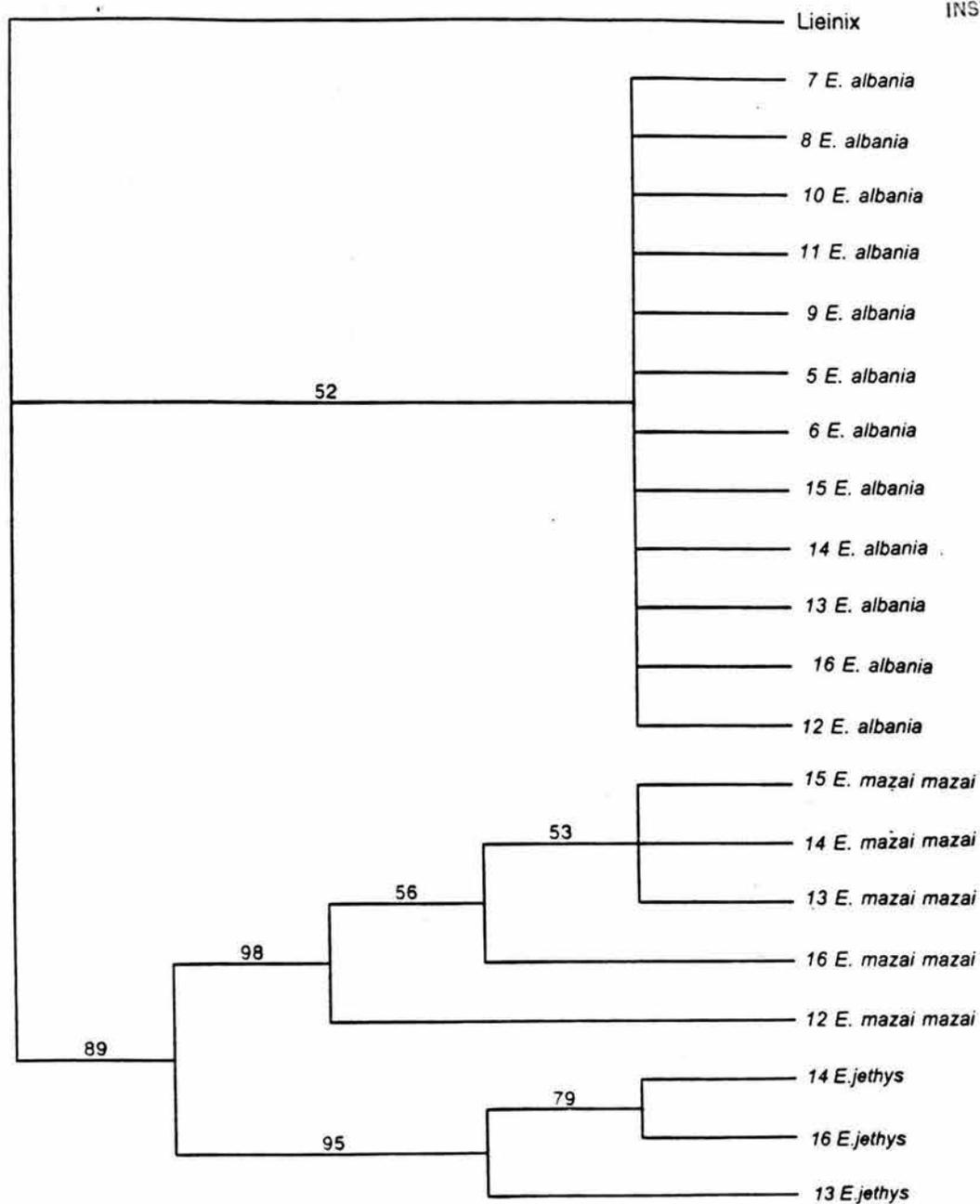


Figura 22. Topología que muestra el árbol de consenso (regla de mayoría del 50%) derivado de 6 árboles igualmente parsimoniosos (53 caracteres).

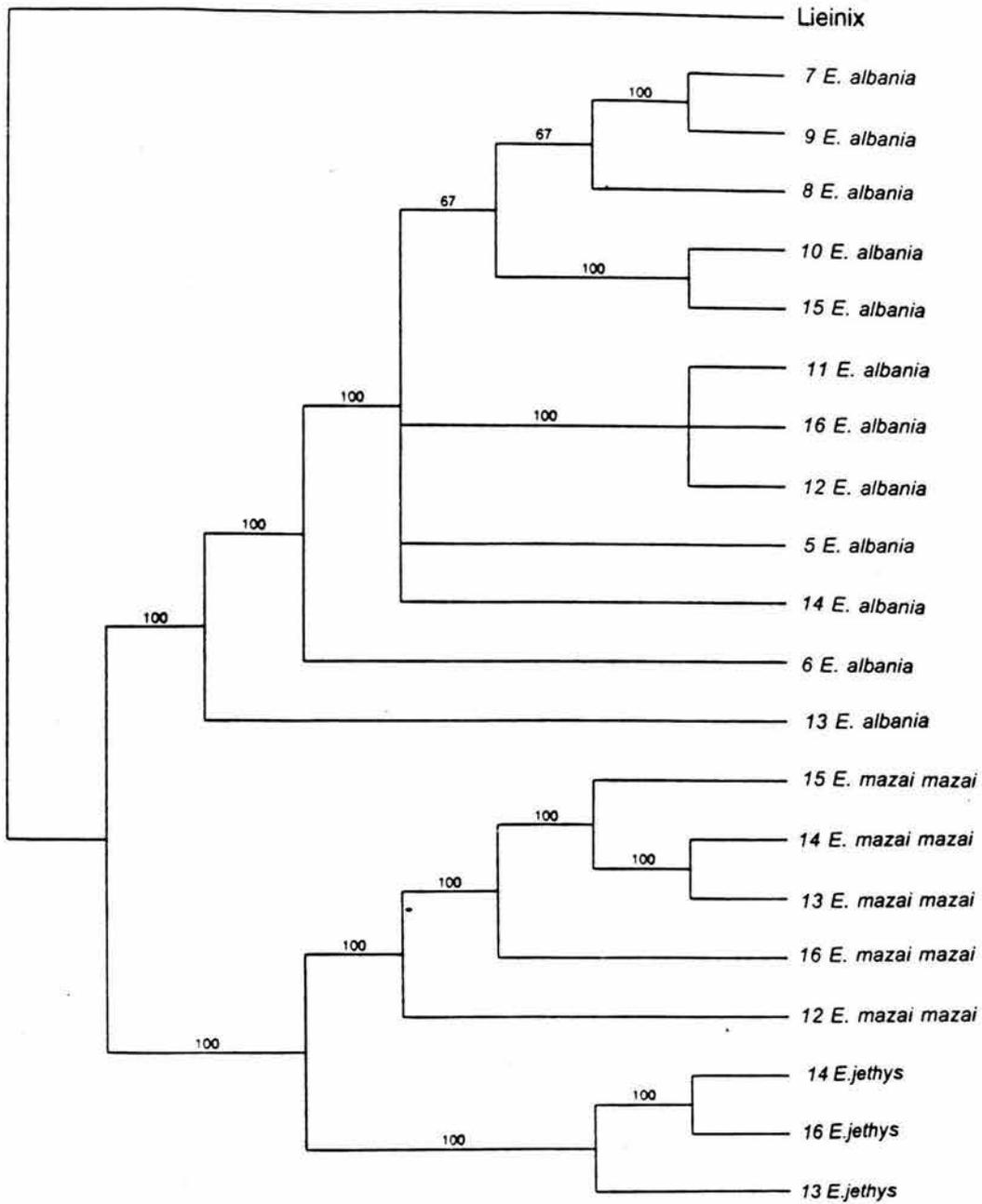


Figura 23. Topología después de 100 replicas (bootstrap). El número en cada rama indica la proporción de las 100 replicas que apoya cada clado (53 caracteres).

3.9 DISCUSIÓN.

Nuestros resultados muestran que :

- 1) Se muestran cuatro unidades evolutivas perfectamente diferenciables.
- 2) Los taxa se conservan tal como los propuso Llorente (1984)
- 3) Las dos subespecies de *E. mazai* son claramente diferentes, por lo que sería importante revisar su *status* taxonómico.
- 4) La filogenia propuesta por Llorente (com. pers.) se encuentra ampliamente respaldada por las aloenzimas.
- 5) En la mayoría de los análisis los métodos de distancia y los de parsimonia, mostraron congruencia.

3.9.1 Unidades evolutivas.

En el complejo "jethys" existen controversias respecto a si efectivamente esta conformado por una o varias especies, o subespecies (Lamas, 1979). En el presente trabajo encontramos cuatro entidades bien definidas a partir de los datos aloenzimáticos. Las entidades se encuentran muy diferenciadas, como lo muestran los altos valores de F_{ST} ($x = 0.476$). Las diferencias encontradas a nivel del complejo "jethys" se deben a la diferenciación entre especies y no a la de poblaciones dentro de cada una de las especies, como lo muestra el análisis jerarquizado de la diferenciación (cuadro 17).

Los valores de distancias genéticas entre las poblaciones de la misma especie son bajos (en *E. albania*, *E. jethys* y cada una de las subespecies de *E. mazai*), y son similares a los que se encuentran en otras especies de lepidópteros (cuadro 18 y cuadro 8, capítulo II). Por otra parte, los valores promedio entre especies son particularmente grandes ($0.514 \pm .183$) y son más altos que cualquier otro valor reportado para otras especies de lepidópteros ($x = 0.514$; Angevine y Brussard, 1979, Geiger, 1980; Shapiro y Geiger, 1986; Shapiro y Geiger, 1989; Pashley et al., 1990) pero se encuentran dentro del intervalo de valores reportados en otros estudios congénéricos de Lepidópteros (Stock y Castrovillo, 1981; Menken y 1989; Hagen y Scriber, 1991). y de los valores reportados para otras especies de insectos (cuadro 8, capítulo II).

3.9.2 Los taxa se conservan tal como los propuso Llorente (1984).

La presencia de diferencias fijas en un solo locus, se ha aceptado generalmente como evidencia de aislamiento reproductivo en taxa simpátricos (Menken, 1989), en el caso del complejo "jethys" aunque hay varios alelos compartidos entre especies, en algunos loci, los alelos presentes en cada especie son muy distintos (PGI, PGM-2, ME-1, y GOT). Aún en especies de lepidópteros que hibridizan en cautiverio, se ha observado que los genomas pueden ser muy distintos (Johnson, et al., 1996). En el complejo "jethys" observamos solo una cópula interespecífica entre *E. jethys* y *E. m. mazai* en Teocelo, Ver., sin embargo no se tienen datos sobre la frecuencia de estos eventos y la viabilidad de los descendientes.

En *Callosamia* Johnson et al., (1976) lograron obtener híbridos interespecíficos en el laboratorio, sin embargo estos híbridos son generalmente estériles. Estos autores encontraron diferencia alélicas fijas entre especies y distancias genéticas grandes ($x = 0.23$). Nuestros resultados indican que hay aislamiento reproductivo entre las entidades encontradas y éstas corresponden a las especies anotadas por Llorente (1984). Si tomamos el criterio de aislamiento reproductivo para definir a las especies, en el complejo "jethys" se conservan las especies propuestas por Llorente (1984).

3.9.2 Diferenciación en *E. mazai*. ¿Subespecies o especies?

E. mazai ocupa una vasta extensión, cubriendo gradientes altitudinales y latitudinales por las dos vertientes costeras del país, y se podría esperar que la estrecha interrelación entre las larvas y sus hospederos faciliten la diferenciación genética a gran escala de sus poblaciones, mientras que el movimiento significativo de los adultos podría oponerse al desarrollo de tal estructura genética.

La diferenciación genética que presentan las poblaciones de *E. mazai* del Atlántico y las del Pacífico ($F_{ST} = 0.232$) y el dendrograma basado en las distancias genéticas, muestra

claramente que se separan los dos grupos de poblaciones (a una distancia genética de 0.30). En algunos trabajos sobre lepidópteros, niveles de distancias similares se han encontrado entre especies (Shapiro y Geiger, 1986; Pashley et al., 1990, etc., cuadro 8, capítulo II) y otros insectos como es el caso de *Drosophila* se han encontrado tanto a nivel de especies como de subespecies (Ayala et al., 1974).

Los niveles de flujo génico (Nm) que se obtienen con métodos indirectos, son un valor promedio de eventos históricos y actuales, en contraste con los métodos directos, con los que se obtienen estimaciones del flujo génico que reflejan eventos que están ocurriendo cuando se hicieron las mediciones (Slatkin 1985b). El valor de Nm calculado a partir de la F_{ST} promedio (2.633), podría indicar la existencia de flujo de genes entre las poblaciones, pero puesto que las distancias y barreras geográficas que separan a las poblaciones de *E. mazai* por la vertiente del Golfo y del Pacífico son prácticamente imposibles de superar por estas mariposas, posiblemente los niveles de flujo génico obtenidos están reflejando eventos históricos, más que actuales. Podemos decir que ambas subespecies forman entidades evolutivas independientes, por lo que sugerimos que se revise su *status* taxonómico ya que se podrían considerar diferentes especies (según la definición filogenética de especie).

El complejo "jethys" pertenece a la tribu Dismorphiini, la cual, aparentemente se originó en las Guyanas y el Brasil. Esta tribu estuvo aislada desde el Paleoceno hasta finales del Mioceno, en la gran isla-continente de Sudamérica, y, posteriormente irradió en varias ramas, en una de las cuales se encuentra el género *Enantia*. Al parecer, el complejo "jethys" llegó al área tropical mesoamericana desde finales del Mioceno o principios del Plioceno, en donde su divergencia no ha alcanzado el nivel de género y las especies que lo constituyen están más emparentados entre sí, que con especies sudamericanas (Llorente, 1984). El complejo "jethys" es un grupo muy antiguo, que ha estado asociado principalmente al Bosque Mesófilo de Montaña y a la Selva Alta Perennifolia. El complejo "jethys" ingresó a México por las dos vertientes costeras a través de las cadenas montañosas siguiendo la

distribución de los bosques tropicales (Llorente, 1984). Los niveles de flujo génico encontrados entre las poblaciones de la vertiente del Pacífico y la del Atlántico probablemente reflejan las condiciones del pasado, en donde la distribución continua de los bosques permitía la migración e intercambio continuo de individuos entre estas poblaciones.

3.9.3 Relaciones filogenéticas.

La electroforesis de aloenzimas ha probado ser útil para estimar la divergencia genética y las relaciones filogenéticas de insectos a varios niveles taxonómicos (Geiger, 1980; Pashley, 1983; Berlocher, 1984). En el presente trabajo se encontró que la propuesta filogenética de Llorente (com. pers.) se encuentra ampliamente respaldada por las aloenzimas.

Cuando realizamos una exploración inicial de las relaciones filogenéticas entre especies construimos una matriz de presencia ausencia de alelos por especie, a partir de la cual calculamos el porcentaje de alelos compartidos. *Lienix nemesis*, resulto ser un buen grupo externo debido al alto número de alelos compartidos con *Enantia*. El porcentaje más alto de alelos compartidos se presentó entre las dos subespecies de *E. mazai*; sin embargo con el agrupamiento con UPGMA *E. albania* y *Lienix* quedan juntas y con el análisis de parsimonia en uno de los dos árboles igualmente parsimoniosos también se muestra esa topología y en el otro árbol *E. albania* se junta con *E. jethys.*, pero con el bootstrap la topología que se obtiene indica que las dos subespecies de *E. mazai* son grupos hermanos, y el grupo que conforman es hermano de *E. jethys* y éste último se separa de *E. albania* y *Lienix* a la misma longitud. En estos resultados aunque parece no haber congruencia entre las hipótesis de relación obtenidas por los diferentes métodos, hay que recordar que el número de loci mostrados fue bajo y que además tomamos la presencia/ausencia de alelos por especie y no por población. Cuando analizamos solo cuatro loci dejamos de lado algunos en los que existe mucha diferenciación (PGM-2, G6PD-1 y ME-1), y no tomamos en cuenta la frecuencia de los alelos, y ésta puede llegar a ser importante, ya que hay alelos detectados en muy baja

frecuencia en algunas especies (frecuencia menor a 0.05, como por ejemplo: el alelo *D* de IDH-2, *L* en PGI en *E. albania*, *F* de GOT en *E. jethys*, y *D* de IDH-2, y *J* de GOT en *E. m. mazai*, ver cuadros 37-40 del apéndice). Por lo que es posible que en otros taxa se encuentren los mismos alelos también en frecuencias muy bajas, pero que no se hayan detectado por simple error de muestreo.

Cuando se analizan las poblaciones, de alguna manera se pondera la presencia de alelos raros que no están presentes en todas las poblaciones de las especies por lo que el análisis es más robusto. Al realizar un estudio de todas las poblaciones recolectadas con respecto a la presencia/ausencia de alelos, encontramos que nuevamente las dos subespecies de *E. mazai* son las más cercanas, que a su vez se encuentran más cercanas a *E. jethys* que a *E. albania*.

Al utilizar los métodos de distancia con diez loci (53 caracteres), encontramos los mismos resultados con los dos diferentes métodos de agrupamiento: con UPGMA que supone que la tasa de substitución de genes es constante a lo largo de las ramas y neighbor-joining que permite tasas de cambio desiguales entre las ramas. Nuevamente las relaciones filogenéticas obtenidas con los métodos de parsimonia se mantienen.

Los resultados nos muestran que los datos son muy robustos, ya que los clados obtenidos, así como las relaciones filogenéticas entre los mismos permanecen iguales independientemente si se usan métodos de distancia o de parsimonia. Finalmente la topología obtenida a partir de estos análisis apoya la hipótesis filogenética de Llorente (com. pers.) respecto al complejo "jethys".

CAPÍTULO IV

ESTRUCTURA GENÉTICA, FLUJO GÉNICO Y PATRONES DE AISLAMIENTO POR DISTANCIA EN LAS POBLACIONES DE LAS ESPECIES QUE CONFORMAN AL COMPLEJO “*JETHYS*”

4.1 INTRODUCCIÓN.

La manera en la que se distribuye la variación genética dentro y entre poblaciones constituye su estructura genética e involucra el estudio de la variación genética espacial y temporal. La dispersión y el movimiento de los genes tiene importantes consecuencias para la dinámica de las poblaciones y su capacidad para adaptarse a condiciones locales. El flujo de genes tiende a hacer las poblaciones más homogéneas. Si el efecto del flujo de genes es mayor que el efecto de la selección en los hábitats locales, se evitará la diferenciación entre poblaciones.

