

Efecto genético del aislamiento geográfico de la liebre negra (*Lepus insularis*), endémica de Isla Espiritu Santo, Baja California Sur, México

Fernando A. Cervantes^{1*} y Mario Castañeda^{1,2}

Abstract

This research assessed the degree of genetic divergence between *Lepus insularis* and *L. californicus xanti* from the Baja California Peninsula as a consequence of the geographical isolation of the former using allozymic analyses. Results were compared and contrasted with the similar biogeographical condition for the taxon pair *L. c. sheldoni*, from Carmen Island, and *L. c. martirensis*, from the northern range of the Peninsula. Heart and kidney tissues were used to obtain 26 loci by the conventional protein electrophoresis technique with starch gels. Estimations of genetic variability with the software BIOSYS showed that *L. c. xanti* was the most variable population while in contrast *L. insularis* was poorly variable. Research data confirmed a clear genetic divergence between *L. insularis* and *L. c. xanti* supporting the notion that geographical isolation in Baja California islands may slow or limit gene flow contributing to losses of genetic variation that leads to genetic differentiation.

Key words: allozymes, biogeography, genetics, Lagomorpha, Leporidae, Mammalia, speciation.

Resumen

Este estudio evaluó la magnitud de la divergencia genética entre *Lepus insularis* y *L. californicus xanti* de la Península de Baja California causada por el aislamiento geográfico de *L. insularis* efectuando un análisis de aloenzimas. Los resultados se compararon con un sistema biogeográfico similar que se presenta entre *L. c. sheldoni* de Isla Carmen y *L. c. martirensis* con distribución de la región norte de la Península. Se examinaron 26 loci con muestras de tejido de corazón y riñón mediante la técnica convencional de electroforesis en geles de almidón. Los parámetros de variabilidad genética fueron estimados con el programa BIOSYS y mostraron que *L. c. xanti* es la población más variable, mientras que *L. insularis* es la menos variable. Se identificó una clara divergencia genética entre *L. insularis* y *L. c. xanti*, lo que apoya la propuesta de que

¹Colección Nacional de Mamíferos, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. Avenida Universidad 3000, Distrito Federal, México 04510. E-mail: fac@ibiologia.unam.mx

²Dirección actual: Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Liga Periférico - Insurgentes Sur 4903, Distrito Federal, México 14010. E-mail: mcasta@xolo.conabio.gob.mx

* Corresponding author.

el aislamiento geográfico en islas de Baja California retrasa o impide el flujo genético. Esta condición puede ocasionar pérdidas de variación genética que pueden conducir a la diferenciación genética de los taxa.

Palabras clave: aloenzimas, biogeografía, especiación, genética, Lagomorpha, Leporidae, Mammalia.

Introducción

Dos especies de liebres habitan las zonas áridas de la península de Baja California, México. La liebre cola negra (*Lepus californicus*), en gran parte del territorio peninsular e islas por seis subespecies (*L. c. xanti*, *L. c. martirensis*, *L. c. sheldoni*, *L. c. benneti*, *L. c. deserticola* y *L. c. magdalenae*; Best 1996), y la liebre negra (*L. insularis*), taxón monotípico y endémico de la Isla Espíritu Santo (Cervantes *et al.* 1996), en Baja California Sur, México. Este esquema biogeográfico indica que las áreas de distribución de estas especies de liebres son alopátricas, separadas por un canal de mar de cerca de 5 km (Fig. 1).

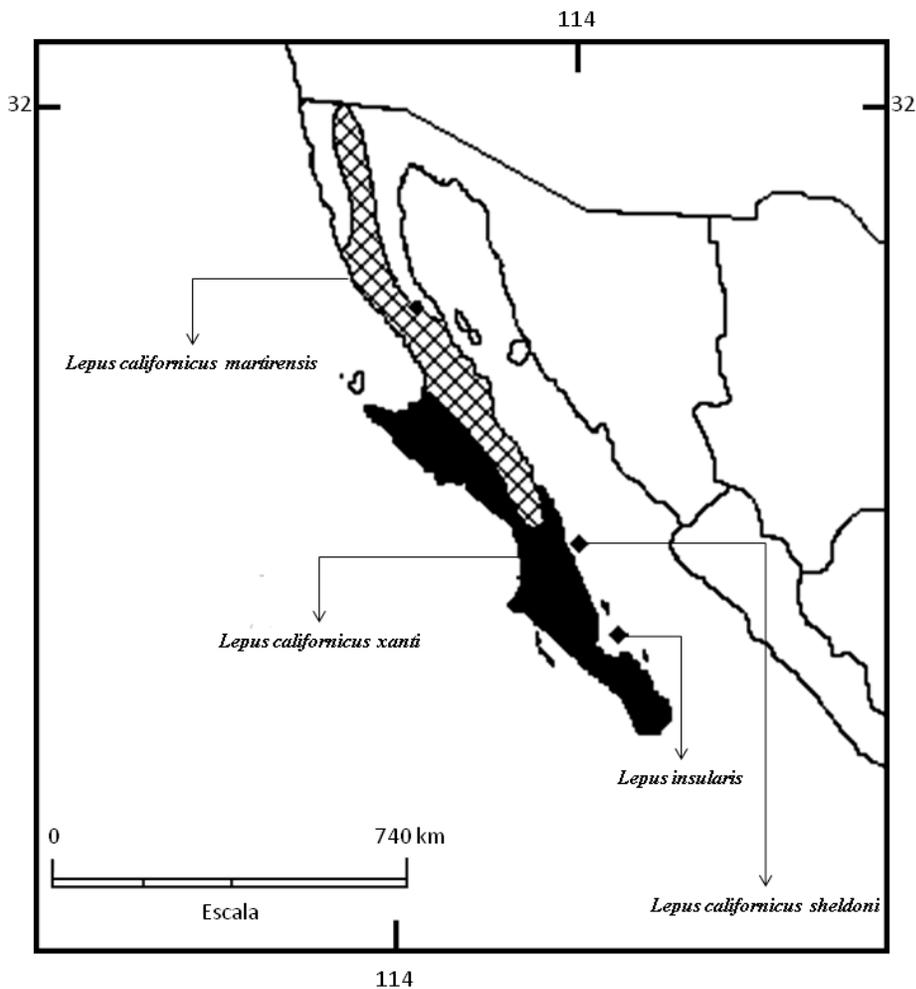


Figura 1. Distribución geográfica de las liebres *Lepus insularis*, *Lepus californicus xanti*, *L. c. sheldoni* y *L. c. martirensis* en la Península de Baja California, México.

El origen evolutivo de la liebre negra, especie de interés por encontrarse en una categoría de riesgo de extinción decretada por el gobierno mexicano (Arita y Ceballos 1997),

deriva de un ancestro común de liebre cola negra. Según esta hipótesis, *L. insularis* surgió como consecuencia de un evento vicariante de una población de *L. c. xanti* (Nelson 1909; Orr 1960), cuando la fracción de tierra que dio origen al Archipiélago de Espíritu Santo (con un área de 112 km²) se separó de la península de Baja California aislando a una población de liebre cola negra hace aproximadamente entre 5,000 y 12,000 años (Durham y Allison 1960; Gastil *et al.* 1983; Moctezuma y Serrato 1988; Thomas y Best 1994). Desde entonces, este proceso fue determinante en la divergencia evolutiva entre ambas taxa hasta llegar a la diferenciación específica de la liebre negra en condiciones de aislamiento geográfico en dicha isla.

Sin embargo, se ha cuestionado el nivel de divergencia entre ambas taxa, de modo que la liebre negra ha sido considerada como una subespecie melánica de *L. californicus* (Orr 1960). No obstante, se reconocen diferencias entre ambas taxa que se atribuyen a una especiación incipiente en concordancia con el efecto del aislamiento espacial.

Para explorar la veracidad de estas afirmaciones, un análisis de taxonomía numérica basado en 12 caracteres craneales (Dixon *et al.* 1983) comparó 16 subespecies de *L. californicus* con *L. insularis*, reportó diferencias importantes entre ellas y las consideró especies distintas. De hecho, el clásico estudio monográfico sobre liebres y conejos del Nuevo Mundo (Nelson 1909) evaluó variables somáticas y algunas craneales de cinco ejemplares de *L. insularis* y 13 subespecies de *L. californicus* y concluyó que la liebre negra es de tamaño ligeramente mayor que *L. c. magdalenae*, *L. c. sheldoni* y *L. c. xanti*, y de dimensiones similares a *L. c. martirensis*. Por otro lado, otro estudio examinó diferencias cariotípicas entre ambas especies (Cervantes *et al.* 1999b) y encontró que, aunque el número cromosómico diploide es el mismo ($2n = 48$), existen diferencias en el número fundamental de su complemento cromosómico (*L. insularis* = 80, *L. c. xanti* = 82). Sin embargo, se requieren análisis más finos que no solamente corroboren o refuten los argumentos taxonómicos mencionados, sino que aporten evidencias del proceso evolutivo que condujo a los niveles de diferenciación entre ambas taxa. De hecho, recientemente se ha reportado que *L. californicus* y *L. insularis* son taxa hermanos, aunque *L. californicus* es parafilético en relación a *L. insularis* (Ramírez-Silva *et al.* 2010).

