



---

# **DIFERENCIACIÓN GENÉTICA DE POBLACIONES DE VENADO COLA BLANCA (*Odocoileus virginianus* Boddaert)**

## **I. INTRODUCCIÓN**

El venado cola blanca (v.c.b.) (*Odocoileus virginianus*) se distribuye en toda la República Mexicana, exceptuando la Península de Baja California (Leopold, 1985). Al adaptarse a su medio las poblaciones de venado cola blanca han desarrollado algunas diferencias morfológicas. Estos parámetros fenotípicos han sido utilizados para definir 14 subespecies en la República Mexicana. Sin embargo, a la fecha no existe información sobre las posibles diferencias genéticas entre ellas.

El aumento en la densidad poblacional de algunas de estas subespecies como la texana, ha permitido que se realicen introducciones de estos individuos en áreas ocupadas por otras subespecies cuyas poblaciones son escasas, sin existir un estudio de las posibles implicaciones genéticas.

En la actualidad existen nuevas técnicas para definir con precisión diferentes características de especies y subespecies mediante el análisis del ADN mitocondrial (ADNmt) y nuclear, que definen las características genéticas de los individuos estudiados, apoyándose en la técnica de Reacción en Cadena de Polimerasa (RCP) (McShea *et al.*, 1997).

El ADN mitocondrial es maternalmente transmisible y tiende a ser diferente entre especies y subespecies. Además, normalmente las hembras de venado cola blanca presentan áreas de movimiento pequeñas de alrededor de 45-87 ha y su movimiento raramente excede los 3.5 Km. Es por esta razón que el ADNmt es adecuado para inferir la influencia de procesos históricos en diferenciación genética entre poblaciones, estimando niveles de flujo de genes mediados por hembras, y determinando la contribución reproductiva de hembras



---

a las poblaciones particulares (Hutchison *et al.*, 1974; Brown, 1983; Ive & Causey, 1981; citados por Ellsworth *et al.*, 1994).

La importancia de este trabajo radica en saber si individuos provenientes de las áreas de distribución de las subespecies *texanus*, *miquihuanensis* y *veraecrusis* de *Odocoileus virginianus* ubicadas en el noreste de México poseen diferencias genéticas reconocibles. Los resultados podrán ser utilizados por los tenedores del hábitat, investigadores, dependencias gubernamentales e instituciones para establecer criterios claros en los programas de traslocación y repoblación de venados en esta región.



---

## **II. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**

### **Hipótesis**

La variación fenotípica de subespecies de venado cola blanca del noreste de México no corresponde con las diferencias reconocibles en el ADNmt de los individuos.

Los individuos distribuidos en áreas cercanas entre sí, serán genéticamente más semejantes que los individuos distribuidos a mayor distancia.

### **Objetivo general**

Aumentar el grado de conocimiento sobre la genética de las poblaciones de venado cola blanca en el noreste de México.

### **Objetivos específicos**

Diferenciar los grupos de haplotipos presentes en individuos de venado cola blanca provenientes del noreste de México.

Determinar si la regionalización de las subespecies propuestas por Hall (1981) corresponde a diferencias genéticas.

Contribuir con información objetiva para la correcta toma de decisiones en cuanto a la posible movilización de individuos y sus posibles efectos.

### III. ANTECEDENTES

El venado cola blanca apareció hace aproximadamente 3 millones de años en Norteamérica (Geist, 1998). El registro más antiguo de subespecie del v.c.b. fue designado en la década de 1780, tres subespecies de v.c.b. fueron identificadas en los años de 1700's, 14 en los 1800's y 13 en los 1900's. La más reciente designación se dio en 1940, agregándose 7 subespecies en EE.UU. y México, incluyendo una subespecie en Sudamérica. En total se reconocen 30 subespecies en Norte y Centroamérica y 8 en Sudamérica. Todas fueron definidas con base en su morfología externa y coloración (Gerlach *et al.*, 1994).

El v.c.b. está ampliamente distribuido en el norte, centro y sur de América. Generalmente los individuos más grandes se presentan en latitudes más altas, y los venados pequeños viven en los climas tropicales. Otros parámetros morfológicos como densidad de pelo y color varían entre las poblaciones (Kark *et al.*, 1999).

En la República Mexicana, el v.c.b. se distribuye en todo el país excepto en la Península de Baja California (Hall, 1981) y en el norte del estado de Sonora (Schmid & Gilbert, 1979, citados por Ezcurra & Gallina, 1981). México cuenta con 14 subespecies de v.c.b. (*Odocoileus virginianus* Boddaert) (Hall, 1981): 1.- *Odocoileus virginianus acapulcensis* Canton, 2.- *O. v. carminis* Goldman y Kellogg, 3.- *O. v. couesi* Coues y Yarrow, 4.- *O. v. mexicanus* Gmelin, 5.- *O. v. miquihuanensis* Goldman y Kellogg, 6.- *O. v. nelsoni* Merriam, 7.- *O. v. oaxacensis* Goldman y Kellogg, 8.- *O. v. sinaloae* J.A. Allen, 9.- *O. v. texanus* Mearns, 10.- *O. v. thomasi* Mearns, 11.- *O. v. toltecus* Saussure, 12.- *O. v. truei*, 13.- *O. v. veraecrucis* Goldman y Kellogg y 14.- *O. v. yucatanensis* Hays.

El v.c.b. fue descrito por Leopold (1985) como pequeño, con una cola levantada verticalmente cuando corre. El color del cuerpo es grisáceo en el



invierno, café rojizo en verano y con vientre blanco; las astas del macho consisten en una rama central encorvada hacia delante con puntas individuales verticales y sin ramificar. El astado tiene generalmente entre seis y diez puntas, pero en algunas regiones suele presentar más de doce. La glándula metatarsal es de 25 mm o menor. La glándula preorbital de la esquina interior de cada ojo es pequeña, correspondiente a una penetración superficial en el cráneo.

Otras de las características que presenta el v.c.b. es que puede alcanzar velocidades de hasta 58 km/h (36 mph) y en áreas abiertas puede correr grandes distancias. Respecto a longitudes verticales llega a saltar hasta 2.6 m (8 ½ pies) y horizontales hasta 9 m (30 pies). El estómago del venado presenta cuatro compartimentos (omaso, rumen, retículo y abomaso), esto hace que tenga la capacidad de consumir una gran variedad de alimentos, obteniendo nutrientes directamente de ellos y otros sintetizados por los microbios simbiotes. El venado consume de 2.25 a 4 kg de alimento por día (Whitaker, 1997).

Según Leopold (1985) el v.c.b. que se distribuye en la República Mexicana presenta las siguientes medidas corporales: de cabeza a cuerpo, de 1,000 a 1,300 mm; la cola de 180 a 270 mm. El peso de animales vivos en los machos varía de 36 a 57 kg y en hembras es de 27 a 47 kg. Si se quita el estómago e intestinos, el peso se reduce 20% aproximadamente.

Halls (1984) reporta las siguientes medidas corporales: de nariz a cola 1,340 a 2,062 mm; largo de la cola 152 a 330 mm; pata trasera 362 a 521 mm; oreja 140 a 350 mm; altura a la cruz 660 a 1143 mm. Su peso puede alcanzar 98 kg, así mismo menciona que la talla corporal de hembras es más pequeña que la de machos. Geist (1998) menciona que la mayoría de los venados cola blanca que viven en altas densidades en climas tropicales y subtropicales son pequeños, los machos pesan menos de 50 kg y las hembras menos de 35 kg.

### **3.1. Generalidades sobre las subespecies *miquihuanensis*, *texanus* y *veraecrusis***

En el noreste de México (estados de Coahuila, Nuevo León y Tamaulipas) ocurren cuatro subespecies del género y especie *Odocoileus virginianus*: *O. v. carminis*, *O. v. miquihuanensis*, *O. v. texanus* y en la porción centro-sur del estado de Tamaulipas *O. v. veraecrusis* (Molina, 1994). Sin embargo, en la presente investigación se trabajó con las siguientes subespecies:

- 1) *Odocoileus virginianus miquihuanensis*,
- 2) *Odocoileus virginianus texanus* y
- 3) *Odocoileus virginianus veraecrusis*.

#### **1) *Odocoileus virginianus miquihuanensis***

La subespecie *miquihuanensis* (*Odocoileus virginianus miquihuanensis* Goldman & Kellogg, 1940) (Gerlach *et al.*, 1994) se distribuye en el centro-sur del estado de Nuevo León en los municipios de Dr. Arroyo, Mier y Noriega, Rayones, Galeana, Aramberri, Zaragoza, Hualahuises, Iturbide, Linares, China, General Terán, Montemorelos y en la parte sureste del estado de Tamaulipas colindando con el estado de Nuevo León, cubriendo los municipios de Villagrán, Burgos, Victoria, Llera, Hidalgo, Farias, Ocampo y Mante. La parte sur del área donde se distribuye esta subespecie comprende parte de los estados de Aguascalientes, San Luis Potosí, y Guanajuato.

Halls (1984) reporta una superficie de 174,142 km<sup>2</sup> del área ecológica de distribución del v.c.b. de la subespecie *miquihuanensis*. Dada su amplia distribución y su gran adaptabilidad, se le puede encontrar tanto en zonas semi-desérticas como en vegetación del tipo matorral mediano espinoso, áreas de pastizal, matorral alto espinoso, así como en los bosques de pino encino en la Sierra Madre Oriental (SEDUE, citado por Taméz, 1994).



---

Su hábitat presenta superficies topográficas relativamente planas en la parte del Altiplano Mexicano cuya altitud varía entre los 1,200 y 1,600 metros y parte de la Sierra Madre Oriental, cuyas alturas varían entre 1,400 y 2,500 metros.

El clima de esta región de acuerdo con Koeppen (1948) modificado para la República Mexicana (García, 1972, citada por Villarreal, 1995), corresponde al tipo BS seco estepario, con lluvias escasas predominantes en verano caracterizado por presentar precipitaciones pluviales medias anuales de 400 a 500 mm.

La parte sur del área donde se distribuye esta subespecie; comprende parte de los estados de Aguascalientes, San Luis Potosí, y Guanajuato, ocurriendo en esta área un clima de tipo templado, con lluvias de verano (Cw), caracterizado por precipitaciones pluviales medias anuales de 500 a 800 mm.

Los tipos de vegetación predominantes en esta región, de acuerdo a la clasificación propuesta por Rzedowski (1978) para la República Mexicana, corresponde principalmente a los denominados como: 1) Matorral xerófilo del Altiplano Mexicano y 2) Bosque de coníferas y *Quercus*, en algunas partes de la Sierra Madre Oriental.

Esta es una de las subespecies de venado cola blanca, en la que se han realizado estudios, enfocados principalmente hacia aspectos de ecología y fisiología en condiciones de cautiverio (Moreno, 1991), enfocados al comportamiento alimentario y su dieta invernal (Valdés, 1995).

## **2) *Odocoileus virginianus texanus***

La subespecie texana (*Odocoileus virginianus texanus* Mearns, 1898) (Gerlach *et al.*, 1994) se distribuye en el norte de los estados de Chihuahua, Coahuila, Nuevo León y Tamaulipas, encontrándose en el noreste del estado de



---

Chihuahua; en los municipios de Acuña, Zaragoza, Hidalgo y Guerrero en Coahuila; Anáhuac, Lampazos, Sabinas y Cadereyta en Nuevo León; Nuevo Laredo, Guerrero, Matamoros y Reynosa en Tamaulipas.

Villarreal (1999) basado en Halls (1984) reporta una superficie de 68,358 km<sup>2</sup> del área ecológica de distribución del venado cola blanca texano.

El hábitat de esta subespecie corresponde a superficies topográficas cuya altitud varía entre los 50 y 700 metros. En la parte del Altiplano Mexicano, se presenta en superficies topográficas cuyas alturas varían entre los 1,000 y 1,500 metros (Villarreal, 1995).

El clima de esta región de acuerdo a Koeppen (1948) modificado para la República Mexicana (García, 1972, citada por Villarreal, 1995), corresponde al tipo BS, seco estepario, con lluvias escasas predominantes en verano. Se caracteriza por presentar precipitaciones pluviales medias anuales de 200 a 300 mm en la parte correspondiente a Chihuahua y de 400 a 550 mm en la parte correspondiente a los estados de Coahuila, Nuevo León y Tamaulipas.

Los tipos de vegetación predominantes en esta región; de acuerdo con la clasificación propuesta por Rzedowski (1978) para la República Mexicana; corresponde al denominado como Matorral xerófilo.

El v.c.b. texano es de los más estudiados en los E.U.A. y en México, predominando estudios sobre: hábitos alimentarios (Quintanilla, 1989; Villarreal, 1986; Moreno *et al.*, 1990; Molina, 1994; Martínez *et al.*, 1997), requerimientos de hábitat y manejo (Ffolliot & Gallina, 1981), contenidos de nutrientes en dieta y condición física (Meyer *et al.*, 1984; Treviño, 1989; Gutiérrez, 1997) y productividad (Alcalá, 1988; Rodríguez *et al.*, 1998).

### **3) *Odocoileus virginianus veraecrusis*.**

En lo que respecta al v.c.b. *veraecrusis* (*Odocoileus virginianus veraecrusis* Goldman & Kellogg, 1940) (Gerlach *et al.*, 1994) se estima que esta subespecie se distribuye dentro de la provincia fisiográfica conocida como: Planicie Costera Sur Oriental e incluye, el estado de Tabasco; la parte norte, noroeste, oeste, suroeste y sur del estado de Chiapas, una porción de la parte este del estado de Oaxaca; la parte suroeste del estado de Campeche. El v.c.b. *veraecrusis* también se distribuye según Hall (1981) en el estado de Veracruz y en la parte centro-sur del estado de Tamaulipas.

Halls (1984) reporta una superficie de 134,206 km<sup>2</sup> como el área ecológica de distribución del v.c.b. *veraecrusis*. Su hábitat corresponde a superficies de topografía muy plana y uniforme, cuyas alturas predominantes varían entre los 0 a 200 metros (Villarreal, 1995).

El clima de esta región de acuerdo a Koeppen (1948) modificado para la República Mexicana (García, 1972, citado por Villarreal, 1995); corresponde principalmente al tipo Af caluroso tropical húmedo, con lluvias todo el año. Este clima se caracteriza por presentar precipitaciones pluviales medias anuales entre los 1,200 y 1,600 mm.

Los tipos de vegetación predominantes en esta región, de acuerdo a la clasificación propuesta por Rzedowski (1978) para la República Mexicana, corresponden en orden de importancia a los denominados como: 1) Bosque Tropical Perennifolio, 2) Bosque de Coníferas y *Quercus* y, 3) Bosque Tropical Caducifolio y Bosque Espinoso.

Mandujano (1998) menciona que la subespecie *veraecrusis*, es una de las menos estudiadas, por lo cual, es necesario hacer un mayor esfuerzo para conocer su biología y comportamiento.



### **3.2. Generalidades sobre el ácido desoxirribonucleico (ADN)**

En 1953, James Watson & Francis Crick formularon su famoso modelo de la estructura del ADN. El cual, consiste en dos cadenas paralelas conectadas. Cada cadena esta hecha de series interconectadas de componentes químicos llamados nucleótidos (Levine, 2000).

El ADN lleva la información específica para el desarrollo, diferenciación y funcionamiento del organismo. Los mismos genes se encuentran presentes en todas las células nucleares del organismo. Sin embargo, distintos genes entran en actividad en diversas etapas de desarrollo. En estas circunstancias la información contenida en el gene se descifra mediante un proceso de transcripción y de traducción y así se producen los diferentes tipos de proteínas. El contenido de una célula fecundada transporta la información necesaria para el desarrollo de un organismo destinado a contener en algún día a mil millones de células ( $10^{15}$ ). El ADN presente en una población específica constituye el almacén evolutivo que contiene toda la información relativa para esa especie (Gardner, 1988).

El ADN o material genético está constituido por cuatro elementos básicos llamados nucleótidos, de los cuales existen cuatro tipos que son adenina (A), guanina (G), citosina (C) y timina (T). La secuencia de estos nucleótidos constituye la clave genética para la formación, desarrollo y funcionamiento de los seres vivos, ya que codifican la producción de proteínas. Entre las proteínas se encuentran las enzimas, las cuales son responsables de síntesis y degradación de los demás componentes celulares, como proteínas, carbohidratos, grasas y ácidos nucleicos como el ADN (Watson *et al.*, 1992).

Las secuencias de nucleótidos constituyen el ADN, y éstas cuentan con segmentos codificadores (exones o secuencias de Tipo I) y no codificadores (intrones). En experimentos con ratones, los exones codifican para proteínas y ácidos nucleicos y constituyen el 10% del ADN genómico, estas secuencias son



únicas o se repiten muy pocas veces, mientras que los intrones constituyen el 70%. Dentro de los exones el 10% está formado por segmentos altamente repetitivos, un 20% por segmentos moderadamente repetitivos, siendo como secuencias del Tipo II. Es posible que parte de este ADN repetitivo sea *ADN chatarra*, siendo un vestigio evolutivo, teniendo la otra parte un significado funcional; las secuencias más altamente repetidas se denominan *ADN satélite*, y se cree que no codifica proteínas o ARN (Lehninger *et al.*, 1993).

Los microsatélites, presentan secuencias en las que la unidad que se repite es menor, por ejemplo de dos bases nitrogenadas (CT)<sub>n</sub>, donde el dinucleótido CT se puede repetir 10, 12, 18 o 22 veces, constituyendo los alelos (Usha *et al.*, 1995).

La teoría genética predice que los niveles de variación genética se incrementan con el tamaño de la población efectiva. Soulé, 1970 (citado por Frankham, 1996) reunió la primera evidencia convincente de que los niveles de variación genética en fauna silvestre se relacionaban con el tamaño de sus poblaciones. Sin embargo, este tema sigue siendo controversial.

Dos de los principios más importantes en genética son: (1) la información genética fluye de los genotipos a los fenotipos; y (2) la identidad de las unidades básicas de heredabilidad son mantenidas de generación en generación. La última fuente de variación genética es la mutación (cambios en genes o cromosomas), con recombinación genética en organismos sexuales permitidos por la amplificación y mezclas de variación genética en diferentes combinaciones. Las variaciones genéticas son vistas como un componente esencial para los sobrevivientes a largo plazo y la salud completa de especies y/o poblaciones (Honeycutt: <http://texnat.tamu.edu/Symp/genetics/p4.htm>).

La población mínima viable es una frase utilizada por manejadores al describir el mínimo de condiciones necesarias para mantener viable y



sobrevivientes de una población local a largo plazo (Honeycutt: <http://texnat.tamu.edu/Symp/genetics/p4.htm>.)

La heterocigosidad es una medición utilizada para determinar la extensión de la variación genética en un individuo y/o de una población. Por ejemplo, un gene con dos alelos idénticos (*DD*) puede ser considerado homocigoto. Generalmente la heterocigosidad para un individuo puede ser estimado por la totalidad del número de genes (o locus) para el cual el individuo es heterocigoto. Estudios previos han demostrado correlaciones entre heterocigosidad y fenotipos particulares y/o producción de rasgos característicos como desarrollo de estabilidad, crecimiento y desarrollo clasificado, eficiencia metabólica, fertilidad, supervivencia, y resistencia a enfermedades (Honeycutt : <http://texnat.tamu.edu/Symp/genetics/p4.htm>.)

El análisis de ADN antiguo puede proveer un protocolo directo del tiempo y modos de cambios genéticos dentro de poblaciones para así poder redefinir modelos de poblaciones extintas. Los depósitos con el mayor potencial genético están en los permanentes hielos árticos, cuevas de altas altitudes, y otras áreas frías, así como ambientes áridos. La combinación de información estatigráfica con datos de radiocarbono y el análisis de restos, proveen una escala temporal absoluta para observar mutaciones y procesos demográficos ocurridos dentro y entre las poblaciones (Wayne *et al.*, 1999).

### **3.3. Técnicas para la evaluación de características genéticas**

En la actualidad se están utilizando marcadores genéticos para identificar la diversidad biótica, determinación de líneas puras de poblaciones y especies, esclarecimientos de paternidades, conservación de especies en peligro de extinción y prevención de ciertas enfermedades. Con estos marcadores se estudian las variaciones en las moléculas por lo que se conocen como "marcadores genéticos moleculares" para diferenciarlo de los marcadores



entre poblaciones puede ponerse en práctica, utilizando marcadores de aloenzimas para estimar  $F_{ST}$  y los modelos de islas de Wright (1940) para transformar las estimaciones de  $F_{ST}$  dentro de estimaciones de  $Nm$ . Esta aproximación es considerada un método indirecto para estimar el flujo de genes, dado que modelos de población genética son requeridos para inferir la magnitud del flujo de genes de estos efectos en las distribuciones de marcadores genéticos (Wright, 1940; Wright, 1965; Slatkin, 1985; Lewontin, 1985; Slatkin, 1987; citados por Neigel, 1997).

En la mitad de los años 60's, Hubby y Lewontin introdujeron el uso del gel de electroforesis para medir la variación de proteínas naturales de *Drosophila*. Desde entonces, la variación genética ha sido estudiada utilizando gel de electroforesis en un amplio rango de organismos (Klug y Cummings, 1994).

Una de las técnicas mas comúnmente utilizada para el análisis taxonómico es la electroforesis de productos genéticos, como son las proteínas, donde los tejidos con grandes concentraciones de enzimas u otras proteínas son utilizadas para este proceso.

Los productos de los genes son examinados por diferencias en tamaño, carga y movilidad. Si dos formas de una enzima simple (isoenzimas), son detectadas, la investigación asume que genes diferentes codifican las dos formas de enzima. Pudiendo realizar comparaciones taxonómicas entre especies o subespecies basadas en el número de productos de genes que tienen en común (Smith & Rodees, 1994 en Gerlach *et al.*, 1994).

Los marcadores genéticos se pueden utilizar para identificación de animales, ya que son características estables durante toda la vida. Cabe mencionar que la diversidad de formas existentes o polimorfismo de los grupos sanguíneos es una característica importante para la identificación individual.



Además de los grupos sanguíneos existen otros tipos de marcadores, como los del Sistema Mayor de Histocompatibilidad (puesto de manifiesto por acciones inmunológicas) y los polimorfismos bioquímicos (enzimas, proteínas). Sin embargo, estas pruebas adolecen de ciertas limitaciones al momento de identificar a un individuo ("pruebas de exclusión") (Harrison, 1989; Niegel, 1997).

En la década de los 70's surgieron los primeros polimorfismos en las secuencias de ADN. Posteriormente, se desarrolló la técnica "Fingerprinting" (huella digital) de ADN, la cual, se basa en secuencias repetidas conocidas como microsatélites. Dicha técnica, consiste en la representación de un patrón de bandas, único y específico de un individuo, obtenido a partir del análisis de su ADN. Esta metodología permitió por vez primera contar con una prueba de inclusión (afirmándose la paternidad) (Harrison, 1989; Niegel, 1997).