Para estimar los valores de flujo génico entre poblaciones se han desarrollado métodos directos e indirectos. Las estimaciones directas en insectos involucran observaciones relacionadas con el movimiento de los adultos, aunque tienen la ventaja de estar basados en observaciones reales, en ocasiones no son confiables, puesto que los individuos que se dispersan no siempre tienen la misma oportunidad de aparearse que los residentes (Slatkin, 1994; Roderick, 1996). Los métodos indirectos usan las frecuencias alélicas, los polimorfismos en los sitios de restricción o secuenciación de ADN y a partir de estos generan estimadores del número de gametos o individuos que se mueven entre las poblaciones (Slatkin, 1987).

Para discernir entre diferentes procesos geográficos de flujo génico de patrones espaciales de diferenciación, se han asociado las estimaciones indirectas de flujo génico con el modelo de aislamiento por distancia y el modelo "stepping-stone". El modelo de aislamiento por distancia supone que las poblaciones se distribuyen como un continuo y el intercambio de genes entre ellas disminuye con la distancia (Slatkin, 1993). El modelo "stepping-stone" cuando las poblaciones están organizadas en colonias discretas y solo existe migración entre los demos más cercanos (Hedrick, 1983).

Las especies del complejo "jethys" pertenecen una tribu de mariposas que tienen un origen antiguo, el origen de este grupo en México no se extiende más allá del Mioceno, es decir hace aproximadamente cinco millones de años (Llorente, 1984). Las mariposas en general tienen gran capacidad de dispersión, por lo que se espera que las poblaciones sean más o menos homogéneas a lo largo del área de distribución de las especies. Sin embargo el hecho de que la planta de alimentación de estas mariposas se encuentre en forma de parches, hace pensar que las poblaciones adyacentes mantengan mayores niveles de flujo génico siguiendo un modelo "stepping-stone" o de aislamiento por distancia. Además, las larvas de esta tribu están estrechamente especializadas a las plantas de *Inga*, la cual se encuentra asociadas al bosque mesófilo de montaña y a la selva alta perennifolia. Ambos tipos de vegetación se encuentran distribuidos en forma discontinua a lo largo del territorio nacional y han sufrido severas perturbaciones durante los últimos veinte años. El bosque mesófilo de montaña probablemente ha pasado por ciclos de expansión y contracción por cientos o miles de años durante el pasado (Peterson et al., 1992).

Las mariposas presentan diferencias entre poblaciones con respecto a la pigmentación alar, dependiendo de las condiciones de humedad. La pigmentación es más intensa en sitios húmedos y también es más pronunciada en época de lluvias que en época de secas. Las especies que constituyen al complejo "jethys" tienen una amplia gama de variabilidad en los patrones de coloración alar. El número, distribución y área que ocupan las manchas de color negro que se presentan sobre la superficie dorsal de las alas de estas

mariposas, varía entre las especies. Típicamente las poblaciones que se encuentran a mayores altitudes se enfrentan a condiciones más frías y húmedas que aquellas a bajas altitudes (Geiger, 1965), esto explica la clina altitudinal que se presenta en los patrones de coloración alar de estas especies (a mayor altitud mayor pigmentación). *E. jethys* es la especie con mayor pigmentación, le sigue *E. mazai* y finalmente *E. albania*. Cuando las tres especies se encuentran en simpatria, *E. jethys* prefiere el intervalo altitudinal más alto (1100-1550m), le sigue *E. m. mazai* (700-1300m) y hasta abajo *E. albania* (200-1050m), aunque existe cierto grado de solapamiento a lo largo de la distribución altitudinal de estas especies (Lorente, 1984).

La fuente de recursos alimenticios domina la distribución de las poblaciones de mariposas no migratorias <8<9. Uno de los más importantes factores que influyen la estructura de las poblaciones de mariposas es la abundancia de recursos alimenticios para las larvas y los adultos. El movimiento de los adultos claramente controla la estructura de las poblaciones de mariposas, ya que el movimiento de las larvas es generalmente muy reducido. En muchos casos las especies de plantas que proveen néctar son diferentes a las que proveen comida para las larvas, pero crecen juntas en el mismo parche. Cuando los recursos de las larvas y de los adultos están separados las mariposas obviamente vuelan entre ellos. Los patrones de movimiento en *E. editha* pueden cambiar dentro y entre años en respuesta a cambios en la distribución de los recursos (Gilbert y Singer, 1973; Ehrlich et al., 1975). La cuestión es si el comportamiento divergente de vuelo ha evolucionado en poblaciones que confrontan diferentes ambientes, o si puede ser grandemente modificado por la respuesta individual a rápidos cambios ambientales. Los machos de las especies del complejo "jethys" presentan un comportamiento territorial y existen interacciones intra e interespecíficas. El comportamiento territorial de los machos, que defienden un pequeño territorio hace pensar en la posibilidad de diferenciación entre subpoblaciones. El hecho de que las especies se encuentren en un amplio intervalo altitudinal (que va de 0 a 1,500 metros, dependiendo de la especie), también abre la posibilidad de que poblaciones que se encuentren a diferentes altitudes tengan una adaptación local que conlleve a la

diferenciación entre las mismas. Esto se ha reportado en otras especies de mariposas donde la influencia de la elevación sobre la temperatura y los regímenes de precipitación, conllevan a que las poblaciones estén expuestas a altos gradientes microclimáticos (Barry y Van Wie, 1974), típicamente las poblaciones que se presentan a mayor altitud se enfrentan a condiciones más húmedas y frías que aquellas de altitudes bajas (Geiger, 1965). Estas diferencias microclimáticas conducen a la formación de ecotipos tanto en plantas como en animales (Friend y Woodward, 1990; Confalioneri y Colombo 1989).

4.2 OBJETIVOS.

- Estimar y comparar los patrones de variación genética intra e interespecíficos en las tres especies que constituyen el complejo “jethys”
- Describir y comparar la estructura genética de las especies que constituyen el complejo “jethys”
- Estimar los niveles de flujo génico entre las poblaciones y establecer si existe un patrón de aislamiento por distancia.

4.3 MÉTODOS.

4.3.1 Muestreo.

La recolecta de especímenes se llevo a cabo de la siguiente forma:

- 1) Se recolectaron ejemplares de las tres especies que conforman el complejo “jethys”.
- 2) Se recolectaron poblaciones disyuntas de *Enantia mazai* por la vertiente del Golfo y del Pacífico.
- 3) Se recolectaron especímenes de *E. albania*, *E. mazai mazai* y *E. jethys* en poblaciones en donde las tres especies se encuentran en simpatria.

Se excluyeron de la planeación de recolecta a las poblaciones de *E. albania* y *E. m. mazai* que se encuentran reportadas al norte de Tamaulipas y al sur de Texas, ya que estos últimos registros son inciertos y uno de ellos data de 1863. Entre 1992 y 1993, se recolectaron ejemplares adultos de doce poblaciones de *Enantia albania*, cinco poblaciones

de *Enantia mazai mazai*, cuatro poblaciones de *Enantia mazai diazi* y tres poblaciones de *Enantia jethys*. En tres de las poblaciones se encuentran las tres especies en simpatria y en cinco de ellas (incluyendo las tres anteriores) se encuentran *E. albania* y *E. m. mazai*.

4.3.2 Electroforesis.

4.3..2.1 Electroforesis en acetato de celulosa.

En *Enantia albania*, *E. mazai mazai*, y *E. jethys*, las muestras se corrieron en geles de acetato de celulosa y se obtuvieron 10 loci: ME-1, ME-2, G6PD-1, G6PD-2, PGM-1, PGM-2, IDH, PGI y GOT. La técnica utilizada fue la de Richardson et al., 1986. Los sistemas amortiguadores se muestran en el apéndice, y las recetas utilizadas para la tinción son de Herbert y Beaton (1989).

4.3..2.2 Electroforesis en almidón.

Para *Enantia mazai diazi* se corrieron geles de almidón horizontalmente y se obtuvieron 4 loci perfectamente legibles: GOT, PGI, IDH y PGM (los sistemas amortiguadores se describen en el capítulo III). Las recetas de las enzimas se enlistan en el apéndice.

4.4 ANÁLISIS DE DATOS.

4.4.1. Variación genética.

Se estimaron las frecuencias alélicas para las poblaciones de cada especie con el programa BIOSYS-1 (Swofford y Selander, 1981), a partir de los electromorfos obtenidos en los geles (genotipos inferidos). La heterogeneidad de las frecuencias alélicas entre las poblaciones se estudió con una prueba de G (Sokal y Rohlf, 1981). A partir de las frecuencias alélicas se estimaron las frecuencias genotípicas. La significancia de las desviaciones genotípicas del equilibrio Hardy-Weinberg para cada locus en cada población fue determinado a través de una prueba de χ^2 , usando el método de Levene (1949) y con la corrección de Yates para tamaños de muestra pequeños. Cuando el número de individuos esperados en una clase era menor que uno, los alelos con bajas frecuencias fueron

agrupados con la frecuencia siguiente más cercana. El agrupamiento eliminó de la prueba a algunos loci que fueron polimórficos sólo para alelos raros. Los niveles de significancia fueron ajustados utilizando el procedimiento secuencial de Bonferroni (Rice, 1989). El ajuste de los niveles de significancia es importante cuando se llevan a cabo pruebas múltiples para minimizar los errores de tipo I, puesto que la posibilidad de que se presenten dichos errores se incrementa con el número de pruebas independientes realizadas.

4.4.2. Coeficientes de endogamia y estadísticos F de Wright.

Se estimaron los coeficientes de endogamia para cada población. Para analizar la diferenciación entre las poblaciones utilizamos las modificaciones Weir y Cockerham (1984) de los estadísticos F de Wright (1978; F_{IS} , F_{ST} , F_{IT}), mediante un programa de computación adaptado por Alvarez-Buylla et al. (en prensa). Estos estadísticos nos permiten analizar las proporciones de heterocigotos en tres niveles jerárquicos, dentro de cada subpoblación (F_{IS}), entre subpoblaciones (F_{ST}), y en la población en conjunto (F_{IT}).

Puesto que la modificación de Weir y Cockerham (1984) de los estadísticos F de Wright usa estimadores que son corregidos por las diferencias del tamaño de muestra, F_{ST} puede tomar valores ligeramente negativos en su formulación, lo cual indica que no existe diferenciación entre las subpoblaciones (Slatkin y Barton, 1989). Se estimaron intervalos de confianza al 95% para los valores promedio de F_{IS} , F_{ST} y F_{IT} con el método de bootstrap sobre todos los loci, con 1000 remuestras (Weir, 1990).

Para determinar si las estimaciones F_{IS} y F_{IT} por locus fueron significativamente diferentes de cero, se usó una prueba de χ^2 de Li y Horvitz (1953) $\{\chi^2 = F^2 N (k - 1); \text{gl} = [k (k - 1)]/2; k = \text{número de alelos}, N = \text{tamaño de muestra}\}$ y la χ^2 de Workman y Niswander (1970) $\{\chi^2 = 2NF_{ST} (k - 1); \text{gl} = [(k - 1)(s - 1); s = \text{número de subpoblaciones}]\}$ para probar si los valores de F_{ST} por locus fueron significativamente diferentes de cero.

Calculamos el valor de $N_e m$ (i.e. el número promedio de migrantes intercambiados por las poblaciones por generación; Hellerberg, 1994) a partir de la fórmula de Wright (1951): $N_e m = 1/4(1/F_{ST} - 1)$, donde N_e es el tamaño efectivo de la población y m es la tasa de migración o la proporción de una población que migra por generación (Slatkin, 1985b, 1987).

4.4.3. Distancias e identidades genéticas.

Las distancias e identidades genéticas (D e I respectivamente Nei, 1972), fueron estimadas para todas las parejas de poblaciones. Las relaciones de distancia genética fueron resumidas en la forma de un dendrograma derivado del método de agrupamiento UPGMA (Sneath y Sokal, 1973). También se obtuvieron matrices de las distancias geográficas entre las poblaciones en cada especie. La correlación entre las matrices de distancias genéticas versus las matrices de distancias geográficas se analizó mediante la prueba de Mantel, utilizando el programa NTSYS (Rohlf, 1993; con nueve mil permutaciones al azar).

4.4.4. Aislamiento por distancia.

Para estimar los niveles de flujo génico por parejas de poblaciones y explorar si existe o no, un patrón de aislamiento por distancia en estas especies, se utilizó el método propuesto por Slatkin (1993), obteniéndose M , mediante un programa de computación. La correlación entre la matriz del logaritmo en base diez de las distancias geográficas versus la matriz de M se analizó mediante la prueba de Mantel, utilizando el programa NTSYS versión 1.7 (Rohlf, 1993; con nueve mil permutaciones al azar).

4.5 RESULTADOS.

4.5.1 Abundancia.

A diferencia de lo reportado anteriormente como la cota altitudinal superior de *E. albania* (1,300 msnm) por Llorente (1984) en este estudio se le encontró hasta una altitud de 1,550 metros sobre el nivel del mar. También es notable el hecho que cuando las tres especies se presentaban en la misma localidad, *E. albania* se presentó con mayor abundancia en el

intervalo superior junto con *E. mazai mazai*. Es importante resaltar que a pesar de realizar una búsqueda exhaustiva de *E. mazai mazai* y *E. jethys* en las localidades citadas en la literatura y las colecciones (Fortín, Ver., La Esperanza, Oax, Santa Rosa, Chis, y Xilitlilla, SLP.) en donde era común encontrarlas en la década de los setentas, en los años colectados (1992-1993), la abundancia relativa de estas especies fue muy baja y fue difícil encontrar sus poblaciones y la recolecta fue muy reducida o nula (cuadro 24).

Cuadro 24. Tipo de vegetación, altitud, latitud y longitud de 12 poblaciones de *Enantia albania*, 5 poblaciones de *E.m mazai* 4 poblaciones de *E.m diazi* y 3 poblaciones de *E. jethys* analizadas en este estudio.

Población ^a	Estado ^b	Número de ejemplares colectados				Veg ^c	Altitud ^d	Latitud	Longitud
		<i>E. albania</i>	<i>E. m. mazai</i>	<i>E. m. diazi</i>	<i>E. jethys</i>				
La Conchita(LCH)	SLP	22				2	1450	21°24'	98°59'
Xilitlilla (XIL)	SLP	29				2	1450	21°21'	99°01'
Pilcuatla 1 (PIL1)	HGO	8				3	1550	20°56'	98°32'
Pilcuatla 2 (PIL2)	HGO	27				3	1550	20°56'	98°32'
Tlaxcalantongo 1 (TLA1)	PUE	30				2	670	20°19'	97°52'
Tlaxcalantongo 2 (TLA2)	PUE	30				2	630	20°19'	97°52'
Ahuaxentitla (AHU)	PUE	26				2	630	20°15'	97°53'
Cuetzalan (CUE)	PUE	19	16			1	1100	20°01'	97°34'
Xico (XIC)	VER	20	24		11	3	1350	19°25'	97°00'
Teocelo (TEO)	VER	21	32		34	3	1050	19°23'	96°58'
Fortin (FOR)	VER	23	26			2	1100	18°53'	97°00'
Sochiapa (XOC)	VER	15	24		27	2	1450	17°39'	95°44'
Cuarenteño (CUA)	NAY			34		3	1000	21°31'	104°58'
Los Mazos (LMZ)	JAL			13		3	1700	19°34'	103°30'
Zumpimito (ZUM)	MICH			34		3	1600	19°22'	102°03'
Nueva Delhi (NDH)	GRO			27		3	1420	17°25'	100°11'

a entre paréntesis se muestra la abreviatura utilizada en el presente trabajo

b Estado SLP= San Luis Potosí, HGO= Hidalgo, PUE= Puebla, VER= Veracruz, NAY=Nayarit, JAL=Jalisco, MICH=Michoacán, GRO=Guerrero

c tipo de vegetación: 1 = bosque de pino-encino, 2 = selva alta perennifolia, 3 = bosque mesófilo de montaña.
d altura en metros sobre el nivel del mar

4.5.2. Electroforesis.

En una exploración inicial en *E. albania*, *E. mazai mazai* y *E. jethys* se encontraron veinte enzimas, de las cuales se utilizaron seis perfectamente legibles en los geles de acetato de celulosa, que finalmente nos dieron un total de 10 loci: IDH-1, IDH-2, PGI, GOT, PGM-1, PGM-2, G6PD-1, G6PD-2, ME-1 y ME-2. En *E. mazai diazi* las cuatro enzimas legibles en geles de almidón, nos dieron en total cuatro loci: IDH-2, PGI, GOT y PGM-1. Varios individuos previamente analizados en almidón se corrieron en celulosa y se comprobó que los loci leídos en almidón corresponden a los legibles en celulosa. En las figuras 22 y 23 se muestran geles obtenidos en acetato de celulosa y en almidón.

Para algunas enzimas (IDH y PGM) el número de loci detectables en acetato de celulosa fue de dos en lugar de uno, la definición de las bandas y la separación de las mismas fueron superiores en acetato de celulosa. Esto último dio como resultado el registro de un mayor número de loci en acetato de celulosa, que en el caso del almidón no eran perfectamente legibles o no se presentaban (IDH-1, PGM-2, G6PD-1, G6PD-2, ME-1 y ME-2).

Los geles de acetato de celulosa resultaron más fáciles de correr, ya que no requerían ni preparación previa, ni cortarlos en rebanadas. Además, los resultados fueron obtenidos con mayor rapidez (una hora y media como máximo a comparación de las 8 horas en promedio, necesarias en almidón) lo cual permitía corregir errores en un período de tiempo muy corto y además la posibilidad de jugar con diferentes combinaciones de poblaciones/especies, con el fin de comparar los loci. El registro permanente a través de la fotocopia del gel en acetato de celulosa también fue más barato que las fotografías tomadas de los geles de almidón. En la figura 24 se muestra un gel de acetato de celulosa y en la 25 un gel en almidón.

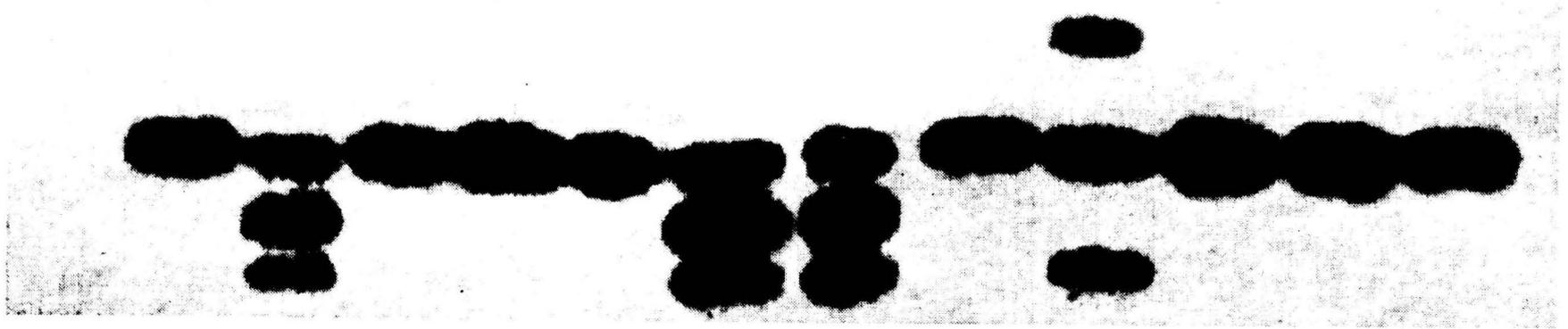


Figura 24 Fotografía de un gel de acetato de celulosa para la enzima PGI.



