Acta Zool. Mex. (n.s.) 70: 13-34 (1997)

LA VARIACION EN MAMIFEROS: UNA REVISION DE LOS ENFOQUES METODOLOGICOS ACTUALES

José Antonio SANTOS MORENO y Yolanda HORTELANO
Departamento de Zoología, Instituto de Biología, UNAM,
Apartado postal 70-153, 04510 México, D.F. MEXICO

RESUMEN

La variación es reconocida como uno de los elementos fundamentales del proceso evolutivo de los seres vivos, por lo que se le ha estudiado constantemente y con distintas aproximaciones metodológicas: morfológica, morfométrica, cariológica y molecular. Se analizan las ventajas y desventajas de cada una de estas. El objetivo inicial de los estudios sobre variación ha sido la resolución de problemas taxonómicos, pero actualmente hay una tendencia a la aplicación de estas técnicas a problemas diversos como la conservación, biogeografía y coevolución. Es necesaria la realización de estudios que evalúen la importancia del medio ambiente en la estructura genética de las poblaciones y en la morfogénesis de los individuos.
Palabras Clave: Variación morfológica, Morfometría, Variación cromosómica, Aloenzimas, Variación Molecular, Mamíferos.

ABSTRACT

Variation is known as a major factor in the evolutionary processes of the living organisms. Therefore, since time ago, many technical approximations have been conducted with morphological, morphometric, karyological, and molecular surveys. Both advantages and dissadvantages of each one are discussed. Studies on variation were initially focused on taxonomic problems, but presently the current trends are toward the application of these technical approaches to problems of conservation, biogeography, and coevolution. Currently, we need studies that assess the importance of the environment in the genetic structure of populations and in the morphogenesis of the individuals.
Key Words: Morphological variation, Morphometrics, Chromosomal variation, Allozymes, Molecular Variation, Mammals.

INTRODUCCION

Una premisa central en la teoría sintética de la evolución es que la variabilidad fenotípica dentro de las poblaciones es el material para la diferenciación y potencialmente, de la especiación (Mayr, 1963). Es por ello que la variación ha sido objeto de una gran cantidad de estudios en todas sus modalidades desde la época de Darwin hasta nuestros días (Gould y Johnston, 1972).

En "El Origen de las Especies", Darwin proporciona amplia evidencia de que la evolución biológica ha ocurrido y el punto inicial de su argumento es la ocurrencia de variación heredable dentro de las poblaciones, lo cual era para Darwin un hecho fuera de toda duda, aún cuando ignoraba los procesos por los que esta se originaba (Dobzhansky *et al.*, 1977).

Simpson (1953) considera a la variación como una de las siete fuerzas principales de la evolución, mientras que Gould (1980) reconoce a la evolución como un proceso jerárquico con modos complementarios pero diferentes en tres niveles principales: variación entre las poblaciones, especiación y patrones de macroevolución. Mayr (1988) reconoce a la selección natural como el segundo estado de un proceso de dos pasos, el primero de los cuales consiste en la generación de variación en cada generación susceptible de servir como material para la selección, la cual actúa posteriormente como segundo paso, y concluye que ésta última no puede ser posible sin una continua regeneración de la variación.

Por otra parte, Lande (1979) considera que la magnitud de esta variabilidad determina la tasa de la diferenciación y la covarianza de los caracteres, así como la trayectoria o sentido en que esta se verifica, por lo que es elemento de trascendental importancia para comprender el fenómeno de la evolución.

El estudio de la variación ha tenido dos enfoques principales: por un lado están las cuestiones prácticas en la definición del grado de semejanza o divergencia entre taxa con el fin de determinar una posición en los sistemas de clasificación y por otro, están los estudios con fines teóricos, encaminados a comprender los procesos de divergencia, adaptación y evolución de las especies.

Mayr (1963) considera que existen dos grandes tipos o clases de variación, la intrapoblacional o no geográfica, que se refiere a las diferencias observadas entre los miembros de una misma población (e.g. dimorfismo sexual secundario, variación ontogenética, variación individual, etc.), y la variación geográfica, la cual comprende a las diferencias observables entre miembros de distintas poblaciones.

El dimorfismo sexual secundario puede ser originado por causas fisiológicas (i.e., requerimientos nutricionales distintos), ambientales como es el grado de severidad de las condiciones climáticas (Levenson, 1990), ecológicas como es la ocupación de distinto nicho o los diferentes intervalos de tolerancia para determinados factores físicos, por mencionar algunos (Slatkin, 1984).

La variación con la edad es de considerable importancia práctica para los taxónomos, dado que los individuos heteromórficos han sido descritos como especies distintas en muchas ocasiones, y tiene una amplia significancia biológica y puede interpretarse como el producto de las interacciones entre la selección y la dotación genética del individuo. Según Mayr (1963), los cambios morfológicos observados durante el ciclo de vida son el resultado de dos tendencias, algunas veces antagónicas: Una es hacia una diferenciación cada vez mayor desde el nacimiento hasta la madurez, lo que puede resultar en una mayor similitud entre los adultos de especies relacionadas que con los inmaduros de la misma especie. La segunda tendencia es hacia la adaptación en todos los estadíos del ciclo de vida.

Los estudios de variación intrapoblacional son de gran importancia en el desarrollo de un sistema de clasificación biológica, dado que para generar éste se requiere de

un conocimiento profundo del grado de variación que puede presentarse en un taxón determinado.

Se ha estudiado la variación en distintos aspectos en varios grupos de mamíferos, entre los que destaca el de los roedores, debido a las características biológicas de los miembros de este orden (e.g. tamaños de camada grandes, ciclos de vida cortos, alto potencial reproductivo, adaptabilidad a las condiciones de laboratorio), las cuales los convierten en sujetos de estudio ideales en investigaciones del proceso de adaptación, especiación y evolución.

Dentro del Orden Rodentia, el género *Peromyscus* ha sido objeto de particular atención, tanto en estudios sistemáticos (e.g. Carleton, 1989; Hooper, 1968; Osgood, 1909) como ecológicos y etológicos (e.g. la gran variedad de tópicos reunidos por King, 1968; Kirkland y Layne, 1989) por lo que el conocimiento de su biología es en comparación con otros grupos con la excepción de otros ratones del género *Microtus* y *Mus*, muy completo, permitiendo diversas interpretaciones tanto de las causas como de las consecuencias de la variación. Otros grupos cuya variación ha sido ampliamente estudiada son las tuzas (especialmente los géneros *Geomys* y *Thomomys*) y la familia de murciélagos con hoja nasal (Baker y Jones, 1979; Baker *et al.*, 1976).

Las técnicas para el estudio de la variación han sufrido una gran transformación a través del tiempo, siendo el reflejo del desarrollo tecnológico y científico. El objetivo de este trabajo es analizar las distintas aproximaciones metodológicas con que se ha analizado este aspecto en mamíferos.

Aproximaciones Metodológicas en el Estudio de la Variación

El estudio de la variación ha estado basado en el avance tanto de aspectos tecnológicos (e.g. advenimiento de las computadoras, disponibilidad de instrumentos de medición cada vez más precisos) como conceptuales (e.g. esclarecimiento de los procesos de replicación y traducción de los ácidos nucleicos, desarrollo de técnicas de análisis estadístico de datos de todo tipo), los cuales han permitido gradualmente analizar con mayor fineza las causas y consecuencias de ésta. Entre los enfoques que se han usado están el estudio de la variación morfológica, morfométrica, cromosómica y molecular.

Variación Morfológica

Los primeros estudios de variación fueron de tipo morfológico y las primeras descripciones de taxa estaban basadas principalmente en material preservado en fluídos que generalmente carecía de medidas óseas, siendo las dimensiones externas las únicas que se incluían (Swanepoel y Genoways, 1979). Así, las diferencias dentro o entre los taxa se reconocían y describían como cuestiones de grado (color, tamaño, forma), o bien, por la presencia-ausencia de caracteres anatómicos. Estudios clásicos de este tipo son las revisiones, en algunos casos monumentales, de finales del siglo

anterior y principios de éste, publicadas en la serie "North American Fauna" (e.g. Bailey, 1900, 1902; Howell, 1914; Osgood, 1900, 1909).

Este período está caracterizado por cierto grado de subjetividad en la interpretación y conclusión de las observaciones, las cuales dependían básicamente del grado de conocimiento y experiencia del investigador de cada taxón. Sin embargo, y en contraste con las aproximaciones de tipo molecular, los caracteres analizados eran directamente observables y su elección normalmente estaba basada en un profundo conocimiento de la anatomía y biología básica del taxon en estudio.