La Reacción en Cadena de Polimerasa (RCP), fue descubierta por Kary B. Mullis (1985) quien obtuvo el Premio Nobel en Química por este trabajo. Siendo un método de amplificación enzimática de ADN (<http://www.encyclopedia.com/articles/10370DevelopmentandApplication.html>; Watson *et al.*, 1992). El método utiliza ciclos térmicos a millones de síntesis de copias de una secuencia objetivo de ADN de pocas moléculas de un patrón de ADN. La RCP ha revolucionado la biología molecular (Erlich, 1989, citado por McShea *et al.*, 1997) y la biología poblacional hasta el uso de marcadores genéticos igual a microsatélites y ADNmt. La sensibilidad de la RCP admite al ADN a ser amplificado de células simples.

El Método de RCP ha sido utilizado para detectar la presencia de mutaciones producidas *in vitro*, diagnósticos de desordenes genéticos, preparaciones para secuencias de ADN, identificación de virus y bacterias en enfermedades infecciosas, amplificación del ADN de fósiles, análisis de



---

defectos genéticos en gametos y células simples de embriones humanos y un anfitrión de otras aplicaciones (Klug *et al.*, 1994).

El método convencional de estudio de variabilidad genética es la electroforesis de proteína. Esta técnica consiste en la separación de proteínas en un gel matriz y tinte histoquímico; diferenciando su movilidad las variantes electroforéticas (aloenzimas).

Muestras puras de ADNmt pueden ser obtenidas directamente de pequeñas cantidades de tejidos con relativa facilidad para comparar secuencias homólogas de ADNmt de una amplia variedad de organismos. Aunque el ADN nuclear total es fácil de preparar, el aislamiento de las secuencias homólogas nucleares es más difícil y tiene necesidades de construcciones típicas y pantallas genómicas para cada individuo o especies involucradas (Harrison, 1989).

El ADNmt animal presenta notablemente la conservación del contenido de genes. Las moléculas del ADNmt para vertebrados, insectos y equinodermos incluyen 2 genes de ribosomas RNA (rRNA), 22 genes de transferencia de RNA, y 13 genes claves para involucrar proteínas en el transporte de electrones o síntesis de ATP. Cada molécula de ADNmt tiene una región control conteniendo secuencias que funcionan en iniciaciones de duplicaciones y transcripciones. El orden de genes esta conservado entre vertebrados, pero a través del phylum se indica que ha ocurrido una mejor disposición (Moritz *et al.*, 1987, citado por Harrison, 1989).

Las moléculas del ADNmt son excepcionalmente compactas, con pocas secuencias intergenicas, impidiendo la introducción de genes, excepto en la región control, existen pocos ejemplos de inserciones largas o duplicaciones. El tamaño de la molécula del ADNmt en animales varia dentro y entre especies,



---

presentándose rangos aproximados de 14 kilobases (kb) a más que 30 kb (Harrison, 1989).

El ADNmt es utilizado tradicionalmente en la mayoría de los estudios sobre poblaciones naturales, utilizando restricciones en las variaciones del sitio para valorar los patrones de variación. En éstas investigaciones, ya sea en el ADN genómico total o en el ADNmt purificado, son digeridos con una serie de endonúcleotidos de restricción que reconoce secuencias únicas de ADN (consistiendo de cuatro o seis nucleótidos). El ADN digerido es sometido a electroforesis en un gel de agarosa, y los fragmentos que resultan de la digestión son observados por la aplicación de "bromuro de etidio" o con auto radiografía (Cronin *et al.*, 1991; Ellsworth *et al.*, 1994). Posteriormente, se elabora un compuesto de haplotipos para los perfiles de digestión obtenidos con todos los endonucleótidos de restricción (Honeycutt: <http://texnat.tamu.edu/Symp/genetics/p4.htm>).

Alternativamente, se pueden secuenciar fragmentos amplificados por medio de la RCP de ADNmt conocidos en los venados como variables. Recientemente, Travis & Keim (1995) mostraron que los polimorfismos de un mechón sencillo de ADNmt puede ser usado para diferenciar subpoblaciones de venado mula en los alrededores del norte y el sur de el Grand Canyon (Travis & Keim, 1995; McShea, 1997; citados por Honeycutt: <http://texnat.tamu.edu/Symp/genetics/p4.htm>).

Las mitocondrias son pequeños organelos citoplásmaticos con varias capas internas. Se encuentran presentes en las células de los organismos eucariotes, pero no en bacterias ni virus. Las mitocondrias proporcionan a los animales y plantas superiores energía mediante procesos oxidativos del ácido cítrico y ciclos de ácidos grasos, así como los procesos combinados de fosforilación oxidativa y transportación de electrones. Además, contienen una pequeña cantidad de ADN que al parecer permaneció autónomo, es decir fuera



del genoma nuclear, a lo largo de toda la historia evolutiva de animales y plantas (Gardner, 1988).

Los locus de microsatélites fueron descritos en 1989 por Weber & May. Siendo una nueva clase de marcadores de ADN que evitan los anteriores criticismos de aloenzimas. Los microsatélites son segmentos cortos de ADN que contienen una forma simple de reproducción de nucleótidos, tales como la reproducción de dinucleótidos  $d(GT)n$  o la reproducción de trinucleótidos  $d(TCC)n$ . La reproducción de  $d(GT)n$  ocurren aproximadamente 75,000 veces en mamíferos y son colocados en un patrón al azar muy grande a través de un genoma base de 3- billones; otras formas de reproducción ocurren en menos frecuencias (McShea, 1997, citado por Honeycutt: <http://texnat.tamu.edu/Symp/genetics/p4.htm>).

La clasificación de subespecies es indudablemente más claro en papel que en campo. Wallmo (1981, citado por Gerlach *et al.*, 1994) comenta que la clasificación del venado puede ser arbitraria. Las subespecies aparecieron del aislamiento genético de la primer especie y de la selección genética impuesta por diferentes ambientes. El mismo autor comenta, que "una subespecie esta mejor adaptada a su propio hábitat y menos adaptada para existir en el hábitat de otra subespecie".

Harrington (1978, citado por Gerlach *et al.*, 1994) dirigió los beneficios de la clasificación anatómica, concluyendo que hay poca información disponible para establecer las relaciones entre venados. Recientes avances en estudios genéticos y de electroforesis han ayudado a establecer nuevos grados de relaciones, sin embargo, algún día podrá clarificarse las relaciones entre el género de los ungulados (Harrington, 1978; Wallmo, 1981; Krausman, 1994; citados por Gerlach *et al.*, 1994).



### **3.4. Estudios genéticos realizados en venado y otras especies**

La utilización más común del ADN ha sido dirigida sistemáticamente hacia especies extintas, siendo demostrado en un estudio del extinto lobo de Tasmania (*Thylacinus cynocephalus*), un marsupial análogo del lobo gris que desapareció a mediados del siglo veinte (Thomas *et al.*, 1989, citados por Wayne *et al.*, 1999).

En la actualidad, con los avances en el conocimiento de la ecología, bioquímica, hibridación, inmunología y genética, los investigadores han incluido nuevos criterios en un esfuerzo para obtener especies y subespecies, relaciones de familias, y evolución de ordenes. Para el venado de Norteamérica, el comportamiento puede ser justamente tan importante como el tamaño de su cuerpo y la configuración de sus astas. De acuerdo con algunos investigadores, el color del pelo es uno de los criterios más importantes en su clasificación (Krausman, 1994, citado por Gerlach *et al.*, 1994).

Cada animal tiene una combinación genética única e irreproducible. Esta puede ser cuantificada a través del uso de marcadores genéticos. Los perfiles obtenidos mediante esta metodología permiten la implementación de programas para la priorización de áreas para conservación, manejo, reintroducciones y manutención del germoplasma de la especie de interés (Leberg *et al.*, 1994, Kark *et al.*, 1999), pudiendo también realizarse comparaciones taxonómicas entre especies o subespecies basadas en el número de aminoácidos sustituidos o diferentes secuencias que se observan en el ADNmt (Smith *et al.*, 1994, citados por Gerlach, 1994).

Geist, 1994 (citado por Gerlach *et al.*, 1994) menciona que Cronin (1988) estudió los genes mitocondriales (ADNmt) en venados del estado de Montana, y Carr *et al.*, 1986, realizaron algo similar en Texas, donde las poblaciones de venados bura y cola blanca se traslapan, siendo los pioneros en la investigación de genética de poblaciones de venados.



El v.c.b. provee un excelente ejemplo para estudios detallados de variación genética a nivel micro y macro geográficos. Esta especie dividida en 30 subespecies distribuidas en las regiones Neártica y Neotropical, muestran una organización social similar a más mamíferos polígamos (Baker, 1984, citado por McShea *et al.*, 1997).

Algunas diferencias raciales entre las poblaciones de v.c.b. pueden ser genéticamente contrastantes en su especie. Por lo cual, las razas o subespecies están restringidas a varias amplitudes fisiológicas y morfológicas. Por ejemplo, los biólogos de vida silvestre y manejadores tradicionales explican diferentes tallas entre subespecies en función de la nutrición, calidad del hábitat y densidad poblacional (Halls, 1984).

Estudios recientes sugieren que los patrones de diversidad genética influyen significativamente en la viabilidad y persistencia de poblaciones locales (Vrijenhoek, 1994; Frankham, 1996; Riddle, 1996; Lacy, 1997; citados por Kark *et al.*, 1999). La identificación y mapeo de patrones espaciales y diversidad genética intraespecífica pueden ser vitales cuando se definen criterios para priorización de áreas de conservación.

Las diferencias entre subespecies ocurren obviamente por muchas de las características fenotípicas del venado, pero las bases genéticas para la diferenciación taxonómica de subespecies no son lo bastante conocidas. Seis subespecies localizadas en la costa de Florida, Texas y Virginia, han sido estudiadas electroforéticamente no detectándose entre las subespecies niveles significativos de diferenciación genética con alelos fijos (Halls, 1984).

El v.c.b. tiene un alto nivel de variabilidad genética similar al de algunos mamíferos mayores. Baccus *et al.*, (1983) reportan que la variabilidad genética entre 10 especies de ungulados no parece estar correlacionada con la talla del cuerpo. Todas las especies de mamíferos silvestres con alta heterocigosidad



ocurren en grandes áreas y ocupan una variedad de hábitats. Sin embargo, algunas especies con baja heterocigosidad, como es el oso negro, tienen parte de estas características (Manlove *et al.*, 1980; Baccus *et al.*, 1983; citados por Halls, 1984).

En general, los locus que contribuyen más a la variabilidad genética del v.c.b. son de sólo dos alelos. La betahemoglobina es el locus más estudiado en venado presentando seis alelos (Kitchen *et al.*, 1967; Huisman *et al.*, 1968; Kitchen, 1969; Taylor *et al.*, 1972; Harris *et al.*, 1973; Manlove *et al.*, 1976; Smith *et al.*, 1976; Taylor & Easley, 1977; Ramsey *et al.*, 1979; citados por Halls, 1984).

Halls (1984) menciona un estudio realizado con v.c.b. utilizando 35 locus. De éstos, 27 presentaron solo un alelo. La mayoría de ellos (71%) en mamíferos tienen un alelo.

Carr *et al.* (1986) estudiaron poblaciones simpátricas de v.c.b. y venado bura (*Odocoileus virginianus* y *Odocoileus hemionus*, respectivamente) en el oeste de Texas, los cuales comparten una restricción común del genotipo del ADNmt. Los análisis genéticos indican que este tipo es más característico de *O. virginianus* que de *O. hemionus*. El genotipo del venado del oeste de Texas difiere del *O. virginianus* del Sur de Carolina por 5 eventos mutacionales (1.39% de secuencias divergentes), mientras que difiere del *O. hemionus* de California en 17 eventos (55% de divergencia). Estos investigadores, sugirieron que la hibridación interespecífica está ocurriendo, primariamente entre el venado bura macho y el v.c.b., con absorción preferencial de la prole dentro de la pila genética del venado bura. La hibridación introgresiva puede comprender el desplazamiento actual del venado bura por el v.c.b. en el oeste de Texas.

Breshears *et al.* (1988) estudiaron la variabilidad genética de 36 locus del v.c.b. en el Sur de Carolina. Evaluaron el promedio de heterocigosidad de



multilocus (H), el porcentaje de locus polimórfico (P) y el número promedio de alelos por locus (A) calculándolo y comparando dichos valores con resultados de ejemplares de diferentes localidades (SRP de venado H=9.9 %, P 0.05=30.6 %, A=1.89; promediando el venado cola blanca: H=10.4 %, P 0.05=32.3 %, A=1.94). La distribución de los valores de frecuencia por locus con heterocigosidad simple (H) y el número de alelos por locus para venado cola blanca puede ser significativamente diferente al de los mamíferos en general. El análisis de locus simples son datos basados en estructura cuaternaria y grupos funcionales de proteínas faltando demostrar diferencias esperadas como predicción de la literatura. El v.c.b. tiene un alto nivel de heterocigosidad, sin embargo, no exhibe mucho de su historial de vida y de características ambientales asociadas con alta heterocigosidad en otros animales.

Cronin *et al.* (1991) estudiaron la heterogeneidad espacial del ADNmt y de aloenzimas entre poblaciones de v.c.b. y venado bura de la cadena montañosa de Montana. Encontrando que la diferenciación de las subpoblaciones de v.c.b. fue significativo para dos locus de aloenzimas pero no para el ADNmt, y el grado total de diferenciación fue bajo. El flujo de genes, fundamenta recientemente a las subpoblaciones, y la estructura de crianza poligama pudo haber contribuido totalmente a este modelo. Gran diferenciación fue evidente entre poblaciones disyuntas que entre subpoblaciones contiguas por el ADNmt y un locus de aloenzimas.

Derr (1991) utilizando electroforesis de proteínas estimó el grado de intercambio genético entre el v.c.b. (*Odocoileus virginianus*) y el venado bura (*Odocoileus hemionus*) en áreas simpátricas del suroeste de Estados Unidos. La variación alélica de 25 genes locus fueron presumiblemente encontrados en 201 venados de 31 localidades. Sin embargo, menciona que la hibridación inter específica ha sido previamente documentada con ambos marcadores, el nuclear y el mitocondrial. Otras áreas simpátricas en el suroeste muestran poca evidencia de introgresión del gen nuclear. No obstante, la hibridación fue



evidente en algunas localidades con 2.0% del v.c.b. y 1.7% de heterocigosidad del venado bura en uno de 2 diagnósticos del locus nuclear.

Ballinger *et al.* (1992) examinaron 30 locus de aloenzima y 35 sitios de restricción de ADNmt en 24 venados cola blanca y 46 venados bura en una zona de hibridación en el oeste de Texas. Un genotipo común de ADNmt se presentó en todos los venados bura y 67% en el v.c.b. El locus de albumina, se presentó en 13% de los v.c.b. y 24% en venados bura heterocigotos, partiendo de alelos que son juiciosos; el 7% del venado bura es homocigoto para el alelo que es característico del v.c.b. alopátrico. El flujo del gene aparentó haber sido bidireccional, con gran introgresión genética en venado bura. Los datos del ADNmt sugieren que hubo una unión entre el venado bura y el v.c.b. en el pasado. No obstante, la evidencia de introgresión genética con el análisis de genotipos multilocus indican que ninguno de los venados examinados fue un híbrido F1.

Ellsworth *et al.* (1994) estudiaron la diferenciación genética y el flujo de genes entre poblaciones de v.c.b. encontrando que la proporción de variación del ADNmt es atribuible a diferencias entre poblaciones ( $G_{st} = 0.621$ ) excediendo todos los valores derivados por permutaciones (media de 100 pruebas=0.136, valor máximo=0.187) indicando un alto nivel diferenciado de ADNmt entre poblaciones. En la prueba para la heterocigosidad geográfica entre poblaciones vecinas se detectan diferencias ( $P < 0.001$ ) en la frecuencias de todos los ADNmt haploides dentro de todos los subgrupos de poblaciones examinadas.

Estudios genéticos utilizando marcadores nucleares y mitocondriales de ADN, han mostrado alguna subdivisión genética en los rangos del v.c.b. y han sido benéficos en la identificación de regiones de hibridación interespecífica entre el v.c.b. y el venado bura (*Odocoileus hemionus*) (Carr *et al.*, 1986, Derr 1991). Estudios de ADNmt y de aloenzimas (Ellsworth *et al.*, 1994), han



mostrado que, para la mayor parte de los patrones de subdivisión genética en v.c.b. del sureste de los EE.UU. no corresponden a la subdivisión taxonómica en términos de reconocer subespecies. Por otra parte, Cronin (1992, citado por McShea *et al.*, 1997) determinó las características genotípicas del v.c.b. en diferentes regiones de Norteamérica, utilizando el análisis de restricción de enzimas de ADNmt.

Halls (1984) menciona que los niveles de variabilidad genética difieren considerablemente a través de poblaciones de v.c.b. Los valores de heterocigosidad varían más que el número de alelos por locus y la proporción de locus polimorficos.

Ellsworth *et al.* (1994) investigaron la influencia de eventos históricos biogeográficos para examinar los patrones de variación en el ADNmt en v.c.b. aprovechados cinegéticamente en el continente y en poblaciones isleñas en el sureste de E.U.A. Poblaciones mayores de 60 km pero menores de 170 km estaban compuestas de 35 haplotipos ADNmt. Ahí se presentó un alto grado de variación geográfica en la frecuencia de haplotipos del ADNmt entre grupos, aún entre vecinos. Este descubrimiento no fue consistente con la hipótesis de distancia de aislamiento. Tampoco lo fue con subespecies y grupos definidos por designaciones filogenéticas de ADNmt previamente definidas (definición taxonómica basada en su morfología), una norma también observada por Cronin (1991).

El ADNmt del venado bura de las Montañas Rocosas y de v.c.b. en Montana fue muy similar, y ambos divergen grandemente del ADNmt del venado cola negra. El alelo albumina del v.c. negra está estrechamente ligado con aquellos del venado bura (Cronin, 1991). Mientras que aquel del venado bura y v.c.b. son diferentes (Van Test & Cowan, 1966; Gavin & May, 1988; citados por Geist, 1998).



El ADNmt es maternalmente transmisible y tiende a ser variable entre especies. Por esta razón es adecuado para inferir la influencia de procesos históricos en la diferenciación genética entre poblaciones, estimando niveles de flujo de genes cercanos por hembras, y determinando la contribución reproductiva de hembras en las poblaciones particulares (Hutchison *et al.*, 1974; Brown, 1983; citados por Ellsworth *et al.*, 1994).

Las zonas de transición ecológica (ecotonos) pueden ser parte fundamental en el mantenimiento de las generaciones de la biodiversidad. La selección divergente puede producir diferenciaciones morfológicas en la presencia de un alto flujo de cruza de genes entre poblaciones contiguas con el modelo de especialización divergencia con flujo de genes. La divergencia morfológica es también generada en escalas geográficas pequeñas que tienen una dispersión potencial y un flujo de genes a través de gradientes ambientales. Los ecotonos pueden servir como sitios importantes de diversidad genética entre rangos de especies y pueden garantizar una alta conservación (Peterson, 1995; Smith *et al.*, 1997; citados por Kark *et al.*, 1999).

Los estudios para determinar diferencias genéticas no únicamente se han desarrollado en los venados cola blanca, sino también en especies que representan un valor biológico, ecológico y económico para el ser humano, siendo éstas especies las que a continuación se mencionan, así como los estudios que se han realizado:

Wayne *et al.* (1992) examinaron la variabilidad en el ADNmt en 26 poblaciones de lobo existentes a lo largo de toda su área de distribución geográfica. Encontrando que la diferenciación genética entre las poblaciones existentes en la actualidad, puede ser un fenómeno reciente que refleja una larga historia de aislamiento genético, declinación poblacional y fragmentación del hábitat.

Waits *et al.* (1998a) obtuvieron datos de secuencias de 294 nucleótidos de la región control del ANDmt de 317 osos café (*Ursus arctos*) en Norteamérica. Para examinar su historia evolutiva y evaluar la divergencia genética entre individuos de diferentes regiones geográficas, detectaron 28 secuencias únicas o haplotipos de ADNmt. El porcentaje de secuencia divergente entre haplotipos fue alto (4.3%) y algunos haplotipos difirieron en 23 nucleótidos. Los análisis filogenéticos utilizando la máxima parsimonia revelaron cuatro grupos mayores de ADNmt filogeográfico. La estructura filogeográfica significativa detectada en osos café contrasta fuertemente con resultados obtenidos en otros carnívoros mayores y sugiere un flujo genético limitado, mediado por las hembras.

Los autores mencionan que los grupos de ADNmt filogeográfico no se correlacionan con clasificaciones taxonómicas de *Ursus arctos*, proponiendo la hipótesis que los grupos fueron formados antes de las migraciones de esta especie hacia Norteamérica.

Waits *et al.* (1998b) utilizaron la técnica de la RCP para amplificar el ADNmt de 169 osos café (*Ursus arctos*) y realizar una comparación de la diversidad genética en Norteamérica.

Estudios previos de filogeografía en poblaciones naturales han demostrado que pequeños mamíferos con baja movilidad, como la ardilla de bolsillo (*Genomys pinteis*), generalmente presentan una estructura filogeográfica significativa de ADNmt, y mamíferos con alta movilidad como el coyote (*Canis latrans*); alce (*Alces alces*), caribu (*Rangifer tarandus*) y oso negro (*Ursus americanus*), presentan poca o ninguna estructura filogeográfica de ADNmt (Avice *et al.*, 1979; Lehman & Wayne, 1991; Cronin *et al.*, 1991; Cronin, 1992; citados por Waits *et al.*, 1998b).



---

En España se realizó un estudio genético mediante marcadores de microsatélites de poblaciones de cabra montés, con la finalidad de precisar las características genéticas de la cabra bucardo (*Capra pyrenaica pyrenaica*), la cual, presenta alto riesgo de extinguirse. El objetivo fue determinar la población más polimórfica y similar genéticamente para cruzarse con ésta. Mediante en el análisis filogenético los autores encontraron que los bucardos más parecidos fueron el de Tortosa y el de Muela de Cortés, que serían los candidatos para una hibridación con el ejemplar de *C. p. pyrenaica* (Jiménez *et al.*, [:http://etsia.upv.es/acteon/njimenez.htm](http://etsia.upv.es/acteon/njimenez.htm)).

Utilizando la técnica de RCP, Talbot *et al.* (1996) observaron que el ADN de microsatélites detectados originalmente en ovejas y ganado bovino también fueron detectados en el wapitii (*Cervus elaphus*) en Norteamérica. Estos autores, han desarrollado un porcentaje de pruebas en wapitii utilizando siete marcadores de microsatélites que son altamente polimórficos e informativos.

En una colecta sistemática de heces fecales de coyote (*Canis latrans*) en el sur de California, permitió a investigadores tener una mayor exactitud en estimaciones del tamaño poblacional, radio sexual, y patrones de movimiento que no fueron aparentes en un estudio con radiotelemetría (Kohn *et al.*, 1999 citados por Wayne *et al.*, 1999).