La situación biogeográfica de estas especies de liebres y su indiscutible parentesco filogenético representan un modelo interesante para poner a prueba hipótesis sobre variación genética en poblaciones aisladas de mamíferos como roedores y otros lagomorfos (Avice 1974; Best y Janecek 1992). Entre los resultados empíricos de estos esfuerzos, destaca el que las interrupciones del flujo genético entre poblaciones de islas continentales y oceánicas generan divergencias genéticas significativas como consecuencia de su aislamiento geográfico.

Los niveles de variabilidad genética en poblaciones continentales permanecen relativamente estables, mientras que los de sus contrapartes en islas, poblaciones pequeñas con mayor probabilidad de entrecruzamiento, se reducen por efecto de la deriva genética, efecto fundador (Berry 1986) y de cuello de botella (Gallardo *et al.* 1995). Dichos procesos representan fuerzas microevolutivas de importancia en las especies de mamíferos terrestres insulares del Golfo de California (Lawlor 1983). Consecuentemente, se esperaría que los taxa de islas mostraran una reducción del promedio de alelos por locus, del porcentaje de loci polimórficos y del promedio

observado de heterocigidad individual (Awise 1974). Esta condición pudo haber caracterizado la especiación incipiente de *L. insularis* hasta sus niveles de diferenciación genética actuales.

Inclusive, es factible que este proceso también se haya presentado en otras poblaciones de liebres de cola negra reconocidas actualmente como subespecies distintas (Best 1996). Tal es el caso de *L. c. martirensis*, subespecie peninsular y *L. c. sheldoni*, endémica de Isla Carmen, de un área de 151 km² y separada de la Península hace 35,000 años; Case 1978), localizadas en la misma región del Golfo de California (Fig. 1). Al parecer estas subespecies presentan una historia evolutiva semejante a la de *L. insularis* y *L. c. xanti*, pues *L. c. martirensis* se distribuye en el territorio adyacente a la Isla Carmen.

Sin embargo, el grado de divergencia entre ellas aparentemente es menor que entre *L. insularis* – *L. c. xanti*, ya que únicamente se consideran distintas a nivel infraespecífico (Best 1996) y sus niveles de divergencia genética deberían ser mínimos.

El escenario biológico en donde se ha desarrollado el marco evolutivo de las poblaciones peninsulares e insulares de liebres de la península de Baja California corresponde al matorral espinoso de zonas áridas donde abundan plantas adaptadas a la escasez de agua y a las altas temperaturas. Estas condiciones se identifican como el tipo de ambiente característico de la Península y de las islas del Golfo de California (Moctezuma y Serrato 1988). Estos ecosistemas de abundante riqueza biológica son de interés primario para su conservación y aprovechamiento sustentable, particularmente por su fauna insular y niveles de endemismo (Flux y Angermann 1990).

De modo que si el aislamiento geográfico ha retardado o impedido el flujo genético entre las poblaciones insulares y sus contrapartes peninsulares, se deben haber fijado diferencias genéticas entre ellas. Se esperaría, por tanto, que dichas diferencias se manifiesten en los estimadores de variación genética. El objetivo de este estudio es evaluar la magnitud de la divergencia genética producida por efecto del aislamiento geográfico en *L. insularis* mediante el análisis de su variación aloenzimática y comparar los resultados con los que se obtengan de *L. c. martirensis* - *L. c. sheldoni*.

Material y Métodos

Obtención de muestras. *Lepus insularis* fue colectada en 1996 en la porción sureste de Isla Espíritu Santo, localizada en el extremo oriental de la Bahía de La Paz (24.453276° N, -110.342676° W), a 5 km de tierra firme peninsular. A su vez, *L. c. xanti* fue colectada en 1996 en una localidad peninsular ubicada a 82 km NW La Paz (24.223087° N, -110.948782° W); ambas localidades pertenecen al Municipio La Paz, Baja California Sur, México. Adicionalmente, *L. c. sheldoni*, fue colectada entre 1999 y 2000 a 4 km N Bahía Salinas (26.035633° N, -111.107534° W), punta norte de Isla Carmen, que se localiza a 15 km E Loreto, 11 km SE Isla Coronado, y a 6 km de la costa de la Península. Su contraparte, *L. c. martirensis* fue colectada en las localidades San Lucas, Volcán La Virgen y Alfredo Bonfil en la Reserva de la Biosfera "Vizcaíno" (27.233399° N y -112.216667° W; 27.383333° N y -112.483333° W, 27.333333° N y -112.700000° W, respectivamente) entre 1999 y 2000. Para comparar con otros lagomorfos, se colectaron también ejemplares de *L. c. texianus* de Durango (Reserva de la Biosfera Mapimí, 140 km NE Gómez Palacio, Municipio Mapimí, 26.67513° N, -103.74986° W), y *L. callotis* y *Sylvilagus floridanus* de Jalisco (8 km N, 6.5 km

E Mazamitla, Municipio Mazamitla, 2100 m, 19.9879104° N, -102.9606553° W), México.

Obtención de genotipos. Las muestras utilizadas fueron tejidos de corazón y riñón de ejemplares de *L. insularis* ($n = 10$), *L. c. xanti* ($n = 10$), *L. c. sheldoni* ($n = 10$), *L. c. martirensis* ($n = 10$), *L. c. texianus* ($n = 10$), *L. callotis* ($n = 3$) y *S. floridanus* ($n = 3$). Las muestras fueron homogeneizadas en una solución amortiguadora 0.01 Tris-0.001 EDTA pH. 6.8, en proporción 1:1, y se centrifugaron a 4000 rpm, a 5 °C, durante 25 minutos; el sobrenadante se almacenó a -80 °C y después se sometió a electroforesis horizontal en geles de almidón (Harris y Hopkinson 1976). Se elaboraron 35 geles en concentraciones de 10 y 12%, usando almidón de papa (Sigma Chemical) con diferentes diluciones de solución amortiguadora, dependiendo del locus a examinar. La mezcla de la solución amortiguadora-almidón se homogenizó para evitar la formación de grumos calentándola durante 3 minutos y posteriormente se conectó a una bomba de vacío para extraer las burbujas de aire. Se dejó enfriar a temperatura ambiente para la solidificación del gel, que posteriormente se dividió longitudinalmente insertando entre las dos porciones rectángulos de papel filtro (*Whatman filter paper* no. 3) de un centímetro de longitud previamente humedecidos con la muestra (sobrenadante) correspondiente al tejido de cada individuo. El gel con las muestras se colocó en una cámara de electroforesis horizontal y se mantuvo en contacto en cada uno de sus extremos con el buffer iónico, sometiénolo a un campo eléctrico generado por una fuente de poder. En promedio se utilizaron 150 voltios y el tiempo varió de 12 a 18 hrs. de acuerdo con la solución amortiguadora empleada.

Posteriormente, cada gel se cortó en rebanadas y en cada una se tiñó una enzima colocándola en una charola con una solución conteniendo un sustrato específico para la enzima, con un colorante que precipita donde la reacción enzimática se lleva a cabo (Murphy *et al.* 1990). Finalmente, cada gel fue fotografiado con una película para impresión en color. El registro de la movilidad de las enzimas se realizó considerando la migración anodal observada después de someter a un campo eléctrico los geles con las muestras de tejidos en la cámara de electroforesis; de tal forma que aquellos loci con migración más anodal fueron considerados como el alelo "A", los siguientes como el alelo "B" y así sucesivamente. Estos registros son ejemplificados con el zimograma del locus MDH (Fig. 2) a partir de donde se construyó la matriz de datos.

Se evaluaron 26 loci en cada individuo de las poblaciones estudiadas, los que se identificaron individualmente de acuerdo con su abreviatura y número correspondientes según la *International Union of Biochemistry* y la *Enzyme Comission* (Tabla 1). El tamaño de muestra por locus no representó el total de los individuos en ningún taxón estudiado debido a que en algunos geles no se observaron bandas por dificultades técnicas.

Análisis genético. Se determinó la cantidad de alelos exclusivos (aquellos que únicamente se encontraban presentes en uno de los taxones) y la cantidad de alelos fijos (aquellos que se encontraban presentes en uno de los taxones y con una frecuencia del 100%). Asimismo, se estimó el número promedio de alelos por locus, el porcentaje de loci polimórficos y la heterocigosidad observada y esperada por el equilibrio de Hardy-Weinberg, presentes en cada una de las enzimas con el programa BIOSYS (Swofford y Selander 1989). Posteriormente, en cada uno de los taxones se examinaron los alelos que correspondían a cada locus tomando en cuenta aquellos que fueron homocigotos

y heterocigotos a fin de determinar los valores de variabilidad genética y divergencia genética (Fst).