Figura 25. Fotografía de un gel de almidón para la enzima GOT

4.5.3 Variación genética

4.5.3.1 Número de alelos por locus.

Las tres especies comparten los mismos alelos en los loci IDH-1 e IDH-2. Como mencioné en el capítulo III, para el resto de los loci el número de alelos por locus es muy variable entre las especies; asimismo, los alelos que comparten también son heterogéneos.

En *E. albania* el mayor número de alelos por locus lo presentan los loci PGI y GOT, ambos con cinco alelos. En *E. jethys* el locus PGI presenta el mayor número de alelos con cinco. En *E. mazai* el locus GOT presentó el mayor número de alelos, seis en el caso de *E. mazai mazai* y cinco en *E. mazai diazi*. Sin embargo, el número promedio de alelos por locus está alrededor de dos en las tres especies (2.04 en *E. albania*, 1.98 en *E. mazai mazai*, 2.6 en *E. mazai diazi* y 2 en *E. jethys*).

4.5.3.2 Variación dentro de las poblaciones.

La proporción de loci polimórficos es muy alta en *E. mazai diazi* donde va del 75 al 100%. Es menor en las poblaciones de *E. albania* y *E. mazai mazai* donde va del 40 al 60%, y en *E. jethys* del 30 al 40%. Los niveles de heterocigosidad varían más en *E. albania* (0.075 a 0.161), *E. jethys* (0.094 a 0.129) y *E. m. diazi* (0.262 a 0.367). Varían menos en *E. m. mazai* (0.100 a 0.157; cuadro 25).

En algunos casos no fue posible realizar la prueba de chi cuadrada, puesto que el número esperado en una clase genotípica fue menor a uno y el agrupamiento de las clases alélicas para alcanzar un tamaño de uno no fue posible debido a que sólo se presentaron dos clases (doce de 122 casos en total i.e. cerca del 10 %; cuadro 25).

Cuadro 25. Variabilidad genética en doce poblaciones de *E. albania*, tres poblaciones de *E. jethys*, cinco poblaciones de *E. m. mazai mazai* y *E. m. diazi* en México. La recolecta de individuos se realizó entre 1992 y 1993. La significancia de las desviaciones genotípicas del equilibrio H-W, para cada locus en cada población fue determinado a través de la prueba de chi-cuadrada, usando el método de Levene (1949), y con la corrección de Yates para pequeños tamaños de muestra. El ajuste de α se realizó con la prueba secuencial de Bonferroni. Desviaciones estándar entre paréntesis.

Población	Tamaño de muestra promedio por locus	Promedio del número de alelos por locus	% de loci polimórficos	Heterocigosidad promedio		Loci significativos	Loci en donde no se pudo realizar la prueba
				Hobs conteo directo	Hesp esperado en H-W		
<i>Enantia albania</i>							
PIL1	8 (.0)	1.6 (.2)	50	0.075 (.033)	0.112 (.044)	-	GPD-1
PIL2	27 (.0)	2 (.4)	40	0.152 (.065)	0.187 (.078)	-	-
TLA2	30 (.0)	2.3 (.4)	60	0.123 (.051)	0.153 (.058)	-	-
AHU	25.2 (.2)	1.9 (.3)	40	0.158 (.060)	0.161 (.063)	-	-
TLA1	29.9 (.1)	2.3 (.4)	40	0.161 (.060)	0.176 (.066)	-	-
LCH	21.5 (1.1)	1.9 (.3)	40	0.131 (.057)	0.152 (.064)	-	PGM-1
XIL	28.9 (.1)	2 (.3)	40	0.114 (.051)	0.151 (.059)	-	PGM-2
FOR	22.8 (.1)	2.3 (.4)	40	0.109 (.042)	0.163 (.062)	-	PGM-2
XIC	20 (.0)	2.4 (.3)	50	0.140 (.049)	0.186 (.065)	G6PD-1	-
TEO	20.3 (.2)	2 (.3)	50	0.135 (.064)	0.142 (.057)	-	G6PD-1
XOC	15 (.0)	1.9 (.3)	50	0.133 (.050)	0.162 (.060)	-	-
CUE	18.8 (.1)	1.9 (.3)	50	0.106 (.046)	0.129 (.052)	G6PD-1	-
media	22.28 (6.27)	2.04 (.22)		0.128 (.023)	0.156 (.020)		
<i>Enantia jethys</i>							
XIC	11 (.0)	1.9 (.3)	40	0.100 (.046)	0.152 (.067)	-	IDH-2
TEO	34 (.0)	2.0 (.4)	30	0.129 (.063)	0.158 (.072)	PGM-1	-
XOC	27 (.1)	2.1 (.4)	30	0.094 (.061)	0.142 (.068)	IDH-2	G6PD-1, GOT, ME-1
media	24 (9.63)	2 (.082)		0.107 (.015)	0.150 (.006)		
<i>Enantia mazai mazai</i>							
FOR	26 (.0)	1.9 (.3)	50	0.150 (.054)	0.158 (.055)	-	-
XIC	23.8 (.5)	2.3 (.4)	60	0.146 (.053)	0.181 (.063)	-	G6PD-1
TEO	31.7 (.2)	1.9 (.3)	40	0.139 (.057)	0.145 (.056)	-	-
XOC	23.9 (.1)	1.9 (.3)	50	0.100 (.045)	0.161 (.056)	PGM-1	ME-1
CUE	15.6 (.2)	1.9 (.2)	60	0.157 (.068)	0.230 (.076)	ME-1	G6PD-1
media	24.2 (5.17)	1.98 (.16)		0.138 (.020)	0.175 (.030)		
<i>Enantia mazai diazi</i>							
CUA	32.3 (.9)	2.3 (.5)	75	.367 (.144)	.362 (.125)	-	-
LMZ	12.5 (.5)	2.3 (.5)	75	.365 (.164)	.312 (.114)	-	-
ZUM	25 (1.7)	3 (.4)	100	.293 (.114)	.395 (.041)	-	-
NDH	29.3 (3.1)	3 (.4)	100	.262 (.049)	.363 (.097)	IDH-2	-
media	24.8 (7.55)	2.6 (.35)		0.322 (.045)	0.358 (.030)		

De las 68 combinaciones de loci/poblaciones analizadas para *E. albania*, dos pruebas fueron significativas lo cual dio una proporción de 0.03. En *E. mazai mazai*, 2 de los 27 están fuera del equilibrio Hardy-Weinberg dándonos una proporción de 0.07. En *E. mazai diazi*, una de las catorce pruebas es significativa lo que dio una proporción de 0.071. Estas proporciones están muy cercanas al 5% de las pruebas que se espera den resultados significativos debido al error de tipo I. En *E. jethys* dos de los 13 loci analizados se encuentran fuera del equilibrio, lo que nos da una proporción de 0.15

4.5.3.3 Heterogeneidad de las frecuencias alélicas entre poblaciones.

Después de realizar la prueba de G para analizar la heterogeneidad en las frecuencias alélicas entre las poblaciones en cada locus, se encontró que en *E. albania* las poblaciones de Pilcuatla2 y Sochiapa (15 y 14) se diferencian del resto con respecto al locus PGM-1 ($p = 0.021$), y las poblaciones de La Conchita y Xico (5 y 12) se diferencian del resto en el locus G6PD-1 ($p = 0.004$)(cuadro 26).

En *E. jethys* para el locus PGM-1, se diferencia la población de Xico (12) con respecto a Sochiapa y Teocelo (12 y 14; $p = 0.01$). En *E. mazai diazi* la población de Zumpimito (3) se diferencia de las demás para el locus IDH-2 ($p = 0.0092$). Finalmente en *E. mazai mazai* las poblaciones de Fortín y Sochiapa (13 y 14) se diferencian del resto

con respecto al locus PGM-1 ($p = 0.00001$), y Cuetzalan respecto a las demás en el locus ME-1 ($p = 0.00001$) (caudro 26).

Cuadro 26. Representación de la heterogeneidad de las frecuencias alélicas entre las poblaciones que constituyen el complejo "jethys"

<i>Enantia albania</i>		
Locus PGM-1	a	b
	PIL2, SOC	El resto de las poblaciones de <i>E. albania</i>
Locus G6PD-1	a	b
	LCH	XIC
		c
		El resto de las pob. de <i>E. albania</i>
<i>Enantia jethys</i>		
Locus PGM-1	a	b
	XIC	TEO y SOC
<i>Enantia mazai mazai</i>		
Locus PGM-1	a	b
	FOR, SOC	El resto de las pob. de <i>E. m. mazai</i>
Locus ME-1	a	b
	CUE	El resto de las poblaciones de <i>E. m. mazai</i>
<i>Enantia mazai diazi</i>		
Locus IDH-2	a	b
	ZUM	El resto de las poblaciones de <i>E. m. diazi</i>

4.5.4 Coeficientes de endogamia (F).

En todas las especies estudiadas, cerca del 50% de los coeficientes de endogamia (F) son positivos, y el otro 50% son negativos. Los porcentajes de los coeficientes positivos en cada especie son: 44% en *E. albania*, 46% en *E. jethys*, 52% en *E. m. mazai* y 57% en *E. m. diazi*. Ningún coeficiente de endogamia negativo fue significativo en estas especies (cuadro 26).

En *E. albania* los valores de los coeficientes de endogamia significativamente mayores de cero se encontraron en los loci IDH-2 y G6PD-1. En tanto que para IDH-2, el valor significativo se encuentra en una población (TLA2), para G6PD-1 los valores significativos se presentan en dos de las doce poblaciones estudiadas (XIC y CUE; cuadro 27). En *E. jethys* las F significativamente mayores de cero, se encuentran en los loci IDH-2 y PGM-1, en las poblaciones de Sochiapa y Teocelo, respectivamente (cuadro 27).

En *E. m. mazai* hay dos coeficientes de endogamia significativamente mayores de cero, uno en el locus PGM-1 y otro en el locus ME-1 (en SOC y CUE, respectivamente, cuadro 27). En *E. m. diazi* el único coeficiente de endogamia significativo se presentó en el locus IDH-2, en la población de Zumpimito (cuadro 27). Se puede decir en general que en las especies antes mencionadas, se presenta un ligero exceso de homócigos en diferentes loci que en algunos casos resulta ser significativo.

Cuadro 27. Coeficientes de endogamia (F) para los loci polimórficos para 12 poblaciones de *E. albania*, 3 poblaciones de *E. jethys*, 5 poblaciones de *E. m. mazai* y 4 poblaciones de *E. m. diazi*. La prueba estadística se realizó de acuerdo a Li y Horovitz (1953).

pob/especie	IDH-1	IDH-2	PGI	GOT	PGM-1	PGM-2	G6PD-1	G6PD-2	ME-1	Promedio
<i>E. albania</i>										
PIL1			-.143	-.103	-.067		----		-.067	-.095 (.036)
PIL2			.217	.075	.111		.311*			.1785 (.106)
TLA2		.653*	.175	.103	-.040	.464*	.123			.246 (.249)
AHU	-.020	-.042	.078	-.061	-.190		.094			-.023 (.103)
TLA1	-.017		.060	.211	.046	-.017	-.040		-.017	.032 (.086)
LCH		-.035	-.15	-.281	.617		.369			.104 (.375)
XIL			.420	-.208	-.078	----	.487	-.018		.120 (.312)
FOR		-.022	.207	.319	-.108	----	.594			.198 (.279)
XIC	-.026	-.026	-.088	.027	-.039		.824*	-.026	-.143	.062 (.311)
TEO			.010	-.227	.245	-.038	.641	-.024		.101 (.304)
SOC	-.034	-.071	.167	-.121	.121		.542			.100 (.243)
CUE	-.056	-.027	-.118	-.052	-.043		.708*			.068 (.314)
Promedio	-.030 (.015)	.061 (.261)	.069 (.176)	-.026 (.180)	.047 (.214)	.136 (.283)	.423 (.276)	-.022 (.004)	-.075 (.063)	.064 (.164)
<i>E. jethys</i>										
XIC	-.073	----	.299	-.048	-.048				-.100	.006 (.165)
TEO		-.046	-.046	-.046	.476*		.231			.1138 (.235)
SOC		.652*	.652*	----	.301		----		----	.535 (.202)
Promedio	-.073	.303 (.493)	.301 (.349)	-.047 (.001)	.243 (.266)		.231		-.1	
<i>E. m. mazai</i>										
FOR	-.150	.098	.246	.106	-.046					.006 (.165)
XIC	-.067	.028	-.122	.225	.506		.356			.113 (.235)
TEO	-.038	-.212	-.148	.117	.380					.535 (.202)
SOC	-.043	.127	.330	-.052	.799*				----	
CUE	-.032	.418	-.111	-.076	-.067		----		.881*	
Promedio	-.066 (.048)	.091 (.225)	.039 (.229)	.064 (.126)	.314 (.371)		.356		.881	
<i>E. m. diazi</i>										
CUA			-.422	-.062	.384					-.033 (.403)
LMZ			-.248	-.477	.257					-.156 (.375)
ZUM		.827*	-.031	-.221	.481					.264 (.478)
NDH		.190	.200	.378	.108					.219 (.113)
Promedio		.508 (.450)	-.125 (.269)	-.095 (.358)	.307 (.161)					.148 (.310)

* valores significativamente distintos de cero, la corrección del nivel de α , se hizo con la prueba secuencial de Bonferroni.

Se muestran los valores promedio por enzima y por población. El error estándar del promedio se muestra entre paréntesis.

4.5.5. Estadísticos de Wright.

F_{IS} . En *E. albania* los valores de F_{IS} positivos que son significativamente distintos de cero, se encuentran en los loci IDH-2, PGM-1 y PGM-2. Existe un solo valor de F_{IS} negativo significativo en esta especie y se encuentra en el locus ME-1. La F_{IS} promedio estimada para esta especie (para los diferentes loci/poblaciones) con el método de Weir (1990), es de 0.179 y es significativa (con un intervalo de confianza de 0.05 a 0.33) lo cual nos habla de un exceso de homócigos (cuadro 28).

En *E. jethys* los valores significativamente distintos de cero para la F_{IS} son positivos y se encuentran en los loci GOT y PGM-1. El valor promedio de la F_{IS} para las tres poblaciones de esta especie es de 0.23 y es significativo (con el intervalo de confianza de 0.093 a 0.45; cuadro 28).

En *E. mazai mazai* las F_{IS} significativas también son positivas y se presentan en los siguientes loci: PGM-1, G6PD-1 y ME-1 (cuadro 28). El valor promedio de F_{IS} para todas las poblaciones es de 0.185 con el intervalo de confianza de 0.06 a 0.4. Existiendo un exceso de homócigos para esta subespecie. En *E. m. diazi* los valores significativos se encuentran en los loci GOT y PGM-1. Sin embargo el promedio para esta subespecie no es significativo (0.0919; cuadro 28). Los valores promedio significativos en *E. albania*, *E. jethys*, y *E. m. mazai*, nos indican que hay un ligero exceso de homócigos.

F_{ST} . El estadístico F_{ST} de Wright muestra que la mayoría de la variación genética se encuentra dentro, más que entre las poblaciones en *E. albania* y *E. jethys*. En *E. albania* y *E. jethys* aunque existe una ligera diferenciación en algunos loci (cuadro 28), globalmente podemos decir que existe una homogeneidad alélica entre las poblaciones, reflejada en el valor promedio para todos los loci, $F_{ST} = 0.0096$ y $F_{ST} = 0.0442$

Cuadro 28. Estimaciones de Weir y Cockerham (1984) de los estadísticos F de Wright (Wright, 1965) para tres especies de *Enantia*. La significancia por locus se obtuvo a partir de una prueba de chi cuadrada, de Li y Horovitz (1953) para F_{IS} y F_{IT} ; y de acuerdo con Workman y Niswander (1970) para F_{ST} . Los intervalos de confianza (95%) para los valores promedios se obtuvieron mediante bootstrap y se muestran entre paréntesis.

locus	F_{IT}	F_{ST}	F_{IS}
<i>Enantia albania</i>			
IDH-1	-.0093	.0044	-.0136
IDH-2	.1715*	-.0040	.1755*
PGI	.1377	-.0044	.1416
GOT	.0243	-.0009	.0254
PGM-1	.1389*	.0457*	.0976
PGM-2	.5388*	-.0006	.5403*
G6PD-1	.3928*	.0091	.3872*
G6PD-2	-.0057	-.0056	-.0000
ME-1	.0020	.2077*	-.2307*
ME-2	-.0041	.0141	-.0173
promedio	0.1869 (0.0572 a 0.3396)	0.0096 (- .0012 a .0283)	0.1789 (0.051 a 0.3295)
<i>Enantia jethys</i>			
IDH-1	.0029	.0893*	-.0914
IDH-2	.5967*	.0057	.5844*
PGI	.0037	-.0143	.0174
GOT	.2621	-.0187	.2815
PGM-1	.4385*	.0589*	.4166*
G6PD-1	.0753	.1062*	.0298
ME-2	.4501*	-.0104	.5075*
promedio	0.2750 (0.0885 a 0.4811)	0.0442 (-0.0078 a 0.1)	0.2351 (0.093 a 0.4474)
<i>Enantia m. mazai</i>			
IDH-1	-.0562	.0335	-.0911
IDH-2	.0555	-.0067	.0620
PGI	.0495	.0171	.0342
GOT	.1686	.0685*	.1106
PGM-1	.3935*	.0076	.3887*
G6PD-1	.3594*	.0233	.3449*
ME-1	.9245*	.6538*	.8845*
promedio	0.2394 (0.0729 a 0.4635)	0.0640 (0.0034 a 0.1824)	0.1850 (0.0593 a 0.39)
<i>Enantia m. diazi</i>			
IDH-2	-.1199	.0093	-.1274
PGI	.0362	.0427*	-.0124
GOT	.4219*	.0912*	.3653*
PGM-1	.6775*	.1645*	.5858*
promedio	.1439 (-0.0669 a .4928)	.0538 (0.0155 a 0.1157)	.0919 (-0.048 a 0.4305)

respectivamente. Estos valores promedio de F_{ST} no son significativamente distintos de cero y podemos decir que la mayor parte de la variación genética se encuentra dentro de las poblaciones. La mayoría de los valores de F_{IT} son explicados por los valores de F_{IS} (variación dentro de las poblaciones, cuadro 28).