## **IV. MATERIALES Y METODOS**

### **4.1. Ubicación de las áreas de estudio**

Las áreas de colecta de las muestras de piel (39), hígado (16) y corazón (11) de los venados cola blanca fueron ranchos particulares registrados como UMA's (Unidades para la Conservación, Manejo y Aprovechamiento Sustentable de la Vida Silvestre), donde se realizó aprovechamiento cinegético durante la temporada 2000-2001. Algunas muestras de astas (14), huesos (4) y piel se colectaron durante los meses de junio y julio de 2001, sumando 48 ranchos ubicados en los estados de Coahuila (2), Nuevo León (29) y Tamaulipas (17) (Tabla I). Las zonas de muestreo se ubican en la región del noreste de México, principalmente en la Gran Llanura de Norte América, la Provincia de la Llanura Costera del Golfo Norte y parte de la Provincia de la Sierra Madre Oriental.

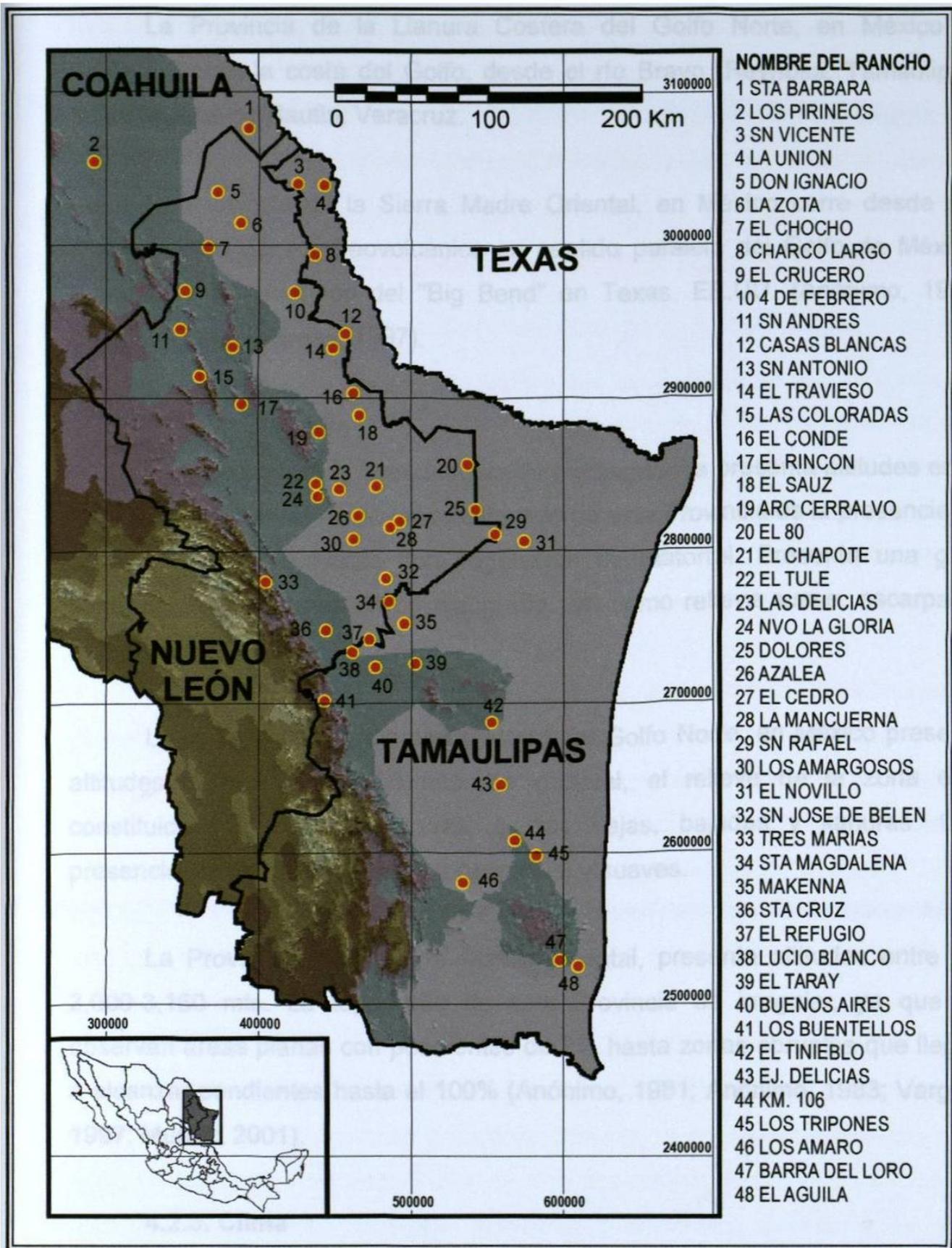
Las áreas de muestreo y sus coordenadas geográficas se muestran en la tabla I y se observan en la figura 1:

### **4.2. Descripción de las áreas de estudio**

#### **4.2.1. Fisiografía**

Las áreas de estudio (48 ranchos), se ubican dentro de las Provincias Fisiográficas Gran Llanura de Norteamérica, correspondiendo a la Subprovincia de Llanuras de Coahuila y Nuevo León, Llanura Costera del Golfo Norte y la Sierra Madre Oriental.

La Provincia de la Gran Llanura de Norteamérica, en México se extiende desde el norte de Coahuila atravesando el norte de los estados de Nuevo León y Tamaulipas, siendo la Subprovincia de Llanuras de Coahuila y Nuevo León, la única presente en México.



**Figura 1** Ubicación geográfica de las áreas de colecta.

La Provincia de la Llanura Costera del Golfo Norte, en México se extiende sobre la costa del Golfo, desde el río Bravo (Reynosa, Tamaulipas) hasta la zona de Nautla, Veracruz.

La Provincia de la Sierra Madre Oriental, en México corre desde sus límites con la del eje neovolcánico en sentido paralelo del Golfo de México, terminando en la región del "Big Bend" en Texas, EE.UU. (Anónimo, 1981; Anónimo, 1983; Vargas, 1997).

#### **4.2.2. Topografía**

La Provincia de la Gran Llanura de Norteamérica presenta altitudes entre los 105-1,000 mts. El rasgo más destacado de esta Provincia es la presencia de amplias llanuras cubiertas con vegetación de matorral. Presenta una gran variedad de pendientes en su topografía, así como relieve suave, escarpado, abrupto y casi planos.

La Provincia de la Llanura Costera del Golfo Norte, en México presenta altitudes entre los 150-500 mts. En general, el relieve de la zona está constituido por lomeríos suaves, sierras bajas, bajadas y llanuras. Con presencia de pendientes rectas (precipicios) y suaves.

La Provincia de la Sierra Madre Oriental, presenta altitudes entre los 2,000-3,160 mts. La topografía de esta Provincia es irregular, ya que se observan áreas planas con pendientes de 2% hasta zonas abruptas que llegan a alcanzar pendientes hasta el 100% (Anónimo, 1981; Anónimo, 1983; Vargas, 1997; Muñoz, 2001).

#### **4.2.3. Clima**

La Provincia de la Gran Llanura de Norteamérica, presenta principalmente climas secos, semisecos y semicálidos subhúmedos en pequeñas áreas. Estos tipos de clima se caracterizan por su baja humedad y



escasa precipitación, ocasionados por la influencia de vientos secos en la zona, exceptuando de esta característica la porción sur, donde debido a la influencia de las masas de aire húmedo el clima es semicálido subhúmedo. La precipitación en esta provincia oscila entre los 300 y 700 mm anuales, con una temperatura en media anual de 22°C, con mínimas de 13°C y máximas de 32°C medias mensuales (Anónimo, 1981; Anónimo, 1983; Vargas, 1997; Muñoz, 2001).

La Provincia de la Llanura Costera del Golfo Norte, presenta climas de tipo semicálidos subhúmedos como dominantes, aunque en una área reducida en el noroeste presenta un clima seco. Presentándose una precipitación que oscila entre los 600 y 1,000 mm anuales, y una temperatura media anual de 18°C y 22°C, con mínimas de 14°C y máximas de 30°C medias mensuales (Anónimo, 1981; Anónimo, 1983; Vargas, 1997; Muñoz, 2001).

La Provincia de la Sierra Madre Oriental, presenta una distribución de climas complejo, ya que ocurren los tipos secos, extremosos, semisecos, templados y semicálidos. Esto se debe a la diferencia de altitudes presentes en la cadena montañosa, presentándose una precipitación que oscila entre los 200 y 1,200 mm anuales, y una temperatura media anual entre los 12°C y 22°C, con mínimas de bajo 0°C y máximas de 29°C medias mensuales (Anónimo, 1981; Anónimo, 1983; Vargas, 1997; Muñoz, 2001).

#### **4.2.4. Suelos**

En la Provincia de la Gran Llanura de Norteamérica, predominan suelos de tipo xerosol lúvico, cálcico y háplico. Otros tipos de suelos presentes pero poco desarrollados en esta Provincia son los regosoles del tipo calcárico y éutrico asociados con litosoles, rendzinas y xerosoles. Debido a su gran diversidad de topomorfias, también se encuentran suelos vertisoles crómicos y pélicos entre otros.

En la Provincia de la Llanura Costera del Golfo Norte, los suelos que predominan son los vertisoles profundos de color oscuro. La diversidad de asociaciones ocasiona una gran variedad de suelos, encontrándose rendzinas con litosol, suelos someros limitados por caliche, regosoles, rendzinas, xerosoles háplicos, cálcicos y lúvicos, profundos y de color claro. Aflorando principalmente sedimentos marinos no consolidados (arcillas, arenas y conglomerados).

La Provincia de la Sierra Madre Oriental, presenta suelos predominantes de tipo litosol, los cuales, presentan menos de 10 cm de profundidad, además de rendzinas. Asociados a estos, se encuentran regosoles calcáricos, xerosoles cálcicos, háplicos, feozem calcárico y luvisol crómico. En las zonas de lomeríos, bajadas y llanuras se presentan los xerosoles háplicos y cálcicos profundos (Anónimo, 1981; Anónimo, 1983; Vargas, 1997; Muñoz, 2001).

#### **4.2.5. Vegetación**

En la Provincia de la Gran Llanura de Norteamérica, los dos tipos de vegetación característicos son el matorral espinoso tamaulipeco y mezquital, sin embargo, también se presenta matorral submontano, matorral desértico micrófilo, vegetación halófila, pastizal natural e inducido y una pequeña porción de selva baja perennifolia.

Las especies más representativas son: *Prosopis glandulosa* Torr. var. *torreyana* M.C., *Acacia rigidula* Benth., *Guaiacum angustifolium* (Engelm.) Gray., *Cercidium macrum* I.M. Johnst., *Acacia berlandieri* Benth., *Acacia famesiana* (L.) Benth, *Castela Turp. erecta* (T.&G.) Cronq., *Leucophyllum frutescens* (Berl.) I.M. Johnst. y *Karwinskia humboldtiana* (R.&S.) Zucc.

En la Provincia de la Llanura Costera del Golfo Norte, los tipos de vegetación que dominan en llanuras y lomeríos son matorral submontano y matorral espinoso tamaulipeco. También se encuentran bosques de encino,



encino-pino y pino en los sitios mas altos, mezquiales y manchones pequeños de bosque espinoso caducifolio en algunas planicies.

Las especies más representativas son: *Acacia rigidula* Benth., *Prosopis glandulosa* Torr. var. *torreyana* M.C., *Guaiacum angustifolium* (Engelm.) Gray., *Acacia berlandieri* Benth., *Parkinsonia aculeata* L., *Eysenhardtia texana* Scheele, *Acacia wrightii* Benth., *Acacia greggii* Gray, *Acacia farnesiana* (L.) Willd., *Quercus canbyi* Trel., *Helietta parvifolia* (A. Gray) Benth., *Forestiera angustifolia* Torr., *Havardia pallens* (Benth.) Britton & Rose, *Neopringlea integrifolia* (Hemsl.) S. Wats., *Zanthoxylum fagara* (L.) Sarg. y *Fraxinus greggii* Gray.

La Provincia de la Sierra Madre Oriental, presenta una gran diversidad de tipos de vegetación entre los cuales se encuentran bosques de pino, encino, pino-encino, matorral desértico rosetófilo, matorral desértico micrófilo, matorral submontano, matorral de coníferas, chaparral, pastizal natural e inducido, esta gran diversidad de ecosistemas se da por la combinación de características del suelo, topografía y climas.

Las especies más representativas son: *Pinus cembroides* Zucc., *Pinus pseudostrobus* Lindl., *Pinus hartwegii* Lindl., *Quercus intricata* Trel., *Quercus greggii* (A. DC.) Trel., *Quercus mexicana* (H.&B.), *Fraxinus greggii* Gray, *Acacia berlandieri* Benth., *Acacia farnesiana* (L.) Willd., *Leucaena greggii* S. Wats., *Juniperus flaccida* Schlecht., *Arbutus jalapensis* H.B.K., *Yucca filifera* Chabaud, *Rhus virens* Gray (Anónimo, 1981; Anónimo, 1983; Vargas, 1997; Muñoz, 2001).

#### **4.2.6. Fauna silvestre**

La fauna silvestre que se encuentra distribuida dentro del área de estudio de la presente investigación es muy diversa, presentándose especies que representan distinto tipo de interés para el ser humano como el económico, ecológico, cultural y social.



Entre las especies más comunes que se encuentran relacionadas con el hábitat del v.c.b. (*Odocoileus virginianus* Boddaert) se encuentran los mamíferos como: el puma (*Puma concolor stanleyana* Goldman), gato montés (*Lynx rufus texensis* Mearns), coyote (*Canis latrans microdon* Say), mapache (*Procyon lotor fuscipes* Mearns), jabalí de collar (*Pecari tajacu angulatus* Dalquest), marrano salvaje (*Sus scrofa*, especie introducida) y en las áreas montañosas el oso negro (*Ursus americanus eremicus* Merriam.); entre las aves se encuentran la paloma alas blancas (*Zenaida asiática* Linnaeus), la huilota (*Zenaida macroura* Linnaeus), codorniz nortea (*Colinus virginianus* Linnaeus), codorniz crestiblanca (*Callipepla squamata*), guajolote silvestre (*Meleagris gallopavo* Linnaeus), cardenal (*Cardinalis cardinalis*), Cenzontle (*Mimus polyglottos* Linnaeus), aguililla (*Buteo jamaicensis* J.F. Gmelin), zopilote (*Coragyps atratus* Bechstein), aura (*Cathartes aura* Linnaeus), correcominos (*Geococcyx californianus* Lesson) y entre los reptiles se encuentran la víbora de cascabel (*Crotalus lepidus lepidus* Kennicot), tortuga del desierto (*Gopherus berlandieri* Agassiz), entre otros.

### **4.3. Metodología de investigación**

#### **4.3.1. Selección de las áreas de estudio**

El área de estudio comprende ranchos ubicados en los estados del noreste de México, principalmente en Coahuila, Nuevo León y Tamaulipas, seleccionándose aquellos que presentaban el registro correspondiente ante la SEMARNAT (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales) como UMA's. Además para seleccionar las áreas de estudio se contó con el apoyo logístico y económico del Consejo Estatal de Flora y Fauna Silvestre de Nuevo León, A.C., la Unión Ganadera Regional de Nuevo León a través de ANGADI Delegación Nuevo León, la SEDUE del estado de Tamaulipas y CEMEX (Cementos Mexicanos), organizaciones que administran y asesoran a propietarios de UMA's.



Ampliación DNA polimerasa; 30  $\mu$ l de agua esterilizada y 2 gotas de aceite mineral. La reacción se realiza en un termociclador de RCP, el cual facilita el uso de reacciones múltiples. El termociclador deberá alcanzar la temperatura de 96°C durante 2 minutos. Posteriormente se introducen los tubos con la mezcla de reacción por 5 minutos a la misma temperatura. La mezcla total de la reacción se amplifica a 35 ciclos bajo las siguientes condiciones: a) Desnaturalización, 45 segundos a 94°C; b) Emparejamiento, 30 segundos a 54°C; c) Extensión, 2 minutos a 72°C ; → Finaliza, se establece a 4°C.

Para comprobar la amplificación del ADN, este se corre en gel de agarosa al 0.8%, depositándose en los carriles de migración 2  $\mu$ l de ADN por muestra, complementándose con 40 o 50  $\mu$ l de agua destilada. Del testigo se toma 1  $\mu$ l y se agregan 2  $\mu$ l del colorante fluorescente azul más el agua; las muestras se corren en la cámara de "electroforesis". Posterior, a la tinción con bromuro de etidio del gel de agarosa al 0.8%, se fotografía en el Eagle eyes (Figura 3).

Los productos de la RCP fueron purificados con QIAquick™ PCR Purification Kit Protocol. Para comprobar la purificación del ADN se corre en gel de agarosa al 0.8%, depositando en los carriles de migración 2  $\mu$ l de ADN por muestra purificada y se complementan de 40 a 50  $\mu$ l con agua destilada. Del ladder se toma 1  $\mu$ l, agregando colorante fluorescente azul 1.5  $\mu$ l, más el agua; corriéndose las muestras en la cámara de "electroforesis". Posteriormente, a la tinción con bromuro de etidio del gel de agarosa al 0.8%, este se fotografía en el Eagle eyes (Figura 4).

Para el corrimiento de las secuencias del ADNmt se utiliza la RCP. Se preparan 10  $\mu$ l de mezcla de reacción que consiste en lo siguiente: 1  $\mu$ l de ADN mt purificado; 1  $\mu$ l del iniciador (2 pm/ $\mu$ l); 2  $\mu$ l de Bigdye; 1.8  $\mu$ l de 5x Seq. Buffer; 4.2  $\mu$ l de HOH (agua esterilizada) y una gota de aceite mineral, ésta mezcla es para cada iniciador (LGL283 y LGL1115). El termociclador deberá



primero, alcanzar la temperatura de 96°C durante 2 minutos. A la mezcla total de la reacción se le realiza la secuencia por 32 ciclos bajo las siguientes condiciones: a) Desnaturalización, 30 segundos a 96°C; b) Emparejamiento, 15 segundos a 50°C; c) Extensión, 4 minutos a 60°C; donde finaliza el proceso y se establece a 4°C.

El ADN fue purificado, antes de ser analizadas las muestras en el AB1373A automatizado DNA Sequencher (ABI, Foster City, Calif.).

El ADN se centrifuga con vacío en el Speed Vac Concentrator, posteriormente cada muestra de ADN se puso a 96°C por 3 minutos, de cada muestra se toma 1.1 µl de ADN y se deposita en el AB1373A automatizado DNA Sequencher por 8 horas.

La información obtenida de las secuencias fueron importadas dentro de Sequencher™ 3.0 Tutorial (1995) (Gene Code Corporation, Ann Arbor, MI) y alineadas utilizando un parámetro de reconocimiento >85% de identificación de secuencias. De la alineación de las secuencias se analizó un segmento de 598 pb (pares de bases) de cada individuo y los haplotipos fueron identificados por diferencia en la secuencia de nucleotidos.

Las relaciones filogenéticas entre los grupos de haplotipos fueron analizadas mediante el método de neighbor-joining de Kimura de dos parámetros en el programa computacional PAUP \* 3.11 (Swofford, 1990), también, se determinaron las distancias de los datos de la matriz para los haplotipos por medio de Kimura de dos parámetros. Utilizándose además, el programa computacional MEGA V.2.1 (Molecular Evolutionary Genetics Analysis, versión 2.1) (Kumar *et al.*, 2001), para determinar las relaciones filogenéticas entre los haplotipos.

Para determinar la diferencia dentro y entre las poblaciones se utilizó el programa computacional Arlequin ver 2.0 (Schneider *et al.*, 2000) (con un nivel



---

de significancia  $\alpha= 0.05$ ). Determinando la frecuencia de los haplotipos por subespecie por medio de la prueba de neutralidad selectiva de Ewens–Watterson (Ewens, 1972); así como, la diversidad de genes por subespecie (Nei, 1987). Para el análisis entre poblaciones se utilizó la  $F_{ST}$  (F-estadística de la frecuencia de los haplotipos) (Wright, 1978, citado por Schneider *et al.*, 2000) así como el análisis de diferenciación de muestras basada en frecuencia y secuencia de los haplotipos (Raymond & Rousset, 1995).

Mediante el programa Arlequin ver 2.0 (Schneider *et al.*, 2000) se determinaron los cambios presentados en los nucleótidos entre dos secuencias tomadas al azar.



NJ

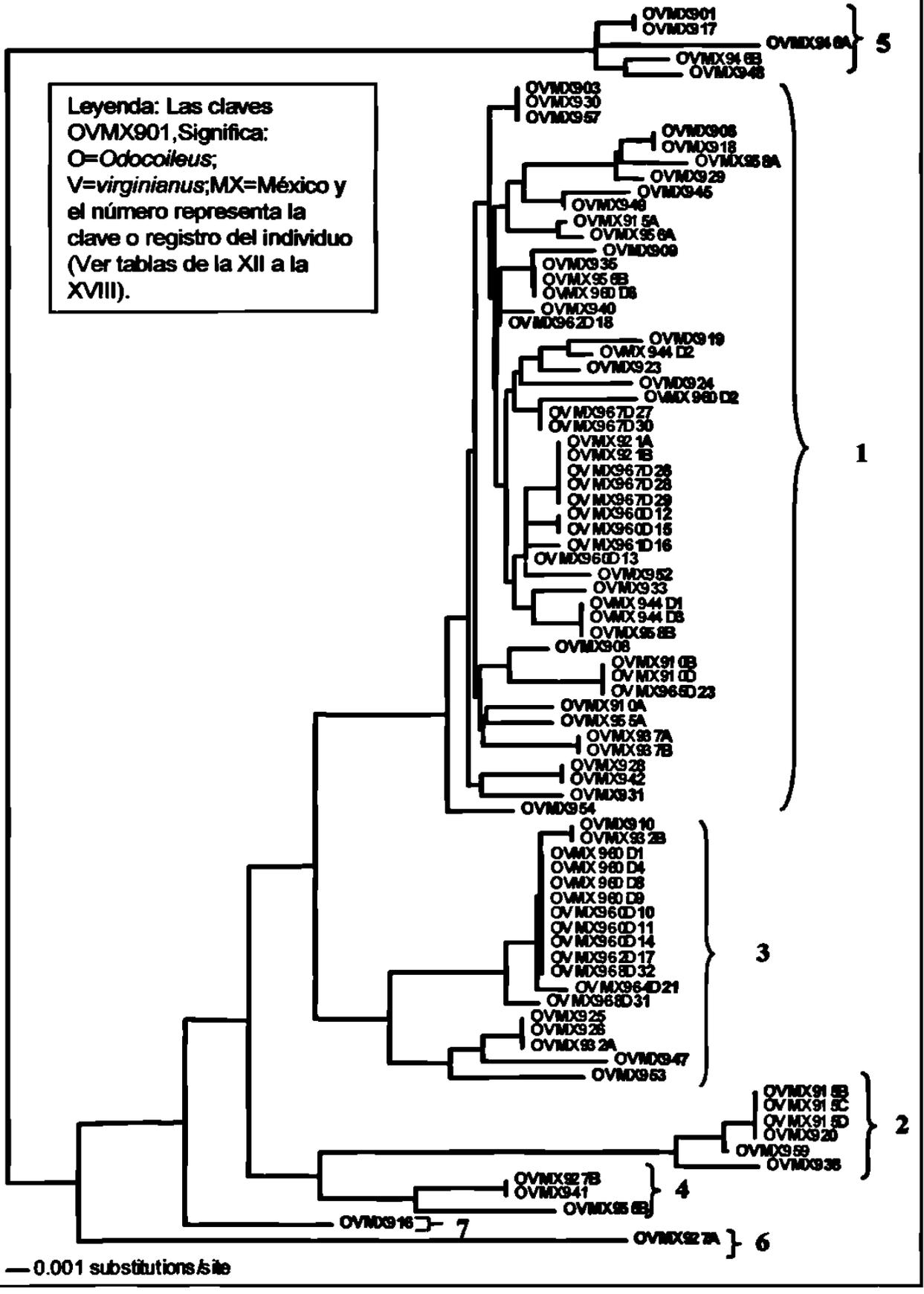


Figura 5. Análisis filogenético de los 7 grupos de haplotipos del v.c.b. del noreste de México. Árbol obtenido del Neighbor-joining Kimura de dos parámetros en PAUP\* 3.11.