Los estudios morfológicos han sido la base de los sistemas de clasificación de prácticamente todos los grupos de mamíferos como señala Baker (1979), quien menciona el caso de murciélagos con hoja nasal, cuya clasificación esta basada primariamente en factores morfológicos clásicos como la articulación del hombro, la dentición y otras carcaterísticas craneales.

Variación Morfométrica

A finales del siglo pasado y principios de este, las medidas craneales empezaron a aparecer en la literatura, pero como un aspecto descriptivo. A través de los años los estudios sistemáticos han llegado a ser más y más sofisticados, con un creciente interés por la aplicación de técnicas estadísticas al estudio de la variación en rasgos anatómicos. Con el advenimiento de las computadoras, se inician los estudios multivariados (i.e., análisis simultáneo de varios caracteres cuantitativos). Está fase puede ser denominada como morfométrica, la cual es definida por Rohlf (1990) como la descripción cuantitativa, el análisis y la interpretación de la variación del tamaño y la forma en biología. Se hace énfasis en los niveles de significancia de las diferencias entre las unidades de estudio (e.g. Cervantes *et al.*, 1993; Hall, 1968; Lim y Wilson, 1993; Martínez-C. *et al.*, 1991; Schmidly, 1973; Sugg *et al.*, 1990; Williams y Ramírez-P., 1984).

Este tipo de variación ha sido ampliamente estudiada en varios taxa, destacando la compilación de estudios morfométricos para especies de murciélagos con hoja nasal de Swanepoel y Genoways (1979), quienes presentan una lista completa de los estudios, las medidas empleadas, los tipos de variación analizados (i.e., sexual secundaria, ontogenética y geográfica), así como un apéndice con siete medidas estándar craneales y longitud del antebrazo para todas las especies hasta entonces reconocidas de esta familia de murciélagos.

A diferencia de los estudios genéticos y moleculares, los trabajos morfométricos, salvo algunas excepciones (e.g. Van Zill de Jong *et al.*, 1995), no han sido tan empleados en el análisis de problemas de actualidad como la conservación, pero en contraste han sido encauzados a analizar el papel de la variación en el proceso adaptativo o por lo menos de la eficiencia de ciertos caracteres para el desempeño de una función (e.g. Freeman, 1981, 1984, 1988; Smart y Lemen, 1980), así como de los patrones morfológicos en un contexto adaptativo y ecológico (e.g.

Baumgardner y Kennedy, 1994; Spencer, 1995). Además, las técnicas morfométricas también han sido aplicadas al estudio de fósiles, con las limitaciones propias del registro fósil (e.g. Warheit, 1992).

Entre las aplicaciones más recientes de esta aproximación esta el análisis de los patrones de crecimiento basado en técnicas morfométricas no convencionales para la investigación de filogenias (Richtsmeier *et al.*, 1993) y la evaluación de los efectos del medio ambiente en el fenotipo, por medio del estudio de las asimetrías craneales y del esqueleto postcraneal (asimetría fluctuante, Van Valen, 1962). Para un revisión de este aspecto vease López-G. (1994) y las referencias ahí citadas.

Algunos autores (e.g. Soulé, 1982) han sugerido que los estudios de variación morfométrica no están sustentados en una teoría general, sino que es una colección de hipótesis que tienen su origen en disciplinas como la genética de poblaciones, genética ecológica y la genética cuantitativa, así como una serie de fenómenos todavía no comprendidos. Esto no es de sorprender ya que la morfogénesis es uno de los procesos biológicos más complejos (Soulé, 1982). Además, en la mayoría de los casos, los resultados de este tipo de estudios dependen de supuestos estadísticos que en muchos casos no se cumplen (Lele y Richtsmeier, 1990), o bien simplemente no se evalúan. Además, este tipo de estudios tienen la desventaja de requerir, a diferencia de estudios cariológicos y moleculares, de tamaños de muestra grandes, sobre todo en los casos en que se emplean técnicas multivariadas.

Cabe aclarar que esta rama ha continuado su desarrollo en forma constante con aproximaciones cada vez más complejas, mediante modelos y técnicas estadísticas específicas para distintos problemas (véanse por ejemplo Bookstein, 1991; Bookstein *et al.*, 1985; Lele y Richstmeier, 1991; Marcus *et al.*, 1993; Owen, 1994; Rohlf y Bookstein, 1990; Schultz, 1985; Sokal y Braumann, 1980; Soulé, 1982; Vogl, 1993; Zelditch *et al.*, 1989). Sin embargo, a pesar de estos avances teóricos, muchos de estos no han sido incorporados en los estudios prácticos, los cuales se han caracterizado por cierta constancia en cuanto a la aplicación de las técnicas estadísticas tradicionales.

Variación Cariotípica o Cromosómica

Baker (1970) menciona que en mamíferos, las técnicas para el estudio de los cromosomas fueron descritas en 1956 por Ford y Hamilton con el objetivo de describir y comparar las características del material genético (e.g. Hood *et al.*, 1984; Lee *et al.*, 1972; Smith, 1990; Smith *et al.*, 1989). Inicialmente esto se hizo por medio de cariotipos convencionales no teñidos diferencialmente, los cuales proporcionan el número diploide y el tamaño de los cromosomas, pero aportan poca información acerca de la homología genética de los cromosomas.

Posteriormente, se generalizó el uso de tinciones diferenciales que evidenciaban la posición de la eucromatina y la heterocromatina. Las técnicas más empleadas son las denominadas como bandeos G y C, aunque existen otras técnicas, tales como el

bandeo R, el cual produce patrones de bandas inversos a los obtenidos con la técnica G. Otros bandeos son el Q y el T, así como el bandeo con tinción de plata, el cual se emplea para determinar la ubicación de las regiones de organizadores nucleares (NORs, por sus siglas en inglés). Para una síntesis de las ventajas y desventajas de cada una de estas técnicas véase Dutrillaux y Lejeune (1975); para una serie de recomendaciones para preparar laminillas a partir de médula ósea y de cultivos celulares Baker y Qumsiyeh (1988) y para una revisión histórica Cortéz (1984).

En este período hay una gran proliferación de trabajos, tantos que inclusive es necesaria la creación de un sistema estándar de referencia para identificar cromosomas individuales de los miembros de varios géneros (e.g. *Peromyscus*, Committee, 1977, 1994). Los murciélagos han sido ampliamente estudiados en este aspecto, así por ejemplo, para 1979, Baker menciona que se conoce el cariotipo para 105 de las 137 especies de murciélagos con hoja nasal reconocidas por Jones y Carter (1976).

Entre las aportaciones teóricas más importantes derivadas de los estudios cariológicos está el modelo de especiación estasipátrica (aparición de una nueva especie en el área de distribución de la especie parental, con una posterior invasión del área de distribución de esta), propuesto por White (1968), el cual está basado completamente en divergencias cromosómicas. Técnicas como la morfometría no pueden detectar diferencias entre los híbridos y las poblaciones parentales en zonas de hibridación, sino hasta cuando las interacciones iniciales (primeras generaciones filiales) ya han pasado, las cuales sí son detectables por medio de estudios cariológicos (Baker, 1979) o moleculares. Una aplicación importante de esta técnica es en la identificación de nuevas especies, sobre todo en casos de especies morfológicamente similares, como sucede con *Rhogeessa genowaysi* y *R. tumida* (Chiroptera, Verpertilionidae), las cuales son simpátricas y morfológicamente crípticas (Baker, 1984).

Un aspecto que requiere de investigación es el de las causas y consecuencias de las grandes revoluciones cromosómicas, (Megaevolución cariotípica sensu Baker y Bickham, 1980, 1984), la cual fue planteada a partir del estudio de bandeos G y C en murciélagos, aunque no es exclusivo de este grupo. Según estos autores, la aparición de estos genomas tan radicalmente reorganizados no puede ser explicada por aspectos demográficos, por los sistemas de apareamiento y la especiación, sino por factores como las tasas de mutación.

Baker (1979) señala que en algunos taxa de murciélagos con hoja nasal como los géneros *Glossophaga* y *Erophylla* (Phyllostomidae, Glosshophaginae y Brachiphyllinae, respectivamente), en donde es obvio que han divergido a tal grado que han adquirido diferencias morfológicas lo suficientemente grandes como para merecer ser considerados taxonómicamente como géneros y subfamilias distintas, presentan cariotipos estándar indistinguibles entre sí, mientras que por el contrario, otras especies (*Uroderma bilobatum* y *Choeroniscus intermedius*, subfamilias

Stenodermatinae y Glossophaginae, respectivamente) muestran considerable divergencia cromosómica intraespecífica. Si las relaciones evolutivas estuvieran dadas únicamente por los cariotipos estándar se obtendría un sistema distinto al clásico, el cual está basado en trabajos osteológicos y exomorfológicos.