La heterogeneidad alélica entre las poblaciones de *E. mazai mazai*, y entre las poblaciones de *E. mazai diazi* indicada por los valores promedio de la $F_{ST} = 0.064$ y $F_{ST} = 0.0538$ respectivamente para cada especie, son significativamente distintos de cero, y sugieren que las poblaciones están ligeramente diferenciadas. En el caso de *E. mazai mazai* la prueba de chi cuadrada para cada locus muestra que son dos loci los que contribuyen a esta diferenciación (GOT y ME-1). El locus ME-1 es el que más contribuye a esta diferenciación (ME-1, $F_{ST} = 0.654$, cuadro 28). Si recordamos la prueba de G, es Cuetzalan la población que está diferenciada respecto a este locus. Podemos decir que para esta subespecie es Cuetzalan la población que se está diferenciando con respecto a las demás en el locus ME-1. En *E. mazai diazi* tres de los cuatro loci analizados son los que contribuyen a la diferenciación de las poblaciones.

4.5.6. Medidas de distancia genética y distancia geográfica.

Las matrices de distancias e identidades genéticas de Nei (1972), se muestran en los cuadros 29, 30, 31 y 32. Las distancias genéticas se resumieron en dendrogramas utilizando el procedimiento de agrupamiento de UPGMA (figura 26, 27, 28 y 29). En *E. albania* en general, los niveles de distancia genética entre las poblaciones estudiadas fueron bajos. De las doce poblaciones estudiadas para esta especie, diez se agrupan a una distancia menor a 0.010 y sólo Pilcuatla2 y Sochiapa están a un nivel de 0.012 respecto a las demás. Existen cuatro grupos conformados por dos a seis poblaciones dentro de los cuales la distancia genética es menor a 0.015 (cuadro 29, figura 26). Es notorio que poblaciones muy cercanas geográficamente, (a 2km de distancia lineal, Tlaxcalantongo1 y Tlaxcalantongo2) se encuentren a una distancia genética similar a la que presentan poblaciones geográficamente muy alejadas (Xilitlilla y Fortín a 464 km. de distancia).

Cuadro 29. Arriba de la diagonal se presentan las distancias genéticas de Nei (1972) y bajo la diagonal se presentan las identidades genéticas de Nei (1972), entre parejas de poblaciones de *Enantia albania* en México.

Pob.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1 PIL1	***	.016	.011	.008	.013	.009	.009	.009	.014	.016	.012	.011
2 PIL2	.984	***	.009	.007	.004	.007	.008	.005	.013	.009	.009	.010
3 TLA2	.989	.991	***	.005	.006	.003	.003	.002	.004	.007	.016	.003
4 AHU	.992	.993	.995	***	.007	.004	.005	.003	.006	.010	.010	.006
5 TLA1	.987	.996	.994	.993	***	.008	.002	.003	.010	.004	.010	.006
6 LCH	.991	.993	.997	.996	.992	***	.005	.003	.004	.012	.013	.006
7 XIL	.991	.992	.997	.995	.998	.995	***	.002	.006	.004	.012	.004
8 FOR	.991	.995	.998	.997	.997	.997	.998	***	.005	.005	.011	.002
9 XIC	.986	.987	.996	.994	.990	.996	.994	.995	***	.014	.021	.013
10 TEO	.984	.991	.993	.990	.996	.988	.996	.995	.987	***	.013	.005
11 SOC	.988	.991	.984	.990	.990	.987	.988	.989	.979	.987	***	.016
12 CUE	.989	.990	.997	.994	.994	.994	.996	.998	.993	.995	.984	***

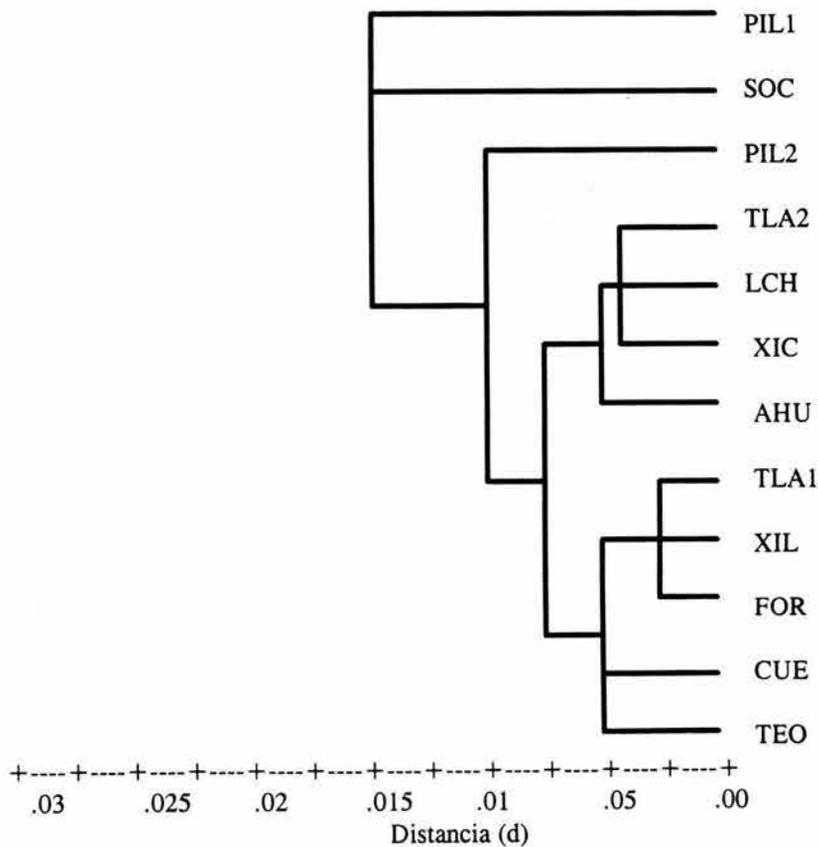


Figura 26. Dendrograma que resume las distancias genéticas de Nei (1972) agrupadas por el método de UPGMA, para doce poblaciones de *Enantia albania* en México.

En *E. jethys* las poblaciones de Teocelo y Sochiapa se agrupan a una distancia de 0.008 y Xico se separa de ambas a una distancia de 0.021, en este caso las tres poblaciones se encuentran relativamente cercanas (a menos de 50km). Sin embargo la menor distancia geográfica se presenta entre Teocelo y Xico (8km) y a una mayor distancia se encuentra la población de Sochiapa con respecto a éstas (a 40 y 48 km de distancia respectivamente) (fig. 27).

Cuadro 30. Arriba de la diagonal se presentan las distancias genéticas de Nei (1972) y bajo la diagonal se presentan las identidades genéticas de Nei (1972), entre parejas de poblaciones de *Enantia jethys* en México.

Población	1	2	3
1 XIC	****	.06	.026
2 TEO	.984	****	.008
3 SOC	.974	.992	****

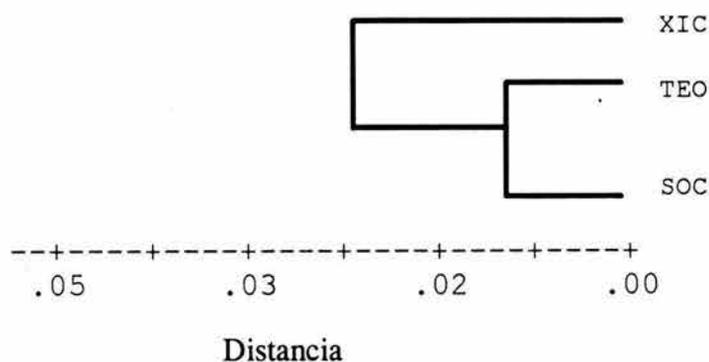


Figura 27. Dendrograma que resume las distancias genéticas de Nei (1972) agrupadas por el método de UPGMA, para doce poblaciones de *Enantia jethys* en México.

En *Enantia mazai diazi* las poblaciones de Cuarenteño y la de Los Mazos están a una distancia genética de 0.012; separada de ellas se encuentra Zumpimito a una distancia de 0.040 y finalmente la que se separa a mayor distancia del resto es Nueva Delhi a 0.055 (fig. 28).

Cuadro 31. Arriba de la diagonal se presentan las distancias genéticas de Nei (1972) y bajo la diagonal se presentan las identidades genéticas de Nei (1972), entre parejas de poblaciones de *Enantia mazai diazi* en México.

Población	1	2	3	4
1CUA	****	.012	.064	.051
2LMZ	.988	****	.039	.031
3 NDH	.938	.962	****	.062
4 ZUM	.950	.969	.940	****

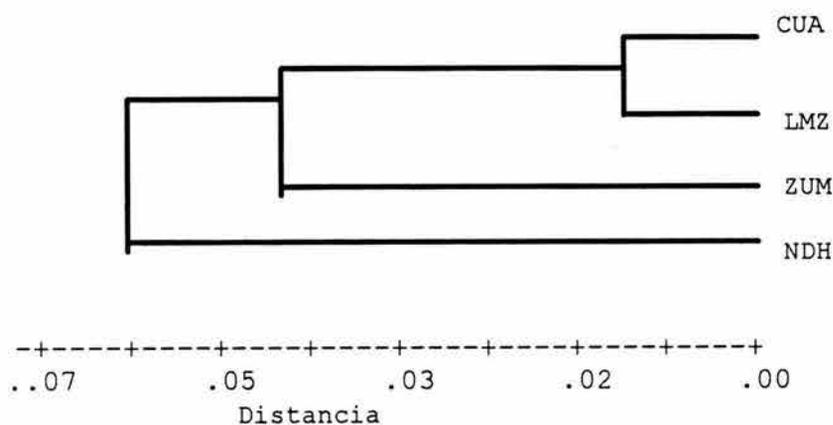


Figura 28. Dendrograma que resume las distancias genéticas de Nei (1972) agrupadas por el método de UPGMA, para doce poblaciones de *Enantia mazai diazi* en México.

En *E. mazai mazai* cuatro de las cinco poblaciones se agrupan a una distancia genética menor a 0.01 y sólo Cuetzalan se separa de las demás a una distancia de 0.071. Es importante notar que las poblaciones que se agrupan son aquellas que se encuentran

más cercanas entre sí, a una distancia geográfica promedio de 47.3 km y la que se separa a mayor distancia de las demás se encuentra a 146 km en promedio (fig. 29).

Cuadro 32. Arriba de la diagonal se presentan las distancias genéticas de Nei (1972) y bajo la diagonal se presentan las identidades genéticas de Nei (1972), entre parejas de poblaciones de *Enantia mazai mazai* en México.

	1	2	3	4	5
1 FOR	****	.005	.003	.005	.071
2 XIC	.991	****	.003	.005	.054
3 TEO	.997	.997	****	.004	.059
4 SOC	.995	.995	.996	****	.052
5 CUE	.932	.947	.943	.949	****

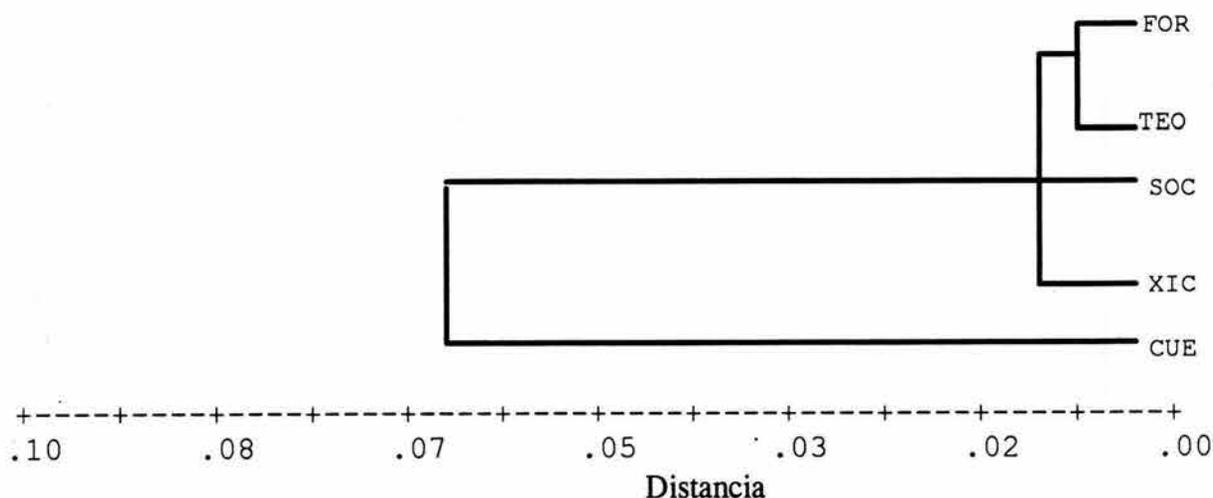


Figura 29. Dendrograma que resume las distancias genéticas de Nei (1972) agrupadas por el método de UPGMA, para doce poblaciones de *Enantia mazai mazai* en México.

4.5.7 Aislamiento por distancia.

En *E. albania*, al graficar el logaritmo de las distancias geográficas versus el logaritmo de los valores de M , no encontramos un patrón claro de aislamiento por distancia ($r = 0.192$; Mantel $p = 0.971$ fig. 30a). Es decir, la distancia no influye (al menos en los

loci estudiados) en la estructuración de las poblaciones, y por lo tanto, los niveles de flujo génico no varían conforme aumenta la distancia geográfica. Los valores de M para las parejas de poblaciones van de 3 a 55, los cuales nos indican valores de flujo génico muy elevados entre las poblaciones (cuadro 33). El valor promedio de $N_e m$ es de 23.66 para esta especie.

Cuadro 33. Arriba de la diagonal se presentan las distancias geográficas entre los pares de poblaciones y bajo la diagonal se muestran los valores M , para todas las parejas de poblaciones estudiadas en *Enantia albania* en México.

Población	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1 PIL1	-	12	92	94	228	220	236	292	412	420	472	448
2 PIL2	4.89	-	88	90	224	216	228	288	404	412	464	440
3 TLA2	6.07	10.32	-	2	136	144	140	200	316	328	380	352
4 AHU	8.23	13.82	15.86	-	134	132	138	198	314	326	378	350
5 TLA1	6.08	26.76	14.63	13.69	-	10	12	64	180	192	244	220
6 LCH	8.16	13.31	32.46	25.4	12.74	-	20	72	188	200	252	228
7 XIL	7.84	12.43	26.23	16.13	49.63	18.29	-	64	176	184	240	212
8 FOR	8.34	19.61	45.35	27.22	35.58	34.65	55.07	-	116	128	180	160
9 XIC	5.47	8.70	23.48	17.85	11.27	22.53	15.82	18.97	-	8	80	48
10 TEO	4.25	10.74	11.47	7.57	2.93	7.33	19.46	20.63	6.89	-	76	40
11 SOC	6.23	11.73	5.51	8.42	9.84	7.54	7.49	6.89	4.91	6.52	-	32
12 CUE	5.75	9.02	23.6	12.78	13.2	15.59	18.91	34.07	11.67	16.64	5.05	-

En *E. jethys* al graficar los logaritmos de los valores de M versus los logaritmos de las distancias geográficas, se muestra que no hay un patrón de aislamiento por distancia. El coeficiente de correlación para los valores de distancia geográfica versus la

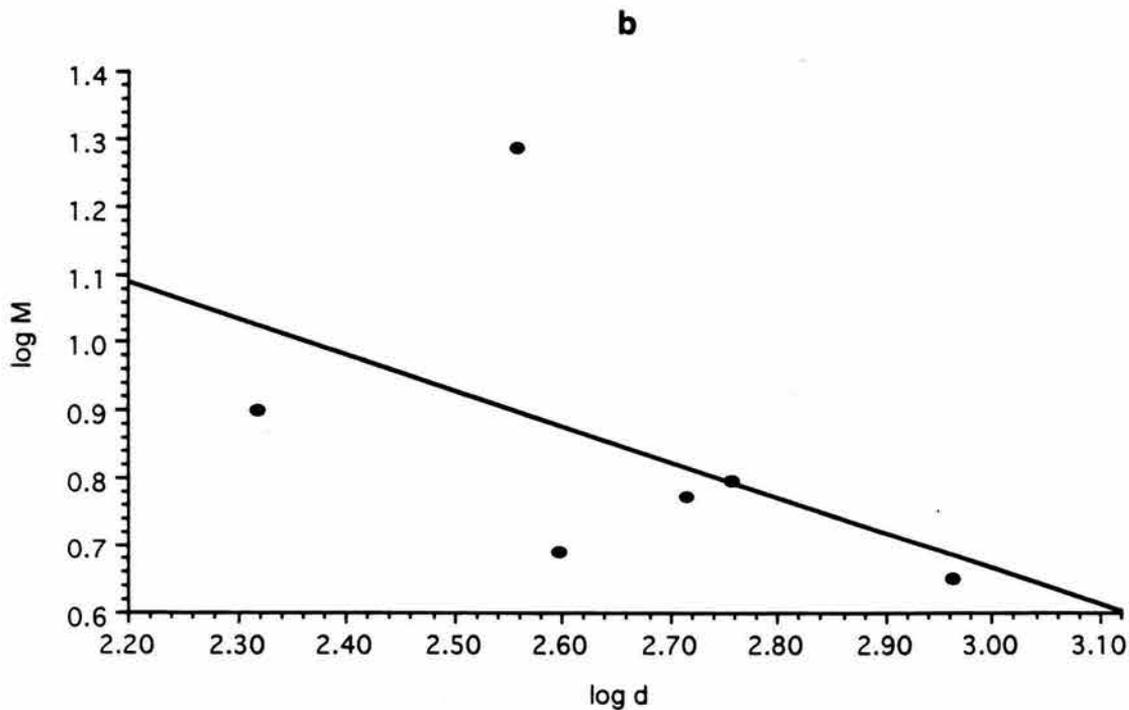
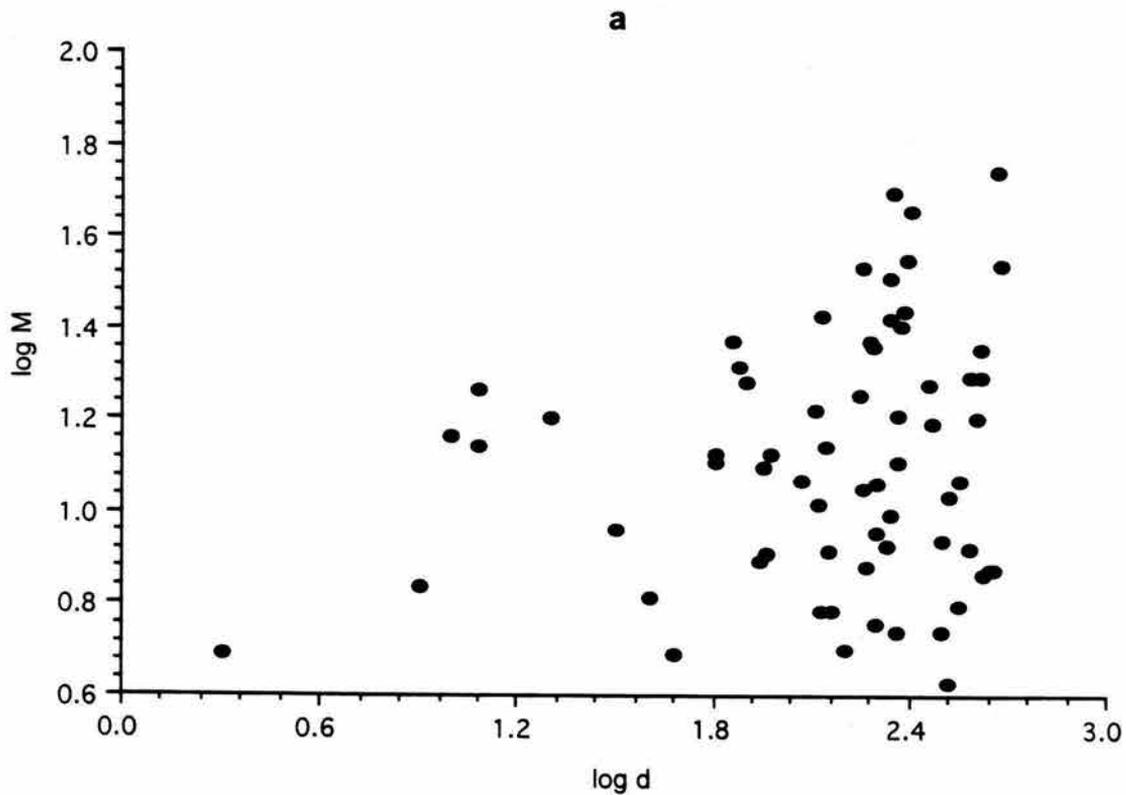