La tabla II muestra los individuos analizados de la subespecie *texanus* (Figura 13) con sus grupos de haplotipos 1 (Figura 6), 2 (Figura 7), 3 (Figura 8), 4 (Figura 9), 5 (Figura 10) y 6 (Figura 11); la subespecie *miquihuanensis* se presentó en los grupos 1, 3 y 7 (Figura 12). La subespecie *veraecrusis*, presentó los grupos de haplotipos 1, 3, y 5.

En los anteriores resultados, se observó que los individuos muestreados de la subespecie *texanus*, pertenecen al mayor número de grupos de haplotipos y a su vez la mayor diversidad. Sin duda, el elevado número de muestras contribuyó a este resultado.

En lo referente a las características mitocondriales, las subespecies *miquihuanensis* y *veraecrusis* presentaron el mismo número de grupos de ANDmt con 3, dos de los cuales se observaron en ambas subespecies (1 y 3) y el grupo de haplotipo 5 en la subespecie *veraecrusis*. El haplotipo 7 se presentó en la subespecie *miquihuanensis*. Resulta interesante que las características mitocondriales del v.c.b. *miquihuanensis*, son muy homogéneas entre los individuos a pesar de que el muestreo fue relativamente alto. Los individuos de la subespecie *veraecrusis* al parecer presentaron una mayor diversidad genética con relación a la *miquihuanensis*.

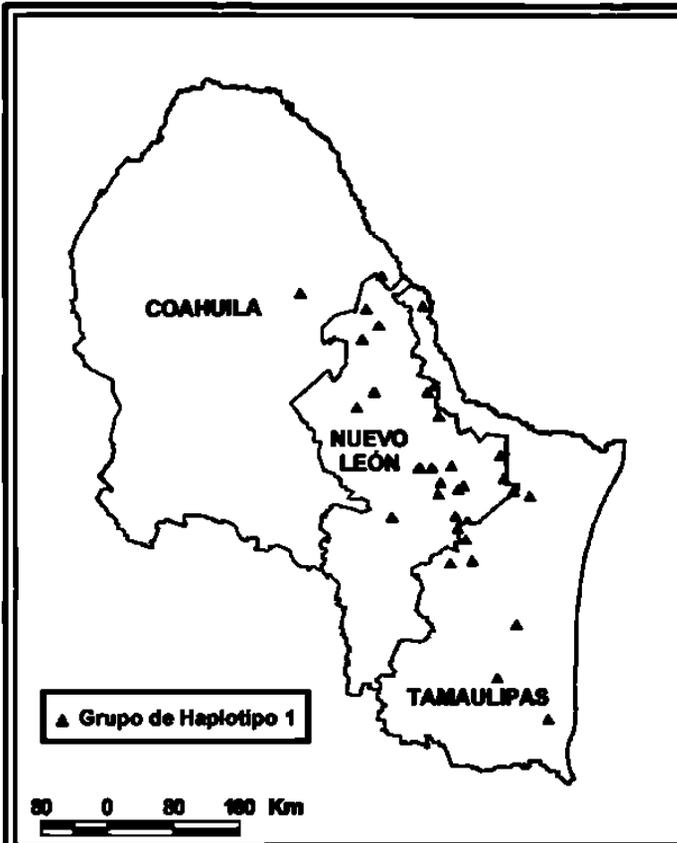


Figura 6 Ubicación geográfica de los individuos de venado cola blanca pertenecientes al grupo de haplotipo 1.



Figura 7 Ubicación geográfica de los individuos de venado cola blanca pertenecientes al grupo de haplotipo 2.

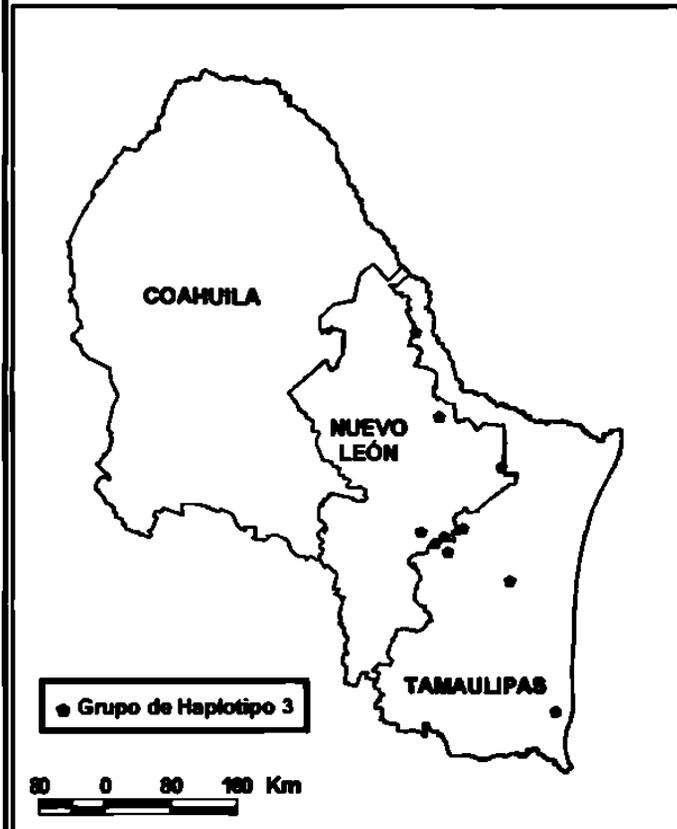


Figura 8 Ubicación geográfica de los individuos de venado cola blanca pertenecientes al grupo de haplotipo 3.



Figura 9 Ubicación geográfica de los individuos de venado cola blanca pertenecientes al grupo de haplotipo 4.



Figura 10 Ubicación geográfica de los individuos de venado cola blanca pertenecientes al grupo de haplotipo 5.



Figura 11 Ubicación geográfica de los individuos de venado cola blanca pertenecientes al grupo de haplotipo 6.



Figura 12 Ubicación geográfica de los individuos de venado cola blanca pertenecientes al grupo de haplotipo 7.



La figura 13, muestra los 7 grupos identificados en el análisis realizado en PAUP\* 3.11, donde se observó que en la parte central con dirección Este en el estado de Nuevo León y en la parte Oeste de Tamaulipas, se presentaron dos grupos principales de haplotipos (1 y 3), observándose estas características en su mayoría en ejemplares de la subespecie *texanus* en los límites del sur y en la subespecie *miquihuanensis*.

Existen indicios de que durante las épocas glaciales, se produjo una fragmentación en las poblaciones del v.c.b. ubicadas en el sureste de EE.UU., pudiendo haber sido subdivididas durante el Pleistoceno por rangos de fragmentación (Cronin *et al.*, 1991), creándose varios núcleos de poblaciones. Este proceso natural de aislamiento pudo presentarse en la zona de Nuevo León y Tamaulipas mencionada en el párrafo anteriormente y representada en la figura 16, zona II. Concentrándose las poblaciones de los venados en zonas que presentaban una mejor calidad de hábitat para su subsistencia; creándose núcleos de poblaciones en aquellas áreas donde existían importantes fuentes de agua y de alimento. Esto posiblemente trajo como resultado que los individuos presentaran características genéticas semejantes, como la presencia de los dos grupos de haplotipos en la zona mencionada.

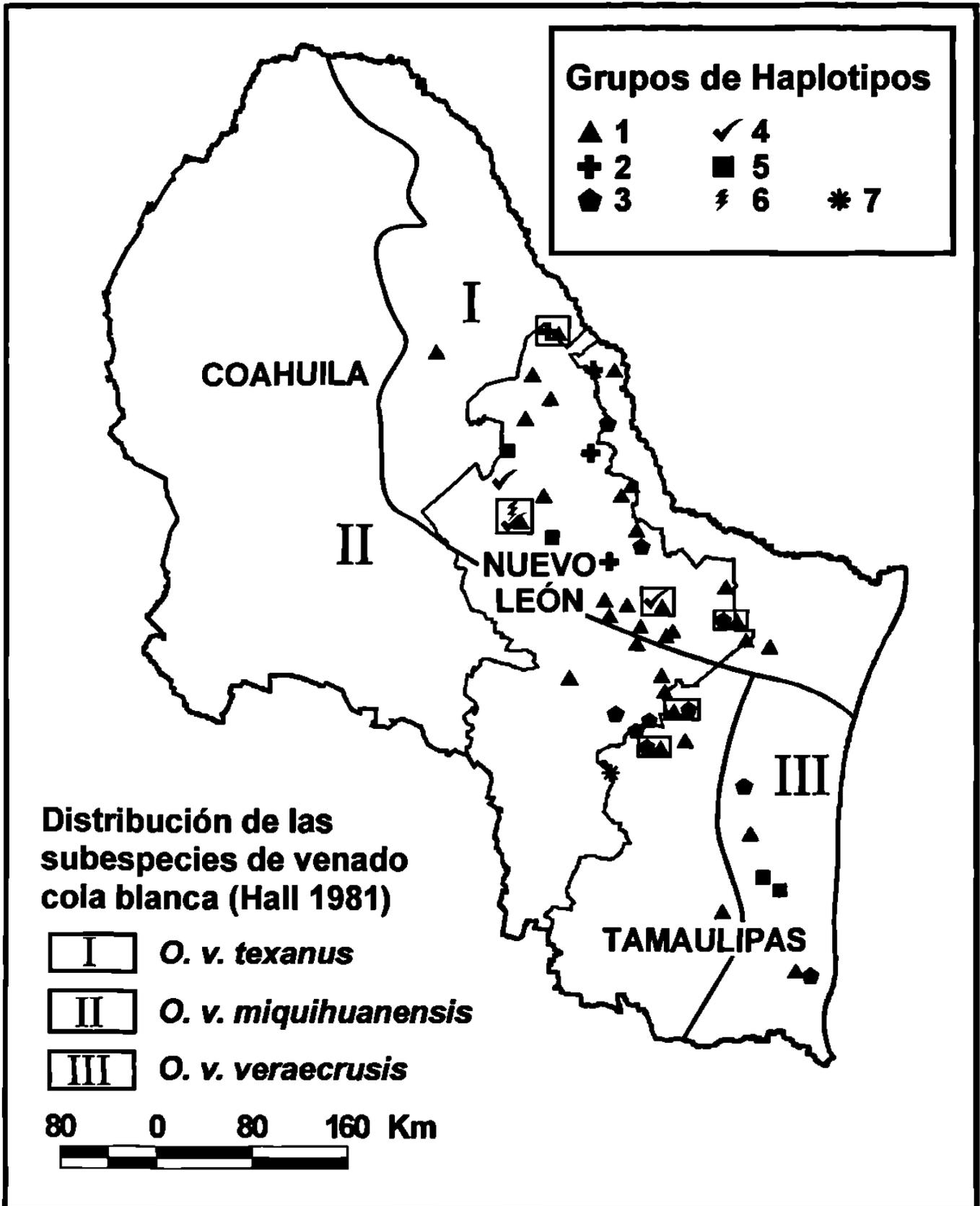
Algunos estudios genéticos, han mostrado alguna subdivisión genética en los rangos del v.c.b. como los estudios de ADNmt y de aloenzimas, éstos han demostrado que los patrones de subdivisión genética en el v.c.b. del sureste de los EE.UU., no corresponden a la subdivisión taxonómica en términos de reconocer subespecies (Ellsworth *et al.*, 1994 citados en McShea *et al.*, 1997).

En forma particular, dentro de los individuos presuntamente de la subespecie *miquihuanensis* se presentó el individuo OVMX916 (Figura 12-Tabla VIII), con características mitocondriales diferentes al total de los individuos muestreados, localizándose en la Sierra Madre Oriental (SMO) donde se



---

presentan condiciones de hábitat distintas a las presentes en las planicies. En este aspecto, es probable que dicha característica puede presentarse en ejemplares de la SMO, por lo que, se recomienda continuar con las colectas y los análisis correspondientes en dicha región, para así poder definir y conocer a ciencia cierta, si esta característica se distribuye en la SMO.



**Figura 13** Distribución general de los 7 grupos de haplotipos de las poblaciones de venados cola blanca del noreste de México.



Para determinar si existían diferencias significativas en las frecuencias de los haplotipos entre las subespecies del v.c.b. se utilizó la  $F_{ST}$  (F-estadística de la frecuencia de los haplotipos), este análisis evalúa las diferencias entre las poblaciones o subespecies analizadas en forma de distancias genéticas; la que es definida por Wright (1978, citada en Lou, 1998) de la siguiente manera: El rango de 0 a 0.05 indica poca diferencia genética significativa; de 0.05 a 0.15 indica una moderada diferenciación genética; de 0.15 a 0.25 indica una gran diferenciación y arriba de 0.25 indica una diferenciación muy elevada (con un nivel de significancia  $\alpha= 0.05$ ), obteniéndose los resultados de la tabla III.

Tabla III. Valores de  $F_{ST}$  entre las subespecies de v.c.b. considerando la frecuencia de los haplotipos.

<b>Subespecies</b>	<b><i>texanus</i></b>	<b><i>miquihuanensis</i></b>	<b><i>veraecrusis</i></b>
<b><i>texanus</i></b>	0	—	--
<b><i>miquihuanensis</i></b>	0.074	0	—
<b><i>veraecrusis</i></b>	0.108	0.090	0

Estos resultados, indican una diferencia significativa moderada, en frecuencias de haplotipos entre subespecies *texanus* y *veraecrusis* (0.108); seguidos por la diferencia entre las subespecies *veraecrusis* y *miquihuanensis* (0.090); y por último, las subespecies que presentan la menor diferencia son *miquihuanensis* con *texanus* (0.074). Todas las interrelaciones entre subespecies presentan una diferencia significativa de tipo moderada.

Esto resulta como consecuencia de que 30 individuos de la subespecie *miquihuanensis* se encuentran relacionadas en los grupos de haplotipos 1 y 3, donde la subespecie *texanus*, presenta un alto número de individuos (35) (Tabla II).

También se determinó la diferencia de subespecies con base en la secuencia de haplotipos con la  $F_{ST}$  obteniendo los resultados de la Tabla IV.

Tabla IV. Valores de  $F_{ST}$  entre las subespecies de v.c.b. considerando la secuencia de los haplotipos.

<b>Subespecies</b>	<b><i>texanus</i></b>	<b><i>miquihuanensis</i></b>	<b><i>veraecrusis</i></b>
<b><i>texanus</i></b>	0	–	–
<b><i>miquihuanensis</i></b>	0.079	0	–
<b><i>veraecrusis</i></b>	0.152	0.268	0

Obteniendo una diferencia significativa moderada entre *O.v. texanus* y *miquihuanensis*, una gran diferenciación significativa entre *O.v. texanus* y *veraecrusis* y una muy gran diferenciación significativa entre *O.v. miquihuanensis* y *veraecrusis*. Sin embargo, en éstos resultados con respecto al de la tabla III, la mayor diferencia entre las subespecies se da entre *miquihuanensis* y *veraecrusis*, seguida por *texanus* con *veraecrusis* y por último *texanus* con *miquihuanensis*.

Estos son resultados del análisis de 51 haplotipos obtenidos dentro del programa PAUP\* 3.11, con los datos matriz de Kimura de dos parámetros (Tabla XI y XIX), donde se observa que la subespecie *veraecrusis* presenta haplotipos únicos, lo que la hace ser diferente a las otras dos subespecies, las cuales, al compartir haplotipos (N, II, PP), las hace presentar características similares.

Al respecto, Cronin (1991) y su equipo de investigadores, estudiaron la heterogeneidad espacial del ADNmt y de aloenzimas entre poblaciones de v.c.b. y venado bura en el estado de Montana y encontraron que la diferenciación de las subpoblaciones de v.c.b. fue significativo para dos locus de aloenzimas pero no para el ADNmt, y el grado de diferenciación total fue



bajo. El flujo de genes, fundamenta recientemente a las subpoblaciones, y la estructura de crianza polígama pudo haber contribuido totalmente a este modelo. También obtuvieron una mayor diferenciación entre poblaciones disyuntas que entre subpoblaciones contiguas en el ADNmt y un locus de aloenzimas.

En diferentes localidades del sureste de los EE.UU. fueron estudiadas electroforéticamente seis subespecies de v.c.b. En este estudio se detectaron niveles no significativos de diferenciación genética entre las subespecies, con alelos fijos (Halls, 1984), resultados, que se contraponen con los obtenidos en el presente estudio.

Mediante un análisis de valores estadísticos se obtuvieron diferencias entre las subespecies estudiadas, dicho análisis fue el de diferenciación de muestras basada en la frecuencia de haplotipos (Raymond & Rousset, 1995), resultando valores significativos en la diferencia entre las tres subespecies de v.c.b. ( $\alpha = 0.05$ ), donde el v.c.b. *texanus* y *miquihuanensis* presentaron un valor de 0.00045 ( $\pm 0.0004$ ); el v.c.b. *texanus* y *veraecrusis* de 0.04355 ( $\pm 0.0062$ ); y el v.c.b. *miquihuanensis* con *veraecrusis* de 0.0146 ( $\pm 0.0032$ ).

Tabla V. Diferencia genética entre subespecies de v.c.b. considerando la frecuencia de haplotipos (Raymond & Rousset, 1995).

<b>Subespecies</b>	<b><i>texanus</i></b>	<b><i>miquihuanensis</i></b>	<b><i>veraecrusis</i></b>
<b><i>texanus</i></b>	--	--	--
<b><i>miquihuanensis</i></b>	0.00045	--	--
<b><i>veraecrusis</i></b>	0.04355	0.0146	--

Los resultados de la tabla V, demuestran que existen diferencias significativas entre las tres subespecies estudiadas, aunque no dice exactamente que tan diferentes son.



En el análisis de diferenciación de muestras basada en la secuencia de haplotipos (Raymond & Rousset, 1995), también se presentaron diferencias significativas entre las tres subespecies de v.c.b. ( $\alpha = 0.05$ ), donde entre el v.c.b. *texanus* y *miquihuanensis* presentaron un valor de 0; entre el v.c.b. *texanus* y *veraecrusis* presentaron un valor de 0.0091 ( $\pm 0.0033$ ); y entre el v.c.b. *miquihuanensis* con *veraecrusis* tuvieron un valor de 0.0026 ( $\pm 0.0013$ ); confirmando la diferencia entre las tres subespecies estudiadas (Tabla VI).

Tabla VI. Diferencia genética entre subespecies de v.c.b. considerando la secuencia de haplotipos (Raymond & Rousset, 1995).

<b>Subespecies</b>	<b><i>texanus</i></b>	<b><i>miquihuanensis</i></b>	<b><i>veraecrusis</i></b>
<b><i>texanus</i></b>	--	--	--
<b><i>miquihuanensis</i></b>	0	--	--
<b><i>veraecrusis</i></b>	0.0091	0.0026	--

Es importante mencionar que algunas diferencias raciales de las poblaciones del venado cola blanca, pueden ser genéticamente contrastantes en la especie. Por lo cual, las razas o subespecies están restringidas a varias amplitudes fisiológicas y morfológicas. Por ejemplo, los biólogos de vida silvestre y manejadores tradicionales explican diferentes tallas en subespecies en función de la nutrición, calidad del hábitat y densidad poblacional (Halls, 1984). Wallmo (1981, citado por Gerlach *et al.*, 1994) estableció que la clasificación del venado puede ser arbitraria y que las subespecies aparecieron del aislamiento genético de los primeros individuos de la especie y de la selección genética impuesta por diferentes factores ambientales. Lo anterior se puede respaldar con los resultados de las tablas III y IV, donde se presentan diferencias en las características genéticas entre las subespecies estudiadas, al igual que con los análisis de la frecuencia de los haplotipos, donde se observa que algunas subespecies se presentan en los mismos grupos.



Harrington (1978, citado por Gerlach *et al.*, 1994), concluyó que existe poca información disponible para establecer relaciones entre diferentes poblaciones de venados para determinar la clasificación anatómica y que avances en los estudios genéticos y de electroforesis han servido para establecer nuevos grados de relaciones, sin embargo, algún día podrán clarificarse las relaciones entre el género de ungulados. Los resultados obtenidos en la presente investigación podrían ser utilizados para ayudar a clarificar dichas relaciones.

La determinación de las relaciones genéticas dentro de cada subespecie, se realizó mediante la frecuencia de haplotipos por subespecie con la prueba de neutralidad selectiva de Ewens–Watterson (Ewens, 1972 en Arlequín ver 2.000) (Schneider *et al.*, 2000), analizándose los 7 grupos de haplotipos representados en la figura 5 (Tablas XII, XIII, XIV, XV, XVI, XVII y XVIII).

Se analizaron 6 grupos de haplotipos donde ocurrieron individuos del v.c.b. *texanus*, obtenidos del análisis filogenético (Neighbor-joining Kimura de dos parámetros en PAUP \* 3.11), donde se determinó la frecuencia para cada uno de los grupos (Tabla VII).

Tabla VII. Frecuencia de los grupos de haplotipos en la subespecie *texanus*.

<b>Frecuencia de grupos de haplotipos obtenidos para el v.c.b. <i>texanus</i></b>		
<b>Grupo de haplotipo</b>	<b>Frecuencia relativa</b>	<b>Frecuencia absoluta</b>
1	0.6444	29
2	0.1333	6
3	0.0888	4
4	0.0666	3
5	0.0444	2
6	0.0222	1
<b>Total</b>	<b>1</b>	<b>45</b>



El grupo de haplotipo 1 fue el que se presentó en un mayor número de individuos (29=64.44%) de la subespecie *texanus*, siendo el más representativo para ésta subespecie; el grupo de haplotipo menos representativo fue el 6, en 1 (2.22%) individuo.

Para el v.c.b. *miquihuanensis* se analizaron los 3 grupos de haplotipos en los que se presentó, obteniéndose igualmente la frecuencia para cada grupo (Tabla VIII).

Tabla VIII. Frecuencia de los grupos de haplotipos en la subespecie *miquihuanensis*.