Los estudios con esta técnica han tenido con mucho su mayor aplicación en la resolución de problemas taxonómicos y filogenéticos. Sólo en algunos casos se han aplicado los resultados de estas técnicas en el análisis de aspectos como la biogeografía (e.g. Searle, 1984).

Entre las desventajas de la aplicación de esta técnica es que algunos cromosomas son tan pequeños que sólo se aprecian pocas bandas y en tales casos no hay patrones equiparables. Además, se requiere de cierta homogeneidad en la técnica para preparar cariotipos comparables. Finalmente, para algunas especies que se piensa que están estrechamente relacionadas, las técnicas actualmente disponibles pueden detectar poca similitud entre las bandas G de sus cariotipos (Baker y Bickham, 1984; Baker *et al.*, 1987).

Variación Genética

La siguiente aproximación es bioquímica, con el estudio electroforético de proteínas (e.g. Cook y Yates, 1994; Fuller *et al.*, 1984; Hafner *et al.*, 1994; Janecek, 1990; Moore y Janecek, 1990; Rogers y Engstrom, 1992; Sullivan y Kilpatrick, 1991; Sullivan *et al.*, 1991). Aunque los estudios que asentaron las bases teóricas de está técnica aparecen a principios de la década de los setentas (e.g. Avise, 1974; Gottlieb, 1971; Nei, 1972; Rogers, 1972; Selander *et al.*, 1971) y los primeros estudios prácticos a finales de la década de los sesentas (e.g. Mitchell, 1966; Manwell y Kerst, 1966, citados por Straney *et al.*, 1979) los principios de esta técnica se remontan a 1957, con la descripción de Hunter y Markert.

Richardson *et al.* (1986) consideran que las aplicaciones de las técnicas electroforéticas pueden ser agrupadas en cuatro clases: identificación genética, análisis de poblaciones, determinación del límite entre especies y reconstrucción filogenética. La mayoría de estos estudios han estado dirigidos a la resolución de problemas taxonómicos, sin embargo, recientemente se han realizado trabajos de variación con el objetivo de evaluar la diversidad genotípica de las poblaciones con fines de conservación (e.g. Carraway y Kennedy, 1993; Daley, 1992; Glenn y Smith, 1993).

Destaca dentro de la genética de la conservación aquellos encaminados no solo a evaluar la diversidad genética per se, sino que además se proponen medidas concretas para mantener esta diversidad y al mismo tiempo mantener la integridad de los ecosistemas y los intereses de las comunidades, como en el trabajo de Goodloe *et al.* (1991), quienes estudiaron la variación genética de poblaciones ferales de caballos y con base en ello, detectan poblaciones con alta variabilidad y definen tamaños poblacionales mínimos para cada una de las localidades estudiadas. La

definición de estos últimos está tomada en función de la conservación de la diversidad genética y el beneficio económico para la comunidad. Los estudios con esta perspectiva han sido dirigidos principalmente a grupos de importancia económica como el berrendo (Lee *et al.*, 1989), los venados cola blanca y cola negra (Derr, 1991; Gavin y May, 1988; Leberg *et al.*, 1994). Muy pocos trabajos basados en esta técnica han sido utilizados para estudios de biogeografía (e.g. Ruedi *et al.*, 1993) o para cuestiones no tradicionales como las relaciones entre la variación genética y la conducta (e.g. McCracken *et al.*, 1994).

El problema más importante en la generación de los datos es una innecesaria limitación de estos, ya que la gran mayoría de los estudios (en mamíferos prácticamente todos) están basados en el análisis de variación en aloenzimas (las definen como las variantes proteínicas producidas por formas alélicas del mismo locus, Prakash *et al.*, 1969). Sin embargo, estas tienen valor a niveles taxonómicos como razas, especies y géneros (Avise, 1974). A pesar de esto, es posible encontrar estudios en que se analiza y compara familias distintas (e.g. Valdivieso y Tamsitt, 1974, citado por Straney *et al.*, 1979).

En contraste, las características analizables a nivel de isoenzimas (el número de loci en un sistema multilocus, la regulación de la expresión y complejos de heteropolímeros), son aplicables a niveles taxonómicos superiores (Whitt, 1983, citado por Buth, 1984). Las isoenzimas fueron definidas por Market y Moller (1959) como las distintas formas moleculares en las que una proteína puede existir con la misma especificidad enzimática, y que actualmente se entiende como los polímeros formados a partir de monómeros especificados por diferentes loci.

Según Buth (1984), la desventaja más importante de las isoenzimas en estudios sistemáticos es que normalmente se codifica como presencia o ausencia del carácter o propiedad, por lo que muchas de las condiciones derivadas (más avanzadas) involucran la pérdida o ausencia del rasgo. Tales caracteres como la pérdida de algún carácter son especialmente vulnerables a la homoplasia y deben ser empleados con precaución en estudios filogenéticos.

Por otra parte, McGovern y Tracy (1981) mencionan que al analizar aloenzimas de *Microtus ochrogaster* en cautiverio bajo distintos regímenes de temperaturas en laboratorio, encontraron cambios en la mobilidad de electromorfos en dos locus.

Entre los principales problemas del análisis de datos electroforéticos en estudios de sistemática sobresalen el uso de medidas o coeficientes de distancia, la selección de algoritmos de agrupamiento, la codificación de las variantes electromórficas, el ordenamiento (i.e., secuencia evolutiva) de éstos y la selección de grupos externos para la reconstrucción de filogenias. Aquí se describen los problemas relacionados con las medidas de similaridad y los algoritmos de agrupamiento, pero para una revisión profunda de éstos y los otros aspectos antes mencionados véase Buth (1984).

muy fina dentro de y entre especies. Además, con el desarrollo de la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR, por sus siglas en ingles), propuesta por Saikai *et al.* (1988), la cual permite la amplificación de un segmento cualquiera de ADN a partir de una muestra muy pequeña, es posible hacer el análisis sin requerir del sacrificio de los ejemplares (Mitton 1994).

Los primeros trabajos de este tipo aparecen en la segunda mitad de la década de los setentas (e.g. Avise *et al.*, 1979a; Avise *et al.*, 1983; Upholt, 1977), pero su auge se inicia a finales de la década de los ochentas y es la técnica predominante en nuestros días (e.g. Ashley, 1989; Ashley y Wills, 1987; Baker *et al.*, 1994; DeWalt *et al.*, 1993; Hamilton *et al.*, 1990; Painter *et al.*, 1995; Van Den Bussche y Baker, 1993). Estos estudios están dirigidos en su inmensa mayoría a la resolución de problemas filogenéticos, pero en algunos casos (e.g. Patton y Smith, 1994) están dirigidos a problemas teóricos más complejos, como las limitaciones de los conceptos de especies actuales.

En contraste con las aproximaciones morfométrica, morfológica y cariológica, las secuencias moleculares proporcionan caracteres comparables al nivel de genes, los cuales pueden ser observados, estudiados y comparados entre los más diversos organismos (Felsenstein, 1984). Existe mucha confusión en la literatura acerca de los supuestos y propiedades de los métodos numéricos para inferir filogenias a partir de este tipo de datos, estos tópicos son poco estudiados en los textos sobre evolución o biología molecular, ya que usualmente sólo se hacen exposiciones breves y mecánicas de un método particular con el que los autores de estos están familiarizados (Felsenstein, 1984).

El uso de los datos moleculares ha provocado cierta controversia acerca del valor de éstos en comparación con los morfológicos, la constancia de las tasas de evolución molecular y la neutralidad de las variantes moleculares, entre otros (Moritz y Hillis, 1990). Por otra parte, Avise (1994) reconoce dos problemas básicos de los datos moleculares: el que son proporcionalmente más caros que los estudios no moleculares, y que su aplicación requiere de considerable entrenamiento del personal. Un problema adicional y contrastante con los estudios morfológicos, es que en muchos casos, los expertos en este tipo de estudios no estan familiarizados con los taxa bajo estudio.

