



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

DESCRIPCIÓN CROMOSÓMICA DE *Peromyscus levipes* (Merriam,
1898) DE SANTIAGO COLTZINGO OCOYUCAN, PUEBLA

TESIS QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
LICENCIADA EN BIOLOGÍA

PRESENTA:

SERENDY ROMERO CUATZO

DIRECTORA:

M. en C. ROSA MARÍA GONZÁLEZ MONROY

PUEBLA

ABRIL, 2024



Facultad de Ciencias Biológicas
BUAP

DEDICATORIA

A mis padres Francisco Romero Cabrera y Raquel Cuatzo Montes, por guiarme, apoyarme, motivarme y darme su cariño incondicional.

A mis hermanos Josué y Francisco Javier por acompañarme en esta trayectoria.

A mis amigas Sandra, Alexia, Jocelyn, Victoria y Lesly por permitirme ser parte de su vida, y por orientarme y apoyarme en la escuela y en la vida.

A Dios por ser mi fuente de Fe para no rendirme.

AGRADECIMIENTOS

A la Mtra. Rosa María González Monroy por permitirme realizar el presente estudio en el laboratorio de Mastozoología, además de orientarme, asesorarme y aconsejarme.

Al Dr. Jesús Martínez Vázquez por su ayuda, consejos y asesoramiento durante la elaboración del presente estudio.

A la Dra. Adriana Martínez Guevara por su asesoría y consejos en la revisión de este estudio.

Al Juez de Paz Santiago González Quechol por permitirme realizar muestreos en Santiago Coltzingo, Ocoyucan Puebla. Además de las facilidades y amabilidad durante el trabajo de campo de este estudio.

A Judith Méndez Pacio por apoyarme, guiarme y aconsejarme durante mi estancia en el laboratorio de Mastozoología.

A mis profesores (as) por el conocimiento compartido durante mi estancia y formación profesional.

A mi familia y seres queridos que me apoyaron durante la ejecución de este trabajo.

ÍNDICE

DEDICATORIA	
AGRADECIMIENTOS	
RESUMEN	I
1.INTRODUCCIÓN	1
1.1.1 Cromosomas.....	1
1.1.2 Citogenética	2
1.2 Biología de la especie	6
1.2.1. Descripción morfológica	6
1.2.2. Estado de conservación	8
1.2.3. Hábitat, Actividad y Distribución	8
2. ANTECEDENTES	9
JUSTIFICACIÓN	13
3.1 OBJETIVO GENERAL	14
3.1. Objetivos particulares.....	14
4. ÁREA DE ESTUDIO.....	15
5. MATERIALES Y MÉTODOS	16
5.1. Trabajo de campo	16
5.2. Trabajo de laboratorio	17
5.2.1. Obtención de cromosomas.....	17
5.2.2. Elaboración de laminillas	19
5.2.3. Construcción del cariotipo	19
5.3 Bandas cromosómicas G	20
5.4. Bandas cromosómicas C	21
6. RESULTADOS	22
6.1. Patrón de bandas cromosómicas G	29
6.2. Patrón de bandas cromosómicas C	33
7. DISCUSIÓN	37
8. CONCLUSIÓN	39
9. BIBLIOGRAFÍA	40
10. ANEXOS	46