Figura 30. Estimaciones de las tasas de migración entre parejas de poblaciones como una función de la distancia geográfica entre poblaciones. Se graficó el logaritmo de M ($M = (1/F_{ST} - 1)/4$) versus el logaritmo de la distancia geográfica (en kilómetros). **a.** *Enantia albania* recolectada en 12 poblaciones en la vertiente del Golfo (México). **b.** *Enantia mazai diazi* recolectada en 4 poblaciones en la vertiente del Pacífico (México).

distancia genética, es muy bajo ($r = -.041$). En este caso no se pudo realizar la prueba de Mantel, para conocer la significancia de r , porque sólo tenemos tres poblaciones. En esta especie los altos valores de M (que van de 3 a 11), impiden la diferenciación de las poblaciones, y esto se ve reflejado en los altos valores de identidad genética. El valor promedio de $N_e m$ es de 2.4 para esta especie (calculado a partir de la F_{ST}).

Cuadro 34. Arriba de la diagonal se presentan las distancias geográficas entre los pares de poblaciones y bajo la diagonal se presentan los valores de M , para todas las parejas de poblaciones estudiadas en *Enantia jethys* en México.

Población	1	2	3
1 XIC	-	8	48
2 TEO	5.57	-	40
3 SOC	3.17	10.84	-

En *E. m. diazi* cuando graficamos los logaritmos de los valores de M para todos los pares de poblaciones versus las distancias geográficas se observa un patrón de aislamiento por distancia; sin embargo, después de realizar la prueba de Mantel, se encontró que no es significativa la relación entre la distancia geográfica y el flujo de genes ($r = -0.49$, $p = 0.20$; fig. 30b). Esto se aprecia claramente en la figura 30b en donde las flechas señalan las parejas de poblaciones que se encuentran a mayor y menor distancia (208 y 916 km, indicadas por el número uno y dos, respectivamente).

Cuadro 35. Arriba de la diagonal se presentan las distancias geográficas entre los pares de poblaciones y bajo la diagonal se presentan los valores de M , para todas las parejas de poblaciones estudiadas en *Enantia mazai diazi* en México.

Población	1	2	3	4
1 CUA	-	360	520	916
2 LMZ	19.53	-	208	572
3 ZUM	4.45	6.28	-	396
4 NDH	5.92	7.96	4.9	-

En *E. m. mazai* cuando revisamos los valores de M observamos que entre Fortín, Teocelo, Xico y Sochiapa, la estimación de $N_e m$ toma valores entre 11 y 27 (el valor promedio es de 20.76) en cambio los valores de esta estimación para estas poblaciones con respecto a la de Cuetzalan bajan drásticamente, siendo de 2 en promedio (cuadro 36).

Cuadro 36. Arriba de la diagonal se presentan las distancias geográficas entre los pares de poblaciones y bajo la diagonal se presentan los valores de M , para todas las parejas de poblaciones estudiadas en *Enantia mazai mazai* en México.

Población	1	2	3	4	5
1 FOR	-	80	76	32	180
2 XIC	11.42	-	8	48	116
3 TEO	26.96	26.44	-	40	128
4 SOC	18.2	18.64	22.91	-	160
5 CUE	1.67	2.35	1.88	2.24	-

Cuando se grafican los logaritmos de los valores de M para todos los pares de poblaciones versus las distancias geográficas hay un patrón claro de aislamiento por distancia (fig. 31). Después de realizar la prueba de Mantel, encontramos que esta relación es significativa ($r = 0.914$, $p = 0.007$). De acuerdo a Slatkin (1985), valores de $N_e m$ mayores a 1 impiden la diferenciación entre las poblaciones, por lo que es de esperarse que aunque encontremos un patrón de aislamiento por distancia, los valores que se presentan de flujo génico en esta especie, impiden la diferenciación genética de las poblaciones dado que la estimación promedio de $N_e m$ en esta especie es de 2.4.

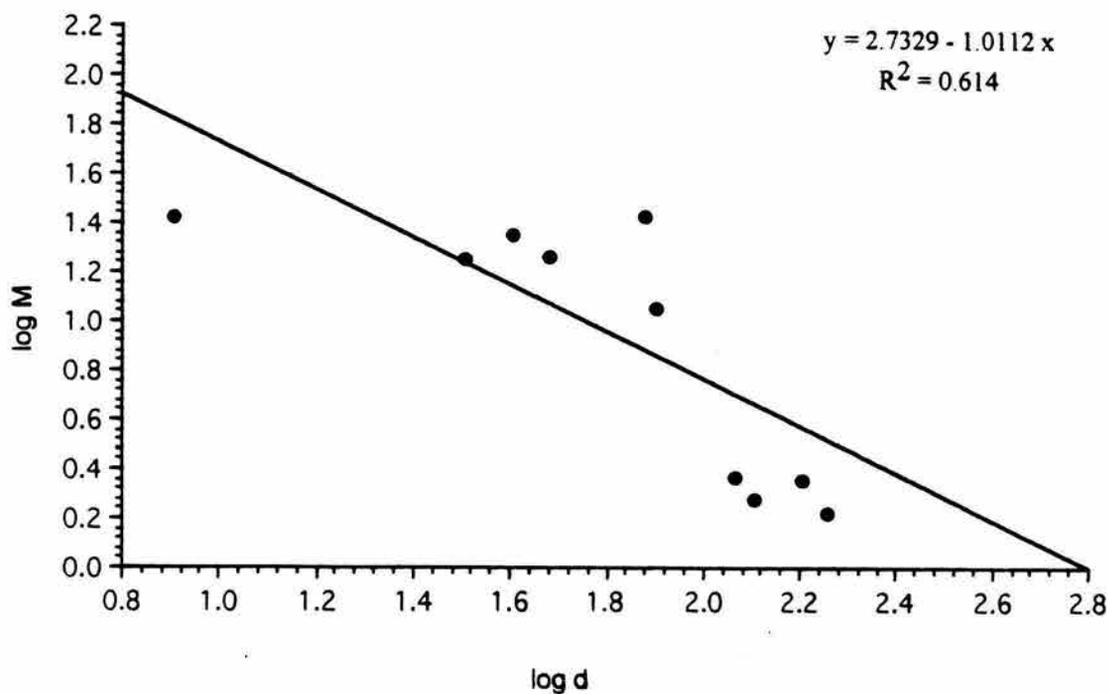


Figura 31 Estimaciones de las tasas de migración entre parejas de poblaciones como una función de la distancia geográfica entre poblaciones. Se graficó el logaritmo de \hat{M} ($\hat{M} = (1/F_{ST} - 1)/4$) versus el logaritmo de la distancia geográfica (en kilómetros). *Enantia mazai mazai* recolectada en 5 poblaciones en la vertiente del Golfo (México).

4.8 DISCUSIÓN.

4.8.1 Distribución altitudinal.

Llorente (1984), hizo una descripción de la distribución geográfica y altitudinal de las especies que constituyen al complejo "jethys", este autor menciona que cuando se encuentran las tres especies juntas, *E. mazai mazai* prefiere altitudes que van de 700 a 1,300 metros, *E. albania* se encuentra en el intervalo inferior de 0 a 700 m, y *E. jethys* en el superior de 1300 a 1800m. En este estudio hallamos algunas discrepancias con respecto a lo anotado por Llorente: 1) En *Enantia albania* encontramos que seis de las doce poblaciones estudiadas se presentaron a una altitud mayor a la reportada como su intervalo altitudinal (i.e. a más de 1,300 m, cuadro 25); 2) En cuatro de estas seis poblaciones, se habían reportado tanto *E. mazai mazai* como *E. jethys* con mayor frecuencia, y sorprendentemente no encontramos a estas dos últimas especies en dichas localidades (LCH, XIL, PIL1, PIL2); 3) A *E. jethys* se le buscó exhaustivamente en las cuatro "islas geográficas" en las que ha sido reportada, sin embargo sólo se recolectaron ejemplares de tres poblaciones dentro de una isla geográfica y se recolectaron unos cuantos individuos de otras dos (uno en Oaxaca y dos en Chiapas).

La vegetación a la cual están asociadas estas especies ha sufrido severas perturbaciones en los últimos veinte años, lo cual ha conllevado a la fragmentación de las mismas (Masera et al, 1992). Quizás esta fragmentación del hábitat ha conducido al desplazamiento altitudinal de *E. albania*, de zonas bajas a zonas altas (i.e. a altitudes mayores a los 1,300 msnm). En las partes montañosas altas, aunque se han talado de forma immoderada tanto la selva alta perennifolia como el bosque mesófilo de montaña, en algunas zonas en donde se cultiva café, se han dejado las plantas hospederas de esta mariposa (*Inga* spp), pues los campesinos las utilizan para dar sombra al café. No conocemos como ha afectado la presencia de *E. albania* a altitudes mayores, a las otras dos especies, pero fue patente el hecho que en las mismas fechas de recolecta la especie más abundante fue *E. albania*, la que le siguió fue *E. mazai mazai* y por último a *E. jethys*.

4.8.2 Variación genética.

Los niveles de variación genética encontrados en el complejo "jethys" son similares a los encontrados en otros lepidópteros, las heterocigosidades promedio esperadas se ubican en un intervalo de 0.15 a 0.36. Los niveles de variación fueron muy similares en las tres especies. Estos resultados sobre heterocigosidad concuerdan con los análisis de Graur (1985) en los que después de analizar 34 especies de mariposas encontró una heterocigosidad promedio de 0.145 ± 0.014 . Este autor menciona que las mariposas se encuentran dentro de los órdenes de insectos más prósperos en la naturaleza en términos del número de especies y tamaños de población y a su vez también son de los más variables genéticamente (junto con los coleópteros y dípteros).

El mantenimiento de altos niveles de variabilidad genética (polimorfismos) en una población es probablemente inducido por un ambiente heterogéneo, además de la constante mezcla de genes entre las poblaciones a través de la migración. Los altos niveles de heterocigosidad en mariposas han sido asociados con áreas de distribución amplias, y tamaños poblacionales altos (Kitching, 1985). Por otra parte, cuando la especie se encuentra subdividida en poblaciones pequeñas, la deriva génica tiene mayor oportunidad de actuar disminuyendo los niveles de heterocigosidad (Soulé, 1987; Hartl y Clark, 1989). En este estudio las tres especies se encuentran en áreas geográficas extensas; sin embargo, la distribución de *E. jethys* es discontinua y fragmentada (Llorente, 1984). En la isla montana estudiada para *E. jethys* (en el estado de Veracruz) se observaron niveles altos de heterocigosidad ($H = 0.11$) comparados con otras especies de insectos. En este estudio la subespecie con más altos niveles de heterocigosidad es *Enantia mazai diazi*, y es la que se recolectó en un área geográfica más amplia. Aun así, en *E. albania*, *E. mazai mazai* y *E. jethys* los niveles de heterocigosidad son relativamente grandes. Los altos niveles de polimorfismo y heterocigosidad nos muestran que la perturbación del hábitat de estas mariposas, (producto de la tala inmoderada), todavía no se traduce en una drástica pérdida de la variación genética.

4.8.3 Coeficientes de endogamia.

Estudios previos han encontrado altos valores para el coeficiente de endogamia en poblaciones naturales de lepidópteros (cuadro 5, capítulo II de este trabajo). Sin embargo cabe la pregunta de cómo las mariposas al mismo tiempo que mantienen sistemas endogámicos son muy vágiles. Aunque existen mariposas que vuelan unos cuantos metros durante toda su vida (Thomas, 1985), muchas de ellas son capaces de volar grandes distancias (Shreeve, 1992).

Las mariposas que se encuentran en hábitats donde todos sus requerimientos se presentan juntos y cuyos hospederos son plantas perennes o permanecen durante varias generaciones de mariposas, tienden a ser sedentarias (Shreeve, 1992). Sin embargo aún las poblaciones más sedentarias producen algunos individuos que se mueven o dispersan del hábitat en el que emergieron. La mayoría de estos individuos no intentan regresar a su hábitat original (Thomas, 1985).

Las mariposas que pertenecen al complejo "jethys" están estrechamente ligadas a su planta hospedera (*Inga* spp.), la cual es perenne, por lo que esperaríamos que las mariposas fuesen mas bien sedentarias y tuviesen una tendencia a entrecruzarse entre parientes. Los valores de F promedio por especie (que van de 0.1 a 0.8) nos indican que efectivamente hay altos niveles de endogamia dentro de las poblaciones, pero también encontramos bajos valores de F_{ST} (.05 a .0096) entre las poblaciones de cada una de las especies, lo que nos indicaría que posiblemente existe mucho flujo de genes entre las poblaciones, es decir los individuos se mueven entre las poblaciones. Cómo explicamos estos resultados? Ehrlich (1984) ha propuesto que en las mariposas existen individuos que tienden a quedarse en el lugar donde emergieron y otros tienden a dispersarse a otros lugares. Esta podría ser una respuesta a nuestros resultados, es decir en las poblaciones

de mariposas estudiadas existen los dos componentes antes mencionados: individuos que casi no se mueven dentro del hábitat y aquellos que tienden a dispersarse.

De hecho las hembras tienden a moverse más dentro del hábitat que los machos, ya que éstos generalmente buscan un sitio de percha donde los recursos alimenticios son abundantes y tienden a permanecer ahí. En tanto las hembras buscan sitios de oviposición que aunque generalmente están adyacentes a los de apareamiento observamos que en algunas ocasiones los sitios abiertos en los que se alimentaban los adultos se encontraban hasta cien metros de distancia de las ingas. El que los sexos tengan diferentes conductas y distancias de vuelo debido a sus diferencias en actividades y patrones de comportamiento también se ha observado en otras mariposas que presentan comportamientos territoriales (Shreeve, 1992).

También se ha descrito variación individual en los patrones de vuelo de los individuos de una población independientemente del sexo. Al parecer existe cierta plasticidad del comportamiento de vuelo en las mariposas, la cual esta determinada genéticamente (Scott, 1975). Se ha encontrado que existen diferencias entre los genotipos en tiempos de actividad de vuelo, es decir, a diferentes horas del día están activos diferentes genotipos (Watt et al. 1985, 1986; Zalucki et al., 1987; Carter et al., 1989).

Se ha sugerido que la plasticidad en la conducta de vuelo esta ligada estrechamente con las condiciones ambientales, por ejemplo, las mariposas que viven en ambientes donde las cuatro estaciones están marcadas por diferencias ambientales, los adultos que sobrellevan el invierno tienen diferentes requerimientos que los de otoño y consecuentemente tienden a tener diferentes patrones de vuelo en las diferentes estaciones (Shreeve, 1992). Se ha reportado variación estacional de las frecuencias alélicas en *Dannaus plexippus* (Zalucki, 1993) y en *Colias*, en éste último caso Watt et al (1977,

1983), relacionaron las diferencias genóticas con cambios en la temperatura y la eficiencia de las enzimas.

Tal vez también podríamos esperar diferencias estacionales en el complejo "jethys", en época de lluvias donde los recursos son más abundantes y hay más emergencia de mariposas, éstas pueden incrementar súbitamente sus densidades, por lo que la calidad y abundancia de los recursos puede inducir a las mariposas a dispersarse en busca de alimento o lugares de oviposición. Se ha demostrado que un incremento súbito en la densidad de las poblaciones de mariposas incrementa la dispersión de éstas, como por ejemplo en *Chlosyne harrisii* (Dethier y MacArthur, 1964) y en *Pieris protodice* (Shapiro, 1970). Sin embargo en el complejo "jethys" no parece haber estos incrementos tan marcados en sus densidades, es más la colecta en la mayoría de las ocasiones fue muy escasa, sin embargo Llorente (1984) si reporto un incremento de la densidad de las poblaciones en época de lluvias. Por otra parte en época de secas la distribución de los recursos alimenticios es más fragmentada y los parches de compuestas se encuentran más espaciados por lo que las mariposas podrían tender a moverse más en busca de alimento.

Estudios de la variación de la conducta de dispersión por medio del método de captura-recaptura junto con el estudio de las variaciones genóticas de los individuos marcados, podrían revelar aquellos cambios ambientales y genéticos que determinan la naturaleza de los movimientos individuales y la estructura de la población.