Sin embargo, el atributo más importante de estas técnicas es que la secuenciación de aminoácidos de proteínas y de nucleótidos del ADN puede proveer de millones de caracteres genéticos susceptibles de análisis (Czelusniak *et al.*, 1990). Otro aspecto importante de los trabajos basados en el estudio de los ácidos nucleicos es que las tasas de evolución pueden diferir de un grupo taxonómico a otro tanto en el ADN nuclear (Britten, 1986; Li *et al.*, 1987) como para el mitocondrial (Avise *et al.*, 1992; Hassegawa y Kishino, 1989).

Se han propuesto un número considerable de medidas de distancia genética, y a su análisis se le ha dedicado considerable atención (véase la literatura citada por Hillis, 1984). Los índices propuestos por Nei (1972) y Rogers (1972) han sido los predominantes en estudios prácticos; sin embargo, según Buth (1984), ambos adolecen de serios problemas, el coeficiente de distancia genética de Nei (D) mide el número promedio de sustituciones por locus electroforéticamente detectables que se han acumulado desde la divergencia de dos poblaciones a partir de un ancestro común. Es decir, está basado en un supuesto biológico. Sin embargo, tiene importantes limitaciones matemáticas, una de ellas es que no cumple las características de ser una unidad métrica y como consecuencia de ello cuando se construyen árboles filogenéticos basados en la longitud de las ramas, la distancia puede ser negativa, lo cual no es biológicamente interpretable.

En contraste, el coeficiente de similitud de Rogers (S) que sí es un estadístico del tipo métrico, pues se define como la distancia geométrica promedio entre las frecuencias alélicas, tiene menos restricciones teóricas, sin embargo, este índice no está basado en ninguna premisa biológica.

Otro aspecto de gran importancia en la fase analítica de los datos, es la selección del algoritmo para realizar los agrupamientos de los coeficientes de similitud o de distancia. Al igual que para estos últimos, se ha propuesto una gran cantidad de algoritmos; sin embargo, existe gran confusión y desacuerdo en cuanto a cuál es el más adecuado. Para una revisión de la polémica en este aspecto, así como discusiones sobre las ventajas y desventajas de los algoritmos en la derivación de árboles filogenéticos más comúnmente empleados, véase Buth (1984) y Rogers (1984).

Variación Molecular

Con el avance en el conocimiento de la estructura y propiedades de los ácidos nucleicos hay considerables avances en las técnicas para el análisis y la manipulación de estos, entre las que se incluyen el análisis de hibridación (mezcla de los ácidos nucleicos de dos individuos y análisis de la estabilidad de la cadena doble formada, con un posterior análisis de la estabilidad térmica de ésta, la cual es un indicador del grado de semejanza o de la medida en que son complementarias las dos cadenas) y disociación de ADN, el uso de endonucleasas de restricción (enzimas obtenidas a partir de bacterias, las cuales reconocen una secuencia específica de nucleótidos y la cortan en un punto especifico) para detectar substitución de bases y rearreglos, así como secuenciaciones de proteínas, de ADN y de ARN (identificación de cada uno de los aminoácidos o nucleótidos, respectivamente, que componen a las cadenas).

Las secuencias analizadas eran principalmente del núcleo celular y de mitocondrias (Moritz y Hillis, 1990). El ADN mitocondrial (mtDNA) tiene la ventaja de heredarse en forma materna, es decir, sin recombinación, y a diferencia de otros tipos de ADN como el ribosomal, acumula rápidamente mutaciones, proporcionando una resolución

Estudios con más de una Aproximación Metodológica

En el desarrollo histórico que se bosquejó previamente, se analizan las distintas aproximaciones metodológicas a partir de estudios en los que se aplican estas en forma individual. Sin embargo, a la par del surgimiento de las nuevas técnicas, ha habido estudios en los cuales se intenta incorporar las nuevas aproximaciones metodológicas con las ya existentes (e.g. morfometría y cariotipos, cariotipos y electroforesis de aloenzimas, aloenzimas y secuenciación o hibridización de ácidos nucleicos), encontrándose en la literatura especializada trabajos en que se aplican todas las combinaciones posibles de estas técnicas.

Con esta tendencia al análisis holístico, se ha incrementando notablemente el número de estudios basados en más de una aproximación metodológica. En los casos en que se emplearon conjuntamente varias técnicas, los resultados han sido variables, los cuales van desde similares hasta aparentemente contradictorios y en muchos casos se sugiere cierta complementaridad. Es importante señalar que a diferencia de lo que podría esperarse al profundizar en la naturaleza de la variación, los estudios más finos como la hibridación de ADN si bien han sido útiles para esclarecer varios aspectos de filogenia, no pueden suplir la información de los estudios morfométricos y de hecho, estas técnicas ofrecen información complementaria entre sí.

A continuación se describen algunos estudios que se han realizado empleando por lo menos dos de estas aproximaciones metodológicas y los resultados obtenidos.

Al analizar la variación geográfica por medio de morfometría y de aloenzimas en *Peromyscus californicus* en la Península de Baja California, Smith (1979) encontró diferencias significativas entre las poblaciones estudiadas. Los resultados obtenidos con ambas técnicas mostraron una notable coherencia entre sí, lo que permitió a este autor discutir los aspectos biogeográficos que han promovido la diferenciación de estas poblaciones.

Stangl y Baker (1984) construyeron un cladograma de las relaciones filéticas entre distintas especies del género *Peromyscus* basado en características cromosómicas, y al compararlo con otros propuestos con base en datos morfológicos (Carleton, 1980) y bioquímicos (Avise *et al.*, 1979b), estos autores encontraron bastante semejanza, concluyendo que en los sitios en los que los datos morfológicos y genéticos no son conclusivos, tampoco lo son los cromosómicos.

Comparando aloenzimas y caracteres morfométricos entre *Dipodomys insularis, D. nitratoides* y *D. merriami* (Rodentia, Heteromyidae), Best y Janecek (1992) encontraron diferencias morfológicas estadísticamente significativas en caracteres externos, craneales y del báculo entre *D. insularis* y *D. merriami*. A pesar de ello y como los datos de aloenzimas no mostraron diferencias entre esas especies, estos autores reconocen a *D. insularis* como una subespecie de *D. merriami*. La justificación de esta interpretación es que *D. insularis* ha estado aislada geográficamente por un período considerable y esto ha favorecido la divergencia morfológica. Best y Janecek

(1992) no discuten las causas de la homogeneidad de las proteínas ni la importancia evolutiva de esta discrepancia de resultados.

Cuando analizaron los patrones de variación en aloenzimas, morfometría craneal y cariotipos convencionales en *Dipodomys agilis*, Best *et al.* (1986) encontraron una alta convergencia en los resultados obtenidos del análisis de estos tres grupos de datos, los cuales señalaban divergencia entre las poblaciones del norte y del sur del área de California y la Península de Baja California.

Un estudio en *Lepus europaeus* (Lagomorpha, Leporidae) en Austria (Hartl *et al.*, 1993) en el que se incluyeron aloenzimas, morfometría craneal y mtDNA, mostró correspondencia entre los patrones de variación en los distintos tipos de datos, pero no asociación significativa entre la variación morfológica y de ADN, ni correlación entre estas fuentes e índices de variación genética. Se concluye que la variabilidad en sólo una de estas fuentes no puede ser considerada representativa de la diversidad del pool genético dentro de las poblaciones.

Schnell y Selander (1981), al analizar patrones de variación electroforética y cariotípica en mamíferos, concluyen que la evolución cariotípica, genética y morfológica son más o menos independientes. Por su parte Cothran y Smith (1983) difieren con ellos al estudiar las relaciones entre medidas de diferenciación genética y cromosómica tomadas de la literatura para 11 grupos de mamíferos (incluidas 15 especies de *Peromyscus* y varios géneros de otros roedores), ya que encuentran correlación entre estos dos estimadores, aunque mencionan que no necesariamente debe existir una relación causal entre ellas.

Cronin *et al.* (1988) analizaron la variación electroforética en albúmina y endonucleasas de restricción en mtDNA para cuantificar el flujo génico entre *Odocoileus virginianus* y *O. hemionus*. Ellsworth *et al.* (1994) al analizar la variación en aloenzimas y sitios de restricción en mtDNA en *O. virginianus* para evaluar los resultados de un plan de manejo de las poblaciones, obtienen resultados similares con ambas técnicas y mencionan que ambas son complementarias para el estudio de los niveles de variación genética dentro de las poblaciones.