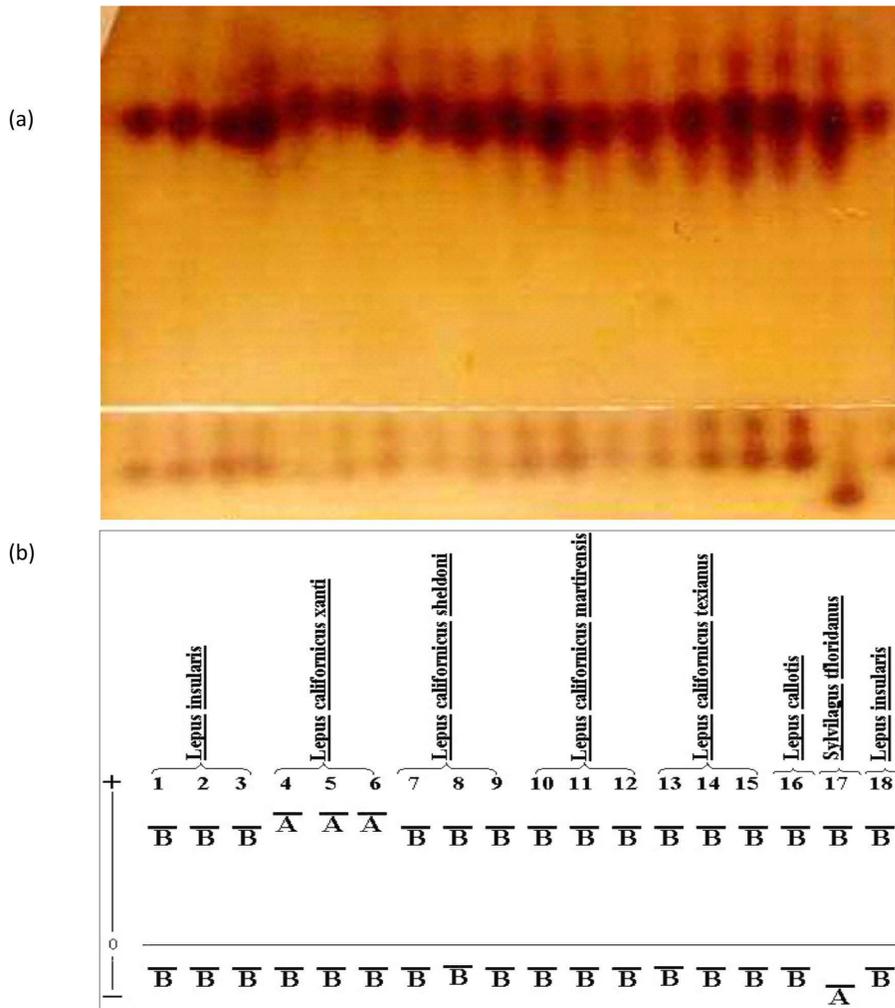


Figura 2. Zimograma realizado con la fotografía de la enzima MDH (a). Los números representan muestras de tejido homogenizado de corazón y riñón de individuos de cada uno de los taxones (b). La letra A representa el alelo de aquellos individuos que migraron más, tanto anodalmente (+) como catódicamente (-), mientras que la letra B representa al alelo de aquellos individuos que migraron menos, con relación al punto de partida que está representado por la línea horizontal (0).

Se construyeron dos fenogramas mediante el método UPGMA (*Unweigh Pair-Group Method with Arithmetic Averaging*; Swofford y Selander 1989) para representar las distancias genéticas entre las poblaciones de liebres del presente estudio, a partir de una matriz construida con los índices de distancia genética de Nei (1978) y de Cavalli-Sforza y Edwards (1967). En dichos índices se pueden utilizar tamaños de muestras pequeños y se pueden comparar con otros estudios de lagomorfos. De igual manera, se construyó un fenograma de distancias genéticas con el algoritmo de Wagner (Farris 1972; Swofford y Selander 1989), debido a que asume que las tasas de substitución de aminoácidos no son constantes en todas las poblaciones y se representa gráficamente con las diversas longitudes de las ramas del fenograma resultante.

Resultados

La evaluación de 26 loci en 35 geles indicó la existencia de un total de 16 loci polimórficos (Tablas 2 y 3). Al considerar exclusivamente a las poblaciones de *L. insularis*, *L. c. xanti*, *L. c. sheldoni*, *L. c. martirensis* y *L. c. texianus*, el valor más alto de polimorfismo fue de tres alelos por locus. El cual se presentó en los loci: ME-1, PGM-2, SOD-2, 6 PGD

y ALB. El locus polimórfico con el mayor número de alelos, al considerar a todos los taxones, fue 6 PGD con cuatro. El resultado de este mismo análisis hecho por taxón indicó que el número más alto de alelos por locus fue tres y se presentó en los loci: de *L. insularis*, PGM-2 y 6PGD; de *L. c. xanti*, ME-1 y SOD-2; de *L. c. sheldoni*, ALB; de *L. c. martirensis*, PGM-2, SOD-2 y 6PGD, y de *L. c. texianus*, PGM-2.

Tabla 1. Enzimas utilizadas en la evaluación aloenzimática de lepóridos (*Lepus insularis*, *L. californicus xanti*, *L. c. sheldoni*, *L. c. martirensis*, *L. c. texianus*, *L. callotis* y *Sylvilagus floridanus*) de la Península de Baja California, Durango y Jalisco, México. Se incluyen el número de cada enzima según la Unión Internacional de Bioquímica y la Comisión de Enzimas (E.C.) así como su forma molecular y soluciones amortiguadoras correspondientes.

Soluciones Amortiguadoras	Enzima	E. C.	Formas Molecular
Tris-citrato I pH 6.7/6.3 Proporción 1:7	Lactato Deshidrogenasa (LDH 1,2)	1.1.1.27	Tetramero
	Malato Deshidrogenasa (MDH 1,2)	1.1.1.37	Dímero
	Enzima Mállica (ME 1,2)	1.1.1.40	Tetramero
	Fosfoglucomutasa (PGM 1,2)	5.4.2.2	Monómero
	Glucosa-6-fosfato Isomerasa (GP1)	5.3.1.9	Dímero
Tris-citrato II pH 8.0 Proporción 1:29	Superóxido dismutasa (SOD 1,2)	1.15.1.1	Dímero
	-Fosfogluconato Deshidrogenasa (6-PGD)	1.1.1.44	Dímero o Tetramero
	Glucosa Deshidrogenasa (GDH)	1.1.1.118	Dímero
	Purina Nucleosido Fosforilasa (NP)	2.4.2.1	Dímero
PGI-Fosfato de Potasio pH 6.7 Proporción 1:19	Glutamato-Oxaloacetato Transaminasa (GOT 1,2)	2.6.1.1	Dímero
	Sorbitol Deshidrogenasa (SDH)	1.1.1.14	Dímero
	Glicerol-3-Fosfato Deshidrogenasa (α GPD)	1.1.1.8	Dímero
Tris-Malato-EDTA pH 7.4 Proporción 1:9	Glucosa-6-Fosfato Deshidrogenasa (G-6-PDH)	1.1.1.49	Dímero
	Hexoquinasa (HK)	2.7.1.1	Monómero
	Creatinoquinasa (CK 1,2)	2.7.3.2	Dímero
Hidróxido de Litio (A+B), pH 8.1/8.4 10% sol. A 90% sol. B	Peptidasas (LA, PAP y LGG)	3.4.13	
	Albumina (Alb)	No específico	Monómero

El mayor porcentaje (34.6) de polimorfismo promedio lo presentó *L. c. texianus* (Tabla 3), mientras que el menor porcentaje (19.2) correspondió a *L. insularis*. Referente al promedio de alelos por locus, el mayor promedio (1.4) lo presentaron *L. c. xanti*, *L. c. martirensis* y *L. c. texianus*, mientras que el valor más bajo (1.3) se encontró en *L. insularis* y *L. c. sheldoni*. Por otra parte, los loci monomórficos registrados en las poblaciones de *L. insularis*, *L. c. xanti*, *L. c. sheldoni*, *L. c. martirensis* y *L. c. texianus* fueron: MDH-1, GPI, GOT-2, PGM-1, SOD-1, GDH, GOT-1, SDH, α GPD y CK-1; al considerar también a *L. callotis* y a *S. floridanus*, los loci monomórficos fueron únicamente MDH-1, GPI y GOT-2.

La heterocigosidad observada por locus (Tabla 3) indicó que los valores más altos de individuos heterocigotos, sin considerar a *L. callotis* ni a *S. floridanus*, fueron los de *L. insularis*, seguido de *L. c. xanti* y *L. c. martirensis*; los más bajos se encontraron en