4.8.4 Distancias genéticas, geográficas y flujo génico.

En *E. albania* y *E. jethys* las poblaciones se agrupan a distancias genéticas muy pequeñas (menores a 0.21). En el caso de *E. jethys* las poblaciones estudiadas se encuentran relativamente cercanas (a 32 km en promedio), en cambio en *E. albania* las distancias geográficas entre las poblaciones son muy variables; a pesar de esto, poblaciones muy

cercanas como TLA1 y TLA2 (a 2 km de distancia lineal), presentan distancias genéticas (.006) muy similares a aquellas que se presentan entre poblaciones muy alejadas (por ejemplo Xilitlilla y Fortín a 464 km; la distancia genética es de .006). Así mismo la mayor diferencia altitudinal entre las poblaciones de *E. jethys* es menor que la que se presenta en las poblaciones de *E. albania* (300m para la primera y 920 para la segunda). La similitud genética encontrada se puede explicar por los elevados niveles de flujo génico que se presentan entre las poblaciones. Pese a las aparentes limitantes al flujo de genes debidas a la discontinuidad del hábitat, causada por la perturbación del hombre, el intercambio de genes entre las poblaciones aún se mantiene. En *E. albania* poblaciones separadas por grandes distancias geográficas y altitudinales muestran niveles de flujo génico similares a poblaciones cercanas tanto geográfica como altitudinalmente.

El contacto entre poblaciones adyacentes que todavía se encuentran en su hábitat natural, se puede mantener a través de los cafetales, ya que la planta que les da sombra a las plantas del café es el lugar de oviposición de los adultos de *Enantia* (*Inga* spp) y en estos cultivos en ciertas épocas del año son abundantes ciertas especies de compuestas que son las plantas de alimentación de los adultos (Llorente, 1983). Es decir, en los cultivos de café podrían establecerse poblaciones "intermedias" que faciliten el contacto entre individuos de poblaciones que se presentan en su hábitat natural. Hay un estudio documentado en la mariposa *Euphilotes enoptes*, en donde Peterson (1995) encontró que pese al desfase fenológico y altitudinal entre las poblaciones a lo largo de un gradiente altitudinal, en este licénido se presentan niveles de flujo génico muy altos ($Nm = 11.1$) y lo explicó a través de la postulación de la existencia de poblaciones intermedias a lo largo de estos gradientes.

Un panorama un poco distinto se presenta en las dos subespecies de *E. mazai*: *E.m. mazai* y *E. m. diazi*. En *E. m. diazi* las distancias genéticas oscilan entre .012 y .064. En esta subespecie existe una ligera diferenciación entre las poblaciones aunque existen altos niveles de flujo de genes entre ellas ($F_{ST} = 0.054$). Para *E. mazai mazai*, los resultados indican que ha ocurrido una ligera diferenciación entre las poblaciones de esta especie en

México. Existiendo niveles relativamente altos de flujo génico entre las poblaciones de Xico, Fortín, Teocelo y Sochiapa; sin embargo, el flujo de genes de estas poblaciones con respecto a la de Cuetzalan es sustancialmente menor. Cuetzalan se diferencia con respecto a las demás. Esta diferenciación no es muy marcada y los valores de Nm nos indican que todavía existe un substancial flujo de genes entre las poblaciones. La población de Cuetzalan se diferencia del resto en el locus ME-1 y los altos valores de F_{ST} (0.654) podrían indicar que la selección natural está operando en este locus.

4.8.5 Variación entre enzimas.

En insectos se han realizado estudios en los que se ha demostrado la acción de la selección sobre los loci a través del análisis de isoenzimas. Slatkin (1987) discutió el caso de la mariposa *Euphydryas editha* para algunas poblaciones, donde los valores de F_{ST} en el locus de la hexoquinasa fueron sustancialmente mayores que para otros loci. Un estudio posterior, en otras poblaciones de *E. editha*, sugirió la acción de la selección en el locus de la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (Baughman et al. 1990). En el género de mariposas *Colias*, Watt (1977, 1983, 1985) mostró que los diferentes genotipos del locus de la fosfoglucoasa isomerasa (PGI), difieren en parámetros cinéticos y estas diferencias se correlacionan bien con la sobrevivencia diferencial, la capacidad de vuelo, y éxito reproductivo a diferentes temperaturas, siendo los machos heterocigos los que tienen más éxito que los homocigos. La base para la selección natural en ese caso, es la sensibilidad diferencial a la temperatura de los diferentes genotipos (Watt, 1985). Algunos autores opinan que, en el caso de *Colias*, todavía hacen falta medidas cuantitativas de la adecuación para demostrar que hay selección (Lewontin, 1985), en tanto que para otros autores, los trabajos de Watt han demostrado ampliamente la acción de la selección natural (Murphy et al., 1990; Rank, 1992; Clark y Koehn, 1992). Demostrar que hay selección asociada a un locus isoenzimático requiere, de acuerdo con Watt (1985), la demostración de: 1) diferencias en una función catalítica, 2) diferencias catalíticas basadas en aloenzimas teniendo efectos fisiológicos, y 3) diferencias en adecuación en ambientes naturales entre efectos fisiológicos (Watt 1985, 1986). En el presente trabajo los altos valores de F_{ST} para

el locus ME-1, en la población de Cuetzalan en *E. m. mazai* parecen indicar que la selección natural ha jugado o juega un papel importante en el locus ME-1 ó en un sitio del genoma al cual está asociado al locus ME-1. El porqué esta región es altamente influenciada por las presiones de selección local es desconocido. Trabajos anteriores han reportado que las condiciones de temperatura y humedad pueden ser parámetros importantes en determinar las características fisiológicas de las enzimas (Watt, 1983,1985). En este caso, la población de Cuetzalan es la única que presenta una vegetación de pino-encino. Para investigar si existen diferencias microclimáticas en los diferentes tipos de vegetación que nos pudieran dar la clave de la diferenciación de la población de Cuetzalan, tendríamos que realizar un estudio midiendo diferentes factores microclimáticos como la temperatura, humedad y precipitación tanto estacionales como a lo largo de varios días y correlacionarlos con las actividades diurnas de las mariposas.

4.8.6 Aislamiento por distancia.

Si el flujo de genes ocurre solamente entre poblaciones adyacentes y la deriva génica está en equilibrio con el flujo génico, las diferencias genéticas entre las poblaciones se incrementan con la distancia (Slatkin, 1993). Este patrón se ve reflejado en una relación inversa entre M (el número de migrantes moviéndose entre pares de poblaciones cada generación) y la distancia entre poblaciones (Hellerberg, 1994). Se ha propuesto que el aislamiento por distancia promueve la diferenciación genética de las poblaciones que se encuentran bajo condiciones ambientales heterogéneas (Hartl y Clark, 1989). El aislamiento por distancia puede resultar en la restricción del flujo génico permitiendo, por lo tanto, la diferenciación de las poblaciones especialmente si la selección también está actuando y está relacionada con diferencias ecológicas locales (Costa III y Ross, 1994).

Aunque Wright (1943) inicialmente definió el aislamiento por distancia para poblaciones que se distribuyen de forma continua, sin embargo, un patrón similar de diferenciación espacial surge entre poblaciones discretas cuando sólo las poblaciones

inmediatamente adyacentes intercambian genes (el modelo "stepping stone; Kimura y Weiss, 1964).

La relación entre el flujo de genes (M) y la distancia sigue un patrón claro sólo en el caso de la subespecie *E. m. mazai* en donde observamos que conforme aumenta la distancia decrece el flujo de genes. Esta relación puede apoyar la hipótesis de que existan poblaciones intermedias en los cafetales que pongan en contacto a las poblaciones en su hábitat natural, siendo las poblaciones adyacentes las que intercambien genes.

La existencia de poblaciones "stepping stone" (Kimura, 1953) ha sido también reportada en la mariposa *Euphilotes enoptes*, en donde las discrepancias fenológicas y altitudinales no pueden explicar la gran cantidad de flujo de genes. En ese trabajo también se utilizó el modelo de Slatkin (1993) y se encontró aislamiento por distancia (Peterson, 1995). Hellerberg (1994) también utilizó exitosamente este modelo en el caso de *Balanophyllia elegans*, donde encontró que el flujo de genes entre pares de poblaciones se correlacionó inversamente con la distancia geográfica entre las mismas, lo cual es consistente con el patrón esperado para especies en equilibrio en las cuales el flujo de genes ocurre exclusivamente entre poblaciones adyacentes.

CONCLUSIONES

- Los taxa se conservan tal como los propuso Llorente (1984).
- Los valores de F_{ST} y las distancias genéticas entre especies son muy altos, indicando que los límites de las especies son correctos.
- La filogenia propuesta por Llorente (com. pers.) se encuentra ampliamente respaldada por las aloenzimas.
- En la mayoría de los análisis los métodos de distancia y los de parsimonia, mostraron congruencia.
- Cada uno de los taxa tiene altos niveles de variación genética.
- Cada uno de los taxa tiene coeficientes de endogamia altos, que sugieren fuerte endogamia.
- Las dos subespecies son claramente diferentes y existen barreras geográficas que hacen poco probable el contacto físico entre ellas, por lo que sería importante revisar su *status* taxonómico.
- Las poblaciones de *E. m. mazai* muestran un patrón claro de aislamiento por distancia, i.e., conforme aumenta la distancia decrece el intercambio genético entre ellas.
- Las poblaciones de *E. jethys* y *E. albania* muestran bajos valores de F_{ST} son altos sugiriendo altos niveles de flujo génico entre ellas o un origen muy reciente.
- La técnica de electroforesis en acetato de celulosa resulto superior a la de almidón, ya que el número de loci detectables se incremento a más del cien por cierto con la primera.

REFERENCIAS.

- Ackery, P.R. 1984. Systematics and faunistic studies on butterflies. pp 9-21. In: Van -Wright, R.I. & P.R. Ackery (eds.). *The Biology of Butterflies*. Academic Press (London) Ltd. Oval Road, London, Great Britain.
- Allendorf, F.W. 1983. Isolation, gene flow, and genetic differentiation among populations. pp:51-65. In: Schonewald-Cox, C.M., S. Chamber, B. MacBryde & W.L. Thomas (eds.). *Genetics and Conservation*. Benjamin/Cummings, Menlo Park, CA.
- Alvarez-Buylla, E.R., A. Chaos, D. Piñero & A. Garay. 1996. Demographic genetics of a pioneer tropical tree species-patch dynamics, seed dispersal, and seed banks. *Evolution* 50: 1155-1166.
- Anderson, W.W., C.W. Berisford & R.H. Kimmich. 1979. Genetic differences among five populations of the southern pine beetle. *Annals of the Entomological Society of America* 72:323-327.
- Angevine, W.M. & P.F. Brussard. 1979. Population structure and gene frequency analysis of sibling species of *Lethe*. *Journal of the Lepidopterists' Society* 33:29-36.
- Ayala, F.J. 1982. The genetic structure of species. In : Milkman, R. (ed.). *Perspectives on evolution*. Sinauer. Sunderland. Massachusetts.
- Ayala F.J. & J.W. Valentine. 1979. *Evolving*. The theory and processes of organic evolution. The Benjamin/Cummings Publishing Company. California. 452 pp.
- Ayala F.J., M. L. Tracey, L.G. Barr, J.F. McDonald, & S. Pérez-Salas. 1974. Genetic variation in natural populations of five *Drosophila* species and the hypothesis of the selective neutrality of protein polymorphism. *Genetics* 77:343-384.
- Avise, J.C. 1994. Molecular markers, natural history and evolution. Chapman and Hall, NY. 511pp.
- Baker, R.R. 1972. Territorial behavior of the nymphalid butterflies *Aglaia urticae* and *Inachis io*. *Journal of Animal Ecology* 41:453-469.
- Bartlett, A.C. 1981. Isozyme polymorphism in population of the pink boll worm. *Annals of the Entomological Society of America* 74:9-13.
- Barrera, A. y M.E. Díaz-Batres. 1977. Distribución de algunos lepidópteros de la Sierra de Nanachititla, México, con especial referencia a *Tisiphone maculata* Hpf (Ins: Lepid.). *Revista de la Sociedad Mexicana de Lepidopterología* 3:17-28.
- Barry, R. G. & C:C Van Wie. 1974. Topo- and microclimatology in alpine areas. pp 73-83. In : Ivest J.D.& R.G. Barry (eds.). *Arctic and alpine environments*. Methen, London.
- Baughman, J.B., P.F. Brussard, P.R. Ehrlich & D.D. Murphy. 1990. History, selection, drift, and gene flow: complex differentiation in checkerspot butterflies. *Canadian Journal of Zoology* 68:1967-1975.
- Baverstock, P.R. & C. Moritz. 1990. Sampling design. pp 13-24. In : Hillis, D.M. & C. Moritz (eds.). *Molecular Systematics*. Sinauer Associates, Inc. Sunderland Massachusetts.
- Begon, M., J.L. Harper & C.R. Townsend. 1986. *Ecology*. Individuals, Populations and Communities. Blackwell Scientific Publications EUA. 876 pp.

- Berlocher, S.H. 1984. Genetic changes coinciding with the colonization of California by the walnut husk fly, *Rhagoletis completa*. *Evolution* 38:906-918.
- Blower, J.G., Cook, L.M. & Bishop, J.A. 1981. *Estimating the size of animal populations*. London: George Allen and Unwin. 128 pp.
- Bonnell, M.L. & R.K. Selander. 1974. Elephant seals: genetic variation and near extinction. *Science* 184: 908-909.
- Börner, C. 1925. Lepidoptera, Schmetterlinge. pp. 358-387. In : Brohmer, P. (ed.). *Fauna aus Deutschland*. Germany.
- Börner, C. 1939. Die Grundlagen meines Lepidopterensystems. Verhandlungen VII Internationalen Kongresses für Entomologie 2:1372-1424.
- Brakefield, P.M. & T.M. Shreeve. 1992. Diversity within populations. pp 178-197. In Dennis, R.L.H. (ed.). *The ecology of butterflies in Britain*. Oxford Science Publications.
- Britten, H. B. & P.F. Brussard. 1991. Genetic divergence and the Pleistocene history of the alpine butterflies *Boloria improba* (Nymphalidae) and the endangered *Boloria acrocroma* (Nymphalidae) in western North America. *Canadian Journal of Zoology* 70:539-548.
- Brittnacher, J.G., S.R. Sims & F.J. Ayala. 1978. Genetic differentiation between species of the genus *Speyeria* (Lepidoptera: Nymphalidae). *Evolution* 32:199-210.
- Brussard, P.F., P.R. Ehrlich, D.D. Murphy, B.A. Wilcox & J. Wright. 1985. Genetic distances and the taxonomy of checkerspot butterflies (Nymphalidae: Nymphalinae). *Journal of the Kansas Entomological Society* 58:403-412.
- Bryant, E.H., H Van Dijk & W. Van Delden. 1981. Genetic variability of the face fly, *Musca autumnalis* De Geer, in relation to a population bottleneck. *Evolution* 35:872-881.
- Buth, D.G. 1984. The application of electrophoretic data in systematics studies. *Annual Review of Ecology and Systematics* 15:501-522.
- Cabrera, V.M., A.M. Gonzalez, J.M. Larruga & A. Gullon. 1983. Genetic distance and evolutionary relationships in the *Drosophila obscura* group. *Evolution* 37:675-689.
- Caccone, A. 1985. Gene flow in cave arthropods: a qualitative and quantitative approach. *Evolution* 39:1223-1235.
- Caccone, A. & V. Sbordini. 1987. Molecular evolutionary divergence among North American cave crickets. I Allozyme variation. *Evolution* 41:1198-1214.
- Camin, J.H. & R.R. Sokal. 1965. A method for deducing branching sequences in phylogeny. *Evolution* 19:311-326.
- Caprio M.A. & B.E. Tabashnik. 1992. Allozymes used to estimate gene flow among populations of diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) in Hawaii. *Environmental Entomology* 21:808-816.
- Carter, P.A., J.M. Hughes, & M.P. Zalucki. 1989. Genetic variation in a continuously breeding populations of *Danua plexippus* L.: an examination of heterozygosity at four loci in relation to activity times. *Heredity* 63:191-194.

- Clark, A.G. & R.K. Koehn. 1992. Enzymes and Adaptation. pp 193-228. In : Berry, J., T.J. Crawford & G.M. Hewitt (eds). *Genes in Ecology*. University Press Cambridge. Great Britain.
- Cockerham, C.C. & B.S. Weir. 1987. Correlations, descent measures: drift with migration and mutation. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 84:8512-8514.
- Confalonieri, V.A. & P.C. Colombo. 1989. Inversion polymorphism in *Trimerotropis pallidipennis* (Orthoptera): clinal variation along an altitudinal gradient. *Heredity* 62: 107-112.
- Costa III, J.T. & K.G. Ross. 1994. Hierarchical genetic structure and gene flow in macrogeographic populations of the eastern tent caterpillar (*Malacosoma americanum*). *Evolution* 48:1159-1167.
- Crisci, J. 1994. La especie: realidad y conceptos. pp. 53-62. En Llorente, J. e I. Luna (Eds.). *Taxonomía Biológica*. Ediciones Científicas Universitarias. Universidad Nacional Autónoma de México-Fondo de Cultura Económica México.
- Crother, B.I. 1990. Is "some better than none" or do allele frequencies contain phylogenetically useful information? *Cladistics* 6:277-281.
- Crouau-Roy, B. 1989. Population studies on an endemic troglobitic beetle: geographical patterns of genetic variation, gene flow and genetic structure compared with morphometric data. *Genetics* 121:571-582.
- Crow, J.F. 1986. *Basic concepts in population quantitative, and evolutionary genetics*. HW Freeman Company. New York. E.U. 273pp.
- Crozier, R.H. 1977. Evolutionary genetics of the Hymenoptera. *Annual Review of Entomology* 22:263-288.
- Daly, J.C. & P. Gregg. 1985. Genetic variation in *Heliothis* in Australia: species identification and gene flow in the two pest species *H. armigera* (Hübner) and *H. punctigera* Wallengren (Lepidoptera:Noctuidae). *Bulletin of Entomological Research* 75:169-184.
- De Lesse, H. 1970. Les nombres de chromosomes chez les Lépidoptères Rhopalocères. en Amérique Centrale et Colombie. *Annals de la Société d'Entomologie Française* 6(2):347-358.
- DenBoer, M.H. 1978. Isoenzymes and migration in the African armyworm, *Spodoptera exempta* (Lepidoptera, Noctuidae) *Journal of Zoology* 185: 5390553.
- Dethier V.G. & MacArthur R.H. 1964. A field's capacity to support a butterfly population. *Nature* 201:728-729.
- Dirzo, R. & M.C. García. 1992. Rates of deforestation in Los Tuxtlas, a neotropical area in southeast Mexico. *Conservation Biology* 6:84-90.
- Douwes, P. & B. Stille. 1988. Selective versus stochastic processes in the genetic differentiation of populations of the butterfly *Erebia embla* (Thnbg)(Lepidoptera, Satyridae). *Heredity* 109:37-43.
- Eanes, W.F. & R.K. Koehn. 1978. An analysis of genetic structure in the monarch butterfly, *Danaus plexippus* L. *Evolution* 32:784-797.
- Ehrlich, P.R. 1958. The comparative morphology, Phylogeny and Higher Classification of the Butterflies (Lepidoptera: Papilionoidea). *The Univ. Kans. Science Bull.* 39(8): 305-370.
- Ehrlich, P.R. 1961. Intrinsic barriers to dispersal in the checkerspot butterfly, *Euphydryas editha*. *Science* 134:108-109.