El empleo de varias aproximaciones metodológicas básicamente ha estado encaminado a la resolución de problemas filogenéticos en grupos muy complejos. Sin embargo, recientemente se empiezan a aplicar estas técnicas a problemas de otra índole, como la conservación (e.g. Jones *et al.*, 1995), la biogeografía (e.g. Riddle, 1995, Theimer y Keim, 1994), la evolución (e.g. Demastes y Hafner, 1993), o bien se analiza la filogenia, pero con otras perspectivas como es el caso de su relación con la conducta (e.g. Perry *et al.*, 1995).

El empleo de conjuntos de datos obtenidos con distintas metodologias ha provocado cierta controversia aún no resuelta (vease una discusión en Bull et al.. 1993 y Miyamoto y Fitch, 1995) acerca de si estos deben ser combinados o bien analizados por separado, particularmente en estudios filogenéticos. Esta discusión está fundamentada por una parte en que los distintos grupos de datos pueden evolucionar

bajo distintas pautas y a distintas velocidades, y por otra, que pueden presentar propiedades estadísticas distintas (i.e., ser heterogeneas).

DISCUSION Y CONCLUSIONES

Las hipótesis actuales del origen y mantenimiento de la variabilidad dentro de las poblaciones invocan procesos microevolutivos de selección, deriva, flujo genético y mutación, pero la importancia relativa de estos factores es controversial (Dennison y Baker, 1991) y hasta la fecha no existen estudios que la aclaren. Aún cuando existe un gran interés por cuantificar y comprender estos aspectos, no se han realizado estudios integrales en los que se establezcan las relaciones de estos aspectos y su importancia específica en el proceso de diferenciación y evolución de los seres vivos en un contexto integrado.

Un punto importante que no debe ser olvidado y al cual se le ha prestado poca atención, es la influencia del medio en el fenotipo y la constitución genética de las poblaciones. Patton y Brylsky (1987) al analizar la variación morfológica en poblaciones de *Thomomys bottae* que previamente habían sido analizadas por medio de aloenzimas (Patton y Yang, 1977) y que resultaron ser genéticamente homogéneas, encontraron que los individuos que habitaban zonas con abundante alimento como los cultivos de alfalfa, eran significativamente más grandes que las que habitaban en zonas donde el alimento era escaso y de menor calidad, y concluyen que es necesario examinar críticamente casos de diferenciación morfológica para determinar la interrelación entre las respuestas fenotípicas a condiciones ambientales y el proceso genético.

La variación en el tamaño corporal resultante de diferencias en el hábitat tiene importantes consecuencias para la dinámica evolutiva de las poblaciones de tuzas a través de su influencia directa en los parámetros ecológicos. Varios aspectos de historias de vida y atributos demográficos diferencian a las poblaciones "artificiales" de los alfalfares en relación a las de vegetación natural. Estos atributos incluyen un incremento significativo en densidad de las poblaciones, fecundidad de las hembras, relación de sexos favoreciendo a hembras adultas y el grado de dimorfismo sexual, todos relacionados con los sistemas de apareamiento, distancias de dispersión y otros factores importantes que determinan las características entre y dentro de las poblaciones. En tal sentido, respuestas plásticas al ambiente pueden influenciar fuertemente la divergencia entre poblaciones locales que varían en las características de sus hábitats (Patton y Yang, 1977).

Por otra parte, tampoco deben olvidarse los parámetros poblacionales, los cuales pueden afectar considerablemente la estructura genética de éstas. Por ejemplo, al analizar los patrones de variación cromosómica en el género *Microtus*, Gaines (1985) menciona que los bajos niveles de variación son debidos a los cuellos de botella por los que pasan cíclicamente las poblaciones.

Los resultados, en algunos casos contradictorios, obtenidos al comparar los resultados de técnicas en las que se analizan los ácidos nucleicos con los obtenidos con otras técnicas como las morfométricas o las citogenéticas, pueden ser interpretados como las diferencias entre las caracteristícas de dos tipos de elementos: informativos (ácidos nucleicos y proteínas) y estructurales (Ayala, 1982).

Cuando se analiza la variación al nivel de ácidos nucleicos, debe considerarse a esta como el genotipo de los individuos, que está libre de la influencia del medio ambiente y por lo tanto de la acción de fuerzas tan importantes como la selección natural. Al estudiar la variación en aspectos estructurales, se está analizando el resultado de esta información potencial contenida en el genotipo, pero cuando ya ha estado sujeta a las presiones selectivas del medio ambiente (Ayala, 1982).

En los casos en que el interés del investigador radica en aspectos como la filogenia de los grupos, la mejor opción es la de las moléculas informativas, las cuales presentan la ventaja adicional de permitir comparaciones aún entre grupos morfológicamente muy divergentes. Por otra parte, si el objetivo es comprender los procesos de adaptación de los seres vivos a su medio ambiente, la elección es estudiar los elementos estructurales.

Es importante aclarar que puede haber factores adicionales a los hasta ahora conocidos y estudiados que puedan determinar en mayor o menor grado la variación, tales como la filogenia (Straney y Patton, 1980), la estructura social de las poblaciones (Cothran y Smith, 1983) y los procesos que regulan y modifican la expresión del genotipo en los organismos como sistemas integrados (Phillips y Tandler, 1987), los cuales deben ser considerados en el estudio de este importante componente de la evolución.

AGRADECIMIENTOS

A Miguel A. Briones, Eduardo Corona, Rosa Ma. González, Enrique Martínez, Jesús Martínez, Roberto Martínez, José Ramírez-P., Rosaura Ruíz, Javier Sosa, Gerardo Sánchez y Gerardo Zuñiga, así como un revisor anónimo por sus valiosos comentarios y sugerencias. Muy especialmente a Joaquin Arroyo-C. y Oscar J. Polaco, cuyas pacientes y ciudadosas revisiones de este manuscrito incrementaron significativamente la calidad del mismo.

LITERATURA CITADA

Ashley, M.V. 1989. Absence of differentiation in mitochondrial-DNA of island and mainland harvest mice, *Reithrodontomys megalotis*. *J. Mamm.* 70:383-386.

Ashley, M. & C. Wills. 1987. Analysis of mitochondrial DNA polymorphism among Channel Island deer mice. *Evolution* 41:854-863.

Avise, J.C. 1974a. Systematic value of electrophoretic data. *Syst. Zool.* 23:465-481.

----------. 1994b. Molecular markers, natural history and evolution. Chapman & Hall, New York, 511 p.

Avise, J.C., C. Giblin-D., J. Laerm, J.C. Patton & R.A. Lansman. 1979a. Mitochondrial DNA clones and matriarchal phylogeny within and among geographic populations of pocket gopher *Geomys pinetis*. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, USA, 76:6694-6698.

Avise, J.C., M.H. Smith, R.K. Selander, T.E. Lawlor & P.R. Ramsey. 1979b. Biochemical polymorphism and systematics in the genus *Peromyscus*. VII. Geographic differentiation in members of the *truei* and *maniculatus* species groups. *J. Mamm.* 60:177-192.

Avise, J.C., F. Shapira, S.W. Daniel, C.F. Aquadro & R.A. Lansman. 1983. Mitochondrial DNA differentiation during the speciation process in *Peromyscus*. *Molecular Biol. Evol.* 1:38:56.

Avise, J.C., B.W. Bowen, T. Lamb, A.B. Meylan & E. Bermingham. 1992. Mitochondrial DNA evolution at a turtle's pace: evidence for a low genetic variability and reduced microevolutionary rate in the testudines. *Molecular Biol. Evol.* 9:457-473.

Ayala, F.J. 1982. Of clocks and clades, or a story of old told by genes of now. *In:* M.H. Nitecki (edit.). *Biochemical aspects of evolutionary biology*. Univ. Chicago Press, Chicago. pp. 257-301.

Bailey, V. 1900. Revision of American voles of the genus *Microtus*. *N. Amer. Fauna* 17:1-88.

----------. 1902. Synopsis of the North American species of *Sigmodon*. *Proc. Biol. Soc. Washington*, 15:101-116.

Baker, R.J. 1970. Karyotypic trends in bats. **In:** W.A. Wimsatt (edit.). *Biology of bats Vol. I*. Academic Press, New York. pp. 65-96.

----------. 1979. Karyology. ***In:*** R.J. Baker & K. Jones, Jr. (edits.). *Biology of bats of the New World family Phyllostomatiade. Part III*. Spec. Publ. Mus., Texas Tech Univ. pp. 107-155.

----------. 1984. A sympatric cryptic species of mammal: a new species of *Rhogeessa* (Chiroptera: Vespertilionidae). *Syst. Zool.* 33:178-183.