	Aloenzimas analizada																										
	LDH-1	LDH-2	MDH-1	MDH-2	ME-1	ME-2	PGM-1	PGM-2	GPI	SOD-1	SOD-2	6PGD	GDH	NP	GOI-1	GOI-2	SDH	αGPD	G6PDH	HK	CK1	CK2	AUB	LA	PAP	LCG	
BCS <i>L. insularis</i>																											
00598 IESN	AA	AA	AA	AA	AA	BB	AA	AA	AA	BB	AA	BC	AA	AA	BB	AA	AA	AA	AA	AA	AA	BB	CC	BB	BB	BB	BB
00582 IESN	AA	AA	AA	AA	AA	BB	AA	AA	AA	BB	AA	BC	AA	AA	BB	AA	AA	AA	AA	AA	AA	BB	BB	BB	BB	BB	BB
00706 IESN	AA	AA	AA	AA	AA	BB	AA	AA	AA	BB	BB	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA
00720 IESN	AA	AA	AA	AA	AA	BB	AA	AA	AA	BB	BB	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA
00772 IESN	AA	AA	AA	AA	AA	BB	AA	BB	AA	BB	AA	AA	AA	AA	BB	AA	AA	AA	AA	AA	BB	AA	AA	AA	AA	AA	AA
00699 IESN	AA	AA	AA	AA	AA	BB	AA	AA	AA	BB	AA	AA	AA	AA	BB	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA
00771 IESN	AA	AA	AA	AA	AA	BB	AA	AA	AA	BB	AA	AA	AA	AA	BB	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA
00785 IESN	AA	AA	AA	AA	AA	BB	AA	BB	AA	BB	AA	AA	AA	AA	BB	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA
00700 IESN	AA	AA	AA	AA	AA	BB	AA	BB	AA	BB	AA	AA	AA	AA	BB	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA
BCS <i>L. c. xanti</i>																											
00866 LPAZ	AA	AA	AA	AA	AA	BB	AA	BB	AA	BB	BB	BB	AA	AA	BB	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	BB	BB	BB	BB	BB
00799 LPAZ	AA	AA	AA	AA	AA	BB	AA	AA	AA	BB	CC	BB	AA	AA	BB	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	BB	BB	BB	BB	BB
00804 LPAZ	AA	AA	AA	AA	AA	BB	AA	AA	AA	BB	BB	BB	AA	AA	BB	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	BB	BB	BB	BB	BB
00543 LPAZ	AA	AA	AA	AA	AA	BB	AA	AA	AA	BB	BB	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA
00541 LPAZ	AA	AA	AA	AA	AA	BB	AA	AA	AA	BB	BB	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA
00693 LPAZ	AA	AA	AA	AA	AA	BB	AA	AA	AA	BB	BB	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA
00608 LPAZ	AA	AA	AA	AA	BB	BB	AA	AA	AA	BB	AA	AA	AA	AA	BB	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA
00542 LPAZ	AA	BB	AA	AA	BB	BB	AA	BB	AA	BB	AA	AA	AA	AA	BB	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA
00805 LPAZ	AA	BB	AA	AA	CC	BB	AA	BB	AA	BB	AA	AA	AA	AA	BB	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA
00917 LPAZ	AA	BB	AA	BB	BB	BB	AA	BB	AA	BB	AA	AA	AA	AA	BB	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA
BCS <i>L. c. sheldoni</i>																											
01607 ICAR	AA	AA	AA	AA	AA	BB	AA	AA	AA	BB	AA	BB	AA	AA	BB	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	BB	BB	BB	BB	BB
01608 ICAR	AA	AA	AA	AA	AA	BB	AA	AA	AA	BB	BB	AA	AA	AA	BB	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	BB	BB	BB	BB	BB
01609 ICAR	AA	AA	AA	AA	AA	BB	AA	AA	AA	BB	AA	BB	AA	AA	BB	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA
01610 ICAR	AA	AA	AA	AA	AA	BB	AA	BB	AA	BB	BB	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA
01606 ICAR	AA	AA	AA	AA	AA	BB	AA	AA	AA	BB	BB	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA
01628 ICAR	AA	AA	AA	AA	BB	BB	AA	AA	AA	BB	AA	BB	AA	AA	BB	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA
01627 ICAR	AA	AA	AA	AA	BB	BB	AA	AA	AA	BB	AA	BB	AA	AA	BB	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA
01626 ICAR	AA	AA	AA	AA	AA	BB	AA	BB	AA	BB	AA	AA	AA	AA	BB	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA
01623 ICAR	AA	AA	AA	AA	AA	BB	AA	BB	AA	BB	AA	AA	AA	AA	BB	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA
01622 ICAR	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	BB	AA	BB	AA	AA	BB	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA
BCS <i>L. c. martirensis</i>																											
01613 DVIZ	AA	AA	AA	AA	AA	BB	AA	AA	AA	BB	AA	BB	AA	AA	BB	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA
01616 DVIZ	AA	AA	AA	AA	AA	BB	AA	AA	AA	BB	AA	BC	AA	AA	BB	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA
01615 DVIZ	AA	AA	AA	AA	AA	BB	AA	AA	AA	BB	AA	BB	AA	AA	BB	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA
01617 DVIZ	AA	AA	AA	AA	AA	BB	AA	AA	AA	BB	CC	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA
01612 DVIZ	BB	AA	AA	AA	AA	BB	AA	AA	AA	BB	BB	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA
01611 DVIZ	BB	AA	AA	AA	AA	BB	AA	AA	AA	BB	BB	BB	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA
01614 DVIZ	BB	AA	AA	AA	AA	BB	AA	AA	AA	BB	AA	BB	AA	AA	BB	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA
01619 DVIZ	AA	BB	AA	AA	AA	BB	AA	AA	AA	BB	AA	BB	AA	AA	BB	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA
01620 DVIZ	AA	BB	AA	AA	AA	BB	AA	AA	AA	BB	AA	AA	AA	AA	BB	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA
01621 DVIZ	AA	BB	AA	AA	AA	BB	AA	AA	AA	BB	AA	AA	AA	AA	BB	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA
DGO <i>L. c. texianus</i>																											
01124 MAPM	AA	AA	AA	AA	AA	BB	AA	AA	AA	BB	AA	BB	AA	AA	BB	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	BB	BB	BB	BB	BB
01128 MAPM	AA	AA	AA	AA	AA	BB	AA	BB	AA	BB	AA	BB	AA	AA	BB	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	BB	BB	BB	AA	BB
01129 MAPM	AA	AA	AA	AA	AA	BB	AA	AA	AA	BB	AA	BB	AA	AA	BB	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA
01081 MAPM	AA	AA	AA	AA	AA	BB	AA	AA	AA	BB	BB	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA
01072 MAPM	AA	AA	AA	AA	AA	BB	AA	AA	AA	BB	BB	BB	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA
01080 MAPM	AA	AA	AA	AA	AA	BB	AA	AA	AA	BB	BB	BB	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA
01082 MAPM	AA	BB	AA	AA	AA	BB	AA	AA	AA	BB	AA	BB	AA	AA	BB	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA
01074 MAPM	AA	AA	AA	AA	AA	CC	AA	CC	AA	BB	AA	AA	AA	AA	BB	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA
01069 MAPM	AA	AA	AA	AA	AA	BB	AA	BB	AA	BB	AA	AA	AA	AA	BB	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA
01065 MAPM	AA	AA	AA	AA	AA	CC	AA	CC	AA	BB	AA	AA	AA	AA	BB	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA
JAL <i>L. callotis</i>																											
00063 DESC	AA	AA	AA	AA	AA	CC	AA	AA	AA	BB	AA	AD	AA	BB	BB	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	BB	CC	BB	AA	BB
00062 DESC	AA	AA	AA	AA	AA	BB	AA	AA	AA	BB	BB	BB	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA
00064 DESC	AA	AA	AA	AA	AA	BB	AA	BB	AA	BB	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA
JAL <i>Sylvilagus floridanus</i>																											
00272 FLOR	BB	CC	AA	BB	AA	BC	BB	AA	AA	AA	BB	BB	BB	BB	BB	AA	BB	BB	AA	BB	BB	BB	BB	AA	BB	AA	CC
00300 FLOR	CC	AA	AA	BB	AA	AA	AA	BB	AA	CC	AA	BB	BB	BB	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA
00285 FLOR	BB	CC	AA	CC	CC	CC	AA	DD	AA	BB	AA	AA	BB	AA	AA	AA	AA	CC	BB	AA	BB	BB	AA	BB	BB	BB	CC

Tabla 2. Matriz de genotipos por locus obtenidos de lepóridos (*Lepus insularis*, *L. californicus xanti*, *L. c. sheldoni*, *L. c. martirensis*, *L. c. texianus*, *L. callotis* y *Sylvilagus floridanus*) de la Península de Baja California (BCS), Durango (DGO) y Jalisco (JAL), México. Los individuos homocigotos están representados por aquellas parejas de un sólo tipo de letra, mientras que los individuos heterocigotos están representados por parejas de letras diferentes; 00 corresponde a los loci que no pudieron ser obtenidos. El código de las aloenzimas está en la Tabla 1.

L. c. sheldoni y *L. c. texianus*. Asimismo, estas estimaciones resultaron menores a sus correspondientes valores de heterocigosidad esperada. No se detectaron alelos fijos en las especies de liebre bajacalifornianas, pero si se identificaron 11 alelos exclusivos: uno en *L. insularis* (HK); cuatro en *L. c. xanti* (MDH-2, ME-1, PAP y LGG); dos en *L. c. sheldoni* (ME-2 y ALB); dos en *L. c. martirensis* (LDH-1 y G6PDH); y dos en *L. c. texianus* (ME-2 y LA). Por su parte, *L. callotis* y *S. floridanus* presentaron diversos alelos fijos (Tabla 3).

El valor promedio del índice de fijación de Wright's (Fst) para los taxones estudiados fue de 0.449 (Tabla 4), mientras que el Fst calculado únicamente con las subespecies de *L. californicus* y *L. insularis* fue notablemente menor (0.192). Del total de los 26 loci, el valor de chi-cuadrada del Fst para 22 de ellos resultó ser estadísticamente significativo ($P < 0.05$). Los otros cuatro loci (SOD-2, MDH-1, GPI y GOT-2) no mostraron diferencias significativas (Tabla 4).