RESUMEN

La citogenética es una disciplina entre la biología celular y la genética, la cual tiene como objetivo el estudio de los cromosomas, describiendo el uso de técnicas de análisis cromosómico, tales como el cariotipo en metafase el cual involucra el emparejamiento de cromosomas homólogos. El análisis del cariotipo es una herramienta que permite realizar comparaciones de poblaciones de roedores, su evolución y, taxonomía. Además, funciona como una herramienta para revelar fuentes de variabilidad genética. De igual manera, el patrón de bandeo cromosómico G y C identifican anomalías cromosómicas como translocaciones, deleciones, inversiones. El presente estudio tuvo como objetivo realizar la descripción cromosómica de *Peromyscus levipes* en Santiago Coltzingo, Ocoyucan, Puebla. Con el uso de 60 trampas tipo Sherman se capturaron cinco ejemplares vivos los cuales fueron trasladados al laboratorio de Mastozoología (BUAP) en donde se realizó la técnica de extracción de médula ósea para obtener el cariotipo convencional. Para la obtención de bandas cromosómicas G se utilizó Tripsina y para el bandeo cromosómico C se utilizó hidróxido de Bario. *Peromyscus levipes* presentó un $2n=48$ y $NF=56$. En cuanto a la morfología cromosómica de los autosomas, está se conformó por un par cromosómico metacéntrico, un par cromosómico submetacéntrico, tres pares subtlocéntricos y 18 pares telocéntricos, el par sexual se conformó por el "X" de tamaño grande y "Y" pequeño, ambos submetacéntricos. El patrón de bandeo cromosómico G mostró que los cromosomas autosómicos grandes presentaron entre ocho a 12 bandas, y en los medianos entre cuatro a seis bandas, en los pequeños entre uno a cuatro bandas de eucromatina. El patrón de bandeo cromosómico C, indicó que la heterocromatina constitutiva se restringe en las regiones centromérica de los cromosomas. La comparación de estos resultados con otros realizados en México permitió establecer que, *Peromyscus levipes* tiene un número diploide constante, el cual coincide con lo observado en general dentro del género. Sin embargo, se estableció que *P. levipes* presenta polimorfismo cromosómico ya que su número fundamental varió de 56 a 60 en diferentes zonas de México.

1. INTRODUCCIÓN

1.1.1 Cromosomas

El ciclo de crecimiento y división celular se caracteriza por las divisiones sucesivas de una célula en las cuales se da la duplicación de su genoma a las células hijas (Pierce, 2009). Durante este proceso se dan dos fases importantes, la Síntesis o también llamada interfase (G1, S, y G2) en el cual la célula realiza replicación del ADN y síntesis de constituyentes celulares para las células hijas; y la fase M o mitótica, en donde hay reorganización de los cromosomas y centrosomas, y las cromátidas hermanas condensadas se separan y dándose los estadios de mitosis: profase, prometafase, metafase, anafase y telofase (McIntosh, 2016). Posteriormente se da la Citocinesis, uno de los estadios donde los cromosomas son visibles, se alinean en el huso mitótico, alineados en la placa metafásica y se encuentran altamente condensados como resultado de la condensación de la cromatina durante el estadio de la metafase (Malumbres, 2020). La cromatina es el ADN empaquetado, el cual contiene el mensaje hereditario y está organizado en varias entidades separadas a los que conocemos como cromosomas (Mattei y Luciani, 2003).

En cuanto a su estructura los cromosomas poseen tres elementos importantes (*sensu* Pierce, 2009):

1. Centrómero: Punto de anclaje de los microtúbulos del huso (filamentos responsables del movimiento de los cromosomas durante la división celular). Es una zona o región estrecha que divide al cromosoma en dos secciones o “brazos”, el corto se denomina “brazo p” y el mas largo “brazo q” (Nimer, 2012).
2. Telómeros: Son los extremos o puntas naturales de los cromosomas, sirven para proteger y mantener la estabilidad cromosómica. También participan en la limitación de la división celular.
3. Orígenes de replicación: Son los sitios donde comienza la síntesis del ADN,

La posición del centrómero define la longitud de los brazos de los cromosomas, dándoles su forma específica, y en función de esta longitud los cromosomas pueden ser clasificados en metacéntricos, submetacéntricos, acrocéntricos y telocéntricos (Nimer, 2012).

Los cromosomas metacéntricos tienen el centrómero ubicado justo en medio, entre los extremos del cromosoma (brazos cromosómicos iguales; Pierce, 2009). Si el centrómero se ubica descentrado pertenece a los submetacéntricos (diferencias significativas entre los dos brazos, Stimpson y Sullivan, 2013). En el caso de los subteloacéntricos, el centrómero se encuentra ubicado muy cerca al final del cromosoma (brazo corto muy pequeño; Stimpson y Sullivan, 2013). Para el caso de los telocéntricos o acrocéntricos, el centrómero se ubica al final del cromosoma, adyacente al telómero (sin brazos cortos; Pierce, 2009; Fig. 1). Algo notable de los centrómeros en los cromosomas en metafase, es que cuando estos están muy condensados, se visualiza al centrómero como una constricción donde se encuentran a las cromátidas hermanas unidas (Stimpson y Sullivan, 2013).