Baker, R.J. & J.W. Bickham. 1980. Karyotypic evolution in bats: Evidence of extensive and conservative chromosomal evolution in closely related taxa. *Syst. Zool.* 29:239-253.

----------. 1984. Karyotypic megaevolution by any other name: A response to Marks. *Syst. Zool.* 33:339 341.

Baker, R.J. & K. Jones, Jr. (edits.). 1979. Biology of bats of the New World family Phyllostomatidae. Part III. *Spec. Publ. Mus., Texas Tecn Univ.* 16:1-441.

Baker, R.J., K. Jones, Jr. & D. Carter (edits.). 1976. Biology of bats of the New World family Phyllostomatidae. Part I. *Spec. Publ. Mus., Texas Tech Univ.* 10:1-218.

Baker, R.J. & M.B. Qumsiyeh. 1988. Methods in chiropteran mitotic chromosomal studies. **In:** T.H. Kunz (edit.). *Ecological and behavioral methods for the study of bats*. Smithsonian Inst. Press, Washington. pp. 425-435.

Baker, R.J., M.B. Qumsiyeh & C.S. Hood. 1987. Role of chromosomal banding patterns in understanding mammalian evolution. **In:** H.H. Genoways (edit.). *Current Mammalogy*. Plenum Press, N.Y., vol. 1, pp. 66-96.

Baker, R.J., V.A. Taddei, J.L. Hudgeons & R.A. Van Den Bussche. 1994. Systematic relationships within *Chiroderma* (Chiroptera: Phyllostomidae) based on cytocrome b sequence variation. *J. Mamm.* 75:321-327.

Baumgardner, G.D. & M.L. Kennedy. 1994. Patterns of interspecific morphometric variation in kangaroo rats (genus *Dipodomys*). *J. Mamm.* 75:203-211.

Best, T.L. & L.L. Janecek. 1992. Allozymic and morphologic variation among *Dipodomys insularis*, *Dipodomys nitratoides*, and two populations of *Dipodomys merriami* (Rodentia: Heteromyidae). *Southwest. Nat.* 37:1-8.

Best, T.L., R.M. Sullivan, J.A. Cook & T.L. Yates. 1986. Chromosomal, genetic, and morphologic variation in the agile kangaroo rat, *Dipodomys agilis* (Rodentia: Heteromyidae). *Syst. Zool.* 35:311-324.

Bookstein, F.L. 1991. *Morphometric tools for landmark data: geometry and biology.* Cambridge Univ. Press, Cambridge.

Bookstein, F.L, B. Chernoff, R.L. Elder, J.M. Humphries, Jr., G.R. Smith & R.E. Strauss. 1985. Morphometrics in evolutionary biology. *Acad. Nat. Sci. Phil.* 15, 277 p.

Britten, R.J. 1986. Rates of DNA sequence evolution differ between taxonomic groups. *Science* 231:1393-1398.

Bull, J.J., J.P. Huelsenbeck, C.W. Cunningham, D.L. Swofford & P.J. Waddell. 1993. Partitioning and combining data in phylogenetic analysis. *Syst. Biol.* 42:384-397.

Buth, D.G. 1984. The application of electrophoretic data in systematic studies. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 15:501-522.

Carleton, M.D. 1980. Phylogenetic relationships in neotomine-peromyscine rodents (Muroidea) and a reappraisal of the dichotomy within the New World Cricetinae. *Miscl. Publ., Mus. Zool., Univ. Michigan* 157:1-146.

----------. 1989. Systematics and evolution. ***In:*** K.L. Kirkland & J.N. Layne (edits.). *Advances in the study of Peromyscus (Rodentia).* Texas Tech Univ. Press, Lubbock, pp. 1-141.

Carraway, R.N. & P.K. Kennedy. 1993. Genetic variation in *Thomomys bulbivorous*, an endemic to the Villamette Valley, Oregon. *J. Mamm.* 74:952-962.

Cervantes, F.A., M. Martínez C. & Y. Hortelano M. 1993. Variación morfométrica intrapoblacional de *Peromyscus melanocarpus* (Rodentia: Muridae) de Oaxaca, México. *An. Inst. Biól. UNAM, Ser. Zool.* 64:153-168.

Committee for Standardization of Chromosomes of *Peromyscus*. 1977. Standardized karyotype of deer mice, *Peromyscus* (Rodentia). *Cytogenet. Cell Genet.* 19:38-43.

----------. 1994. Cytogenetic nomenclature of deer mice, *Peromyscus* (Rodentia): revision and review of the standardized karyotype. *Cytogenet. Cell. Genet.* 66:181-195.

Cook, J.A. & T.L. Yates. 1994. Systematic relationships of the bolivian tuco-tucos, (genus *Ctenomys*) (Rodentia: Ctenomyidae). *J. Mamm.* 75:583-599.

Cortéz, F. 1984. Bandeo de cromosomas. *Investigación y Ciencia* 97:20-29.

Cothran, E.G. & M.H. Smith. 1983. Chromosomal and genic divergence in mammals. *Syst. Zool.* 32:360-368.

Cronin, M.A., E.R. Vyse & D.G. Cameron. 1988. Genetic relationships between mule deer and white-tailed deer in Montana. *J. Wildl. Manage.* 52:320-328.

Czelusniak, J., M. Goodman, B.F. Koop, D.A. Tagle, J. Shoshani, G. Braunitzer, T. Kleinschmidt, W.W. De Jong & G. Matsuda. 1990. Perspectives from amino acid and nucleotide sequences on cladistic relationships among higher taxa of eutheria. ***In:*** H.H. Genoways (edit.). *Current Mammalogy.* Plenum Press, New York, Vol. 2, pp. 45-72.

Daley, J.G. 1992. Population reductions and genetic variability in black-tailed prairie dogs. *J. Wildl. Manage.* 56:212-220.

Demastes, J.W. & M.S. Hafner. 1993. Cospeciation of pocket gophers (*Geomys*) and their chewing lice (*Geomydoecus*). *J. Mamm.* 74:521-530.

Dennison, M.D. & A.J. Baker. 1991. Morphometric variability in continental and atlantic island populations of chaffinches (*Fringilla coelebs*). *Evolution* 45:29-39.

Derr, J.N. 1991. Genetic interactions between white-tailed and mule deer in the southwestern United States. *J. Wildl. Manage.* 55:228-237.

DeWalt, T.S., E.G. Zimmerman & J.V. Planz. 1993. Mitochondrial-DNA phylogeny of the species of the *boylii* and *truei* groups of the genus *Peromyscus*. *J. Mamm.* 74:352-362.

Dobzhansky, Th., F.J. Ayala, G.L. Stebbins & J.W. Valentine. 1977. *Evolution* W.H. Freeman and Co., San Francisco.

Dutrillaux, B. & J. Lejeune. 1975. New techniques in the study of human chromosomes: Methods and applications. **In:** H. Harris & K. Hirschorn (edits.). *Advances in human genetics*. Plenum Press, New York. pp. 119-156.

Ellsworth, D.L., R.L. Honeycutt, N.J. Silvy, M.H. Smith, J.W. Bickham & W.D. Klimstra. 1994. White-tailed deer restoration to the southeastern United States: Evaluating genetic variation. *J. Wildl. Manage.* 58:686-697.

Felsenstein, J. 1984. Phylogenies from molecular sequences: inference and reliability. *Ann. Rev. Gen.* 22:521-565.

Freeman, P.W. 1981. Correspondence of food habits and morphology in insectivorous bats. *J. Mamm.* 62:166-173.

----------. 1984. Functional cranial analysis of large animalivorous bats (Microchiroptera). *Biol. J. Linnean Soc.* 21:387-408.

----------. 1988. Frugivorous and animalivorous bats (Microchiroptera): Dental and cranial adaptations. *Biol. J. Linnean Soc.* 33:249-272.

Fuller, B., M.R. Lee & L.R. Maxson. 1984. Albumin evolution in *Peromyscus* and *Sigmodon*. *J. Mamm.* 65:466-473.

Gaines, M.S. 1985. Genetics. **In:** R.H. Tamarin (edit.). Biology of New World *Microtus*. *Spec. Publ. No. 8, Soc. Mamm.* pp. 845-883.

Gavin, T.A. & B. May. 1988. Taxonomic status and genetic purity of columbian white-tailed deer. *J. Wildl. Manage.* 52:1-10.

Glenn, T.C. & D.R. Smith. 1993. Genetic variation and subespecific relationships of Michigan elk (*Cervus elaphus*). *J. Mamm.* 74:782-792.