La matriz de distancias genéticas de las liebres de la península de Baja California basada en el índice de Cavalli-Sforza y Edwards (1967), indicó que el menor valor de distancia genética correspondió a las poblaciones de *L. insularis* y *L. c. texianus*, seguido

Tabla 3. Alelos (a-d), número de individuos (*n*), frecuencias alélicas, alelos exclusivos (☼), número total de alelos exclusivos por población estudiada (ALE EXCL), promedios de alelos por locus (PROM), porcentaje de loci polimórficos (% POLI), promedios observados de heterocigosidad individual (conteo directo; H OBS), promedios esperados de heterocigosidad individual (equilibrio de Hardy-Weinberg; H ESP) y promedios del tamaño de la muestra por locus (TAMAÑO) de *Lepus insularis* (Li), *L. californicus xanti* (Lcx), *L. c. sheldoni* (Lcs), *L. c. martirensis* (Lcm), *L. c. texianus* (Lct), *L. callotis* (Lc) y *Sylvilagus floridanus* (Sf) de la Península de Baja California, Durango y Jalisco, México. Sólo están incluidos los loci polimórficos (23 de 26 loci); los loci monomórficos fueron MDH-1, GPI y GOT-2. El símbolo * representa a las especies con una deficiencia significativa ($P < 0.05$) de heterocigotos, mientras que ☼ representa a los alelos exclusivos. Las estimaciones de % POLI incluyen sólo aquellos loci para los cuales el alelo dominante tuvo una frecuencia menor a 0.95. La Tabla 1 indica las abreviaturas para cada enzima.

Locus	Li	Lcx	Lcs	Lcm	Lct	Lc	Sf
LDH-1				*			
n =	10	10	10	10	10	3	3
a	a	a	a	a 0.7	a	a	
b				b 0.3 ☼			b 0.667
c							c 0.333 ☼
LDH-2		*		*	*		
n =	10	10	10	10	10	3	3
a	a	a 0.7	a	a 0.7	a 0.9	a	a 0.333
b		b 0.3		b 0.3	b 0.1		
c							c 0.667 ☼
MDH-2		*					
n =	10	10	10	10	10	3	3
a	a	a 0.9	a	a	a	a	a 0.667
b		b 0.1 ☼					
c							c 0.333 ☼
ME-1		*	*				
n =	10	10	10	10	10	3	3
a	a	a 0.6	a 0.8	a	a	a	a 0.667
b		b 0.3	b 0.2				
c		c 0.1 ☼					c 0.333
ME-2			*		*		
n =	10	10	10	10	10	3	3
a			a 0.1 ☼				a 0.333
b	b	b	b 0.9	b	b 0.8	b 0.667	b 0.167
c					c 0.2 ☼	c 0.333	c 0.5

continúa...

continúa...

PGM-1							
n =	7	7	7	7	7	2	2
a	a	a	a	a	a	a	a 0.5
b							b 0.5 ☼
PGM-2	*	*	*	*	*		
n =	9	10	10	10	10	3	3
a	a 0.556	a 0.6	a 0.7	a 0.7	a 0.6	a 0.667	a 0.333
b	b 0.333	b 0.4	b 0.3	b 0.2	b 0.2	b 0.333	b 0.333
c	c 0.111			c 0.1	c 0.2		
d							d 0.333 ☼
SOD-1							
n =	10	10	10	10	10	3	3
a						a 0.333 ☼	a 0.333
b	b	b	b	b	b	b 0.667	b 0.333
c							c 0.333 ☼
SOD-2	*	*	*	*	*		
n =	10	10	10	10	10	3	3
a	a 0.7	a 0.4	a 0.7	a 0.7	a 0.7	a 0.667	a 0.667
b	b 0.3	b 0.5	b 0.3	b 0.2	b 0.3	b 0.333	b 0.333
c		c 0.1		c 0.1			
6PGD	*	*	*	*	*		
n =	9	9	8	9	9	3	3
a	a 0.778	a 0.667	a 0.375	a 0.222	a 0.333	a 0.5	a 0.333
b	b 0.111	b 0.333	b 0.625	b 0.722	b 0.667	b 0.333	b 0.667
c	c 0.111			c 0.056			
d						d 0.167 ☼	
GDH							
n =	10	10	10	10	10	3	3
a	a	a	a	a	a	a	
b							b ☼
NP					*		
n =	9	8	9	8	8	2	2
a	a	a	a	a	a 0.5		a 0.5
b					b 0.5	b 0.5	b 0.5
c						c 0.5 ☼	
GOT-1							
n =	8	7	8	7	7	2	2
a							a 0.5 ☼
b	b	b	b	b	b	b	b 0.5
SDH							
n =	9	8	9	8	8	2	2
a	a	a	a	a	a	a 0.5	
b						b 0.5 ☼	b 0.5
c							c 0.5 ☼
α GPD							
n =	8	7	8	7	7	2	2
a	a	a	a	a	a	a	
b							b ☼
G6PDH				*			
n =	10	10	10	10	10	3	3
a	a	a	a	a 0.8	a	a	a
b				b 0.2 ☼			

continúa...

HK	*						
n =	10	10	10	10	10	3	3
a	a 0.8	a	a	a	a	a	
b	b 0.2 ☼						b
CK1							
n =	7	7	7	7	7	2	2
a	a	a	a	a	a	a	
b							b ☼
CK2							
n =	3	3	3	3	3	1	1
a			a 0.333	a 0.667			
b	b	b	b 0.667	b 0.333	b	b	b
ALB	*		*		*		
n =	10	10	10	10	10	3	3
a			a 0.5 ☼				a 0.333
b	b 0.9	b	b 0.3	b	b 0.9	b 0.667	b 0.667
c	c 0.1		c 0.2		c 0.1	c 0.333	
LA					*		
n =	10	10	10	10	10	3	3
a					a 0.1 ☼		a 0.333
b	b	b	b	b	b 0.9	b	b 0.667
PAP		*	*		*		
n =	10	10	10	10	10	3	3
a			a 0.3		a 0.2	a 0.667	a 0.333
b	b	b 0.7	b 0.7	b	b 0.8	b 0.333	b 0.333
c		c 0.3 ☼					c 0.333
LGG							
n =	10	10	10	10	10	3	3
a		a 0.05 ☼					
b	b	b 0.95	b	b	b	b	
c							c ☼
ALE EXCL	1	4	2	2	2	4	12
PROM	1.3	1.4	1.3	1.4	1.4	1.4	1.8
% POLI	19.2	30.8	30.8	26.9	34.6	34.6	61.5
H OBS	0.009	0.004	0.000	0.004	0.000	0.013	0.013
H ESP	0.075	0.128	0.136	0.122	0.126	0.203	0.387
TAMAÑO	9.0	8.9	9.0	8.9	8.9	2.7	2.7

por el de *L. insularis* y *L. c. xanti* (Tabla 5). Mientras tanto, las especies menos parecidas, de acuerdo con el mismo índice, fueron *L. c. texianus* y *L. c. martirensis*, y *L. c. xanti* y *L. c. sheldoni*, ya que presentaron el valor más alto de todas las liebres del presente estudio. De igual manera, fue construida una matriz de distancia genética empleando el índice de Nei (1978), la que muestra que las especies con mayor similitud genética fueron *L. insularis* y *L. c. xanti*, seguidas por *L. insularis* y *L. c. texianus*. Los taxa más distantes, de acuerdo con los valores resultantes de dicho índice fueron *L. c. martirensis* y *L. c. xanti* (Tabla 5).

Con base en la matriz de distancia genética de Cavalli-Sforza y Edwards (1967) se construyó un fenograma basado en un UPGMA, cuyo coeficiente de correlación cofenética fue de 0.993 (Fig. 3A). La topología de dicho fenograma muestra que la relación más estrecha correspondió a *L. insularis* y *L. c. texianus*. Destaca la inclusión de este último en el grupo compacto formado por las *L. californicus* de la Península con *L. insularis* y la separación de *L. callotis*, así como la mayor distancia entre todas las liebres con el conejo *Sylvilagus floridanus*.