<b>Frecuencia de grupos de haplotipos obtenidos para el v.c.b. <i>miquihuanensis</i></b>		
<b>Grupo de haplotipo</b>	<b>Frecuencia relativa</b>	<b>Frecuencia absoluta</b>
1	0.5806	18
3	0.3870	12
7	0.0322	1
<b>Total</b>	<b>1</b>	<b>31</b>

El grupo de haplotipo 1 fue el más representativo para la subespecie *miquihuanensis* presente en 18 individuos. Representando el 58.06% del total de los v.c.b. *miquihuanensis*. El grupo de haplotipo menos representativo fue el 7, que se presentó en 1 individuo (3.22%).

Para el v.c.b. *veraecrusis*, también se analizaron los grupos de haplotipos en este caso 3, obteniéndose la frecuencia para cada grupo (Tabla IX).



Tabla IX. Frecuencia de los grupos de haplotipos en la subespecie *veraecrusis*.

<b>Frecuencia de grupos de haplotipos obtenidos para el v.c.b. <i>veraecrusis</i></b>		
<b>Grupo de haplotipo</b>	<b>Frecuencia relativa</b>	<b>Frecuencia absoluta</b>
<b>1</b>	<b>0.375</b>	<b>3</b>
<b>5</b>	<b>0.375</b>	<b>3</b>
<b>3</b>	<b>0.250</b>	<b>2</b>
<b>Total</b>	<b>1</b>	<b>8</b>

Los grupos de haplotipos más representativos para la subespecie *veraecrusis* fueron el 1 y el 5, en cada grupo de haplotipo se encontraron 3 individuos, representando cada grupo de haplotipo el 37.50% de los v.c.b. *veraecrusis*. El grupo de haplotipo 3 fue el menos representativo, presente en 2 individuos (25%).

En forma general, para los diferentes grupos de haplotipos y para la población total estudiada se tienen los resultados mostrados en la tabla X, donde se describe el número de individuos de venado cola blanca y su frecuencia (en paréntesis), en los grupos de haplotipos para cada subespecie.



Tabla X. Frecuencia general de los grupos de haplotipos presentes en las subespecies de v.c.b. (Figura 13).

Grupos de Haplotipos	Subespecies de venado cola blanca			
	<i>texanus</i> Número (%)	<i>miquihuanensis</i> Número (%)	<i>veraecrusis</i> Número (%)	Total Número (%)
1	29 (0.644)	18 (0.580)	3 (0.375)	50 (59.52)
2	6 (0.133)	0 (0)	0 (0)	6 (7.14)
3	4 (0.088)	12 (0.387)	2 (0.250)	18 (21.42)
4	3 (0.066)	0 (0)	0 (0)	3 (3.57)
5	2 (0.044)	0 (0)	3 (0.375)	5 (5.95)
6	1 (0.022)	0 (0)	0 (0)	1(1.19)
7	0 (0)	1 (0.032)	0 (0)	1 (1.19)
<b>Total</b>	<b>45 (100)</b>	<b>31 (100)</b>	<b>8 (100)</b>	<b>84 (100)</b>

En la tabla X se puede observar que el grupo de haplotipo 1 presenta el mayor número de individuos con 50, siendo el más frecuente entre las tres subespecies (59.52% del total de la población estudiada). El grupo de haplotipo 3 presenta a 18 individuos (21.42% de la población total) presentándose también en las tres subespecies. Siendo los grupos más característicos de las poblaciones estudiadas.

Sin embargo, también se enlista en la tabla X, al grupo de haplotipo 5 que se presentó en las subespecies *texanus* y *veraecrusis*; los grupos de haplotipos 2, 4 y 6 que se encontraron únicamente en la subespecie *texanus*; y el grupo de haplotipo 7 que se encontró únicamente en la subespecie *miquihuanensis*.

Otro de los puntos importantes que se observan en la figura 13, es que el rancho Buenos Aires del municipio de Villagrán en Tamaulipas, presentó dos grupos importantes de haplotipos que son el 1 y el 3. Este resultado, puede



venir como consecuencia de que en este rancho se han venido introduciendo ejemplares de la subespecie *texanus* desde hace aproximadamente 10 años, mezclándolo con la subespecie nativa que es la *miquihuanensis*.

Otro punto similar al anterior, es el que se presenta en el rancho ARC Cerralvo en el estado de Nuevo León, donde se introdujeron ejemplares *texanus* en el año de 1993, de la zona donde se encuentra el rancho Santa Bárbara, de Hidalgo, Coahuila.

El índice de diversidad de genes de las secuencias para cada subespecie se estimó con base en el método diseñado por Nei (1987) (Arlequín ver 2.000 en Schneider *et al.*, 2000), obteniéndose para v.c.b. *texanus* una diversidad de genes del 0.978 ( $\pm 0.0092$ ), para los v.c.b. *miquihuanensis* 0.894 ( $\pm 0.0415$ ), y para los v.c.b. *veraecrusis* 1 ( $\pm 0.0625$ ) de diversidad. Esto representa una diversidad de genes alta entre las secuencias de cada grupo. Donde los ejemplares de las subespecies *texanus* y *miquihuanensis* presentan respectivamente un rango de diversidad más estrecho entre sus individuos, siendo individuos más semejantes. La subespecie que presentó una mayor diversidad entre sus individuos fue la *veraecrusis* (Figura 14).

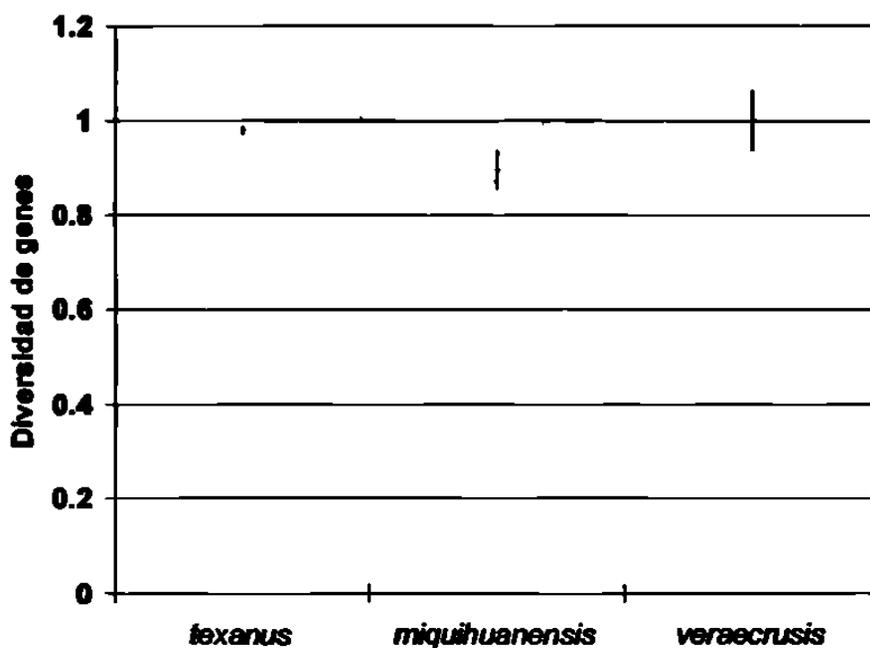


Figura 14. Índice de diversidad de genes en las secuencias de cada subespecie.

Sin embargo, las subespecies *texanus* (0.978) y la *veraecrusis* (1) presentan un índice de diversidad de genes mayor al presentado por la subespecie *miquihuanensis* (0.894). Aunque los individuos de la subespecie *miquihuanensis* presentan una diferencia menor (0.894) con rangos de  $\pm 0.0415$ , siendo uno de los menores índices de diversidad de genes. Siendo lo más importante que éstas características de diversidad se presentan en una superficie de menor dimensión, que las que presentan las otras dos subespecies.

Además, de los análisis realizados anteriormente, también se determinaron los cambios que se pueden presentar en las secuencias de los nucleótidos entre dos secuencias tomadas al azar (598 pb) (Arlequín ver 2.000 en Schneider *et al.*, 2000), obteniendo para el v.c.b. *texanus* un promedio de 15.728 ( $\pm 7.151$ ), para el v.c.b. *miquihuanensis* de 9.5 ( $\pm 4.506$ ), y para el v.c.b. *veraecrusis* 25 ( $\pm 12.312$ ).



Se observó que la subespecie *veraecrusis* presenta el mayor número de cambios de nucleótidos en la secuencia con 25 y la subespecie *miquihuanensis* fue la que presentó el menor número de cambios.

Los haplotipos obtenidos mediante el análisis con Kimura de dos parámetros en el programa computacional PAUP\* 3.11, fueron 51, los que se describen en la tabla XI.

Tabla XI. Distribución de los 51 haplotipos presentes en las subespecies de v.c.b. del noreste de México.

Haplotipos	Subespecies			Total
	<i>texanus</i>	<i>miquihuanensis</i>	<i>veraecrusis</i>	
A	2			2
B			1	1
C			1	1
D			1	1
E	3			3
F		2		2
G	1			1
H	1			1
I		1		1
J			1	1
K	1			1
L	1			1
M	1			1
N	2	1		3
O		1		1
P		1		1
Q	1			1
R	1			1
S	1			1
T	1			1
U		1		1
V		2		2
W		5		5
X		2		2
Y	1			1
Z		1		1
AA			1	1
BB	1			1
CC	3			3
DD	1			1
EE	3			3
FF	1			1
GG	1			1
HH	2			2
II	1	1		2
JJ	1			1
KK			1	1



Tabla XI. Continua..

Haplotipos	Subespecies			Total
	<i>texanus</i>	<i>miquihuanensis</i>	<i>veraecrusis</i>	
LL	2			2
MM		9		9
NN		1		1
OO		1		1
PP	2	1		3
QQ			1	1
RR			1	1
SS	4			4
TT	1			1
UU	1			1
VV	2			2
WW	1			1
XX		1		1
YY	1			1
Total	45	31	8	84

Mediante el análisis de las relaciones filogenéticas en las poblaciones de venado cola blanca del noreste de México, se obtuvieron 51 haplotipos, distribuidos de la siguiente manera: la subespecie *texanus* presentó 30, la *miquihuanensis*, 16 y la *veraecrusis*, 8. El haplotipo que se presentó en el mayor número de individuos fue el MM, en 9 ejemplares de la subespecie *miquihuanensis* éstos individuos se encuentran cercanos unos de otros (Villagrán y Burgos, Tamps), seguido por el haplotipo W con 5 ejemplares en la misma subespecie, individuos de un mismo rancho en Santa Magdalena, Burgos, Tamps, y el haplotipo SS presente en 4 ejemplares de la subespecie *texanus*, 3 individuos del Santa Bárbara, Hidalgo, Coahuila y uno de ARC Cerralvo, N.L., donde hace aproximadamente 10 años se introdujeron ejemplares de la región donde se ubica el Santa Bárbara, pudiendo ser esta característica genética traída de los ejemplares de Hidalgo al municipio de Cerralvo. Además, se presentaron haplotipos en dos diferentes subespecies como: el haplotipo N en la subespecie *texanus* (2) y *miquihuanensis* (1); el haplotipo II en la subespecie *texanus* (1) y *miquihuanensis* (1); y el haplotipo PP en la subespecie *texanus* (2) y *miquihuanensis* (1).



De la subespecie *veraecrusis*, se observó que cada uno de los individuos estudiados presentó un haplotipo diferente, lo cual, confirma su elevada diferenciación a nivel mitocondrial entre sus poblaciones.

Además de las anteriores observaciones, algunos haplotipos se presentaron en más que un individuo como son: A, E, F, N, V, W, X, CC, EE, HH, LL, MM, PP, SS y VV, que representan el 29.41% del total de los haplotipos. Los cuales también suelen presentar diferente ubicación geográfica.

Algunos ranchos presentaron 2 ó más tipos de haplotipos como en: Santa Bárbara, Hidalgo, Coahuila con 2, K y SS; Don Ignacio, Anáhuac, N.L. con 2, L y N; El Saúz, Los Aldamas, N.L. con 2, LL y PP; El Tule, China, N.L., con 2, GG y WW; Las Coloradas, Salinas Victoria, N.L., con 3, JJ, VV y YY; Rancho Dolores, China, N.L., con 3, EE, FF y LL; Makenna, Burgos, Tamps con 2, P y MM; Lucio Blanco, Villagrán, Tamps con 2, MM y OO; el Santa Magdalena, Burgos, Tamps con 2, V y W; Los Tripones, Soto La Marina, Tamps con 2, B y C; el Novillo, Méndez, Tamps con 3, G, R y CC; el Buenos Aires, Villagrán, Tamps con 4, N, X, Z y MM.

Por su parte, Ellsworth *et al.* (1994) estudiaron la diferenciación genética y el flujo de genes entre poblaciones de venado cola blanca y encontraron que la proporción de variación del ADNmt es atribuible a diferencias entre poblaciones ( $G_{st}=0.621$ ) excediendo todos los valores derivados por permutaciones (media de 100 tests=0.136, valor máximo=0.187), indicando un alto nivel de ADNmt diferenciándose entre poblaciones. En la prueba para la heterocigosidad geográfica entre poblaciones vecinas detectaron diferencias ( $P<0.001$ ) en la frecuencia de todos los ADNmt dentro de todos los subgrupos de poblaciones examinadas.

Con base en los resultados anteriores, se menciona que este descubrimiento no fue consistente con la hipótesis de distancia de aislamiento



(Kennedy *et al.*, 1987), tampoco lo fue con las subespecies y grupos definidos por designaciones filogenéticas de ADNmt previamente definidas (definición taxonómica basada en su morfología), una norma también observada por Cronin (1992, citado por McShea *et al.*, 1997), dichos resultados se asemejan a los obtenidos en ésta investigación.

Con respecto a los resultados obtenidos en los ranchos Santa Bárbara y ARC Cerralvo, es importante considerar que la diferenciación entre las poblaciones de venado y de su estructura biogeográfica deben de ser vista con precaución, porque, la disminución de las poblaciones y posteriormente el esfuerzo de reintroducción de ejemplares puede influenciar en algunas áreas estudiadas los resultados de diferenciación entre poblaciones estudiadas (Kennedy *et al.*, 1987).

Las distancias filogenéticas entre los 51 haplotipos se obtuvieron con el programa computacional MEGA V. 2.1 en el Neighbor-joining Bootstrap, generados mediante los datos de la matriz de haplotipos de Kimura de dos parámetros (Tabla XIX). Mediante este análisis se obtuvo el grado de confiabilidad de los haplotipos presentes en la población estudiada, ya que al presentar valores mayores a 50, se confirmó la certeza de los resultados obtenidos y de la identificación de los 51 haplotipos (Figura 15).

Ellsworth *et al.* (1994) determinaron la influencia de eventos históricos biogeográficos para examinar patrones de variación en el ADNmt en v.c.b. aprovechados cinogénicamente en el continente y en poblaciones isleñas en el sureste de Estados Unidos. Donde poblaciones mayores de 60 Km pero menores de 170 Km estuvieron compuestas de 35 haplotipos de ADNmt. Los autores encontraron un alto grado de variación geográfica en la frecuencia de haplotipos del ADNmt entre grupos y aún entre vecinos.



En un estudio realizado por Cienfuegos *et al.* (2002) en 148 individuos de venado cola blanca de la subespecie *texanus* en el norte de México encontraron un total de 8 diferentes genotipos distribuidos en las poblaciones del norte de Coahuila, Nuevo León y Tamaulipas. Sin embargo, mencionan que una vez que confirmen los 8 genotipos estarán en la posibilidad de establecer sus patrones de distribución en las diferentes poblaciones estudiadas.

En el presente estudio de las poblaciones de v.c.b. del noreste de México, se identificaron 7 grupos de haplotipos (Figura 5), relacionados con la distribución de los nucleótidos, a su vez, cada grupo presentó haplotipos particulares. El grupo de haplotipo 1, presentó 33 haplotipos (E, F, G, H, I, J, K, L, M, N, O, P, Q, R, S, T, U, V, W, X, Y, Z, AA, BB, CC, DD, EE, FF, GG, HH, II, JJ, KK); el grupo de haplotipo 2, presentó 3 haplotipos (SS, TT y UU); el grupo de haplotipo 3, presentó 7 haplotipos (LL, MM, NN, OO, PP, QQ y RR); el grupo de haplotipo 4, presentó 2 haplotipos (VV y WW); el grupo de haplotipo 5, presentó 4 haplotipos (A, B, C y D); el grupo de haplotipo 6, presentó 1 haplotipo (YY); y por último el grupo de haplotipo 7, presentó 1 haplotipo (XX). Dichos resultados también pueden ser observados en la tabla XI.

Debido a la gran diversidad de haplotipos (51) presentes en los venados cola blanca estudiados y a la superficie que se logró estudiar, podemos considerar la teoría genética, que predice que los niveles de variación genética se incrementan con el tamaño de la población efectiva. Sin embargo, este tema sigue siendo controversial, el de la hipótesis, de que la variación genética se relaciona con el tamaño poblacional (Frankham, 1996). Estos resultados podrían considerarse como un soporte más a dicha teoría.

Es importante considerar, que las poblaciones de v.c.b. pueden haber estado sujetas a extinciones locales y recolonizaciones como un resultado de ciclos glaciales pasados y por esto, puede haber altos niveles de flujos de genes históricos (Cronin *et al.*, 1991). Además, de la acción de los seres



---

**humanos al implementar áreas con actividades agropecuarias y forestales, a su vez, de las recolonizaciones o movimientos de ejemplares realizadas hacia otras áreas.**

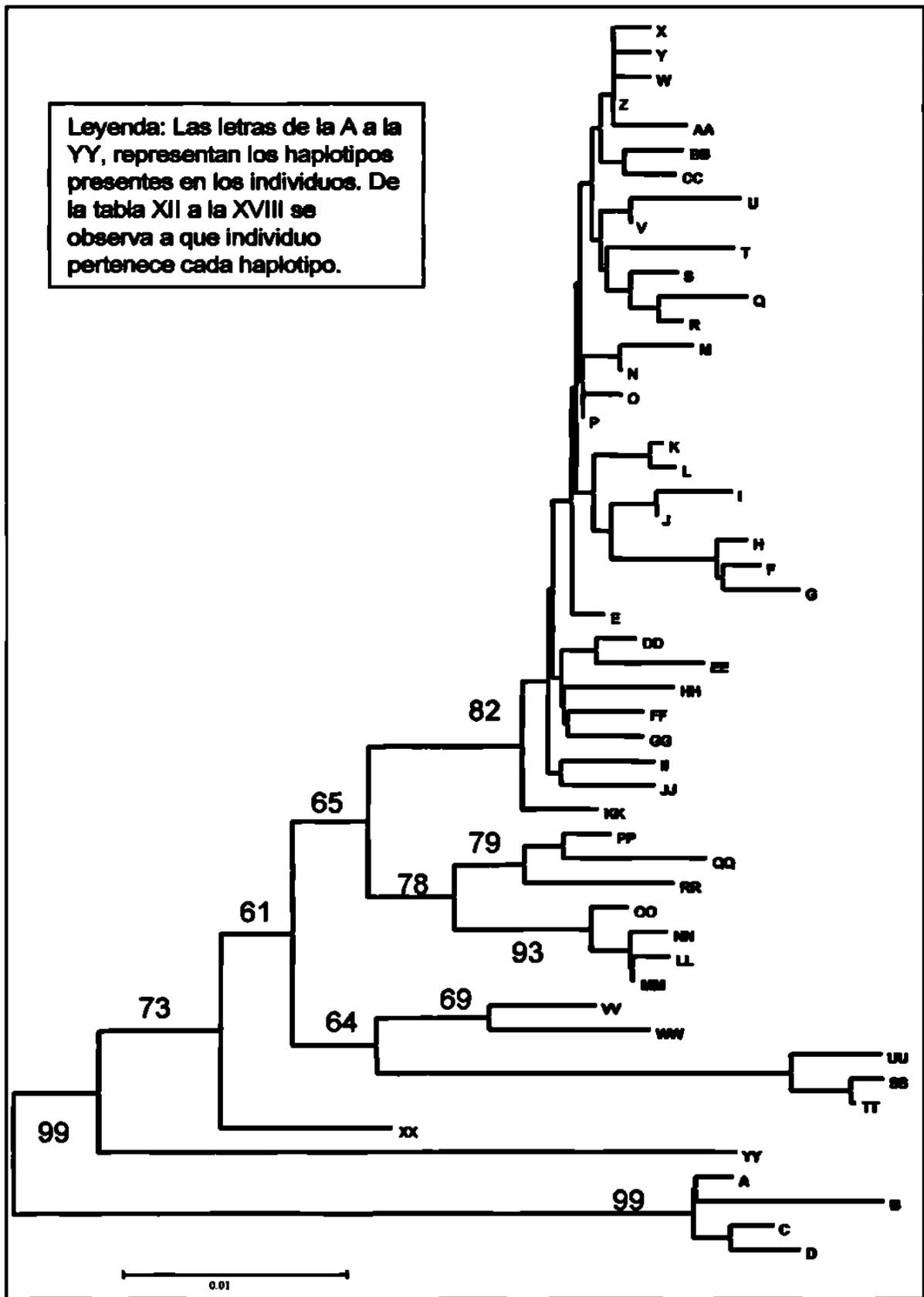


Figura 15. Análisis filogenético de los 51 de haplotipos del v.c.b. del noreste de México. Árbol obtenido del Neighbor-joining Bootstrap en MEGA V. 2.1.



## **VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

- En los análisis mitocondriales realizados en individuos de v.c.b., se identificaron 7 grupos principales de haplotipos, presentándose en las muestras del v.c.b. *texanus* 6 (en el 1, 2, 3, 4, 5 y 6), en las muestras del v.c.b. *miquihuanensis* 3 (1, 3 y 7) y en las muestras del v.c.b. *veraecrusis* 3 (1, 3 y 5).
  
- El grupo de haplotipo 1 fue el más representativo en el área estudiada.
  
- Mediante el análisis de los grupos de haplotipos, se obtuvo que el 1 y el 3 se presentaron en las tres subespecies, siendo los más representativos en las poblaciones estudiadas.
  
- Se obtuvieron 51 haplotipos en la población estudiada, donde el haplotipo MM fue el que presentó un mayor número de individuos con 9 ejemplares de la subespecie *miquihuanensis*, dichos ejemplares se encuentran cercanos unos de otros presentándose en los municipios de Villagrán (8 del rancho Buenos Aires) y Burgos (1 del rancho Makenna) (Tabla XIV).
  
- En los diferentes análisis de frecuencias de los haplotipos y de las secuencias realizadas al ADNmt en las tres subespecies de venado cola blanca, se encontró una diferencia significativa entre las subespecies.
  
- Igualmente para los individuos de poblaciones cercanas se encontraron diferencias genéticas en el ADNmt con respecto al análisis de las distancias filogenéticas con el programa computacional MEGA V. 2.1., en el Neighbor-joining Bootstrap, obtenida mediante los datos de la matriz de haplotipos de Kimura de dos parámetros (Tabla XIX).
  