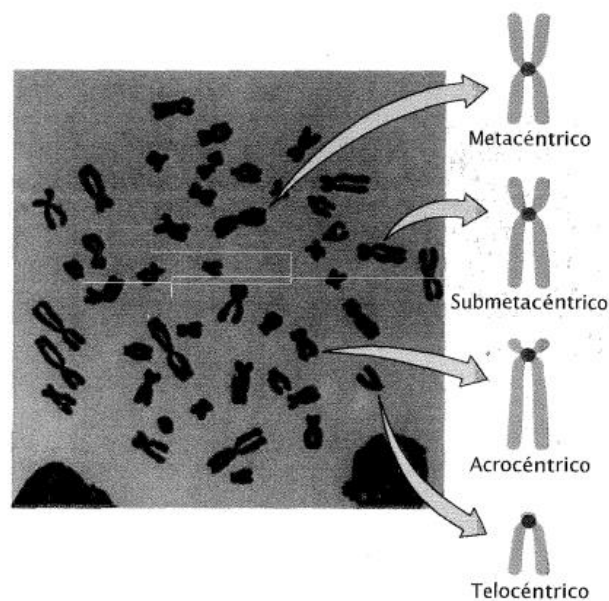


Figura 1. Tipos de cromosomas. Imagen tomada de Pierce (2009).

1.1.2 Citogenética

La citogenética es una disciplina que se encuentra entre la biología celular y la genética, la cual estudia los cromosomas como estructuras físicas (Guenet *et al.*, 2015). Permite identificar anomalías citogenéticas, ya sea por malformaciones que pueden amenazar la supervivencia animal (por aneuploidías), baja fertilidad (relacionado con translocaciones balanceadas), esterilidad (relacionada con anomalías en los cromosomas sexuales; Ortega *et al.*, 2018). Además de

encargarse de la descripción del uso de técnicas para el análisis cromosómico, este análisis, también llamado cariotipo implica el emparejamiento de cromosomas homólogos (Cherlyedath, 2019). Los cromosomas son la unidad fundamental de herencia del ADN, tienen como función el transporte de información genética y su evolución va en conjunto con la de la especie (Tigano *et al.*, 2022). El número cromosómico y morfología varía entre especies, teniendo cada una un número y morfología específica de cromosomas (Tigano *et al.*, 2022). Las células eucariotas diploides tienen dos conjuntos de cromosomas heredados por la madre y padre, productos de la reproducción sexual, así mismo, cada conjunto cromosómico tiene su par homólogo parecido en estructura, tamaño e información genética, con una codificación particular de características hereditarias (Pierce, 2009).

En un organismo, el conjunto o complemento de cromosomas en metafase se le denomina cariotipo (Borzan y Schlarbaum, 2004). El término también se refiere a la imagen producida en el laboratorio de los cromosomas de una persona aislados de una célula individual y dispuestos en orden numérico (NIH, 2024). Para su análisis descriptivo, el cariotipo se define numéricamente con parámetros estadísticos de valores basados en las medidas de la morfología de los cromosomas (Borzan y Schlarbaum, 2004).

En el cariotipo se hace uso del número cromosómico ($2n$) y el número fundamental (NF), este último es el número total de brazos cromosómicos por conjunto de cromosomas (Guenet *et al.*, 2015). Para la obtención de los cariotipos, estos se preparan a partir de células en división activa, tales como las células de los tejidos meristemáticos de plantas, glóbulos blancos, o células de la médula ósea de animales tratadas con colchicina, la cual impide entrar en la división mitótica anafase, estas se extienden sobre el portaobjetos, se tiñen y se observan en el microscopio para ser fotografiados (Pierce, 2009).

Existen métodos de bandeo cromosómico que se basan en teñir los cromosomas para analizar alguna función específica (Gupta *et al.*, 2019). Entre los métodos de bandeo más comunes se encuentran bandas G (Giemsa), R (Reversa a G), C (centrómero) y Q (quinacrina; Bickmore, 2001). Las bandas que tienen una fuerte tinción se llaman bandas positivas y por el contrario las que se tiñen débilmente se llaman bandas

negativas (Bickmore, 2001). En el caso de las bandas G positivas, éstas indican presencia de eucromatina y permiten identificar rearrreglos en el número cromosómico como traslocaciones, en las cuales un cromosoma se puede mover a otro cromosoma no homólogo o en el mismo, afectando así al fenotipo; deleciones donde el cromosoma pierde un segmento; inversiones en el que un segmento del cromosoma se invierte, comprometiendo al centrómero, a lo que se le conoce como inversión pericéntrica, si no lo compromete se le denomina inversión paracéntrica (Gupta *et al.*, 2019).