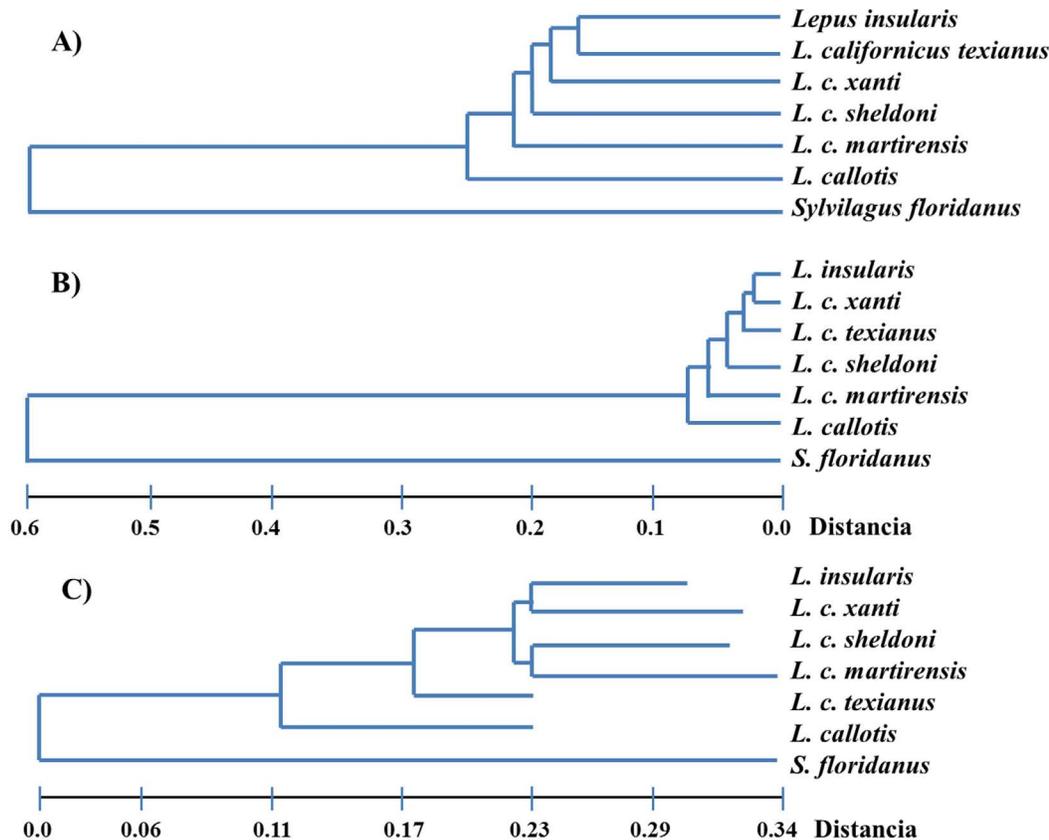


Figura 3. Fenogramas de distancia genética (Tabla 5) entre *Lepus insularis*, *L. californicus xanti*, *L. c. sheldoni*, *L. c. martirensis*, *L. c. texianus*, *L. callotis* y *Sylvilagus floridanus* de la Península de Baja California, Durango y Jalisco, México. A) UPGMA de Cavalli-Sforza y Edwards (1967; correlación cofenética = 0.993); B) UPGMA utilizando el índice de Nei (1978; correlación cofenética = 0.997); C) procedimiento de Wagner mediante el índice de Cavalli-Sforza y Edwards (1967; correlación cofenética = 0.998 y longitud total del árbol = 1.137).

Además, con la matriz de distancia genética de Nei (1978) se construyó otro fenograma empleando el método de UPGMA (Fig. 3B), el cual presentó un coeficiente de correlación cofenética de 0.998. La topología obtenida difiere ligeramente del fenograma construido con el índice de Cavalli-Sforza y Edwards (1967). En este fenograma se hace evidente la estrecha relación entre *L. insularis* y *L. c. xanti* por una parte y de *L. c. sheldoni* con *L. c. martirensis* por la otra, entre las que destaca la inclusión de *L. c. texianus*. Es notorio que no hay una correspondencia absoluta con el fenograma construido con el otro índice debido a que la rama de *L. c. texianus* se mueve. Sin embargo, se conservan los grupos formados por las subespecies de *L. californicus* y *L. insularis* por un lado y *L. callotis* ligeramente más separado, así como el conejo *S. floridanus*, formando una rama completamente separada de todas las liebres.

Finalmente, se elaboró un fenograma con el algoritmo de Wagner (Fig. 3C) empleando la matriz de distancia genética de Cavalli-Sforza y Edwards (1967), cuya topología no es concordante con el fenograma realizado con el método UPGMA. En dicho fenograma

se identifican dos grupos de liebres de la Península, uno de ellos formado por *L. insularis* y *L. c. xanti* y el otro formado por *L. c. sheldoni* y *L. c. martirensis*. Además, fuera de este grupo y con sus correspondientes ramas más cortas se desprenden *L. c. texianus* y *L. callotis*. *Sylvilagus floridanus* es la rama basal del fenograma y muestra una amplia separación del grupo de liebres.

Tabla 4. Índice de fijación (Fst de Wright's) de 23 loci polimórficos de *Lepus insularis*, *L. californicus xanti*, *L. c. sheldoni*, *L. c. martirensis*, *L. c. texianus*, *L. callotis* y *Sylvilagus floridanus* de la Península de Baja California, Durango y Jalisco, México. El símbolo * representa diferencia significativa ($P < 0.05$) según la prueba de chi-cuadrada.

LOCUS	Todos los taxa	Sin <i>L. callotis</i> ni <i>Sylvilagus</i>	Sin <i>L. californicus</i>
* LDH-1	0.609	0.255	0.700
* LDH-2	0.372	0.153	0.571
* MDH-2	0.676	0.082	0.700
* ME-1	0.223	0.201	0.250
* ME-2	0.364	0.126	0.345
* PGM-1	0.462		0.400
* PGM-2	0.068	0.030	0.077
* SOD-1	0.375		0.250
* SOD-2	0.091	0.054	0.112
* 6PGD	0.158	0.190	0.166
* GDH	1		1.00
* NP	0.512	0.444	0.455
* GOT-1	0.462		0.400
* SDH	0.6		0.455
* αGPD	1		1.00
* G6PDH	0.176	0.167	
* HK	0.839	0.167	0.778
* CK1	1		1.00
* CK2	0.481	0.444	
* ALB	0.283	0.370	0.136
* LA	0.232	0.082	0.250
* PAP	0.299	0.174	0.348
* LGG	0.947	0.04	1.00
Promedio	0.449	0.192	0.495

Discusión

Los cambios climáticos acontecidos desde finales del terciario, el desarrollo del desierto de Norteamérica de principios del Plioceno y la formación geológica del Golfo de California (Lawlor 1983), han provocado la formación de un complejo sistema de islas. Estos procesos produjeron relictos de poblaciones de mamíferos de gran interés científico (Orr 1960), de los cuales las poblaciones de lagomorfos insulares han sido poco estudiadas (Chapman *et al.* 1983). El aislamiento geográfico, los cuellos de botella

y la deriva genética pudieron haber sido responsables en gran parte de cambios en la variabilidad genética de estas taxa. En la mayoría de los casos, los cambios se pudieron haber dirigido hacia la reducción de la variabilidad genética. Este proceso ha sido documentado en otras especies de lagomorfos mexicanos (Lorenzo 1996) y en eventos de cuello de botella en poblaciones de roedores de la Cordillera de los Andes (Gallardo *et al.* 1995).

En este estudio, por ejemplo, el análisis de las frecuencias génicas, sin considerar a *S. floridanus* ni *L. callotis*, mostró que *L. c. xanti* fue la población con más alelos exclusivos (cuatro alelos), por lo que se considera la población más variable de acuerdo con este estimador. En contraste, la especie de Isla Espíritu Santo, *L. insularis*, fue la menos variable debido a que sólo presentó un alelo exclusivo. Esto es congruente con datos encontrados en otras poblaciones de liebres (Hartl *et al.* 1993; Lorenzo 1996) y heterómidos (Best y Janecek 1992), donde se obtuvieron más alelos exclusivos en poblaciones continentales de amplia distribución geográfica como *L. callotis*, *L. californicus*, *Dipodomys nitratoides* y *D. merriami*, que en especies aisladas o de distribución restringida como *L. flavigularis* y *D. insularis*. Se sabe que poblaciones de mamíferos de distribución restringida, probablemente fundadas por un pequeño número de individuos y de crecimiento lento, experimentan pérdida de alelos y la reducción en la heterocigosidad (Glover y Barret 1987). Lo anterior coincide con la distribución geográfica de *L. insularis* y *L. c. sheldoni*, ya que al igual que *L. flavigularis*, son poblaciones restringidas a un área geográfica relativamente pequeña (menor a 150 km²) y aisladas de sus poblaciones ancestrales por una barrera geográfica (Best 1996).

Población	<i>L. insularis</i>	<i>L. c. xanti</i>	<i>L. c. sheldoni</i>	<i>L. c. martirensis</i>	<i>L. c. texianus</i>	<i>L. callotis</i>	<i>S. floridanus</i>
<i>L. insularis</i>	-	0.015	0.028	0.040	0.022	0.064	0.576
<i>L. c. xanti</i>	0.178	-	0.031	0.041	0.027	0.064	0.583
<i>L. c. sheldoni</i>	0.194	0.211	-	0.030	0.027	0.060	0.602
<i>L. c. martirensis</i>	0.201	0.209	0.210	-	0.036	0.103	0.617
<i>L. c. texianus</i>	0.172	0.205	0.201	0.211	-	0.026	0.549
<i>L. callotis</i>	0.282	0.305	0.281	0.331	0.220	-	0.528
<i>S. floridanus</i>	0.595	0.592	0.595	0.607	0.579	0.578	-

Tabla 5. Matriz de distancia genética entre *Lepus insularis*, *L. californicus xanti*, *L. c. sheldoni*, *L. c. martirensis*, *L. c. texianus*, *L. callotis* y *Sylvilagus floridanus* de la Península de Baja California, Durango y Jalisco, México. Las cifras debajo de la diagonal corresponden a la distancia genética de Cavalli-Sforza y Edwards (1967) y arriba de dicha diagonal a la distancia genética de Nei (1978).

Por otra parte, las cantidades de alelos exclusivos en las demás poblaciones de liebres, *L. c. martirensis*, *L. c. sheldoni* (dos alelos, respectivamente) y *L. c. texianus* (tres alelos) también son bajas, lo cual es consistente con resultados de cariotipos de varias especies de liebres del género *Lepus* en el mundo (Lorenzo 1996). Lo anterior indica que el género *Lepus* es bastante conservador en su genoma, ya que presenta un mismo número

cromosómico diploide ($2n = 48$) y las diferencias se limitan al número fundamental.