- En lo que respecta al análisis del Índice de diversidad de genes, en las tres subespecies de v.c.b. se presentó una alta diversidad. Presentando la menor diversidad la subespecie *miquihuanensis*, probablemente debido a que los



**ejemplares que se analizaron se encuentran dentro de una misma región (80 km de diámetro aproximadamente).**

**- El ejemplar OVMX916 correspondiente a la subespecie *miquihuanensis* presentó características diferentes a todos los individuos estudiados, por lo que se recomienda continuar haciendo muestreos en la región de la Sierra Madre Oriental, para determinar si el grupo de haplotipo es representativo de esta región.**

**- En la presente investigación en forma general podemos concluir que: Las frecuencias genéticas de los grupos de haplotipos son diferentes considerando las divisiones propuestas por Hall (1981). Así mismo es posible establecer que de igual manera se presentaría dicha tendencia si se realizara una selección al azar de una región determinada, donde únicamente aumentaría o disminuiría la frecuencia dependiendo de la región donde se realice.**

**- De acuerdo con los resultados obtenidos, se recomienda mantener zonas con características genéticas lo más puras posibles, si es el principal objetivo a seguir, ya que se deben definir criterios para priorizar áreas para la conservación, lo que representaría un gran valor ecológico y biológico para la especie, creándose un importante banco de germoplasma.**

**- En el futuro, los trasplantes o movimientos de ejemplares de v.c.b., deberán de realizarse de acuerdo con las Leyes y Reglamentos oficiales. Considerando que el realizar trasplantes a libre acceso de ejemplares de una subespecie determinada a la de otra subespecie, se podrán ocasionar cambios en las características genéticas de las poblaciones nativas. Recomendándose como una regla, el movimiento de animales del punto más cercano posible.**

**- Es importante mencionar que las características fenotípicas, por las cuales, fueron definidas las subespecies de v.c.b. u otras especies, deberán de ser**



apoyadas con estudios genéticos, para definir con mayor precisión las diferencias entre las subespecies y/o especies.

- Aunado a lo anterior, es de gran importancia realizar programas de mejoramiento del hábitat y de las densidades poblacionales para áreas más específicas y así poder evitar movimientos de ejemplares de otras áreas.

- GRUPOS QUE SE CONSIDERAN, para las poblaciones de venado cola blanca analizadas en el noreste de México, según resultados obtenidos en el presente estudio (Figura 16):

#### **GRUPO I**

Se presenta una gran diversidad de grupos de haplotipos en los ejemplares con 6.

#### **GRUPO II**

Se presenta una menor diversidad de grupos de haplotipos en los ejemplares con 3, de los cuales, uno no es representativo.

#### **GRUPO III**

Se presenta una mayor diversidad de grupos de haplotipos en los ejemplares con 3, de los cuales, uno el 5, no se presenta en el grupo II.

#### **GRUPO IV**

En esta zona se encuentra la menor diversidad de grupos de haplotipos en los ejemplares con 1, zona en la cual, se recomienda el continuar con las colectas de muestras para determinar si este grupo se desarrolla en dicha zona.

BIBLIOGRAFIA

Alcalá G.C.H. 1988. Productividad del venado cola blanca (*Dama virginiana texana*) en el serrano, Coahuila. Tesis de Maestría, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Buenavista, Saltillo, Coahuila. Pp. 87.

Arceño 1981. Síntesis Geográfica del Estado de Nuevo León. México, D.F.

Arceño 1983. Síntesis Geográfica del Estado de Tamaulipas. México, D.F.

Avise J.C. 1989. A role for molecular genetics in the recognition and conservation of endangered taxa. *Conservation Biology*, vol. 4, No. 9:279-281.

Baillinger S.W., Blankenship L., J.V., et al. 1992. Allozyme and mitochondrial DNA analysis of white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) in the

Genet. 30:1-11.

Brott S.C., Williams J.L., et al. 1993. Genetic divergence among white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) in the

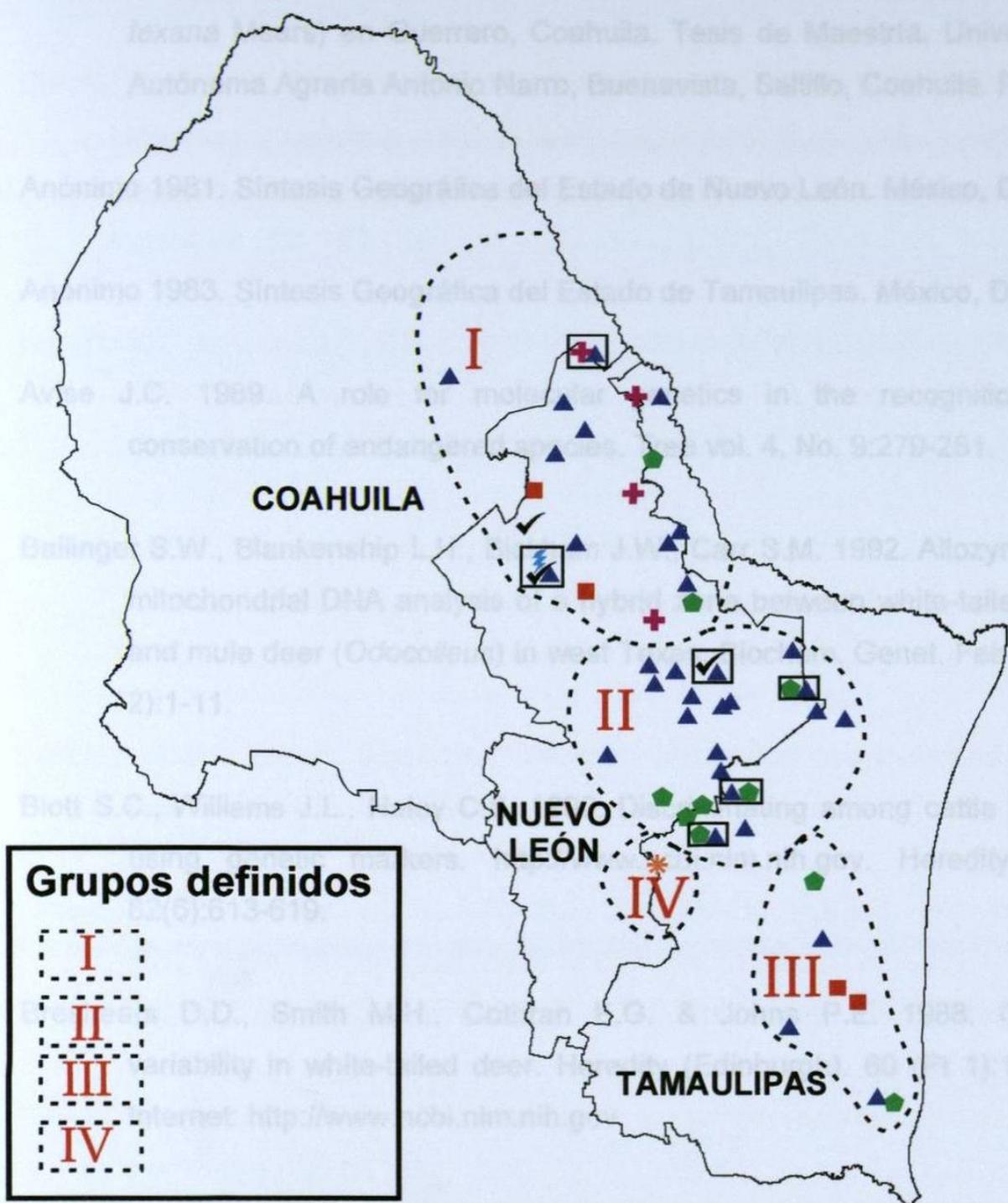
D.D., Smith M.H., Collins G. & Johnson P. 1988. Genetic variability in white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) in the

Internet: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>

Burke T. 1989. DNA fingerprinting and other methods for the study of mating

Gen. 1:139-48.

Gen. 1:139-48.



**Grupos definidos**

- I
- II
- III
- IV

**Figura 16** Grupos considerados para las poblaciones de venado cola blanca analizadas del noreste de México.



## **BIBLIOGRAFÍA**

- Alcalá G.C.H. 1988. Productividad del venado cola blanca (*Dama virginiana texana* Mears) en Guerrero, Coahuila. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Buenavista, Saltillo, Coahuila. Pp. 87.**
- Anónimo 1981. Síntesis Geográfica del Estado de Nuevo León. México, D.F.**
- Anónimo 1983. Síntesis Geográfica del Estado de Tamaulipas. México, D.F.**
- Avise J.C. 1989. A role for molecular genetics in the recognition and conservation of endangered species. Tree vol. 4, No. 9:279-281.**
- Ballinger S.W., Blankenship L.H., Bickham J.W., Carr S.M. 1992. Allozyme and mitochondrial DNA analysis of a hybrid zone between white-tailed deer and mule deer (*Odocoileus*) in west Texas. Biochem. Genet. Feb., 30(1-2):1-11.**
- Blott S.C., Williams J.L., Haley C.S. 1999. Discriminating among cattle breeds using genetic markers. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>. Heredity, Jun; 82(6):613-619.**
- Breshears D.D., Smith M.H., Cothran E.G. & Johns P.E. 1988. Genetic variability in white-tailed deer. Heredity (Edinburgh). 60 (Pt 1):139-46. Internet: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>**
- Burke T. 1989. DNA fingerprinting and other methods for the study of mating success. Tree Vol. 4, No. 5:139-144.**
- Carr S.M., Ballinger S.W., Derr J.N., Blankenship L.H., Bickham J.W. 1986. Mitochondrial analysis of hybridization between sympatric white-tailed**



deer and mule deer in west Texas. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. Dec;83(24):9576-80.

Cienfuegos R.E.G., Sifuentes R.A.M. 2002. Determinación de la variabilidad fenotípica y genética en el venado cola blanca (*Odocoileus virginianus texanus*). VII Simposio sobre venados de México "Ing. Jorge Villarreal González". Pp. 101-106.

Cronin M.A., Nelson M.E., Pac D.F. 1991. Spatial heterogeneity of mitochondrial DNA and allozymes among populations of white-tailed deer and mule deer. J.Hered. 82(2):118-27.

Cronin M.A. 1991. Mitochondrial and nuclear genetic relationships of deer (*Odocoileus* spp.) in western North America. Can. J. Zool. 69:1270-1279.

Derr J.N. 1991. Genetic interactions between white-tailed and mule deer in the southwestern united states. J. Wild. Manage. 55(2):228-237.

Ellsworth D.L., Honeycutt R.L., Silvy N.J., Smith M.H., Bickham J.W., Klimstra W.D. 1994. White-tailed deer restoration to the southeastern United States: Evaluating genetic variation. J. Wildl. Manage. 58(4): 686-697.

Ewens W.J. 1972. The sampling theory of selectively neutral alleles. Theor. Popul. Biol. 3:87-112.

Ezcurra E., Gallina S. 1981. Biology and population dynamics of white-tailed deer in northwestern México. In: Ffolliot P.F., Gallina S. (Editores). In: Deer Biology, Habitat Requiriments, and Management in Western North America. Instituto de Ecología, México. Pp. 77-108.



- Ffolliot P.F., Gallina S. 1981. Deer Biology, Habitat Requirements, and Management in Western North America. Instituto de Ecología, México.
- Frankham R. 1996. Relationship of genetic variation to population size in wildlife. Conservation Biology. Volumen 10, No. 6. Pp. 1500-1508
- Gardner E.J. 1988. Principios de genética. Ed. Limusa. México. D.F.
- Gerlach D., Atwater S., Schnell J. 1994. Deer. The wildlife series. Stack Pole Books. Mechanicsburg, PA.
- Geist V. 1998. Deer of the word. Stackpole Books., Mechanicsburg, P.A.
- Gutiérrez V.E.G. 1997. Determinación de la concentración de Triyodotironina y tiroxina en suero para estimar el estatus nutricional del venado cola blanca (*Odocoileus virginianus texanus*) en el noreste de México. Tesis de licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UANL. Monterrey, Nuevo León, México. Pp.48.
- Hall, E.P. 1981. The Mammals of North America, Artiodactyls, Wiley-Interscience Publication, New York, USA.
- Halls, L.K. 1984. White-tailed deer, Ecology and management. Wildlife management institute book. Ed. McCabe R.E. y Jahn L.R., Stackpole books. Harrisburg, USA.
- Harrison R.G. 1989. Animal mitochondrial DNA as a genetic marker in population and evolutionary biology. Tree, Vol.4, No. 1:6-11.
- Honeycutt R.L. Genetic variation in white-tailed deer: implications for management. <http://texnat.tamu.edu/Symp/genetics/p4.htm>. Pp.8.



<http://www.encyclopedia.com/articles/10370DevelopmentandApplication.html>.

**Polymerase Chain Reaction. The Process and Development and Application.**

**Jiménez N., Folch J., Fernández-Arias A., Guiral J., Sánchez A. 19--. Estudio genético mediante marcadores microsatélites de las poblaciones de cabra montés. <http://etsia.upv.es/acteon/njimenez.htm>**

**Kark S., Alkon P.U., Safriel U.N., Randi E. 1999. Conservation priorities for chukar partridge in israel based on genetic diversity across an ecological gradiente. *Conservation Biology.*, Volume 13, No.3. Pp. 542-552.**

**Kennedy P.K., Kennedy M.L., Beck M.L. 1987. Genetic variability in white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) and its relationship to environmental parameters and herd origin (*Cervidae*). *Genetica.* 74:88-89.**

**Klug W.S., Cummings M.R. 1994. *Concepts of Genetics.* Fourth Edition. Macmillan College Publishing Company, Inc., New York, USA.**

**Kumar S., Tamura K., Jakobsen I.B., Nei M. 2001. MEGA 2.1: Molecular evolutionary genetics analysis software. *Bioinformatics.* Vol. 17, 12:1244-1245.**

**Leberg P.L., Stangel P.W., Hillestad H.O., Marchinton R.L., Smith M.S. 1994. Genetic structure of reintroduced wild turkey and white-tailed deer populations. *J. Wildl. Manage.* 58(4):698-711.**

**Lehninger A.L., Nelson D.L., Cox M.M. 1993. *Principios de Bioquímica.* 2da Edición. Ed. Omega. Barcelona.**



- Leopold A.S. 1985. Fauna silvestre de México. Ed. Pax-México. Tercera reimpresión. México, D.F.**
- Levine L. 2000. El gen. Nexos. Núm. 269. Pp. 113-116.**
- Lou Y. 1998. Genetic variation of pronghorn (*Antilocapra americana*) populations in north America. Thesis of Doctor of Philosophy. Texas A&M University. College Station, Texas, USA. Pp. 92.**
- Mandujano R.S. 1998. Venados en México: Conocimiento actual, necesidades de investigación y referencias bibliográficas de los estudios. VI Simposio sobre venados de México. Pp. 146-164.**
- Maniatis T.E., Fritsch E.F., Sambrook J. 1982. Molecular cloning: A laboratory manual. Cold spring harbor laboratory press. New York.**
- Martínez A.M., Molina V., González F.S., Marroquín J.S., Navar J.Ch. 1997. Observations of white -tailed deer and cattle diets in Mexico. Journal of Range Management 50(3):253-257.**
- McShea J.W., Underwood H.B., Rappole J.H. 1997. The science of overabundance. Smithsonian Institution. Washington y London.**
- Meyer M.W., Brown R.D., Graham M.W. 1984. Protein and energy fo white tailed deer diets in the Texas Coastal Bend. Journal of Range Management. 48(2):527-534.**
- Molina G.V.M. 1994. Composición botánica de la dieta del ganado bovino y venado cola blanca (*Odocoileus virginianus texanus*), en dos predios con diferente manejo. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias Forestales, U.A.N.L., Linares, N.L., México. Pp. 100.**



- Leopold A.S. 1985. Fauna silvestre de México. Ed. Pax-México. Tercera reimpresión. México, D.F.
- Levine L. 2000. El gen. Nexos. Núm. 269. Pp. 113-116.
- Lou Y. 1998. Genetic variation of pronghorn (*Antilocapra americana*) populations in north America. Thesis of Doctor of Philosophy. Texas A&M University. College Station, Texas, USA. Pp. 92.
- Mandujano R.S. 1998. Venados en México: Conocimiento actual, necesidades de investigación y referencias bibliográficas de los estudios. VI Simposio sobre venados de México. Pp. 146-164.
- Maniatis T.E., Fritsch E.F., Sambrook J. 1982. Molecular cloning: A laboratory manual. Cold spring harbor laboratory press. New York.
- Martínez A.M., Molina V., González F.S., Marroquín J.S., Navar J.Ch. 1997. Observations of white -tailed deer and cattle diets in Mexico. Journal of Range Management 50(3):253-257.
- McShea J.W., Underwood H.B., Rappole J.H. 1997. The science of overabundance. Smithsonian Institution. Washington y London.
- Meyer M.W., Brown R.D., Graham M.W. 1984. Protein and energy fo white tailed deer diets in the Texas Coastal Bend. Journal of Range Management. 48(2):527-534.
- Molina G.V.M. 1994. Composición botánica de la dieta del ganado bovino y venado cola blanca (*Odocoileus virginianus texanus*), en dos predios con diferente manejo. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias Forestales, U.A.N.L., Linares, N.L., México. Pp. 100.



- Moreno L.J.C. 1991. Comportamiento alimenticio del venado cola blanca (*Odocoileus virginianus miquihuanensis*) en un matorral mediano subiere en Linares, Nuevo León. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias Forestales, U.A.N.L., Linares, N.L., México. Pp. 53.
- Moreno L.J.C., Murcia V.J., Villarreal G.J.G. 1990. Análisis de la dieta invernal del venado cola blanca (*Odocoileus virginianus miquihuanensis*). Memorias del VIII Simposio sobre Fauna Silvestre. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM., México. D.F. Pp. 122-131.
- Muñoz R.C.A. 2001. Elaboración de un modelo espacial de peligro de incendios forestales. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias Forestales de la U.A.N.L. Linares, Nuevo León, México. Pp.119.
- Nei M. 1987. Molecular evolutionary genetics. Columbia University Press. New York. N.Y. USA.
- Neigel J.E. 1997. A comparison of alternative strategies for estimating gene flow from genetic markers. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* Palo Alto, California, USA. 28:105-128.
- Quintanilla G.J.B. 1989. Determinación de la composición botánica de la dieta seleccionada por el venado cola blanca (*Odocoileus virginianus texanus*) en el norte del estado de Nuevo León. Tesis de Maestría. Facultad de Agronomía de la U.A.N.L. Marín, Nuevo León, México. Pp. 87.
- Raymond M., Rousset F. 1995. An exact test for population differentiation. *Evolution.* 49:1280-1283.
- Rodríguez S.J.C., Nerí F.O., Villarreal G.J.G. 1998. Ranchos Cinegéticos. Oportunidad de diversificación ganadera sustentable. Núm. 306. Vol.



**XXX. FIRA Boletín informativo Morelia, Michoacán, México.**

**Rzedowski J. 1978. Vegetación de México. Primera edición. Ed. LIMUSA. México, D.F.**

**Sequencher™. 1995. Sequencher™ 3.0 Tutorial: The complete software solution for sequencing DNA. Gene Codes Corporation, Inc.**

**Schneider S., Roessli D., Excoffier L. 2000. Arlequin: A software for population genetics data analysis. Version 2.0. Genetics and biometry lab. Dept. of Anthropology University of Geneva, Switzerland.**

**Swofford D.L. 1990. PAUP\*: Phylogenetic analysis using parsimony (Version 3.11). Illinois natural history survey. Champaign.**

**Talbot J., Haigh J., Plante Y. 1996. A porcentage evaluation test in North American Elk (Wapiti) using microsatellites of ovine and bovine origen. *Animal Genetics*, 27:117-119.**

**Taméz T.A. 1994. Valor nutricional de la dieta del venado cola *blanca* (*Odocoileus virginianus miquihuanensis*) y del ganado bovino en Villagrán, Tamaulipas. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias Forestales, U.A.N.L., Linares, N.L., México. Pp. 77.**

**Treviño R.A. 1989. Valor nutritivo y digestibilidad *in vitro* de la dieta seleccionada por el venado cola blanca (*Odocoileus virginianus texanus*) en el norte del estado de Nuevo León. Tesis de Licenciatura, Facultad de Agronomía, U.A.N.L., Linares, N.L., México. Pp. 72.**



- Usha A.P., Simpsom S.P., Williams J.L. 1995. Probability of random sire exclusion using microsatellite markers for parentage verification. *Animal Genetics*. 26:155-161.
- Valdés G.J. 1995. Composición botánica de la dieta del ganado bovino y venado cola blanca (*Odocoileus virginianus miquihuanensis*), en el Noroeste de Villagrán, Tamaulipas. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias Forestales, U.A.N.L., Linares, N.L., México. Pp.69.
- Vargas B. M.A. 1997. Análisis Bibliográfico de las Aves del Estado de Tamaulipas. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Biológicas de La Universidad del Noreste. Tampico, Tamaulipas, México. Pp.179.
- Villarreal G.J.G. 1986. Importancia de las plantas leñosas en el hábitat del venado cola blanca. *Revista DUMAC*, Vol. VIII, No. 6. Monterrey, Nuevo León, México.
- Villarreal G.J.G. 1995. Sinopsis geográfica, situación actual y posibilidades de recuperación de las subespecies mexicanas de venado cola blanca (*Odocoileus virginianus*). *Memorias del XIII Simposio sobre Fauna Silvestre*. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM. México. D.F. Pp. 59-83.
- Villarreal G.J.G. 1999. Venado cola blanca. Manejo y aprovechamiento cinegético. 1ra Edición. UGRNL. Ed. Impresora Monterrey, S.A. de C.V. Monterrey, Nuevo León, México.
- Waits L.P., Talbot S.L., Ward R.H., Shields G.F. 1998a. Mitochondrial DNA phylogeography of the North American brown bear and implications Conservation Biology. Volume 12, No.2:408-417.



- 
- Waits L., Paetkau D., Strobeck C., Ward R. H. 1998b. A comparison of genetic diversity in North American brown bears. *Ursus* 10:307-314.
- Watson J.D., Gilman M., Witkowski J., Zoller M. 1992. Recombinant DNA. 2<sup>nd</sup> edition. W.H. Freeman and Company, New York, N.Y., USA.
- Wayne R.K., Lehman N., Allard M.W., Honeycutt R.I. 1992. Mitochondrial DNA variability of the gray wolf: genetic consequences of population decline and habitat fragmentation. *Conservation Biology*. Volume 6, No. 4. Pp. 559-569.
- Wayne R.K., Lonard J.A., Cooper A. 1999. Full of sound and fury: The recent history of ancient DNA. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* Palo Alto, California, USA. 30:457-77.
- Whitaker J.J.O. 1997. National Audubon Society Field Guide to North American Mammals. Printed and bound by Dai Nippon, printing Co., Ltd., Tokyo, Japan.
- Zacj I., Mellersh C.S., Sampson J. 1997. Variability of canine microsatellites within and between different dogs breeds. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>. *Mamm. Genome*. Mar; 8(3):182-5.