En el caso de las bandas C positivas, estas indican que contienen heterocromatina constitutiva, la cual está conformada por ADN satélite (Bickmore, 2001). Las bandas C son resultado de la renaturalización rápida del ADN satélite previo a una desnaturalización (Mattei y Luciani, 2003). Estos bandeos se pueden representar mediante diagramas idealizados (ideogramas), en los cuales las bandas G se representan en negro y estas mismas bandas se numeran consecutivamente lejos del centrómero en los brazos corto (p) y largo (q; Bickmore, 2001).

En general, el análisis y estudio del cariotipo permite realizar comparaciones de poblaciones intra o interespecíficas, así como también puede poner en evidencia fuentes de variabilidad genética, y permite comprender la evolución dentro de las especies, e incluso tener conocimiento sobre su taxonomía (Baeza *et al.*, 2015).

En muchas especies de mamíferos, incluida la humana, se han podido analizar los cariotipos, observándose hasta tres tipos de cromosomas (Guenet *et al.*, 2015). Uno de los grupos de mamíferos mejor estudiados en este sentido, son los que pertenecen al orden Rodentia, ya que es un grupo considerado como un modelo animal óptimo para la investigación científica, esto debido a su tamaño corporal, su ciclo de vida corto, carácter dócil, el promedio de crías que presenta con buenas características reproductivas y maternas, además de tener similitudes fisiológicas con los humanos (Cerón, 2018).

En México, la mastofauna comprende 550 especies, incluidas en 201 géneros, 46 familias y 13 órdenes (González y Arroyo, 2013). Dentro de esta fauna, el orden

Rodentia es el de mayor número de especies, teniendo una representación hasta del 45% (235), del total (Ceballos *et al.*, 2005).

Dentro de este orden, destacan principalmente ocho familias por su endemismo: Sciuridae (ardillas), Castoridae (castores), Geomyidae (tuzas), Heteromyidae (ratas canguros), Dasyproctidae (serete), Agoutidae (pacas), Erethizontidae (puerco espines), Muridae y Cricetidae (Ceballos *et al.*, 2005; Cervantes y Ballesteros, 2012). Dentro de la familia Cricetidae sobresalen los géneros *Chaetodipus*, *Neotoma*, *Peromyscus* y *Reithrodontomys* (González y Arroyo, 2013), siendo el género *Peromyscus* uno de los más diversos y con una amplia distribución, contando con 51 especies, de las cuales 33 son endémicas del país (González y Arroyo, 2013).

El género *Peromyscus* habita mayoritariamente en islas, desiertos, zonas montañosas, bosques de tierras medias y altas (Leon, 2014). Además, es un grupo que ha sido objeto de estudio para la investigación en ecología, comportamiento, fisiología, sistemática y evolución (Rojas y Barboza, 2007).

1.2 BIOLOGÍA DE LA ESPECIE

1.2.1 Descripción morfológica

Peromyscus levipes (Merriam, 1898), también conocido como ratón de patas ágiles (*sensu* Schoch *et al.*, 2020), es un roedor de tamaño pequeño a mediano, el color de su pelaje es oscuro, los laterales de su cuerpo son de color ocre a rojizo semejante a una línea no tan marcada, en su dorso el pelaje es color café oscuro, incluso se aprecia una franja negruzca difusa, el anillo ocular y el color del pelaje es oscuro, incluyendo las orejas, cuyo borde se aprecia de color blanco, siendo grande en forma circular, la parte ventral del cuerpo es color blanco con una apariencia sutil a color crema, tiene un parche pectoral color marrón el cual está presente en la mayoría de los especímenes, la cola es bicolor siendo la parte superior de color café oscuro y la inferior color blanco, la cola es larga llegando a una longitud un poco mayor que la longitud de la cabeza al cuerpo (Álvarez y González, 2009; Fig. 2). Las patas traseras son de color blanco en la parte proximal y en la parte distal, a la altura del tarso, metatarso y falanges, son de color rosa, su cráneo es corto y ancho, la caja cerebral es redonda y los arcos cigomáticos son aparentemente paralelos (ITIS *et al.*, 2022).