Goodloe, R.B., R.J. Warren, E.G. Cothram, S.P. Bratton & K.A. Trembicki. 1991. Genetic variation and its management applications in eastern U.S. feral horses. *J. Wildl. Manage.* 55:412-421.

Gottlieb, L.D. 1971. Gel electrophoresis: New approach to the study of evolution. *Bioscience* 21:939-944.

Gould, S.J. 1980. Is a new and general theory of evolution emerging?. *Paleontology* 6:119-130.

Gould, S.J. & R.F. Johnston. 1972. Geographic variation. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 3:457-498.

Hafner, M.S., L.J. Barkley & J.M. Chupasko. 1994. Evolutionary genetics of new world tree squirrels (Tribe Sciurini). *J. Mamm.* 75:702-709.

Hall, R.E. 1968. Variation in the blackish deer mouse *Peromyscus furvus*. *An. Inst. Biól., UNAM, 39, Ser. Zool.* 1:149-154.

Hamilton, M.J., R.L. Honeycutt & R.J. Baker. 1990. Infragenomic movement, sequence amplification and concerted evolution in satellite DNA in harvest mice, *Reithrodontomys*: Evidence from in situ hybridization. *Chromosome* 99:321-329.

Hartl, G.B., F. Suchentrunk, K. Nadlinger & R. Willing. 1993. An integrative analysis of genetic differentiation in the brown hare *Lepus europaeus* based in morphology, allozymes, and mitochondrial DNA. *In:* G.B. Harti & J. Markowski (edits.). *Ecological genetics in mammals. Acta Theriol.* 38, Supl. 2. pp. 33-57.

Hassegawa, M. & H. Kishino. 1989. Heterogeneity of tempo and mode of mitochondrial DNA evolution among mammalian orders. *Japanese J. Gen.* 64:243-258.

Hillis, D.M. 1984. Misuse and modification of Nei's genetic distance. *Syst. Zool.* 33:238-240.

Hood, C.S., L.W. Robbins, R.J. Baker & H. Shellammer. 1984. Chromosomal studies and evolutionary relationships of an endangered species *Reithrodontomys raviventris. J. Mamm.* 65:655-667.

Hooper, E.T. 1968. Classification. **In:** J.A. King (edit.). *Biology of Peromyscus (Rodentia). Spec. Publ. Amer. Soc. Mamm.* pp. 27-74.

Howell, A.H. 1914. Revision of the American harvest mice (genus *Reithrodontomys*). *N. Amer. Fauna* 36:1-97.

Hunter, T.L. & C.L. Markert. 1957. Histochemical demostration of enzymes separated by zone electrophoresis in starch gel. *Science* 125:1294-1295.

Janecek, L.L. 1990. Genetic variation in the *Peromyscus truei* group (Rodentia: Cricetidae). *J. Mamm.* 71:301-308.

Jones, J.K., Jr. & D.C. Carter. 1976. Annotated checklist, with keys to subfamilies and genera. **In:** R.J. Baker, K. Jones, Jr. & D.C. Carter (edits). *Biology of bats of the New World family Phyllostomatidae. Part I.* Spec. Publ. Mus., Texas Tech Univ., pp. 7-38.

Jones, K.J., Jr., R.D. Bradley &R.J. Baker. 1995. Hybrid pocket gophers and some thoughts on the relationships of natural hybrids to the rules of nomenclature and the endangered species act. *J. Mamm.* 76:43-49.

King, J.A. (edit.). 1968. Biology of *Peromyscus* (Rodentia). *Spec. Publ., Amer. Soc. Mamm.* 2:1-593.

Kirkland, G.L., Jr. & J.N. Layne (edits.). 1989. Advances in the study of *Peromyscus (Rodentia). Texas Tech Univ. Press, Lubbock.*

Lande, R. 1979. Quantitative genetic of multivariate evolution, applied to brain: body size allometry. *Evolution* 33:402-416.

Leberg, P.L., P.W. Stangel, H.O. Hillestad, R.L. Marchinton & M.H. Smith. 1994. Genetic structure of reintroduced wild turkey and white-tailed deer populations. *J. Wildl. Manage.* 58:698-711.

Lee, T.E., Jr., J.N. Derr, J.W. Bickham & T.L. Clark. 1989. Genetic variation in pronghorn from west Texas. *J. Wildl. Manage.* 53:890-896.

Lee, M.R., D.J. Schmidly & C.C. Huheey. 1972. Chromosomal variation in certain populations of *Peromyscus boylii* and its systematic implications. *J. Mamm.* 53:697-707.

Lele, S. & J.T. Richtsmeier. 1990. Statistical models in morphometrics: Are they realistic?. *Syst. Zool.* 39:60-69.

----------. 1991. Euclidian distance matrix analysis: A coordinate free aproach for comparing biological shapes using landmark data. *Am. J. Phys. Antropol.* 86:415-428.

Levenson, H. 1990. Sexual size dimorphism in chipmunks. *J. Mamm.* 71:161-170.

Li, W.H., M. Tanimura & P.M. Sharp. 1987. An evaluation of the molecular clock hypothesis using mammalian DNA sequences. *J. Molecular Evol.* 25:330-342.

Lim, B.K. & D.E. Wilson. 1993. Taxonomic status of *Artibeus amplus* (Chiroptera: Phyllostomidae) in northern South America. *J. Mamm.* 74:763-768.

López-G. C. 1994. Asimetria fluctuante: Una medida de la estabilidad del proceso de desarrollo ontogénico. *Zoología Informa, Rev. Dpto. Zool., Esc. Nal. Ciencias Biól., IPN.* 28:37-54.

Marcus, L.F., E. Bello & A. Garcia-Valdecasas (editores). 1993. Contributions to morphometrics. *Monografias del Museo Nacional de Ciencias Naturales, Madrid.* 256 p.

Markert, C.L. & F. Moller. 1959. Multiple form of enzymes: Tissue, ontogenetic, and species specific patterns. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, USA, 45:753-763.

Martínez-C., M., J. Ramírez-P. & T. Alvarez. 1991. Variación intrapoblacional e interpoblacional de *Peromyscus melanotis* (Rodentia: Muridae) en el Eje Neovolcánico Transverso, México. *Acta Zool. Mex. (n.s.)* 47:1-51.

Mayr, E. 1963. *Animal Species and Evolution.* Belknap Press of Harvard Univ. Press, Cambridge, Massachusetts.

----------. 1988. *Toward a new phylosophy of biology. Observations of an evolucionist.* Harvard Univ. Press.

McCracken, G.F., M.K. McCracken & T. Vawter. 1994. Genetic structure in migratory populations of the bat *Tadarida brasiliensis mexicana. J. Mamm.* 75:500-514.

McGovern, M. & C.R. Tracy. 1981. Phenotipic variation in electromorphs previously considered to be genetic markers im *Microtus ochrogaster. Oecologia* 51:276-280.

Mitton, J.B. 1994. Molecular approaches to population biology. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 25:45-69.

Miyamoto, M.M. & W.M. Fitch. 1995. Testing species phylogenies and phylogenetic methods with congruence. *Syst. Biol.* 44:64-76.

Moore, D.W. & L.L. Janecek. 1990. Genetic relationships among North American *Microtus* (Mammalia: Rodentia). *Ann. Carnegie Mus.* 59:249-259.

Moritz, C. & D.M. Hillis. 1990. Molecular systematics: Context and controversies. *In:* D.M. Hillis & C. Moritz (edits.). *Molecular systematics.* Sinauer Assoc. Inc. Publ., Sunderland, Massachussets, p. 10.

Nei, M. 1972. Genetic distance between populations. *Am. Nat.* 106:283-291.

Osgood, W.H. 1900. Revision of the pocket mice of the genus *Perognatus. N. Amer. Fauna* 18:1-72.

----------. 1909. Revision of the mice of the American genus *Peromyscus. N. Amer. Fauna* 28:1-285.

Owen, R.D. 1994. Algunas tecnicas morfometricas en sistematica de murcielagos. *Universidad, Ciencia y Tecnologia*, 3:1-14.

Painter, J., C. Krajewsky & M. Westerman. 1995. Molecular phylogeny of the marsupial genus *Planigale* (Dasyuridae). *J. Mamm.* 76:406-413.

Patton, J.L. & P.V. Brylsky. 1987. Pocket gophers in alfalfa fields: causes and consequences of habitat-related body size variation. *Amer. Nat.* 130:493-506.

Patton, J.L. & M.F. Smith. 1994. Paraphyly, polyphyly, and the nature of species boundaries in pocket gophers (genus *Thomomys*). *Syst. Biol.* 43:11-26.