## ANEXOS

### **PROCEDIMIENTO: EXTRACCION DEL ADN PROTOCOLO DE MANIATIS *et al.*, 1982**

- A) Las muestras de piel, hígado y corazón se cortan en partes pequeñas para obtener entre 75 y 100  $\mu$ l de muestra. A su vez, los huesos y astas son molidos; posteriormente, dicha cantidad de muestra es depositada en un tubo eppendorf de 1.5 ml.
- B) A dicho tubo se le agrega 500  $\mu$ l de longmire's y 50  $\mu$ l de proteinase K. Dicho tubo se deja en baño María a 55 °C por toda la noche o el tiempo que sea necesario, durante este tiempo se realiza la digestión de las muestras.

Al pasar el tiempo mencionado se continúa con lo siguiente:

- A) Se agrega 500  $\mu$ l de fenol, se agitan por 5 minutos con la mano para que la muestra se desintegre lo más posible.
- B) La muestra se centrifuga por 5 minutos a 12000 rpm. El ADN se extrae del tubo y se deposita en otro.
- C) Al tubo con el ADN, se le agrega nuevamente 500  $\mu$ l de fenol (en este paso para astas y huesos se agrega 500  $\mu$ l de PCI), y se agita por 5 minutos.
- D) La muestra se centrifuga por 5 minutos a 12000 rpm.
- E) El ADN se extrae nuevamente y se deposita en otro tubo y se agrega 500  $\mu$ l de fenol (para astas y huesos se agrega 500  $\mu$ l de PCI), y se agitan nuevamente por 5 minutos.
- F) La muestra se centrifuga por 5 minutos a 12000 rpm.
- G) Se extrae nuevamente el ADN y se deposita en otro tubo, agregándose 500  $\mu$ l de cloroformo, y se agita por 5 minutos.
- H) La muestra se centrifuga nuevamente por 5 minutos a 12000 rpm.
- I) Se extrae nuevamente el sobrenadante con el ADN y se deposita en otro tubo, agregándose 500  $\mu$ l de isopropil alcohol y se agita 60 veces.
- J) La muestra se centrifuga por 2 minutos a 12000 rpm.
- K) Se tira el sobrenadante cuidadosamente del tubo, quedando el ADN en el fondo del tubo, al cual, se agrega etanol al 70%, y los tubos son golpeados en el vortex (instrumento mecánico utilizado para golpear tubos u otro material), durante 15 segundos.
- L) Se centrifugan por 2 minutos a 12000 rpm.
- M) Se tira el sobrenadante cuidadosamente del tubo, quedando el ADN en el fondo del tubo y se pone a secar por 10 minutos
- N) Se agrega 20 o 50  $\mu$ l de TE.
- O) Posteriormente, se realiza la comprobación de la presencia del ADN.

Para comprobar la presencia de ADN se debe de correr en gel de agarosa al 0.8% (Este procedimiento es similar para la amplificación y purificación, únicamente pueden cambiar cantidades ver punto 4.3.2), para lo cual:

- A) Se calienta el gel agarosa 0.8% por 3 minutos en el horno de microondas.
- B) El gel se deposita en el molde de migración, donde se encuentran los carriles de migración (peine), se deja secar por 25 minutos. Posteriormente, se agrega agua y se deja por 5 minutos, al pasar dicho tiempo se quita el peine (instrumento con el que se hacen los carriles de migración).



- C) En los carriles de migración se deposita 2  $\mu$ l de ADN y se complementa con agua destilada 40 a 50  $\mu$ l. Del testigo se toma 2  $\mu$ l y se agrega colorante fluorescente azul 1.5  $\mu$ l más el agua.
- D) El molde se pone en la cámara de "electroforesis", se agrega el tea buffer y se deja correr por 30 minutos.
- E) Posteriormente, el molde se extrae y se deposita en bromuro de etidio por 45 segundos. El gel se extrae del bromuro de etidio y se deja en agua por 5 minutos.
- F) Por último, se obtiene la foto en el eagle-eyes, donde se observa la presencia o ausencia de ADN en las muestras.

### **AMPLIFICACION DEL ADN: Ver punto 4.3.2.**

#### **PURIFICACION DEL ADN**

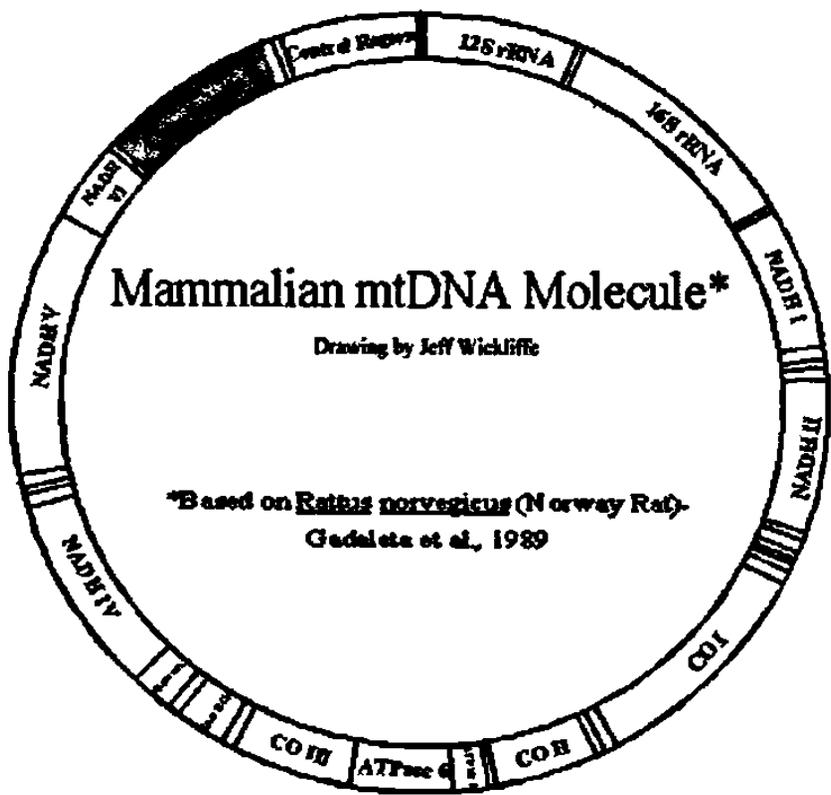
##### **MEDIANTE QIAquick Purification Kit Protocol**

- A) Se etiquetan tubos QIAquick mini columns (tubos de color morado) con claves de las muestras. A su vez, tubos eppendorf de 1.5 ml son etiquetados y su iniciador.
- B) Se agregan 250  $\mu$ l en el tubo de Buffer PB en el tubo de RCP y se mezcla. Posteriormente, se pone todo en el tubo morado (QIAquick).
- C) Estos tubos se ponen en la centrifuga durante 1 minuto a 7825 rpm. Al termino de este paso, se sacan los tubos y se tira el liquido que queda.
- D) Se agregan 750  $\mu$ l de Buffer PE a cada muestra, nuevamente se ponen en la centrifuga durante 1 minuto a 7825 rpm.
- E) Sin agregar nada, los tubos, nuevamente se ponen en la centrifuga durante 1 minuto a 7825 rpm. Se extraen los tubos y se tira el liquido restante. El tubo morado se pone en los tubos eppendorf (1.5 ml).
- F) A los tubos morados se les agregan 40  $\mu$ l de Buffer EB. Estos junto con los tubos eppendorf se les aplican 7825 rpm durante 1 minuto.
- G) Se extraen los tubos eppendorf de la centrifuga, se tira el tubo morado quedando únicamente el ADN purificado en el tubo eppendorf, a los cuales, se les agrega las letras "QG". Posteriormente, se realiza la comprobación (Ver punto 4.3.2.).

#### **PARA EL CORRIMIENTO DE LAS MUESTRAS**

- A) Para cada muestra purificada se toman 2 tubos eppendorf de 0.5 ml. En los cuales, se pone el número de la muestra y del iniciador.
- B) A cada tubo de 0.5 ml, se le agrega 1  $\mu$ l de ADN purificado, y se prepara la mezcla de reacción, posteriormente se trabaja con el termociclador (Ver punto 4.3.2.).
- C) Se utiliza un tubo colector y un tubo con pastilla por muestra, el tubo con pastilla es lavado, ya que, este se reutiliza. Por lo cual, se agregan 500  $\mu$ l de agua destilada y se pone 1 minuto a 7825 rpm en la centrifuga.
- D) Ya que se encuentra limpio el tubo con la pastilla se agregan 550  $\mu$ l de sephadex y se deja por 4 minutos a 7250 rpm en la centrifuga. Y se tira el liquido que queda.
- E) Se toman 10  $\mu$ l de la reacción mixta sin aceite mineral y se deposita en la parte central del sephadex.
- F) Los tubos que contienen la mezcla y el sephadex, se ponen encima de un tubo eppendorf (1.5 ml), aplicándose 7250 rpm durante 4 minutos en la centrifuga.
- G) Se retira el tubo de la centrifuga quedando el ADN en el tubo eppendorf de 1.5 ml.
- H) Posteriormente, las muestras se depositan en la centrifuga con vacío en el Speed Vac Concentrator durante 20 minutos, donde los tubos quedan completamente secos, encontrándose únicamente el ADN.

- I) El ADN es preparado para el DNA sequencher, haciéndose una mezcla con 40  $\mu$ l de loading buffer y 200  $\mu$ l de blue dextran/EDTA, 1 mL. De esta mezcla, se toman 4  $\mu$ l y se deposita a cada tubo.
- J) Posteriormente, después de 10 o 20 minutos cada tubo es golpeado durante segundos por un vortex. Posteriormente, cada muestra se pone durante 3 minutos a 96°C, de cada muestra se toman 1.1  $\mu$ l de ADN y se deja por 8 horas en el AB1373A automatizado DNA Sequencher, analizándose un segmento de la región control (D-loop).



Representación del ADNmt según Gadaleta *et al.*, 1989.



TABLA I

Coordenadas geográficas de las áreas de estudio y número de muestras por rancho.

Número	Rancho	Municipio	Estado	Ssp	Latitud	Longitud	Muestras
1	Santa Bárbara	Hidalgo	Coah	Tex	27°47'12"	100°05'4"	4
2	Los Pirineos	Progreso	Coah	Tex	27°34'40"	101°05'54"	1
3	San Vicente	Nuevo Laredo	Tamp	Tex	27°27'55"	99°45'40"	1
4	La Unión	Nuevo Laredo	Tamp	Tex	27°27'15"	99°35'15"	2
5	Don Ignacio	Anáhuac	N.L.	Tex	27°24'50"	100°17'20"	2
6	La Zota	Anáhuac	N.L.	Tex	26°50'36"	99°46'10"	1
7	El Chocho	Lampazos	N.L.	Tex	27°05'07"	100°20'46"	1
8	Charco Largo	Guerrero	Tamp	Tex	27°02'30"	99°38'57"	1
9	El Crucero	Lampazos	N.L.	Tex	26°50'05"	100°29'30"	1
10	4 de Febrero Los Santos	Vallecillo	N.L.	Tex	26°39'14"	99°57'23"	1
11	San Andrés	Bustamante	N.L.	Tex	26°36'16"	100°31'12"	1
12	Casas Blancas	Paras	N.L.	Tex	26°35'05"	99°26'49"	1
13	San Antonio	Sabinas Hidalgo	N.L.	Tex	26°30.2'	100°10.6'	1
14	El Travieso	Paras	N.L.	Tex	26°29.9'	99°31.5'	1
15	Las Coloradas	Salinas Victoria	N.L.	Tex	26°20'	100°23'	3
16	El Conde	Gral. Treviño	N.L.	Tex	26°14'41"	99°23'25"	1
17	El Rincón	Salinas Victoria	N.L.	Tex	26°10.5'	100°06.5'	1
18	El Saúz	Los Aldamas	N.L.	Tex	26°07'	99°31'30"	2
19	ARC de Cerralvo	Cerralvo	N.L.	Tex	26°01'	99°37'	1
20	El 80	Los Ramones	N.L.	Tex	25°41.1'	99°37.3'	1
21	El Chapote	Gral Bravo	N.L.	Tex	25°49'30"	98°39'	1
22	El Tule	China	N.L.	Tex	25°42'	99°14.4'	2
23	Las Delicias	Los Ramones	N.L.	Tex	25°32'18"	99°16'30"	1
24	Nvo La Gloria	Los Ramones	N.L.	Tex	25°40'25"	99°37'10"	1
25	Rancho Dolores	China	N.L.	Tex	25°34'	98°36'20"	4
26	Azalea	China	N.L.	Tex	25°31'38"	99°21'44"	1
27	El Cedro	China	N.L.	Tex	25°29'30"	99°05'45"	1
28	La Mancuerna	China	N.L.	Tex	25°27'15"	99°09'	1
29	San Rafael-Calab-Purgat.	China	N.L.	Tex	25°25'	98°28'50"	1
30	Los Amargosos	Gral. Terán	N.L.	Miqui.	25°23'28"	99°23'25"	1
31	El Novillo	Méndez	Tamp	Tex	25°22'12"	98°17'25"	5
32	San José de Belén	Gral. Terán	N.L.	Miqui.	25°09'30"	99°11'	1
33	Tres Marias	Montemorelos	N.L.	Miqui.	25°08'25"	99°57'09"	1
34	Santa Magdalena	Burgos	Tamp	Miqui.	25°01'30"	99°09'30"	7
35	Makenna	Burgos	Tamp	Miqui.	24°53'50"	99°03'40"	2
36	Santa Cruz	Linares	N.L.	Miqui.	24°51'30"	99°34'	1
37	El Refugio	Linares	N.L.	Miqui.	24°48'30"	99°17'20"	1
38	Lucio Blanco	Villagrán	Tamp	Miqui.	24°44'	99°24'	2
39	El Taray	San Carlos	Tamp	Miqui.	24°39'34"	98°59'33"	1
40	Buenos Aires	Villagrán	Tamp	Miqui.	24°38'25"	99°14'50"	12
41	Los Buentellos	Villagrán	Tamp	Miqui.	24°26'45"	99°34'30"	1
42	El Tinieblo	Jiménez	Tamp	Ver.	24°18'56"	98°30'09"	1
43	Ej. Delicias	Abasolo	Tamp	Ver.	23°57'07"	98°26'50"	1
44	Km. 106	Soto la Marina	Tamp	Ver.	23°38'18"	98°20'59"	1
45	Los Tripones	Soto la Marina	Tamp	Ver.	23°31'36"	98°13'02"	2
46	Los Amaro	Casas	Tamp	Ver.	23°22'53"	98°41'11"	1
47	Barra del Loro	Aldama	Tamp	Ver.	22°55.1'	98°04.4'	1
48	El Águila	Aldama	Tamp	Ver.	22°52'41"	97°57'40"	1



**TABLA XII**

Ubicación de las muestras de v.c.b. presentes en el Grupo de Haplotipo 1 y sus haplotipos.

Clave OVMX	Haplotipo	Tipo de tejido	Rancho	Municipio	Estado	Clasificación, según Hall 1981
903	E	Hígado	Casas Blancas	Paras	Nuevo León	Texano
930	E	Piel	La Zota	Anáhuac	Nuevo León	Texano
957	E	Piel	El Travieso	Paras	Nuevo León	Texano
906	F	Hígado	San José de Belén	Gral. Terán	Nuevo León	Miquihuana
918	F	Hígado	Los Amargosos	Gral. Terán	Nuevo León	Miquihuana
958_A	G	Corazón	El Novillo	Méndez	Tamaulipas	Texano
929	H	Piel	Los Pirineos	Progreso	Coahuila	Texano
945	I	Hígado	El Taray	San Carlos	Tamaulipas	Miquihuana
949	J	Hígado	Ej. Delicias	Abasolo	Tamaulipas	Veracruzano
915_A	K	Piel	Santa Bárbara	Hidalgo	Coahuila	Texano
956_A	L	Piel	Don Ignacio	Anáhuac	Nuevo León	Texano
909	M	Hígado	El Chocho	Lampazos	Nuevo León	Texano
935	N	Piel	San Antonio	Sabinas Hidalgo	Nuevo León	Texano
956_B	N	Piel	Don Ignacio	Anáhuac	Nuevo León	Texano
960_6	N	Astas	Buenos Aires	Villagrán	Tamaulipas	Miquihuana
940	O	Piel	Tres Marias	Montemorelos	Nuevo León	Miquihuana
962_18	P	Astas	Makenna	Burgos	Tamaulipas	Miquihuana
919	Q	Piel	Azalea	China	Nuevo León	Texano
944_2	R	Corazón	El Novillo	Méndez	Tamaulipas	Texano
923	S	Piel	La Mancuerna	China	Nuevo León	Texano
924	T	Piel	El 80	Los Ramones	Nuevo León	Texano
960_2	U	Astas	Buenos Aires	Villagrán	Tamaulipas	Miquihuana
967_27	V	Hueso	Santa Magdalena	Burgos	Tamaulipas	Miquihuana
967_30	V	Piel	Santa Magdalena	Burgos	Tamaulipas	Miquihuana
921_A	W	Hígado	Santa Magdalena	Burgos	Tamaulipas	Miquihuana
921_B	W	Hígado	Santa Magdalena	Burgos	Tamaulipas	Miquihuana
967_26	W	Piel	Santa Magdalena	Burgos	Tamaulipas	Miquihuana
967_28	W	Hueso	Santa Magdalena	Burgos	Tamaulipas	Miquihuana
967_29	W	Hueso	Santa Magdalena	Burgos	Tamaulipas	Miquihuana
960_12	X	Astas	Buenos Aires	Villagrán	Tamaulipas	Miquihuana
960_15	X	Piel	Buenos Aires	Villagrán	Tamaulipas	Miquihuana
961_16	Y	Astas	El Cedro	China	Nuevo León	Texano
960_13	Z	Piel	Buenos Aires	Villagrán	Tamaulipas	Miquihuana
952	AA	Corazón	Barra del Loro	Aldama	Tamaulipas	Veracruzano
933	BB	Piel	El Chapote	Gral. Bravo	Nuevo León	Texano
944_1	CC	Corazón	El Novillo	Méndez	Tamaulipas	Texano
944_3	CC	Corazón	El Novillo	Méndez	Tamaulipas	Texano
958_B	CC	Corazón	El Novillo	Méndez	Tamaulipas	Texano



**TABLA XII**  
Continua...

Clave OVMX	Haplotipo	Tipo de tejido	Rancho	Municipio	Estado	Clasificación, según Hall 1981
908	DD	Hígado	Nvo La Gloria	Los Ramones	Nuevo León	Texano
910_B	EE	Piel	Rancho Dolores	China	Nuevo León	Texano
910_D	EE	Piel	Rancho Dolores	China	Nuevo León	Texano
965_23	EE	Astas	Sn Rafael-Calab-Purgat.	China	Nuevo León	Texano
910_A	FF	Piel	Rancho Dolores	China	Nuevo León	Texano
955_A	GG	Hígado	El Tule	China	Nuevo León	Texano
937_A	HH	Piel	La Unión	Nuevo Laredo	Tamaulipas	Texano
937_B	HH	Piel	La Unión	Nuevo Laredo	Tamaulipas	Texano
928	II	Piel	Las Delicias	Los Ramones	Nuevo León	Miquihuana
942	II	Hígado	El Conde	Gral. Treviño	Nuevo León	Texano
931	JJ	Piel	Las Coloradas	Salinas Victoria	Nuevo León	Texano
954	KK	Corazón	Los Amaro	Casas	Tamaulipas	Veracruzano

**TABLA XIII**

Ubicación de las muestras de v.c.b. presentes en el Grupo de Haplotipo 2 y sus haplotipos.

Clave OVMX	Haplotipo	Tipo de tejido	Rancho	Municipio	Estado	Clasificación, según Hall 1981
915_B	SS	Piel	Santa Bárbara	Hidalgo	Coahuila	Texano
915_C	SS	Piel	Santa Bárbara	Hidalgo	Coahuila	Texano
915_D	SS	Piel	Santa Bárbara	Hidalgo	Coahuila	Texano
920	SS	Piel	ARC de Cerralvo	Cerralvo	Nuevo León	Texano
959	TT	Piel	San Vicente	Nuevo Laredo	Tamaulipas	Texano
938	UU	Piel	4 de Febrero Los Santos	Vallecillo	Nuevo León	Texano

**TABLA XIV**

Ubicación de las muestras de v.c.b. presentes en el Grupo de Haplotipo 3 y sus haplotipos.

Clave OVMX	Haplotipo	Tipo de tejido	Rancho	Municipio	Estado	Clasificación, según Hall 1981
910	LL	Piel	Rancho Dolores	China	Nuevo León	Texano
932_B	LL	Piel	El Saúz	Los Aldamas	Nuevo León	Texano
960_1	MM	Astas	Buenos Aires	Villagrán	Tamaulipas	Miquihuana
960_4	MM	Astas	Buenos Aires	Villagrán	Tamaulipas	Miquihuana
960_8	MM	Astas	Buenos Aires	Villagrán	Tamaulipas	Miquihuana
960_9	MM	Astas	Buenos Aires	Villagrán	Tamaulipas	Miquihuana
960_10	MM	Astas	Buenos Aires	Villagrán	Tamaulipas	Miquihuana
960_11	MM	Astas	Buenos Aires	Villagrán	Tamaulipas	Miquihuana
960_14	MM	Piel	Buenos Aires	Villagrán	Tamaulipas	Miquihuana



**TABLA XIV**  
Continua...

Clave OVMX	Haplotipo	Tipo de tejido	Rancho	Municipio	Estado	Clasificación, según Hall 1981
962_17	MM	Astas	Makenna	Burgos	Tamaulipas	Miquihuana
968_32	MM	Piel	Lucio Blanco	Villagrán	Tamaulipas	Miquihuana
964_21	NN	Astas	El Refugio	Linares	Nuevo León	Miquihuana
968_31	OO	Hueso	Lucio Blanco	Villagrán	Tamaulipas	Miquihuana
925	PP	Piel	Charco Largo	Guerrero	Tamaulipas	Texano
926	PP	Piel	Santa Cruz	Linares	Nuevo León	Miquihuana
932_A	PP	Piel	El Saúz	Los Aldamas	Nuevo León	Texano
947	QQ	Corazón	El Tinieblo	Jiménez	Tamaulipas	Veracruzano
953	RR	Hígado	El Aguila	Aldama	Tamaulipas	Veracruzano

**TABLA XV**

Ubicación de las muestras de v.c.b. presentes en el Grupo de Haplotipo 4 y sus haplotipos.

Clave OVMX	Haplotipo	Tipo de tejido	Rancho	Municipio	Estado	Clasificación, según Hall 1981
927_B	VV	Piel	Las Coloradas	Salinas Victoria	Nuevo León	Texano
941	VV	Hígado	San Andrés	Bustamante	Nuevo León	Texano
955_B	WW	Piel	El Tule	China	Nuevo León	Texano

**TABLA XVI**

Ubicación de las muestras de v.c.b. presentes en el Grupo de Haplotipo 5 y sus haplotipos.