De acuerdo con Myers *et al.* (2022), la clasificación taxonómica de *Peromyscus levipes* es la siguiente:

Reino: Animalia

Filo Chordata

Subfilo Vertebrata

Superclase Gnathostomata

Clase Mammalia

Subclase Theria

Infraclase Eutheria

Orden Rodentia

Suborden Myomorpha

Superfamilia Muroidea

Familia Cricetidae

Subfamilia Neotominae

Género *Peromyscus*

Especie *P. levipes* (Merriam, 1898)

Nombre común: Ratón de patas ágiles



Figura 2. *Peromyscus levipes*. Imagen tomada de Bolaños, 2015

1.2.2 Estado de conservación

De acuerdo con la lista roja de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN), la especie *Peromyscus levipes* se encuentra categorizada como de preocupación menor (Castro-Arellano y Vázquez, 2016). Cabe resaltar que no se cuenta con información de esta especie en la Norma Oficial Mexicana de NOM 059 SEMARNAT-2010, la cual tiene por objeto identificar las especies o poblaciones de flora y fauna silvestres en riesgo en la República Mexicana (Diario Oficial de la Federación, 2010).

1.2.3 Hábitat, actividad y distribución

Peromyscus levipes presenta una actividad nocturna (Álvarez y González, 2009). Para mantener su protección, construyen nidos utilizando materiales de la naturaleza como ramas de plantas, o colocándolos debajo de una pila de ramas, troncos y algunos huecos que hay entre los árboles (ITIS *et al.*, 2022). Esta especie habita en regiones montañosas (acantilados, picos de montañas), pero en específico se encuentra en bosques de pino-encino, matorrales de encino y bosques caducifolios tropicales, entre otros, también se pueden observar en áreas con poco pastizal y alguna que otra vegetación en el suelo (ITIS *et al.*, 2022).

Su distribución en México abarca desde el este, encontrándose en la Sierra Madre Oriental, a partir del centro de Nuevo León, hasta el oeste de Tamaulipas, llegando desde el centro de Veracruz hasta la vertiente del área Neovolcánico Transversal o Sierra volcánica transversal de algunos estados como Querétaro, Tlaxcala, Puebla, Ciudad de México, Estado de México, Morelos y Guerrero (Álvarez y González, 2009; ITIS *et al.*, 2022; Fig. 3).

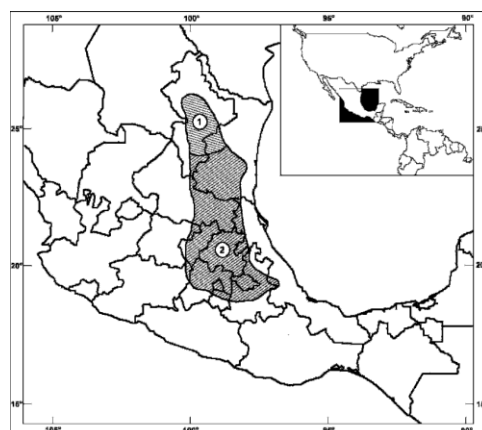


Figura 3. Mapa de distribución de *Peromyscus levipes*. Imagen tomada de Álvarez y González, 2009

2. ANTECEDENTES

Dentro de los trabajos que han abordado el análisis del cariotipo dentro del género *Peromyscus* se mencionan los siguientes, desde el más reciente al más antiguo:

Bradley *et al.* (2022) analizaron el grupo de *Peromyscus boylii*, complejo de nueve especies entre las que se encuentra *Peromyscus levipes*. Los autores reportaron que esta especie tenía un NF=56-60. Los ejemplares examinados fueron recolectados en los estados de Nuevo León, en la localidad Cola de Caballo; y Tlaxcala, en la localidad de Teacalco.