- Ehrlich, P.R. 1984. The structure and dynamics of butterflies populations. pp 25-40. In: Van -Wright, R.I. & P.R. Ackery (eds.). *The Biology of Butterflies*. Academic Press (London) Ltd. Oval Road, London, Great Britain.
- Ehrlich, P.R. & A.H. Ehrlich. 1967. The phenetic relationships of the butterflies. Y: Adult taxonomy and the nonspecificity hypothesis. *Systematic Zoology* 16:301-317.
- Ehrlich, P.R. & P.H. Raven. 1969. Differentiation of populations. *Science* 165:1228-1232.
- Ehrlich, P.R., White, R.R., Singer, M.C., McKechnie, S.W., Gilbert, L.E. 1975. Checkerspot butterflies: a historical perspective. *Science* 188:221-28.
- Endler, J.A. 1979. Gene flow and life history patterns. *Genetics* 93:263-264.
- Farris, J.S. 1970. Methods for computing Wagner trees. *Systematic Zoology* 19:83-92.
- Farris, J.S. 1977. Phylogenetic analysis under Dollo's Law. *Systematic Zoology* 26:77-88.
- Felsenstein, J. 1983. Parsimony in systematics: Biological and statistical issues. *Annual Review of Ecology and Systematics* 14:313-333.
- Felsenstein, J. 1991. PHYLIP (Phylogeny Inference Package), version 3.4. Univ. Washington. Seattle.
- Fitch, W.M. & E. Margoliash. 1967. Construction of phylogenetic trees. *Science* 155:279-284.
- Forey, P.L., C.J. Humphries, I.L. Kitching, R.W. Scotland, D.J. Siebert, & D.M. Williams. 1995. *Cladistics: A practical course*. Clarendon Press. Oxford. 191pp.
- Friend, A.D. & F.I. Woodward. 1990. Evolutionary and ecophysiological responses of mountain plants to the growing season environment. *Advances in Ecological Research* 20:59-124.
- Geiger H.J. 1981. Enzyme electrophoretic studies on the relationships of Pierid butterflies (Lepidoptera, Pieridae) I. European Taxa. *The Journal of Research on the Lepidoptera* 19:181-195.
- Geiger, H. & A.M. Shapiro. 1986. Electrophoretic evidence for speciation within the nominal species *Anthocaris sara* Lucas (Pieridae). *The Journal of Research on the Lepidoptera* 25:15-24.
- Gieger, R. 1965. *The climate near the ground*. Harvard University Press, Cambridge, Mass.
- Gilbert, L.E. 1984. The biology of butterflies communities. pp 41-54. In: Vane-Wright R.I. & P.R. Ackery (eds.). *The biology of butterflies*. Academic Press.
- Gilbert, L.E. & M.C. Singer. 1973. Dispersal and gene flow in a butterfly species. *American Naturalist* 107:58-72.
- Gilbert, L.E. & M.C. Singer. 1975. Butterfly ecology. *Annual Review of Ecology and Systematics* 6:365-397.
- Godman, F.D. & Y Salvin. 1889-1890. *Biologia Centrali Americana*. Zoología, Insecta, Lepidoptera, Rhopalocera, Vol II (texto) y III (láminas).
- Graur, D. 1985. Gene diversity in Hymenoptera. *Evolution* 39:190-199.

- Hagen, R.H. & J.M. Scriber. 1991. Systematics of the *Papilio glaucus* and *Papilio troilus* species groups (Lepidoptera: Papilionidae): inferences from allozymes. *Annals of the Entomological Society of America* 84:380-395.
- Hamrick, J.L. & R.W. Allard. 1972. Microgeographic variation in allozyme frequencies in *Avena barbata*. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 69:2100-2104.
- Harland, W.B., A.V. Cox, P.G. Llewellyn, C.A.G. Pickton, A.G. Smith & R. Walters. 1982. *A Geologic Time Scale*. Cambridge University Press, Cambridge, U.K.
- Harris, H. 1966. Enzyme polymorphism in man. *Proceedings of the Royal Society* 164: 298-310.
- Harrison, R.G., S.F. Wintermeyer, & T.M. Odell. 1983. Patterns of genetic variation within and among gypsy moth, *Lymantria dispar* (Lepidoptera: Lymantriidae) populations. *Annals of the Entomological Society of America* 76:652-656.
- Harrison, R.G. 1985. Barriers to gene exchange between closely related cricket species. II. Life cycle variation and temporal isolation. *Evolution* 39:244-259.
- Hartl, D.L. & A.G. Clark. 1989. *Principles of population genetics*. 2nd. ed. Sinauer, Sunderland, Massachusetts. 682pp.
- Hedrick, P.W. 1983. *Genetics of populations*. Science Books Int., Boston. 629pp.
- Hedrick, P.W. 1986. Genetic polymorphism heterogeneous environments a decade later. *Annual Review of Ecology and Systematics* 17:535-66.
- Hellerberg, M.E. 1994. Relationships between inferred levels of gene flow and geographic distance in philopatric coral, *Balanophyllia elegans*. *Evolution* 48:1829-1854.
- Hennig, W. 1966. *Phylogenetic Systematics*. University of Illinois Press, Urbana.
- Herbert, P. and M. Beaton 1986. *Cellulose acetate gel electrophoresis*. Helena Laboratories., Beumont Texas.
- Hillis, D.M. 1984. Misuse and modification of Nei's genetic distance *Systematic Zoology* 33:238-240.
- Hillis, D.M. 1987. Molecular versus morphological approaches to systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics* 18:23-42.
- Hillis, D.M. & C. Moritz. 1990. *Molecular systematics*. Sinauer Associates, Inc., Sunderland Massachusetts. 588pp.
- Hoelzel, A.R. & G.A. Dover 1991. *Molecular genetic ecology*. Oxford University Press. 75pp
- Hoelzel, A.R. & D.R. Bancroft. 1992. Statistical analysis of variation. pp 297-305. In: A.R. Hoelzel (ed.). *Molecular Genetic Analysis of populations: A practical approach*. IRL. Press. Oxford.
- Hoffmann, C. 1940. Catálogo Sistemático y Zoogeográfico de los Lepidópteros Mexicanos. Primera parte. Papilionoidea. *An. Inst. Biol. UNAM* 11(2): 639-739.
- Hughes, J.M. & M.P. Zalucki. 1984. Genetic variation in a continuously breeding population of *Danaus plexippus* L. (Lepidoptera: Nymphalidae). *Heredity* 52:1-7.

- Hughes, J.M., M.P. Zalucki & P.M. Walker. 1989. Electrophoretic studies of the three populations of *Pectinophora scutigera* (Holdaway) (Lepidoptera: Gelechiidae) in Queensland. *Journal of the Entomological Society of Australia* 28:197-200.
- Hutchinson, J. 1969. *Evolution and phylogeny of flowering plants* (Dicotyledons: facts and theory). Academic Press. 717pp.
- Huxley, J.S. 1939. Clines: An auxiliary method in taxonomy. *Bijdr. Dierk.* 27:491-520.
- Jacobson, J.W. & T.H. Hsiao. 1983. Isozyme variation between geographic populations of the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Annals of the Entomological Society of America* 76:162-166.
- Johnson, G.B. 1973. Enzyme polymorphism and biosystematics: The hypothesis of selective neutrality. *Annual Review of Ecology and Systematics* 4:93-116.
- Johnson, K.S., D. Snider & J.M. Scriber. 1996. Estimates of genetic differentiation among *Callosamia* species and *Hyalalophora cecropia* (Saturniidae) using allozyme electrophoresis. *Journal of the Lepidopterists' Society* 50:217-225.
- Kendall, R.O. 1974. Confirmation of Rhopalocera (Pieridae, Nymphalidae) previously recorded for Texas and the United States. *Journal of the Lepidopterists' Society* 28:249-262.
- Kingsolver, J.G. 1983. Thermoregulation and flight in *Colias* butterflies: implications for reproductive strategy and population structure. *Ecology* 64:546-551.
- Kimura, M & J.F. Crow. 1963. The measurement of effective population number. *Evolution* 17:273-288.
- Kimura, M.J. & G.H. Weiss. 1964. The stepping stone model of population structure and decrease of genetic correlation with distance. *Genetics* 49:461-576.
- Kitching, I.J. 1985. Allozyme variation in the milkweed butterflies (Lepidoptera: Danainae). *Zoological Journal of the Linnean Society* 86:813-833.
- Klots, A.B. 1933. A Generic Revision of the Pieridae together with a study of the Male Genitalia. *Entom. Amer.* 12(3-4): 139-242.
- Koehn, R.K. 1969. Esterase heterogeneity: dynamics of a polymorphism. *Science* 163:943-944.
- Laing C., G.R. Carmody & S.B. Peck. 1975. Population genetics and evolutionary biology of the cave beetle *Ptomaphagus hirtus*. *Evolution* 30:484-498.
- Lamas, G.M. 1979. Los Dismorphiinae (Pieridae) de México, América Central y las Antillas. *Rev. Soc. Mex. Lep.* 5(1): 3-37.
- Larson, A., D.B. Wake & K.P. Yanev. 1984. Measuring gene flow among populations having high levels of genetic fragmentation. *Genetics* 106:293-308.
- Levin, D.A. 1981. Dispersal versus gene flow in plants. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 68:233-253.
- Levin, D.A. & H.W. Kerster. 1974. Gene flow in seed plants. *Evolutionary Biologist* 7:139-220.
- Lewontin, R.C. 1974. *The genetic basis of evolutionary change*. New York. Columbia Press University. 346 pp.

- Lewontin, R. C. 1985. Population genetics. *Annual Review of Genetics* 19:81-102.
- Lewontin, R.C. 1991. Twenty five years ago in genetics: electrophoresis in the development of evolutionary genetics: milestone or millestone? *Genetics* 128:657-662.
- Lewontin, R.C. & J.L. Hubby. 1966. A molecular approach to the study of genic heterozygosity in natural populations. II Amount of variation and degree of heterozygosity in natural populations of *Drosophila pseudobscura*. *Genetics* 54:595-609.
- Li, C.C. & D.G. Horvitz. 1953. Some methods of estimating the inbreeding coefficient. *American Journal of Human Genetics* 5:107-117.
- Li, W-H & D. Graur. 1991. *Molecular Evolution*. Sinauer Associates, Inc. Sunderland, Massachusetts. 283pp.
- Li, W-H & A. Zharkikh. 1994. What is the bootstrap technique. *Systematic Biology* 43:424-430.
- Linneo, C. 1758. *Systema Naturae* (décima edición). Stockholm. 823 pp.
- Llorente-Bousquets, J. 1984. Sinopsis Sistemática y Biogeográfica de los Dismorphiinae de México con especial referencia al género *Enantia* Huebner (Lepidoptera: Pieridae) *Folia Entomológica Mexicana* 58:1-207.
- Lokki, J., E. Suomalainen, A. Saura, & P. Lankinen. 1975. Genetic polymorphism and evolution in parthenogenetic animals II. Diploid and polyploid *Solenobia triquetrella* (Lepidoptera: Psychidae). *Genetics* 79:513-525.
- Maddison W.P. & D.R. Maddison. 1992. MacClade version 3.0. Analysis of phylogeny and character evolution. Sinauer Associates, Inc. Sunderland, Massachusetts. USA.
- Margoliash, E. 1963. Primary structure and evolution of cytochrome c. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 50:672-679.
- Margush, T., & F.R. McMorris. 1981. Consensus n-trees. *Bulletin of Mathematical Biology* 43:239-244.
- Masera, O., M.J. Ordoñez & R. Dirzo. 1992. Carbon emissions and sequestration in forests: case studies from seven developing countries. Volume 4: Mexico. EPA. LBL.
- Mayr, E. 1963. *Animal Species and Evolution*. Cambridge; MA. Harvard University Press.
- Mayr, E. & P.D. Ashlock. 1991. *Principles of Systematic Zoology*. 2a Edition. McGraw Hill, Inc. USA. 475pp.
- McCauley, D.E. & W.F. Eanes. 1987. Hierarchical population structure analysis of the milkweed beetle, *Tetraopes tetraophthalmus* (Forester). *Heredity* 58:193-201.
- McDonald, I.C., J.L. Krysan & O.A. Johnson. 1985. Genetic variation within and among geographic populations of *Diabrotica barberi* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Annals of the Entomological Society of America* 78:271-278.
- McKechnie, S.W., Ehrlich, P.R., & R.R. White. 1975. Population genetics of *Euphydryas* butterflies. I. Genetic variation and the neutrality hypothesis. *Genetics* 81:571-94.

- Menken, S.B.J. 1989. Electrophoretic studies on geographic populations, host races and sibling species of insect pests, pp. 181-202. In: H.D. Loxdale & J. den Hollander (eds.). *Electrophoretic studies on agricultural pests*. Systematics Association Special Volumen 39. Clarendon Press, Oxford.
- Mettler, L.E., T.G. Greig & H.E. Schaffer. 1988. *Population Genetics and Evolution*. Prentice-Hall Inc. 352pp.
- Mickevich, M.F. & M.S. Johnson. 1976. Congruence between morphological and allozyme data in evolutionary inference and character evolution. *Systematic Zoology* 25:260-270.
- Miller, J.S. 1987. Phylogenetic studies in the Papilioninae (Lepidoptera: Papilionidae). *Bulletin of the American Museum of Natural History* 186:365-512.
- Murphy, R.W., J.W. Sites, Jr. Donald, G. Buth & C.H. Haugler. 1990. Proteins I: Isozyme electrophoresis. pp 45-126. In: D.M. Hillis & C. Moritz (eds.). *Molecular Systematics*. Sinauer Associates, Inc., Sunderland Massachusetts.
- Nei, M. 1972. Genetic distance between populations. *American Naturalist* 221:40-42.
- Nei, M. 1975. *Molecular population genetics and evolution*. Amsterdam. North-Holland.
- Nei, M. 1978. Estimation of average heterocigosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89:583-590.
- Nei, M. 1987. *Molecular evolutionary genetics*. Columbia University Press, New York. 512 pp.
- New, T.R. 1991. *Butterfly Conservation*. Oxford University Press. 224pp.
- Prakash, S. 1969. Genetic variation in a natural population of *Drosophila persimiles*. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 62:778-784.
- Pashley, D.P. 1980. Genetic comparisons between native and introduced populations of the codling moth, *Laspeyresia pomonella* (Tortricidae) and among othe Tortricid species. Ph D. .Dissertation. University of Texas, Austin. USA.
- Pashley, D.P. 1983. Biosystematic study of Tortricidae (Lepidoptera), with a note on evolutionary rates of allozymes. *Annals of the Entomological Society of America* 76:139-148.
- Pashley, D.P., S.J. Johnson & A.N. Sparks. 1985. Genetic population structure of migratory moths: the fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). *Annals of the Entomological Society of America* 78:756-762.
- Pashley, D.P., T.N. Hardy, A.M. Hammond, & J.A. Mihm. 1990. Genetic evidence for sibling species within the sugarcane borer (Lepidoptera: Pyralidae). *Annals of the Entomological Society of America* 83:1048-1053.
- Patton, J.L. & S.Y. Yang. 1977. Genetic variation in *Thomomys battae* pock gophers: macrogeographic patterns. *Evolution* 31:697-720.
- Peterson, A.T., P. Escalante & A. Navarro. 1992. Genetic variation and differentiation in Mexican populations of common bush-tanagers and chestnut-capped bush-finches. *The Condor* 94:244-253.
- Peterson, M.A. 1995. Phenological isolation, gene flow and developmental differences among low and high elevation populations of *Euphilotes enoptes* (Lepidoptera: Lycaenidae). *Evolution* 43:446-455.

- Phillips, T.W. & G.N. Lanier. 1985. Genetic divergence among populations of the white pine weevil, *Pissodes strobi* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Annals of the Entomological Society of America* 78:744-750.
- Porter, A.H. & H. Geiger. 1988. Genetic and phenotypic population structure of the *Coenonympha tullia* complex (Lepidoptera: Nymphalidae: Satyrinae) in California: no evidence for species boundaries. *Canadian Journal of Zoology* 66: 2751-2765.
- Porter, A.H. & H. Geiger. 1995. Limitations to the inference of gene flow at regional geographic scales - an example from *Pieris napi* group (Lepidoptera: Pieridae) in Europe. *Biological Journal of the Linnean Society* 54:329-348.
- Reakirt, T. 1863. Notes on Central American Lepidoptera, with descriptions of new species. *Proceeding of the Entomological Society of Philadelphia* 2:345-360.
- Rice, W.R. 1989. Analyzing tables of statistical test. *Evolution* 43:223-225.
- Richardson, B.J., P.R. Baverstock & M. Adams. 1986. *Allozyme electrophoresis*. A handbook for animal systematic and population studies. Academic Press. Harcourt Brace Jovanovich Publishers. 409 pp.
- Richmond J. & M. Page. 1995. Genetic and biochemical similarities among four species of pine coneworms (Lepidoptera: Pyralidae). *Annals of the Entomological Society of America* 88:271-280.
- Ridley, M. 1993. *Evolution*. Hamilton. New York. 670 pp.
- Roderick, G.K. 1996. Geographic structure of insect populations: gene flow, phylogeography, and their uses. *Annual Review of Entomology* 41: 325-352.
- Rogers, J.S. 1984. Deriving phylogenetic trees from allele frequencies. *Systematic Zoology* 33:52-63.
- Rogers, J.S. 1986. Deriving phylogenetic trees from allele frequencies: A comparison of nine genetic distances. *Systematic Zoology* 35:279-310.
- Rohlf, F.J. 1993. NTSYS. *Numerical Taxonomy and Multivariate analysis system*. Version 1.8. Exeter software. New York.
- Rosen, B.R. 1988. Biogeographic patterns: a perceptual overview. In: Myers, A.A. & P.S. Gillers (eds.). *Analytical Biogeography*. Chapman & Hall. New York.
- Roughgarden, J. 1979. *Theory of population genetics and evolutionary ecology: an introduction*. Macmillan, New York.
- Rzedowski, J. 1978. *Vegetación de México*. Editorial Limusa. 432pp.
- Sarich, V.M. 1977. Rates, sample sizes, and the neutrality hypothesis for electrophoresis in evolutionary studies. *Nature* 265:25-28.
- Scoble, M.J. 1986. The structure and affinities of the Hedyloidea: a new concept of the butterflies. *Bulletin of the British Museum* (Natural History) (Entomology) 53:251-286.
- Scoble, M.J. 1992. *The Lepidoptera*. Oxford University Press. 404pp.
- Scott, J.A. 1975. Flight patterns among eleven species of diurnal Lepidoptera. *Ecology* 56:1368-1377.