Patton, J.L. & S.Y. Yang. 1977. Genetic variation in *Thomomys bottae* pocket gophers: macrogeographic patterns. *Evolution* 31:697-720.

Perry, E.A., S.M. Carr, S.E. Barlett & W.S. Davidson. 1995. A phylogenetic perspective of the evolution of reproductive behavior in pagophilic seals of the Northwest America as indicated by mitochondrial DNA sequences. *J. Mamm.* 76:22-31.

Phillips, J.C. & B. Tandler. 1987. Mammalian evolution at the cellular level. *In:* H.H. Genoways (edit.). *Current Mammalogy*. Plenum Press, New York, Vol. 1, pp. 1-66.

Prakash, S., R.C. Lewontin & J.L. Hubby. 1969. A molecular approach to the study of genetic heterozigosity in natural populations. IV. Patters of genetic variation in central, marginal and isolated populations of *Drosophyla pseudoobscura*. *Genetics* 61:841-858.

Richardson, B.J., P.R. Braverstock & M. Adams. 1986. *Allozyme electrophoresis*. Academic Press, San Diego, 410 p.

Richtsmeier, J.T., B.D. Corner, H.M. Grausz, J.M. Cheverud & S.E. Danahey. 1993. The role of postnatal growth pattern in the production of facial morphology. *Syst. Biol.* 42:307-330.

Riddle, B.R. 1995. Molecular biogeography in the pocket mice (*Perognathus* and *Chaetodipus*) and grasshopper mice (*Onychomys*). The late cenozoic development of a North American aridlands rodent guild. *J. Mamm.* 76:283-301.

Rogers, J.S. 1972. Measures of genetic similarity and genetic distance. *Univ. Texas Publ.* 7213:145-153.

----------. 1984. Deriving phylogenetic trees from allele frequencies. *Syst. Zool.* 33:52-63.

Rogers, D.S. & M.D. Engstrom. 1992. Evolutionary implications of allozimic variation in tropical *Peromyscus* of the *mexicanus* species group. *J. Mamm.* 73:55-69.

Rohlf, F.J. 1990. Morphometrics. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 21:299-316.

Rohlf, F.J. & F.L. Bookstein (edits.). 1990. Proceedings of the Michigan morphometrics workshop. *Univ. Michigan Mus. Zool., Spec. Publ.* 2.

Ruedi, M., T. Maddalena, P. Vogel & Y. Obara. 1993. Systematic and biogeography relationships of the japanese white-toothed shrew (*Crocidura asinezumi*). *J. Mamm.* 74:535-543.

Saikai, R.K., D.H. Gelfand, S. Stoffel, S.J. Scharf & R. Higuchi. 1988. Primer-directed enzimatic amplification of DNA with a thermostabile DNA polymerase. *Science* 239:487-491.

Schnell, G.D. & R.K. Selander. 1981. Environmental and morphological correlates of genetic variation in mammals. *In:* M.H. Smith & J.J. Joule (edits.). *Mammalian population gentics*. Univ. Gergia Press, Athens. pp. 60-99.

Schmidly, D.J. 1973. Geographic variation and taxonomy of *Peromyscus boylii* from Mexico and the southern United States. *J. Mamm.* 54:111-130.

Schultz, B.B. 1985. Levene's test for relative variation. *Syst. Zool.* 34:449-456.

Searle, J.B. 1984. Three karyotipic races of the common shrew *Sorex araneus* (Mammalia: Insectivora) and a phylogeny. *Syst. Zool.* 33:184-194.

Selander, R.K., M.H. Smith, S.Y. Yang, W.E. Johnson & J.B. Gentry. 1971. Biochemical polymorphism and systematics in the genus *Peromyscus*. I. Variation in the old-field mouse (*Peromyscus polionotus*). Stud. Genet. VI. *Univ. Texas Publ.* 7103:49-90.

Simpson, G.G. 1953. *The major features of evolution*. Columbia Univ. Press., New York.

Slatkin, M. 1984. Ecological causes of sexual dimorphism. *Evolution* 38:622-630.

Smart, R.A. & C. Lemen. 1980. Intrapopulational morphological variation as a predictor of feeding behavior in deer mice. *Am. Nat.* 116:891-894.

Smith, M.F. 1979. Geographic variation in genic and morphological characters in *Peromyscus californicus*. *J. Mamm.* 60:705-722.

Smith, S.A. 1990. Cytosystematic evidence against monophyly of the *Peromyscus boylii* species group (Rodentia: Cricetidae). *J. Mamm.* 71:654-667.

Smith, S.A., I.F. Greenbaum, D.J. Schmidly, K.M. Davis & T.W. Houseal. 1989. Additional notes on karyotypic variation in the *Peromyscus bolii* species group. *J. Mamm.* 70:603-608.

Sokal, R.R. & C.A. Braumann. 1980. Significance tests for coefficients of variation and variability profiles. *Syst. Zool.* 29:50-66.

Soulé, M.E. 1982. Allomeric variation. I. The theory and some consequences. *Amer. Nat.* 120:751-764.

Spencer, L.M. 1995. Morphological correlates of dietary resource partitioning in the African Bovidae. *J. Mamm.* 76:448-471.

Stangl, F.B., Jr. & R.J. Baker. 1984. Evolutionary relationships in *Peromyscus*: Congruence in chromosomal, genetic, and classical data sets. *J. Mamm.* 65:643-654.

Straney, D.O. & J.L. Patton. 1980. Phylogenetic and environmental determinants of geographic variation of the pocket mouse *Perognathus goldmani* Osgood. *Evolution* 34:888 903.

Straney, D.O., M.H. Smith, I.F. Greenbaum & R.J. Baker. 1979. Biochemical genetics *In:* R.J. Baker & K. Jones, Jr. (edits.). *Biology of bats of the New World family Phyllostomatiade. Part III.* Spec. Publ. Mus., Texas Tech Univ., pp. 157-176.

Sugg, D.W., M.L. Kennedy & G.A. Heidt. 1990. Morphologic variation in the Texas mouse, *Peromyscus attwateri*. *Southwest. Nat.* 35:163-172.

Sullivan, J.M. & C.W. Kilpatrick. 1991. Biochemical systematics of the *Peromyscus aztecus* assemblage. *J. Mamm.* 72:681-696.

Sullivan, J.M., C.W. Kilpatrick & P.D. Rennert. 1991. Biochemical systematics of the *Peromyscus boylii* species group. *J. Mamm.* 72:669-680.

Swanepoel, P. & H.H. Genoways. 1979. Morphometrics. *In:* R.J. Baker & K. Jones, Jr. (edits.). *Biology of bats of the New World family Phyllostomatidae. Part III.* Spec. Publ. Mus., Texas Tech Univ. No. 16, pp. 13-106.

Theimer, T.C. & P. Keim. 1994. Geographic patterns of mitochondrial-DNA variation in collared peccaries. *J. Mamm.* 75:121-128.

Upholt, W.B. 1977. Estimation of DNA sequence divergence from comparison of restriction endonuclease digest. *Nucleic Acids Res.* 4:1257-1265.

Van Den Bussche, R.A. & R.J. Baker. 1993. Molecular phylogenetics on the New World bat genus *Phyllostomus* based on cytocrome b DNA sequence variation. *J. Mamm.* 74:793-802.

Van Valen, L. 1962. A study of fluctuating assymetry. *Evolution* 16:125-142.

Van Zill de Jong, C.G., C. Gates, H. Reynolds & W. Olson. 1995. Phenotypic variation in remmant populations of North American *Bison*. *J. Mamm.* 76:391-405.

Vogl, C. 1993. Theoretical enhacements of finite-element scaling analysis (FESA) methodology. *Syst. Biol.* 42:341-355.

Warheit, K.I. 1992. The role of morpometrics and cladistics in the taxonomy of fossils: a paleornithological example. *Syst. Biol.* 41:345-369.

White, M.J.D. 1968. Models of speciation. *Science* 159:1065-1070.

Williams, S.L. & J. Ramírez-P. 1984. Morphometric variation in the volcano mouse, *Peromyscus (Neotomodon) alstoni* (Mammalia: Cricetidae). *Ann. Carnegie Mus.* 53:163-183.

Zelditch, M.L., R.W. Debry & D.O. Straney. 1989. Triangulation-measurement schemes in the multivariate analysis of size and shape. *J. Mamm.* 70:571-579.

Recibido: 28 de febrero 1996
Aceptado: 11 de noviembre 1996