De igual manera, Bradley y otros autores (2014) analizaron 30 ejemplares capturados, que representaban a siete especies de *Peromyscus* en el oriente de Nayarit, en Santa María del Oro. También se incluía en los análisis a la especie *Peromyscus levipes*. Los cariotipos de dichos ejemplares tuvieron un $2n=48$. Sin embargo, cada cariotipo fue perceptiblemente diferente de otro, de acuerdo con su NF, siendo así que: *P. boylii* y *P. simulus* presentaron un NF=52, *P. beatae* un NF=52-54, *P. madrensis* NF=52, *P. schmidlyi* un NF=54-56, y finalmente, *P. levipes* con un NF=56-60.

Ordoñez *et al.* (2013) describieron que en la Reserva de Chelemba, Alta Verapaz, Guatemala, se tenía el cariotipo de *P. grandis* con $2n=48$, y NF=58. Esta especie también presentó seis pares cromosómicos birrámeos y los demás monorrámeros, y en cuanto a su par sexual, el cromosoma X fue grande subtlocéntrico y el cromosoma Y, pequeño acrocéntrico. Los autores observaron que *P. grandis* mostró diferencias en cuanto a sus bandas cromosómicas G. Sin embargo, reportaron la existencia de una conservación cariotípica en la especie de *P. mexicanus* con *P. grandis*.

Álvarez y González (2009) documentaron que el cariotipo convencional de *Peromyscus levipes* en el estado de San Luis Potosí, México, tenía un $2n=48$, pero en cuanto al NF se observó una variación polimórfica de 56 a 60, la cual estuvo compuesta de tres a cinco pares cromosómicos birrámeos de grandes a medianos, dos pares cromosómicos birrámeos pequeños y de 16 a 18 pares cromosómicos acrocéntricos. En cuanto al par sexual, el cromosoma X fue grande, mientras que el

cromosoma Y fue pequeño, ambos submetacéntricos. El número fundamental de *Peromyscus levipes* en San Luis Potosí, sureste de Hidalgo y noroeste de Puebla presentó un NF=58.

Calixto *et al.* (2009) estudiaron en Tecali de Herrera, Puebla a la especie *Peromyscus levipes*. Reportaron que el cariotipo convencional de esta especie en dicha zona de estudio presentó $2n=48$ y NF=60, el cual se conforma por siete pares de cromosomas birrámeos, de ellos cinco fueron submetacéntricos, dos subtlocéntricos y 16 pares telocéntricos de tamaños grandes a pequeños. Con respecto al par cromosómico sexual, el cromosoma sexual X fue submetacéntrico grande y el cromosoma Y fue submetacéntrico pequeño.

Por otra parte, Kalcounis-Rueppell y Spoon (2009) reportaron en su estudio que en el cariotipo general estándar del género *Peromyscus* tenían como $2n=48$ y NF=52, el cual concordó con lo establecido por el Comité para la estandarización de cromosomas de *Peromyscus*. Dichos autores utilizaron como modelo biológico a la especie *Peromyscus boylii*, la cual presentó un par cromosómico birrámeo grande (par 1), dos pares de cromosomas birrámeos pequeños (cromosomas 22 y 23) y 20 pares cromosomas acrocéntricos. En el par sexual, el cromosoma X fue subtlocéntrico grande y el cromosoma Y fue metacéntrico mediano.

Bradley *et al.* (2004), realizaron un estudio en el área occidente-central de México, abarcando estados como Durango y Estado de México. Los autores reportaron diferentes taxones del género *Peromyscus*: *P. beatae*, *P. boylii*, *P. sagax*, *P. simulus*, *P. species novo* y *P. sp.* Es así que para el caso de *Peromyscus levipes* se obtuvo un NF=56 en la localidad de Acambay, mientras que en las otras localidades consideradas este parámetro varió con un NF=56-60.

Greenbaum *et al.* (1994) en su estudio, reportaron el número de marcadores de bandas cromosómicas G, de manera estandarizada, en el género *Peromyscus*, así como los cromosomas autosómicos y el cromosoma sexual. De igual manera, entre los taxones estudiados se encontraba *Peromyscus levipes*, especie en la que reportaron que en el cromosoma seis había tenido inversiones pericéntricas, y al ser birrámeo, presentó tres formas diferentes de la constitución eucromática, es decir, mostró polimorfismos de inversión pericéntrica en el cromosoma seis.