En relación con el promedio de alelos por locus, los valores más altos se presentaron en *L. c. xanti*, *L. c. martirensis*, *L. c. texianus* (1.4 alelos por población), sin considerar a *L. callotis* ni a *S. floridanus*. Por el contrario, *L. insularis* y *L. c. sheldoni* nuevamente presentaron los promedios más bajos (1.3 alelos por población) con este estimador de variación genética. Lo anterior coincide con estudios realizados con roedores de los géneros *Peromyscus*, *Neotoma* (Awise et al. 1974), *Dipodomys* (Best y Janecek 1992) y *Ctenomys* (Gallardo et al. 1995). Los que han demostrado que las poblaciones aisladas, o remanentes de poblaciones grandes, que se han fragmentado por un efecto vicariante, presentan promedios de alelos por locus más bajos que sus respectivas contrapartes.

Por lo tanto, este patrón se repite con los valores de alelos por locus encontrados en el presente estudio en las poblaciones de liebres insulares, lo cual podría atribuirse al efecto del aislamiento geográfico. El tamaño de la población y a la interrupción del flujo genético, tal como lo reportó Gallardo et al. (1995) en su estudio sobre *Ctenomys* de América del Sur. Cervantes y Castañeda (obs. pers.) han observado que los lepóridos de islas del Golfo de California presentan poblaciones relativamente pequeñas y habitan en extensiones territoriales pequeñas (ver en este volumen el artículo de Lorenzo et al. 2012), lo que se confirma en el Archipiélago Espíritu Santo, de 112 km² y en Isla Carmen, con 151 km² (Gastil et al. 1983; Moctezuma y Serrato 1988). En ambas islas las condiciones orográficas con montañas escarpadas limitan el establecimiento de poblaciones de liebres. Estas islas no podrían mantener poblaciones grandes de estos mamíferos, lo cual se corrobora con la ausencia de mamíferos grandes como carnívoros. La disminución del promedio de alelos por locus se ha descubierto también en relictos de poblaciones de plantas fundadas por poblaciones pequeñas, como ocurrió con los lirios acuáticos brasileños (*Eichornia paniculata*) introducidas en Jamaica (Glover y Barrett 1987) y podría estar ocurriendo un proceso similar en la península de Baja California.

En relación con el promedio porcentual de loci polimórficos, sin considerar a *L. callotis* ni a *S. floridanus*, se encontró un valor más alto (61%) que en trabajos anteriores con lepóridos (Lorenzo 1996; Scribner y Warren 1986), lo cual se reflejó ligeramente en cada población, donde los porcentajes relativamente más altos (31 a 35%) se presentaron en *L. c. texianus*, *L. c. xanti* y *L. c. sheldoni*. Dichos porcentajes son similares a otros encontrados en poblaciones silvestres de lepóridos (Scribner y Warren 1986; Cervantes et al. 1999a; Lorenzo 1996) y de roedores del género *Ctenomys* (Gallardo et al. 1995). Por su parte, *L. insularis* presentó nuevamente el valor más bajo en cuanto al promedio porcentual de loci polimórficos de las poblaciones de liebres del presente estudio (19.2%), el cual es semejante al encontrado anteriormente en la liebre tropical *L. flavigularis* (22.6%) del Istmo de Tehuantepec (Lorenzo 1996), pero mayor al de *S. mansuetus* (8.7%) de Isla San José (Cervantes et al. 1999b). Este bajo polimorfismo de *L. insularis* se debe probablemente al aislamiento geográfico (Lawlor 1983), a la escasa amplitud de su distribución geográfica (Berry 1986) y a la influencia de estos factores abióticos sobre el tamaño de la población.

El promedio más alto de heterocigosidad media por conteo directo (0.009), sin contemplar a *S. floridanus* ni a *L. callotis*, se presentó en *L. insularis*. Este valor es alto en comparación con otros trabajos, y resulta poco común, ya que se ha documentado con *Peromyscus leucopus* y *Oryzomys palustris* que las frecuencias de heterocigotos

de poblaciones aisladas son más bajas que los de poblaciones de distribución amplia (Loxterman 1995). Estas frecuencias tienen una relación proporcional con el tamaño poblacional. De manera que se esperaba que *L. insularis* de distribución más restringida, presentara la población más pequeña y en consecuencia las frecuencias de heterocigotos más bajas, como ocurrió con la población de *L. c. sheldoni* (con valor de cero). Permanece por corroborar o refutar si en este caso existe selección a favor de heterocigotos o que el tiempo de aislamiento ha sido relativamente corto y no ha permitido la fijación de los loci estudiados.

Las demás poblaciones de liebres del presente estudio presentan una deficiencia de heterocigotos, la cual resulta poco común en poblaciones de mamíferos, si consideramos su amplia distribución geográfica, niveles de flujo genético y tamaño poblacional grande. Los valores de polimorfismo y heterocigosidad, de manera general, demostraron que existe una cantidad alta de alelos por locus y una deficiencia de heterocigotos en las poblaciones estudiadas. Como se ha observado en poblaciones de *L. europaeus*, la deficiencia en heterocigotos puede deberse también a la ocurrencia de alelos nulos no identificados (Hartl *et al.* 1993).

Por lo tanto, por presentar mayor número de alelos exclusivos, alelos por locus y mayor porcentaje de loci polimórficos, *L. c. xanti*, *L. c. texianus* y *L. c. martirensis* se consideran como las poblaciones genéticamente más variables del presente estudio. Asimismo, *L. insularis* y *L. c. sheldoni* son las menos variables por no presentar alelos fijos, así como por presentar niveles bajos de alelos por locus y porcentajes de loci polimórficos con respecto a las demás poblaciones. El hallazgo de que *L. insularis* y *L. c. sheldoni* presentan menor variación genética puede ser consecuencia del aislamiento geográfico a lo largo de su evolución en dos pequeñas islas localizadas en el Golfo de California. Ahí el flujo génico se cortó y pudieron estar sometidas a los efectos de deriva genética, como se ha observado en poblaciones de *Oryctolagus cuniculus* en Australia (Richardson *et al.* 1980) y en *L. flavigularis* en el Istmo de Tehuantepec (Lorenzo 1996), o a efectos relacionados con el proceso fundador, cuello de botella (Berry 1986; Wayne *et al.* 1991; Gallardo *et al.* 1995) o a su combinación. En relación con las demás poblaciones de *L. californicus*, su distribución amplia y fragmentada pudo ocasionar que cada una de ellas estuviera sujeta a presiones de selección particulares y, por lo mismo, que las diferencias genéticas se acentúen al habitar en localidades diferentes manteniendo niveles más altos de variación genética.

Los fenogramas derivados de las matrices de distancia genética de Cavalli-Sforza y Edwards (1967) y de distancia genética de Nei (1978), demostraron que las especies de liebres más similares son *L. insularis* y *L. c. xanti*, de acuerdo con lo que se esperaba por información de trabajos anteriores, ya que al parecer, *L. insularis* surgió como consecuencia de un evento vicariante de una población de *L. c. xanti* (Nelson 1909; Orr 1960), cuando la fracción de tierra que dio origen a la Isla Espíritu Santo se separó de la Península, llevándose un relicto de la población de liebres cola negra (Thomas y Best 1994). Asimismo, *L. c. sheldoni* y *L. c. martirensis* resultaron ser muy similares en los fenogramas derivados de las matrices de distancia genética, lo cual puede ser indicio de que la subespecie insular surge de una población relicta de *L. c. martirensis*. Por otra parte, destaca la inclusión de la rama de *L. c. texianus*; sin embargo, su similitud genética con *L. insularis* puede corresponder a un evento de evolución paralela, pues

se distribuyen en regiones alejadas en la Península de California. Otros marcadores moleculares y análisis detallados permitirán comprender mejor este escenario evolutivo. Por otra parte, como era de esperarse, los taxones menos relacionados entre sí fueron *L. callotis* y *S. floridanus*, debido a que pertenecen a géneros diferentes. Por ejemplo, la diferenciación genética ocurrida entre géneros fue alta ($F_{st} = 0.449$) comparada con otros lepóridos y roedores (Loxterman 1995).

Los valores obtenidos de los alelos exclusivos, alelos por locus, polimorfismo y heterocigosidad entre *L. c. xanti* y *L. insularis*, indican que existe una reducción en la variabilidad genética de la especie insular, la cual pudo ser causada por el aislamiento geográfico, aunado al tiempo de aislamiento y a la interrupción del flujo genético entre ambas poblaciones. Por otra parte, la reducción de la variabilidad genética medida con los mismos estimadores, entre *L. c. martirensis* y *L. c. sheldoni* es poco contundente, ya que se limita a la disminución en el promedio de alelos por locus y a la heterocigosidad. Isla Carmen (151 km²) es de mayor tamaño que Isla Espíritu Santo (99 km²) y el tiempo de aislamiento entre *L. c. martirensis* y *L. c. sheldoni* (35,000 años) es mayor que entre *L. c. xanti* y *L. insularis* (5,000 a 12,000 años).

En suma, los resultados del análisis aloenzimático de 26 loci exhibe divergencia genética entre las liebres peninsulares e insulares del presente estudio, lo que aunado a estudios previos sobre evolución cromosómica (Cervantes *et al.* 1999b) refuerza la idea de que el género de liebres *Lepus* es conservador en los cambios de su genoma. Asimismo, destaca que *L. insularis* es más parecida genéticamente a *L. c. xanti* que a cualquier otra población de liebres de cola negra, además de que su nivel de diferenciación genética es mínimo. Estudios de genética molecular del tipo de los microsatélites y la secuenciación ayudarían a evaluar esta diferenciación. Las distancias genéticas confirman que las muestras evaluadas de *L. c. sheldoni* y *L. c. martirensis* son aloenzimáticamente más similares entre sí que lo que cualquiera de éstas es con las demás poblaciones de liebres examinadas. Por lo tanto, estos resultados apoyan la propuesta original de que el aislamiento geográfico en islas influye en la diferenciación de especies insulares, y que *L. insularis* se diferenció de una población peninsular de *L. californicus*.