- Shapiro, A.M. 1970. The role of sexual behaviour in density-related dispersal of pierid butterflies. *American Naturalist* 104:367-372.
- Shapiro, A.M. & H. Geiger. 1986. Electrophoretic confirmation of the species status of *Pontia protodice* and *P. occidentalis* (Pieridae). *The Journal of Research on the Lepidoptera* 25:39-47.
- Shapiro, A.M. & H. Geiger. 1989. Electrophoretic comparisons of vicariant *Vanessa*: genetic differentiation between *V. annabella* & *V. caye* (Nymphalidae) since the great american interchange. *Journal of Lepidopterists' Society* 43: 81-92.
- Shreeve, T.G. 1992. Monitoring butterfly movements. pp.120-138. In Dennis R.L.H. (Ed.) *The ecology of butterflies in Britain*. Oxford Science Publications
- Simpson, G.G. 1961. *Principles of Animal Taxonomy*. Columbia University Press, New York.
- Slatkin, M. 1981. Estimating levels of gene flow in natural populations. *Genetics* 95:503-523.
- Slatkin, M. 1985a. Rare alleles as indicators of gene flow. *Evolution* 39:53-65.
- Slatkin, M. 1985b. Gene flow in natural populations. *Annual Review of Ecology and Systematics* 16:393-430.
- Slatkin, M. 1987. Gene flow and the geographic structure of natural populations. *Science* 236:787-792.
- Slatkin, M. 1993. Isolation by distance in equilibrium and nonequilibrium populations. *Evolution* 47:264-279.
- Slatkin, M. 1994. Gene flow and population structure. pp 4-17. In: Real, L.A. (ed.). *Ecological genetics*. Princeton University Press. New Jersey.
- Slatkin, M. & N. H. Barton. 1989. A comparison of three indirect methods for estimating average levels of gene flow. *Evolution* 43:391-365.
- Slatkin, M. & W.P. Maddison. 1990. Detecting isolation by distance using phylogenies of genes. *Genetics* 123:603-613.
- Sluss, T.P., E.S. Sluss, H.M. Graham & M.D. Bois. 1978. Allozyme differences between *Heliothis virescens* and *H. zea*. *Annals of the Entomological Society of America* 71:191-195.
- Sluss, T.P., E.S. Sluss, & H.M. Graham. 1979. Allozyme variation in natural populations of *Heliothis virescens*. *Annals of the Entomological Society of America* 72:317-322.
- Sneath, P.H.A. & R.R. Sokal. 1973. *Numerical Taxonomy*. W.H. Freeman, San Francisco.
- Snyder, T.P. & M.C. Linton. 1984. Population structure in black flies: allozymic and morphological estimates for *Prosimulium mixtum* and *P. fuscum* (Diptera: Simuliidae) *Evolution* 38:942-956.
- Sokal, R.R. & F.J. Rohlf. 1981. *Biometry*. W.H. Freeman, San Francisco.
- Soulé, M. 1976. Allozyme variation: Its determinants in space and time. In: F.J. Ayala (ed.). *Molecular Evolution*. Sinauer, Massachusetts.
- Soulé, M. E. 1987. *Viable populations for conservation*. Cambridge. Cambridge University Press. 189pp.

- Stock, M. W. & P.J. Castrovillo. 1981. Genetic relationships among representative populations of five *Choristoneura* species: *C. occidentalis*, *C. retiniana*, *C. biennis*, *C. lambertiana*, and *C. fumiferana* (Lepidoptera: Tortricidae). *Canadian Journal of Entomology* 113:857-865.
- Stock, M. W., G.D. Amman & P.K. Highby. 1984. Genetic variation among mountain pine beetle (*Dendroctonus ponderosae*) (Coleoptera: Scolytidae) populations from seven western states. *Annals of the Entomological Society of America* 77:760-764.
- Swofford, D.L. 1990. PAUP: Phylogenetic Analysis Using Parsimony, version 3.0. Illinois Natl. Hist. Sur., Champaign, IL.
- Swofford, D.L. & S.H. Berlocher. 1987. Inferring evolutionary trees from gene frequency data under the principle of maximum parsimony. *Systematic Zoology* 36:293-325.
- Swofford, D.L. & G.L. Olsen. 1990. *Phylogeny reconstruction*. pp. 411-501. In Hillis D.M. & C. Moritz (Eds.). *Molecular Systematics*. Sinauer Associates Sunderland, Massachusetts.
- Swofford, D.L. & R.K. Selander. 1981. BIOSYS-1 (release 1.7): a computer program for the analysis of allelic variation in population genetics and biochemical systematic. User manual. Illinois Natural History Survey. Illinois.
- Swofford, D.L., G.J. Olsen, P.J. Waddwell, & D.M. Hillis. 1996. Phylogenetic inference. pp 407-514. In: D.M. Hillis, C. Moritz & B.K. Mable. (eds.). 2a ed. *Molecular Systematics*. Sinauer, Massachusetts. USA.
- Templeton, A.R. 1981. Mechanisms of speciation a population genetic approach. *Annual Review of Ecology and Systematics* 12:23-48.
- Templeton, A.R. 1983. Phylogenetic inference from restriction endonuclease cleavage sites maps with particular reference to the humans and apes. *Evolution* 37:221-244.
- Thomas, C.D. 1985. Specializations and polyphagy of *Plebejus argus* (Lepidoptera: Lycaenidae) in North Wales. *Ecological Entomology* 10:325-340.
- Tong, M.L. & A.M. Shapiro. 1989. Genetic differentiation among California populations of the anise swallowtail butterfly *Papilio zelicaon* Lucas. *Journal of the Lepidopterists' Society* 43:217- 228.
- Turner, J.R., M.S. Johnson & W.F. Eanes. 1979. Contrasted modes of evolution in the same genome: allozyme and adaptive change in *Heliconius*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 76:1924-1928.
- Vawter, A.T. & J. Wright. 1986. Genetic differentiation between subspecies of *Euphydryas phaeton* (Nymphalidae: Nymphalinae). *The Journal of Research on the Lepidoptera* 25:25-29.
- Ward, P.S. 1980. Genetic variation and population differentiation in the *Rhytidoponera impressa* group, a species complex of Ponerine (Hymenoptera: Formicidae). *Evolution* 34:1060-1076.
- Watt, W.B. 1977. Adaptation at specific loci. I. Natural selection on phosphoglucose isomerase of *Colias* butterflies: Biochemical and population aspects. *Genetics* 87:177-194.
- Watt, W.B. 1983. Adaptation at specific loci. II: Demographic and biochemical elements in the maintenance of the *Colias* PGI polymorphism. *Genetics* 103:691-724.
- Watt, W.B. 1985. Bioenergetics and evolutionary genetics: Opportunities for a new synthesis. *American Naturalist* 125:118-143.

- Watt, W. B. 1986. Power and efficiency as indices of fitness in metabolic organization. *American Naturalist* 127:629-653.
- Watt, W.B., P.A. Carter & S.M. Blower. 1985. Adaptation at specific loci. IV. Differential mating success among glycolytic allozyme genotypes of *Colias* butterflies. *Genetics* 109:157-175.
- Watt, W.B., P.A. Carter and K. Donohue. 1986. Females' choice of "good genotypes" as mates is promoted by an insect mating system. *Science* 233:1187-1190.
- Weeden, N.F. & Wendel, J.F. 1989. Genetics of plants isozymes. pp 46-72. In: D.E. Soltis & P.S. Soltis (eds.). *Isozymes in plant biology*. Discorides Press. Portland. O.R.
- Weir, B.S. & C.C. Cockerham. 1984. Estimating *F* statistics for the analysis of population structure. *Evolution* 38:1358-1370.
- Weir, B.S. 1990. *Genetic data analysis*. Sinauer Associates, Inc. Publishers. Sunderland, Massachusetts. 377pp.
- White, C.S. & D.M. Lambert. 1994. Genetic differences among pheromonally distinct New Zealand leafroller moths. *Biochemical Systematics and Ecology* 22:329-339.
- Wiley, E. O. 1978. The evolutionary species concept reconsidered. *Systematic Zoology* 27:17-26.
- Wiley, E. O. 1981. *Phylogenetics: The theory and Practice of Phylogenetic Systematics*. John Wiley & Sons. Nueva York.
- Wiley, E.O., D. Siegel-Causey, D.R. Brooks & V.A. Funk. 1991. *The Compleat Cladist. A primer of phylogenetic procedures*. University of Kansas. 158pp.
- Workman, D.L. & J.D. Niswander. 1970. Population studies on southwestern Indian tribes II. Local genetic differentiation in the Papago. *American Journal of Human Genetics*. 22:24-49.
- Wright, S. 1921. System of mating. *Genetics* 6:111-178.
- Wright, S. 1932. The roles of mutation, inbreeding, crossbreeding and selection in evolution. *Proceedings of the Sixth International Congress of Genetics* 1:356-366.
- Wright, S. 1943. Isolation by distance. *Genetics* 28:114-138.
- Wright, S. 1951. The genetic structure of populations. *Ann. Eugenics* 15:322- 354.
- Wright, S. 1965. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution* 19:355-420.
- Wright, S. 1969. *Evolution and genetics of populations*. Vol 2: The theory of gene frequencies. University of Chicago press, Chicago.
- Wright, S. 1978. *Evolution and genetics of populations*. Vol 4: Variability within and among natural populations.. University of Chicago press, Chicago.
- Zalucki, M.P., Hughes, J.M. & P.A. Carter. 1987. Genetic variation in *Danaus plexippus* L.: Habitat selection and differences in activity times. *Heredity* 59:213-221.

Zalucki, M.P., Hughes, J.M., J.M. Arthur & P.A. Carter. 1993. Seasonal variation at four loci in a continuously breeding population of *Danaus plexippus* L. *Heredity* 70:205-213.

Zera, A.J. 1981. Genetic structure of two species of water-striders (Gerridae: Hemiptera) with differing degrees of winglessness. *Evolution* 35:218-225.

APÉNDICE

1.1 Recetas de los sistemas “buffers” utilizados en el análisis electroforético

Buffers de corrimiento:

Buffer A

Citratos-fosfato 0.01M

pH=6.4

Receta (1lt)

1.42g Na₂HPO₄

0.53g Acido cítrico

Molaridad final

10 mM Na₂HPO₄

2.5mM Acido cítrico

Buffer K

Tris-Maleato 0.015M

pH=7.2

Receta (1lt)

1.82g Tris

0.81g Acido maléico

Molaridad final

15 mM Tris

7nM Acido maléico

Buffer C

0.05M

ph=7.8

Receta (1lt)

6.06g Tris

2.32g

Molaridad final

50 mM Tris

20 mM Acido maléico

1.2 Recetas de las enzimas utilizadas en el análisis electroforético

ISOCITRATO DESHIDROGENASA (IDH) E.C. 1.1.1.42

1.0 ml. Tris HCL, pH=7.0

1.5 ml. NADP

15 gotas DL-ácido isocítrico

8 gotas MgCL₂

5 gotas MTT

5 gotas PMS

2 ml. agar.

GLUTAMATO OXALOACETATO TRANSAMINASA (GOT) E.C. 2.6.1.1

3 ml. solución No 1
10 gotas fast blue BB salt (solución saturada)**
2 ml. agar

Solución No 1
200 ml. 0.1M fosfato, pH=7.0
10 mg. Pyridoxal-5-fosfato
460 mg. ácido L-Aspártico
260 mg. ácido
ajustar a pH=7.4.

FOSFOGLUCOSA ISOMERASA (PGI) E.C.5.3.1.9

1.0 ml. Tris HCL, pH=8.0
1.5 ml. NAD
5 gotas fructosa-6-fosfato
5 gotas MTT
5 gotas PMS
10 ml. G6PDH
2 ml. agar

FOSFOGLUCOMUTASA (PGM) E.C. 2.7.5.1

1.0 ml. Tris HCL, pH=8.0
1.5 ml. NAD
5 gotas MgCL₂
5 gotas glucosa-1-fosfato
5 gotas MTT
5 gotas PMS
20 ml. G6PDH
2 ml. agar

GLUCOSA 6-FOSFATO DESHIDROGENASA (**G6PD**) E.C. 1.1.1.49

0.6 ml. HCL, pH=8.0

1.5 ml. NADP

12 gotas D-glucosa-6-fosfato

6 gotas MgCL₂

5 gotas MTT

5 gotas PMS

2 ml. agar

1.2 Cuadros de las frecuencias alélicas de las poblaciones estudiadas para las especies del complejo "jethys".

Cuadro 37. Frecuencias alélicas para doce poblaciones de *Enantia albania* en México. El primer renglón de cada loci corresponde al número de individuos muestreados.

Loci	Poblaciones												
	PIL 1	PIL 2	TLA 2	AH U	TLA 1	LC H	XIL	PFO	XIC	TEO	SOC	CU E	
IDH-1	8	27	30	25	30	22	29	23	20	20	15	19	
A									.025				
B	1	1	1	.980	.983	1	1	1	.975	1	.967	.947	
C				.020	.017						.033	.053	
IDH-2	8	27	30	25	30	22	29	23	20	20	15	19	
A				.017	.040		.023		.022	.025		.067	.026
C	1	1	.950	.960	1	.955	1	.978	.975	1	.933	.974	
D			.033			.023							
PGI	8	27	30	26	30	23	29	23	20	21	15	19	
A		.019	.017		.017		.034	.022					
E	.875	.796	.833	.827	.683	.870	.724	.804	.775	.786	.800	.895	
H	.125	.185	.150	.154	.267	.130	.241	.152	.175	.214	.200	.105	
K				.019	.017				.025				
L					.017			.022	.025				
GOT	8	27	30	24	30	23	29	23	20	21	15	19	
A	.875	.630	.700	.771	.667	.761	.724	.696	.725	.619	.867	.658	
C	.063	.278	.250	.229	.300	.217	.276	.261	.250	.333	.100	.342	
E	.063	.074	.033		.033	.022		.022	.025	.024			
G			.017					.022		.024	.033		
I		.019											
PGM-1	8	27	30	25	29	23	29	23	20	20	15	18	
B		.167	.017	.160	.086		.017	.065	.025	.100	.167	.028	
C	.938	.667	.950	.840	.810	.870	.914	.870	.950	.850	.633	.944	
D	.063	.167	.033		.103	.130	.069	.065	.025	.050	.200	.028	
PGM-2	8	27	30	25	30	12	28	23	20	20	15	18	
A										.025			
B	1.0	1.0	.933	1.0	.983	1.0	.964	.957	1.0	.950	1.0	1.0	
C			.067				.036			.025			
D					.017			.043					
G6PD-1	8	27	30	26	30	23	29	23	20	21	15	19	
A		.185	.217	.096	.133	.196	.103	.130	.200	.071	.067	.105	
B	.750	.685	.700	.635	.767	.609	.759	.717	.600	.929	.833	.789	
C		.019	.067	.135		.130	.052	.087	.175			.053	
D	.250	.111	.017	.135	.100	.065	.086	.065	.025		.100	.053	

G6PD-2	8	27	30	26	30	23	29	23	20	21	15	19
A	1	1	1	1	1	1	.983	1	.975	.976	1	1
B							.017		.025	.024		
ME-1	8	27	30	25	30	22	29	22	20	19	15	19
A									.125			
B	1	1	1	1	1	1	1	1	.875	1	1	1
ME-2	8	27	30	25	30	22	29	22	20	20	15	19
A	.063				.017							
B	.938	1	1	1	.983	1	1	1	1	1	1	1

Cuadro 38. Frecuencias alélicas para tres poblaciones de *Enantia jethys*. en México. El primer renglón de cada loci corresponde al número de individuos muestreados.

Loci	Poblaciones		
	XIC	TEO	XOC
IDH-1	11	34	27
A	.045		
B	.909	1	1
C	.045		
IDH-2	11	34	27
A	.818	.956	.944
C	.182	.044	.037
D			.019
PGI	11	34	28
B	.091	.132	.125
F	.500	.603	.625
I	.273	.206	.232
L	.136	.044	.018
M		.015	
GOT	11	34	27
D	.955	.956	.963
F	.045	.044	.037
PGM-1	11	34	27
C		.176	.426
D	.955	.662	.537
E	.045	.162	.019
PGM-2	11	34	27019
A	1	1	1
G6PD-1	11	34	27
A	1	.824	.963
B		.103	
C		.074	.037
ME-1	11	34	27
C	.909	1	.963
D	.091		.037
ME-2	11	34	27
B	1	1	1

Cuadro 39. Frecuencias alélicas para cinco poblaciones de *Enantia mazai mazai* en México. El primer renglón de cada loci corresponde al número de individuos muestreados.

Loci	Poblaciones				
	FOR	XOC	TEO	XIC	CUE
IDH-1	26	24	32	24	16
A	.096	.063	.016	.042	.031
B	.827	.938	.953	.958	.969
V	.077		.031		
IDH-2	26	24	32	24	16
A	.788	.646	.719	.688	.688
C	.192	.333	.266	.313	.313
D	.019	.021	.016		
PGI	26	23	31	24	15
G	.885	.891	.871	.896	.700
J	.115	.109	.129	.104	.300
GOT	26	25	32	24	15
B	.827	.660	.766	.813	.433
D		.080	.016		
H	.077	.200	.125	.146	.500
J		.020			
K	.096	.040	.094	.042	.067
PGM-1	26	21	31	24	16
B	.154	.119	.194	.063	.063
C	.750	.833	.806	.750	.938
D	.096			.125	
E		.048		.063	
PGM-2	26	25	31	24	16
A	1	1	1	1	1
G6PD-1	26	25	32	24	16
A		.040			.063
B	1	.900	1	1	.938
C		.040			
D		.020			
G6PD-2	26	25	32	24	14
A	1	1	1	1	1
ME-1	26	21	32	24	16
B	1	1	1	.917	.438
C				.083	.531
D					.031
ME-2	26	25	32	23	16
B	1	1	1	1	1

Cuadro 40. Frecuencias alélicas para doce poblaciones de *Enantia mazai diazi* en México. El primer renglón de cada loci corresponde al número de individuos muestreados.

Loci	Poblaciones			
	CUA	LMZ	NDH	ZUM
PGI	32	13	28	27
C		.038	.071	.037
G	.703	.769	.786	.778
J	.297	.192	.143	.185
GOT	30	13	21	26
B	.317	.308	.500	.269
D		.077	.071	.038
F	.567	.615	.357	.673
H			.071	.019
J	.117			
PGM-1	33	13	34	20
B	.303	.192	.044	.175
C	.682	.808	.912	.825
D	.015		.044	
IDH-2	34	11	34	27
A				.278
C	1	1	.824	.704
D			.176	.019