Smith *et al.* (1994) en su estudio realizado en la localidad de Zacualtipán y Molango, Hidalgo, reportaron que el cariotipo de *Peromyscus levipes* se conformaba por cinco pares birrámeos (par 1, 2, 9, 22 y 23) con una condición polimórfica de los pares tres y seis, teniendo un NF=56-60. Los restantes pares fueron acrocéntricos. En cuanto al bandeo cromosómico C, en esta especie la heterocromatina constitutiva se restringió a regiones centroméricas de los autosomas y en el par sexual, el cromosoma X tuvo un brazo corto positivo, la banda cromosómica C y el cromosoma Y fueron completamente heterocromático.

Robbins y Baker (1981) reportaron que el género *Peromyscus* presentaba en su mayoría variación cromosómica, teniendo 34 adiciones heterocromáticas y 26 inversiones pericéntricas; Estudiaron a 18 especies de Nuevo México, Estados Unidos de América, y consideraron algunos estados de México como Coahuila, Durango y San Luis Potosí, De este género, se presentó información de *P. boylii*, la cual se observó un $2n=48$ y NF=54. Además, presentó la heterocromatina restringida a las regiones centromérica, también presentó polimorfismo, específicamente en el cromosoma nueve. En cuanto al bandeo G, *P. boylii* mostró que en los cromosomas grandes se observaban entre ocho a 13 bandas, los cromosomas medianos entre cuatro a seis bandas y en los cromosomas pequeños entre uno a cinco bandas de eucromatina oscuras y claras en total.

Finalmente, el estudio de Lee *et al.* (1972) se considera entre los primeros que abordaron el análisis del cariotipo de especies del género *Peromyscus* en México. Dichos autores realizaron su estudio en el sureste de Estados Unidos, abarcando algunos estados de México como Michoacán. En este estudio se contrastó el cariotipo de *P. boylii levipes* procedente de Jiquilpan, Michoacán, donde un cariotipo difirió de

los otros ejemplares, ya que presentó dos pares de autosomas birrámeos grandes, dos pares de autosomas birrámeos pequeños y 19 pares de autosomas acrocéntricos de tamaños grandes a pequeños. El par cromosómico sexual correspondía al "X" subtelocéntrico grande y "Y" metacéntrico pequeño, teniendo como $NF=54$ y $2n=48$.

JUSTIFICACIÓN

Han sido diversos los estudios que se han llevado a cabo sobre la especie *Peromyscus levipes*, ya que es una especie que funciona como modelo de estudio para la investigación por su fácil manipulación dentro del laboratorio, además, nos permite establecer o comprobar las relaciones evolutivas y filogenéticas de los mismos, más aún, se le considera como una especie importante para su entorno, ya que funciona como fuente de alimento para otras especies y forma parte de la distribución de semillas durante su forrajeo. En México, se han realizado estudios sobre el análisis cromosómico del cariotipo de *Peromyscus levipes*. Sin embargo, para la región del municipio de Santiago Colzingo, Ocoyucan, Puebla no se han realizado este tipo de trabajos, por lo que, en este caso, este sería el primer análisis en el área, el cual abarca la descripción cromosómica para la obtención del cariotipo y el patrón de bandas cromosómicas de la especie antes mencionada, por lo tanto, este estudio tiene como objetivo describir el cariotipo de *Peromyscus levipes* en el municipio de Santiago Colzingo Ocoyucan, Puebla.

3. OBJETIVO GENERAL

Describir el cariotipo de *Peromyscus levipes* del municipio de Santiago Colzingo Ocoyucan, Puebla

3.1. Objetivos particulares

- Obtener las constantes cromosómicas de *Peromyscus levipes* de Santiago Colzingo Ocoyucan Puebla
- Obtener el patrón de bandas cromosómicas G y C de *Peromyscus levipes* de Santiago Colzingo Ocoyucan Puebla
- Comparar las constantes cromosómicas de *Peromyscus levipes* en Puebla y México.
- Comparar los patrones de bandas cromosómicas G y C de *Peromyscus levipes* en Puebla y México.