Agradecimientos

Diversas personas e instituciones auxiliaron a este proyecto con ayuda de campo, laboratorio, gabinete y financiamiento. Destacan J. Vargas Cuenca, Y. Hortelano Moncada, S. T. Álvarez Castañeda, A. Montiel, C. Lorenzo Monterrubio, G. Portales Betancourt, J. Martínez Vázquez, R. M. González y A. I. Montesinos Laffont, así como la Organización de Vida Silvestre A.C. y la Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. La Universidad Nacional Autónoma de México apoyó parcialmente este proyecto al través del programa PAPIIT y el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, México, brindó una beca de posgrado al segundo autor. Dos revisores anónimos revisaron críticamente este escrito.

Referencias

- ARITA, H. T., Y G. CEBALLOS.** 1997. Los mamíferos de México: distribución y estado de conservación. *Revista Mexicana de Mastozoología* 2:33-71.
- AVISE, J. C.** 1974. Systematic value of electrophoretic data. *Systematic Zoology* 23:465-481.
- AVISE, J. C., M. H. SMITH, Y R. K. SELANDER.** 1974. Biochemical polymorphism and systematics in the genus *Peromyscus*. VI. The *boyllii* species group. *Journal of Mammalogy* 55:751-763.
- BERRY, R. J.** 1986. Genetics of insular populations of mammals, with particular reference to differentiation and founder effects in British small mammals. *Biological Journal of the Linnean Society* 28:205-230.
- BEST, T. L., Y L. L. JANECEK.** 1992. Allozymic and morphologic variation among *Dipodomys insularis*, *Dipodomys nitratoides* and two populations of *Dipodomys merriami* (Rodentia: Heteromyidae). *The Southwestern Naturalist* 37:1-8.
- BEST, T. L.** 1996. *Lepus californicus*. *Mammalian Species* 530:1-10.
- CASE, J. T.** 1978. A general explanation for insular body size trends in terrestrial vertebrates. *Ecology* 59:1-18.
- CAVALLI-SFORZA, L. L., Y W. F. EDWARDS.** 1967. Phylogenetic analysis: models and estimation procedures. *Evolution* 21:550-570.
- CERVANTES, F. A., S. T. ÁLVAREZ-CASTAÑEDA, B. VILLA-R., C. LORENZO, Y J. VARGAS.** 1996. Natural history of the black jackrabbit (*Lepus insularis*) from Espíritu Santo Island, Baja California Sur, Mexico. *The Southwestern Naturalist* 41:186-189.
- CERVANTES, F. A., J. P. RAMÍREZ, A. MARÍN, Y B. G. PORTALES.** 1999a. Allozyme variation of cottontail rabbits (*Sylvilagus*) from Mexico. *International Journal of Mammalian Biology* 64:356-362.
- CERVANTES, F. A., A. ROJAS, C. LORENZO, Y S. T. ÁLVAREZ-CASTAÑEDA.** 1999b. Chromosomal differentiation between the jackrabbits *Lepus insularis* and *L. californicus* from Baja California Sur, Mexico. *Revista Mexicana de Mastozoología* 4:63-71.
- CHAPMAN, J. A., K. R. DIXON, W. LOPEZ-FORMENT, Y D. E. WILSON.** 1983. The New World jackrabbits and hares (genus *Lepus*). 1. Taxonomic history and populations status. *Acta Zoologica Fennica* 174:49-51.
- DIXON, K. R., J. A. CHAPMAN, G. R. WILLNER, D. E. WILSON, Y W. LOPEZ-FORMENT.** 1983. The New World jackrabbits and hares (genus *Lepus*). 2. Numerical taxonomic analysis. *Acta Zoologica Fennica* 174: 53-56.
- DURHAM, J. W., Y E. C. ALLISON.** 1960. The geologic history of the Baja California and its marine faunas. *Systematic Zoology* 9:47-90.
- FARRIS, J. S.** 1972. Estimating phylogenetics trees from distance matrices. *The American Naturalist* 106:645-667.
- FLUX, J. E. C., Y R. ANGERMANN.** 1990. The hares and jackrabbits. Pp. 61-94 in *Rabbits, Hares and Pikas: Status Survey and Conservation Action Plan* (Chapman, J. A., y J. E. C. Flux, eds.). International Union for the Conservation of Nature and Natural Resources, Gland, Suiza.

- GALLARDO, M. H., N. KÖHLER, Y C. ARANEDA.** 1995. Bottleneck effects in local populations of fossorial *Ctenomys* (Rodentia, Ctenomyidae) affected by vulcanism. *Heredity* 74:638-646.
- GASTIL, G., J. MINCH, Y R. P. PHILLIPS.** 1983. The Geology and ages of the Islands. Pp. 13-25 in *Island Biogeography in the Sea of Cortez* (Case, T. J., y M. L. Cody, eds.). University of California Press. Berkeley, EE.UU.
- GLOVER, D. E., Y S. C. H. BARRETT.** 1987. Genetic variation in continental and island populations of *Eichhornia paniculata* (Pontederiaceae). *Heredity* 59:7-17.
- HARRIS, H., Y D. A. HOPKINSON.** 1976. Handbook of enzyme electrophoresis in humans genetics. American Elsevier Publishing Company, Inc. New York, EE.UU.
- HARTL, G. B., F. SUCHENTRUNK, K. NADLINGER, Y R. WILLING.** 1993. An integrative analysis of genetic differentiation in the brown hare *Lepus europaeus* based on morfology, allozymes, and mitochondrial DNA. *Acta Theriologica* 38:33-57.
- LAWLOR, T. E.** 1983. **THE MAMMALS.** Pp. 265-287 in *Island Biogeography in the Sea of Cortez* (Case, T. J., y M. L. Cody, eds.). University of California Press. Berkeley, EE.UU.
- LORENZO, C.** 1996. Estudio sistemático de lagomorfos de México. Tesis Doctoral. Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad de México, México.
- LORENZO, C., A. CARRILLO-REYES, T. RIOJA-PARADELA, Y M. DE LA PAZ-CUEVAS.** 2012. Estado actual de conservación de liebres insulares en Baja California Sur, México. *Therya* 3:185-206.
- LOXTERMAN, J. L.** 1995. Allozymic variation in the marsh rice rat, *Oryzomys palustris*, and the white-footed mouse, *Peromyscus leucopus*, on the Virginia barrier islands and southern Delmarva Peninsula. M.S. thesis. Virginia Commonwealth University. Richmond, Virginia.
- MOCTEZUMA, B., Y M. SERRATO (EDS.).** 1988. Islas del Golfo de California. Secretaría de Gobernación y Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad de México, México.
- MURPHY, R. W., J. W. SITES, JR., D. G. BUTH, Y CH. H. HAUFLE.** 1990. Proteins I: Isozime Electrophoresis. Pp. 45-126 in *Molecular Systematics* (Hillis, D. M., y C. Moritz, eds.). Sinauer Associates, Inc. Publishers. Massachusetts, EE.UU.
- NEI, M.** 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89:583-590.
- NELSON, E. W.** 1909. The rabbits of North America. *North American Fauna* 29:1-314.
- ORR, T. R.** 1960. An analysis of the recent land mammals. *Systematic Zoology* 9:47-90.
- RAMÍREZ-SILVA, J. P., F. X. GONZÁLEZ-CÓZATL, E. VÁZQUEZ-DOMÍNGUEZ, Y F. A. CERVANTES.** 2010. Phylogenetic position of Mexican jackrabbits within the genus *Lepus* (Mammalia: Lagomorpha): a molecular perspective. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 81:721-731.
- RICHARDSON, B. J., P. M. ROGERS, Y G. M. HEWITT.** 1980. Ecological genetics of the wild rabbit in Australia. II. Protein variation in British, French and Australian rabbits and the geographical distribution of the variation in Australia. *Australian Journal of Biological Sciences* 33:371-383.

- SCRIBNER, K. T., y R. J. WARREN.** 1986. Electrophoretic and morphologic comparisons of *Sylvilagus floridanus* and *S. audubonii* in Texas. *The Southwestern Naturalist* 31:65-71.
- SWOFFORD, D. L., y R. B. SELANDER.** 1989. BIOSYS-1. A computer program for the analysis of allelic variation in population genetics and biochemical systematics. Release 1.7. Department of Genetics and Development. University of Illinois. Illinois, EE.UU.
- THOMAS, H. H., y T. L. BEST.** 1994. *Lepus insularis*. *Mammalian Species* 465:1-3.
- WAYNE, R. K., S. B. GEORGE, D. GILBERT, P. W. COLLINS, S. D. KOVACH, D. GIRMAN, y N. LEHMAN.** 1991. A morphologic and genetic study of the island fox, *Urocyon littoralis*. *Evolution* 45:1849-1868.

Sometido: 27 de abril de 2012
Revisado: 28 de mayo de 2012
Aceptado: 15 de agosto de 2012
Editor asociado: Consuelo Lorenzo
Diseño gráfico editorial: Gerardo Hernández