Clave OVMX	Haplotipo	Tipo de tejido	Rancho	Municipio	Estado	Clasificación, según Hall 1981
901	A	Corazón	El Crucero	Lampazos	Nuevo León	Texano
917	A	Hígado	El Rincón	Salinas Victoria	Nuevo León	Texano
946_A	B	Corazón	Los Tripones	Soto la Marina	Tamaulipas	Veracruzano
946_B	C	Hígado	Los Tripones	Soto la Marina	Tamaulipas	Veracruzano
948	D	Corazón	Km. 106	Soto la Marina	Tamaulipas	Veracruzano

**TABLA XVII**

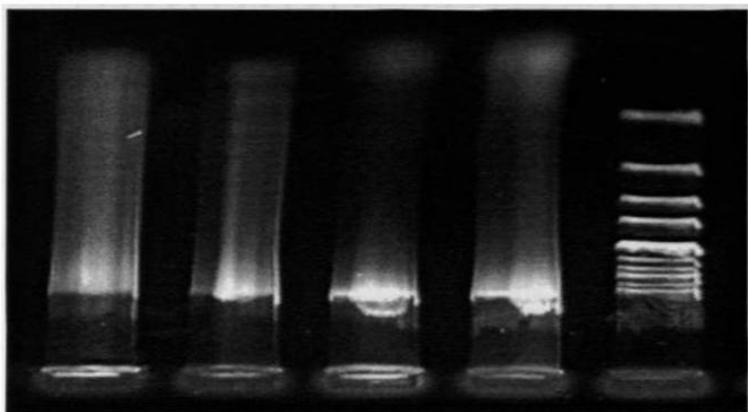
Ubicación de las muestras de v.c.b. presentes en el Grupo de haplotipo 6 y su Haplotipo.

Clave OVMX	Haplotipo	Tipo de tejido	Rancho	Municipio	Estado	Clasificación, según Hall 1981
927_A	YY	Piel	Las Coloradas	Salinas Victoria	Nuevo León	Texano

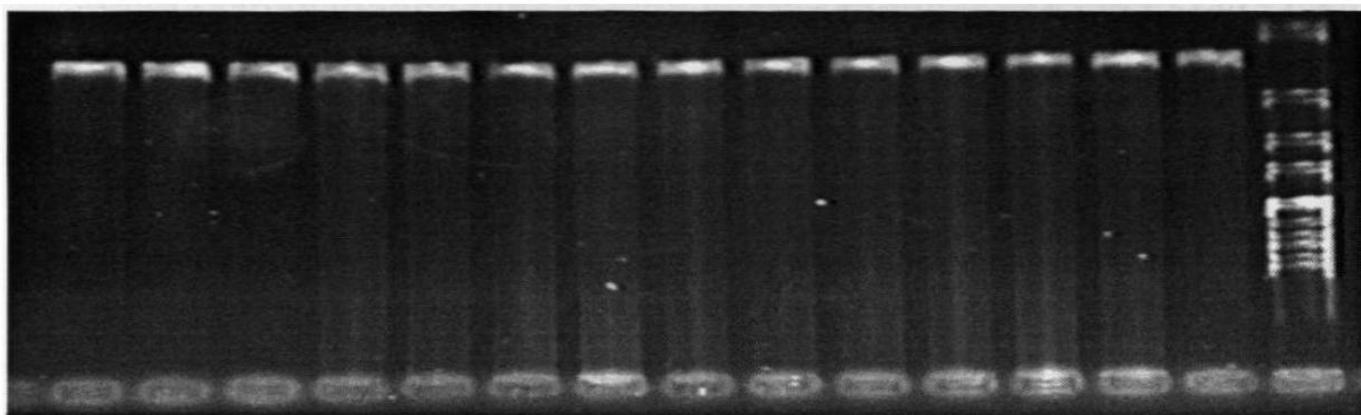
**TABLA XVIII**

Ubicación de las muestras de v.c.b. presentes en el Grupo de Haplotipo 7 y su haplotipo.

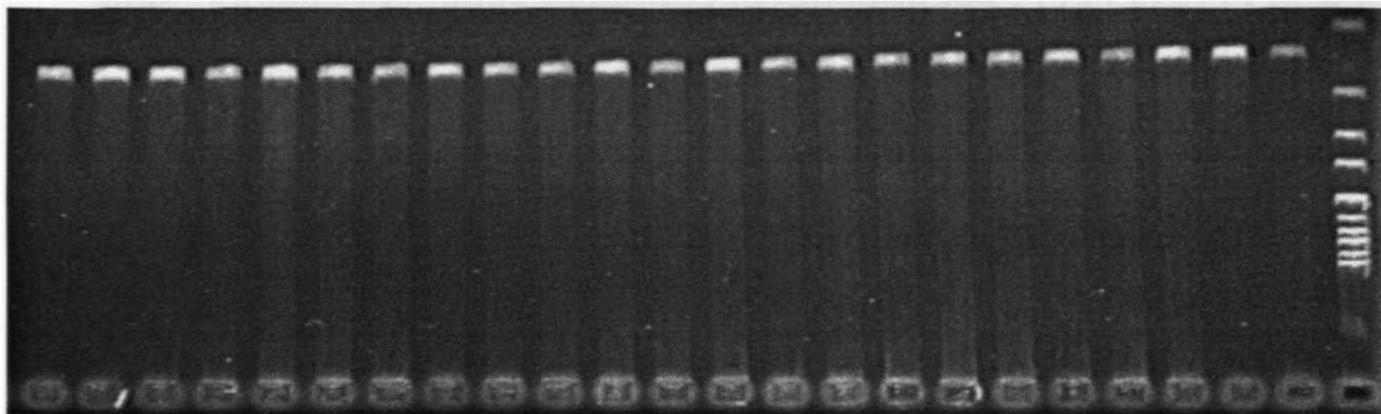
Clave OVMX	Haplotipo	Tipo de tejido	Rancho	Municipio	Estado	Clasificación, según Hall 1981
916	XX	Hígado	Los Buentellos	Villagrán	Tamaulipas	Miquihuana



**Figura 2. Presencia del ADNmt (fotografía en el Eagle eyes).**



**Figura 3. Amplificación del ADN (fotografía en el Eagle eyes).**



**Figura 4. Purificación de los productos de la RCP con QIAquick™ PCR Purification Kit Protocol Amplificación del ADN (fotografía en el Eagle eyes).**



Tabla XIX. Distancia de los datos matriz de Kimura de dos parámetros de los 51 haplotipos.

	Haplotipos																				
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S		
1	A																				
2	B	0.01015																			
3	C	0.00505	0.01186																		
4	D	0.00675	0.01358	0.00505																	
5	E	0.06057	0.0682	0.06246	0.06056																
6	F	0.06057	0.0682	0.06246	0.06437	0.01017															
7	G	0.05875	0.06636	0.06063	0.06253	0.01189	0.00506														
8	H	0.06057	0.0682	0.06246	0.06437	0.01017	0.00337	0.00506													
9	I	0.0664	0.07413	0.06832	0.07025	0.00848	0.0119	0.01362	0.0119												
10	J	0.06259	0.07026	0.06449	0.06641	0.00508	0.00848	0.01019	0.00848	0.00678											
11	K	0.06246	0.07012	0.06437	0.06628	0.00506	0.00846	0.01017	0.00846	0.01019	0.00849	0.00168									
12	L	0.06056	0.06819	0.06245	0.06436	0.00676	0.01017	0.01189	0.01017	0.01191	0.00859	0.00168	0.01017								
13	M	0.06678	0.06435	0.05866	0.06055	0.00676	0.01361	0.01534	0.01361	0.01192	0.00859	0.00506	0.00506	0.00676	0.00337						
14	N	0.06056	0.06819	0.06245	0.06436	0.00337	0.01017	0.01189	0.01017	0.00849	0.00508	0.00506	0.00506	0.00676	0.00337	0.00337					
15	O	0.06057	0.0682	0.06246	0.06437	0.00337	0.01017	0.01189	0.01017	0.00848	0.00508	0.00506	0.00506	0.00676	0.00337	0.00337	0.00337				
16	P	0.05871	0.06629	0.0606	0.06251	0.00169	0.00847	0.01021	0.00847	0.00678	0.0034	0.00337	0.00506	0.00506	0.00168	0.00168	0.00168	0.00168			
17	Q	0.06425	0.06808	0.06616	0.06807	0.00846	0.01533	0.01709	0.01704	0.01534	0.01187	0.01187	0.01359	0.01015	0.01015	0.00845	0.00845	0.00845	0.00505		
18	R	0.05867	0.06627	0.06056	0.06245	0.00846	0.01533	0.01709	0.01704	0.01533	0.01021	0.01017	0.00846	0.01189	0.00846	0.00676	0.00676	0.00676	0.00506		
19	S	0.06057	0.0682	0.06246	0.06437	0.00676	0.01361	0.01534	0.01361	0.01191	0.00849	0.00846	0.01017	0.00676	0.00676	0.00676	0.00676	0.00676	0.00506		
20	T	0.06439	0.07208	0.0663	0.06821	0.01017	0.01707	0.01881	0.01361	0.01536	0.01191	0.01189	0.01189	0.01017	0.01017	0.01017	0.01017	0.01017	0.00848	0.01017	
21	U	0.05875	0.06636	0.06063	0.06253	0.00847	0.01535	0.01708	0.01189	0.01363	0.01019	0.01018	0.01018	0.01191	0.01191	0.01191	0.01191	0.01191	0.00847	0.00847	
22	V	0.06066	0.0683	0.06255	0.06445	0.00337	0.01018	0.01189	0.01189	0.00676	0.00847	0.00507	0.00506	0.00676	0.00676	0.00676	0.00676	0.00676	0.00506	0.00677	
23	W	0.06246	0.07012	0.06437	0.06628	0.00506	0.01189	0.01362	0.01189	0.01019	0.00678	0.00676	0.00676	0.00846	0.00846	0.00846	0.00846	0.00846	0.00506	0.00677	
24	X	0.06246	0.07012	0.06437	0.06628	0.00506	0.01189	0.01362	0.01189	0.01019	0.00678	0.00676	0.00676	0.00846	0.00846	0.00846	0.00846	0.00846	0.00506	0.00677	
25	Y	0.05868	0.06628	0.06057	0.06247	0.00506	0.01189	0.01362	0.01189	0.01019	0.00678	0.00676	0.00676	0.00846	0.00846	0.00846	0.00846	0.00846	0.00506	0.00677	
26	Z	0.06057	0.0682	0.06246	0.06437	0.00337	0.01017	0.01189	0.01017	0.00848	0.00508	0.00506	0.00506	0.00676	0.00676	0.00676	0.00676	0.00676	0.00506	0.00677	
27	AA	0.06068	0.06832	0.06257	0.06448	0.00678	0.01019	0.01191	0.01019	0.00847	0.00508	0.00506	0.00506	0.00676	0.00676	0.00676	0.00676	0.00676	0.00506	0.00677	
28	BB	0.0568	0.06438	0.05868	0.06057	0.00676	0.01361	0.01536	0.01361	0.0119	0.00848	0.00846	0.01017	0.00676	0.00676	0.00676	0.00676	0.00676	0.00506	0.00677	
29	CC	0.05867	0.06627	0.06056	0.06245	0.00506	0.01189	0.01362	0.01189	0.0102	0.00678	0.00676	0.00676	0.00846	0.00846	0.00846	0.00846	0.00846	0.00506	0.00677	
30	DD	0.06057	0.0682	0.06246	0.06437	0.00676	0.01361	0.01534	0.01361	0.01191	0.00849	0.00846	0.01017	0.00676	0.00676	0.00676	0.00676	0.00676	0.00506	0.00677	
31	EE	0.06437	0.07205	0.06627	0.06819	0.00676	0.01707	0.01881	0.01361	0.01537	0.01192	0.01189	0.01189	0.01017	0.01017	0.01017	0.01017	0.01017	0.00846	0.01017	
32	FF	0.06063	0.06828	0.06253	0.06443	0.00676	0.01362	0.01534	0.01361	0.01191	0.00847	0.00846	0.01017	0.00676	0.00676	0.00676	0.00676	0.00676	0.00506	0.01018	
33	GG	0.06056	0.06819	0.06245	0.06436	0.00676	0.01361	0.01534	0.01361	0.01192	0.0085	0.00846	0.01017	0.00676	0.00676	0.00676	0.00676	0.00676	0.00506	0.01018	
34	HH	0.06246	0.07012	0.06437	0.06628	0.00846	0.01533	0.01708	0.01534	0.01361	0.01192	0.01189	0.01189	0.01017	0.01017	0.01017	0.01017	0.01017	0.00846	0.01018	
35	II	0.06438	0.07207	0.06629	0.06819	0.00676	0.01707	0.01881	0.01361	0.01537	0.01192	0.01189	0.01189	0.01017	0.01017	0.01017	0.01017	0.01017	0.00846	0.01018	
36	JJ	0.06245	0.07011	0.06436	0.06627	0.00846	0.01533	0.01707	0.01365	0.01022	0.00847	0.00846	0.01017	0.00676	0.00676	0.00676	0.00676	0.00676	0.00506	0.01018	
37	KK	0.05501	0.06257	0.05689	0.055	0.00507	0.01536	0.0171	0.01536	0.01019	0.00848	0.00846	0.01019	0.00676	0.00676	0.00676	0.00676	0.00676	0.00506	0.01018	
38	LL	0.06439	0.06821	0.0663	0.06832	0.02406	0.03115	0.03295	0.02759	0.03302	0.02945	0.02582	0.02406	0.02406	0.02406	0.02406	0.02406	0.02406	0.02582	0.02582	
39	MM	0.06249	0.06629	0.06439	0.06628	0.0223	0.02937	0.03115	0.02582	0.03122	0.02766	0.02406	0.02406	0.02406	0.02406	0.02406	0.02406	0.02406	0.02582	0.02582	
40	NN	0.06439	0.06821	0.0663	0.06832	0.02406	0.03115	0.03295	0.02759	0.03301	0.02944	0.02582	0.02406	0.02406	0.02406	0.02406	0.02406	0.02406	0.02582	0.02582	
41	OO	0.0587	0.06631	0.06059	0.05869	0.0223	0.02937	0.03117	0.02582	0.03121	0.02765	0.02406	0.02406	0.02406	0.02406	0.02406	0.02406	0.02406	0.02582	0.02582	
42	PP	0.06681	0.06435	0.05869	0.06058	0.02406	0.02406	0.02584	0.02406	0.0312	0.02587	0.0223	0.0223	0.02055	0.02055	0.02055	0.02055	0.02055	0.02406	0.02406	
43	QQ	0.06249	0.067019	0.06439	0.0663	0.02937	0.02937	0.03118	0.02406	0.03122	0.02764	0.02759	0.02582	0.02406	0.02406	0.02406	0.02406	0.02406	0.02582	0.02582	
44	RR	0.06681	0.06439	0.05869	0.06058	0.02759	0.03115	0.03296	0.03115	0.03301	0.02944	0.02582	0.02406	0.02406	0.02406	0.02406	0.02406	0.02406	0.02582	0.02582	
45	SS	0.07392	0.07782	0.07586	0.07391	0.04191	0.04925	0.05114	0.04925	0.0512	0.0475	0.04374	0.04191	0.04191	0.04191	0.04191	0.04191	0.04191	0.04557	0.04557	
46	TT	0.07198	0.07587	0.07391	0.07197	0.04009	0.04741	0.04929	0.04741	0.04933	0.04555	0.04191	0.04191	0.04009	0.04374	0.04374	0.04374	0.04374	0.04557	0.04557	
47	UU	0.07198	0.07586	0.07391	0.07196	0.04009	0.04741	0.04929	0.04741	0.04933	0.04555	0.04191	0.04191	0.04009	0.04374	0.04374	0.04374	0.04374	0.04557	0.04557	
48	VV	0.06807	0.07193	0.06616	0.07192	0.02755	0.03468	0.03651	0.03468	0.02938	0.02939	0.02578	0.02402	0.0311	0.02755	0.02755	0.02755	0.02755	0.02928	0.0311	
49	WW	0.06629	0.07013	0.06438	0.07013	0.03294	0.04016	0.04203	0.04016	0.0348	0.0348	0.03115	0.02937	0.03654	0.03294	0.03294	0.03294	0.03294	0.03294	0.03294	
50	XX	0.05305	0.05679	0.05492	0.05679	0.02759	0.03115	0.03297	0.03115	0.03301	0.02944	0.02582	0.02406	0.03115	0.02759	0.02759	0.02759	0.02759	0.0311	0.03294	
51	YY	0.06404	0.06785	0.06785	0.06976	0.05474	0.05849	0.05669	0.05849	0.06049	0.05673	0.05287	0.05101	0.05848	0.05473	0.05474	0.05474	0.05474	0.05661	0.05661	



Tabla XIX. Continua 1.  
Haplotipos

	T	U	V	W	X	Y	Z	AA	BB	CC	DD	EE	FF	GG	HH	II	JJ	KK	LL
21	U	0.01189	0.00507																
22	V	0.00676	0.01018	0.00506															
23	W	0.00846	0.01018	0.00506	0.00337														
24	X	0.00846	0.01018	0.00506	0.00337	0.00337													
25	Y	0.00846	0.01018	0.00506	0.00337	0.00337	0.00168												
26	Z	0.00676	0.00847	0.00337	0.00168	0.00507	0.00338												
27	AA	0.01019	0.01191	0.00677	0.00507	0.00506	0.00337	0.00677											
28	BB	0.01017	0.01189	0.00676	0.00506	0.00506	0.00676	0.00849	0.00506										
29	CC	0.01189	0.01019	0.00507	0.00676	0.00676	0.00846	0.01017	0.00846	0.00676									
30	DD	0.01017	0.0119	0.00677	0.00846	0.00846	0.0102	0.01017	0.01189	0.00846	0.00676								
31	EE	0.01361	0.01536	0.01019	0.01189	0.01189	0.01364	0.01361	0.01361	0.01189	0.00676	0.01018							
32	FF	0.01362	0.01191	0.00677	0.00846	0.00846	0.01019	0.01017	0.00847	0.00847	0.00676	0.01018	0.00677						
33	GG	0.01361	0.01191	0.00678	0.00846	0.00846	0.01021	0.01017	0.00846	0.00846	0.00676	0.01017	0.00846	0.00846					
34	HH	0.01189	0.01363	0.00847	0.00676	0.01017	0.01017	0.01189	0.01189	0.01017	0.00846	0.01189	0.00846	0.00846	0.01189				
35	II	0.01017	0.0119	0.00677	0.00846	0.00846	0.0102	0.01017	0.01189	0.01189	0.01017	0.01017	0.01017	0.01017	0.01189	0.01189			
36	JJ	0.01189	0.0102	0.00508	0.01017	0.01017	0.00846	0.01193	0.01189	0.01017	0.00846	0.01189	0.00848	0.00846	0.01017	0.00846	0.01017		
37	KK	0.0119	0.01363	0.00847	0.01019	0.01019	0.01019	0.00848	0.01189	0.00848	0.0102	0.00848	0.00848	0.00849	0.01019	0.00848	0.01019	0.02235	
38	LL	0.02406	0.02943	0.02411	0.02582	0.02582	0.02406	0.02412	0.02759	0.02582	0.02759	0.02759	0.02759	0.02759	0.02759	0.02759	0.02937	0.02235	
39	MM	0.0223	0.02764	0.02234	0.02406	0.02406	0.0223	0.02235	0.02582	0.02759	0.02582	0.02582	0.02582	0.02582	0.02759	0.02582	0.02759	0.02234	0.00168
40	NN	0.02406	0.02942	0.0241	0.0223	0.02582	0.02406	0.02411	0.02759	0.02937	0.02759	0.02759	0.02759	0.02759	0.02759	0.02759	0.02937	0.00337	
41	OO	0.0223	0.02763	0.02233	0.02406	0.02406	0.0223	0.02234	0.02582	0.02759	0.02582	0.02582	0.02582	0.02582	0.02759	0.02582	0.02406	0.02055	
42	PP	0.02406	0.02941	0.02409	0.0223	0.0223	0.0223	0.02055	0.02406	0.02582	0.02406	0.02406	0.02406	0.02406	0.02759	0.02406	0.02763	0.02055	
43	QQ	0.02937	0.03479	0.02941	0.02406	0.02759	0.02582	0.02586	0.02937	0.03115	0.02937	0.03294	0.0294	0.02582	0.02759	0.02763	0.02937	0.02055	
44	RR	0.02759	0.02942	0.02764	0.02582	0.02582	0.02406	0.02411	0.02759	0.02937	0.02759	0.03115	0.02763	0.02406	0.02937	0.02587	0.02055		
45	SS	0.0457	0.05119	0.04564	0.04374	0.04374	0.04191	0.04198	0.03828	0.04009	0.0457	0.04191	0.04563	0.04191	0.04741	0.03654	0.03468		
46	TT	0.04374	0.04932	0.04368	0.04191	0.04191	0.04191	0.04015	0.03648	0.03828	0.04374	0.04009	0.04379	0.04374	0.04557	0.04557	0.03289		
47	UU	0.04741	0.04932	0.04368	0.04191	0.04191	0.04191	0.04009	0.03648	0.03828	0.04374	0.04009	0.04379	0.04374	0.04557	0.04557	0.03289		
48	VV	0.03468	0.03294	0.0276	0.02932	0.02932	0.02932	0.03117	0.02755	0.02578	0.02755	0.0311	0.02759	0.04374	0.04557	0.04009	0.03834	0.04009	
49	WW	0.03654	0.03841	0.03299	0.03115	0.03115	0.02937	0.033	0.02582	0.02759	0.03294	0.03654	0.03298	0.02937	0.02937	0.03474	0.03654		
50	XX	0.03115	0.033	0.02764	0.02582	0.02582	0.02406	0.02411	0.02055	0.02582	0.02759	0.03115	0.02763	0.02406	0.02937	0.03121	0.03654		
51	YY	0.05662	0.06047	0.05483	0.05473	0.05102	0.05287	0.05297	0.04918	0.05287	0.05102	0.05101	0.05109	0.05101	0.05661	0.05286	0.05299	0.05288	



Tabla XIX. Continua 2.

MM NN OO PP QQ RR SS TT UU V WW XX YY

	MM	NN	OO	PP	QQ	RR	SS	TT	UU	V	WW	XX	YY
40	NN	0.00168											
41	OO	0.00337	0.00506										
42	PP	0.01881	0.02055	0.01533									
43	QQ	0.02055	0.01881	0.01707	0.00846								
44	RR	0.01881	0.02055	0.01533	0.01361	0.01189							
45	SS	0.03648	0.03828	0.03468	0.04009	0.03828	0.03648						
46	TT	0.03468	0.03648	0.03289	0.03828	0.04009	0.03828	0.00168					
47	UU	0.04191	0.04374	0.04009	0.04191	0.04741	0.04557	0.00846	0.00676				
48	VV	0.03648	0.03828	0.03648	0.03468	0.03468	0.03468	0.03822	0.04003	0.03642			
49	WW	0.03835	0.04016	0.03474	0.03294	0.03474	0.03294	0.02755	0.02932	0.02932	0.01187		
50	XX	0.02223	0.02406	0.02582	0.02759	0.02937	0.02759	0.03468	0.03648	0.03648	0.02755	0.02582	
51	YY	0.05103	0.05288	0.05104	0.05289	0.05475	0.05289	0.05468	0.05655	0.05654	0.05464	0.05101	0.03822