4. ÁREA DE ESTUDIO

El municipio de Ocoyucan se localiza en el centro-oeste del estado de Puebla, siendo sus coordenadas geográficas (Sistema ITRF-92) las siguientes: paralelos $8^{\circ} 51' 54''$ y $19^{\circ} 00' 06''$ de latitud norte, meridianos $98^{\circ} 15' 42''$ y $98^{\circ} 22' 24''$ de longitud occidental (INEGI, 2000). Colinda con los siguientes municipios: al Norte con San Andrés Cholula y San Gregorio, Atzompa, al Sur con Teopatlán y Atlixco, al Este con la ciudad de Puebla, y al Oeste con Santa Isabel Cholula y Tianguismanalco (INEGI, 2000; Fig. 4).

De acuerdo con su hidrología superficial, Ocoyucan corresponde a la cuenca del Río Atoyac (ASE, 2022). Sin embargo, no cuenta con ríos de importancia, pero si con una serie de arroyos intermitentes originados en las formaciones montañosas las cuales bajan hacia el Valle de Atlixco (Constructora Grucogomm S.A. de C.V., 2011). Asimismo, el clima que predomina es templado subhúmedo con una humedad media (80.23%), teniendo igualmente suelos predominantes entre los que se destacan el feozem y la rendzina (Constructora Grucogomm S.A. de C.V., 2011).

La localidad de Santiago Coltzingo situada en el municipio de Ocoyucan presenta las coordenadas geográficas (Sistema ITRF-92): $98^{\circ}18'41.88''$ O de longitud y $18^{\circ}54'50.86''$ N de latitud (SEMARNAT, 2019). Dicha localidad, es una zona rural, con vegetación secundaria de bosque de encino, pastizales y vegetación secundaria de selva baja caducifolia (SEMARNAT, 2019)

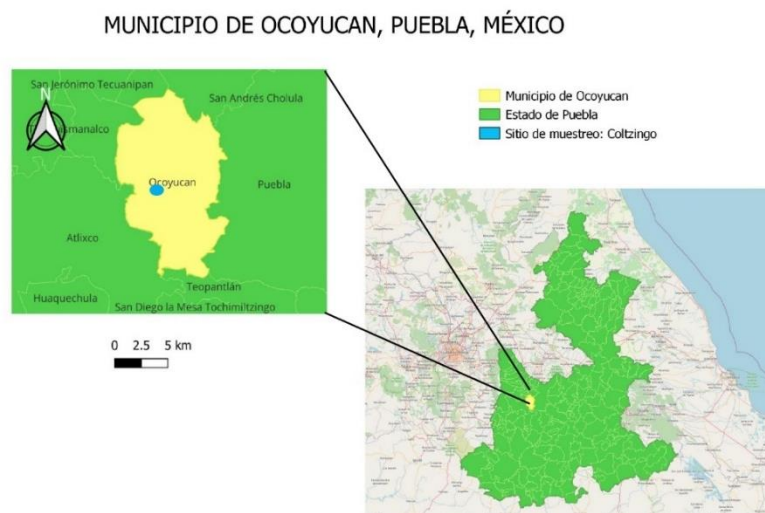


Figura 4. Mapa del área de estudio. Se observa el sitio de colecta del ratón de patas ágiles *Peromyscus levipes* del municipio de Ocoyucan en el estado de Puebla (INEGI, 2000),

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Trabajo de campo

Colecta de ejemplares: La recolecta se realizó en la localidad de Santiago Coltzingo, la cual está ubicado en la parte Sur-Poniente del municipio de Ocoyucan, dentro del estado de Puebla (INEGI, 2000; Fig. 5).

Los muestreos se realizaron los días 21 y 24 de septiembre de 2022, y el día 08 de octubre de 2022. Para cada muestreo realizado, se colocaron un total de 60 trampas tipo Sherman, en las cuales se colocó un cebo de hojuelas de avena mezcladas con vainilla. Las trampas fueron colocadas a lo largo de dos transectos de aproximadamente 100 metros, los cuales abarcaron una zona con una densa vegetación. Cada trampa se colocó a una distancia de 10 metros entre cada una. Las trampas fueron colocadas durante la tarde-noche y fueron recogidas en la mañana del día siguiente. En cada sitio de recolecta se tomaron datos como la fecha de colecta, coordenadas geográficas con ayuda de un GPS marca Garmin, modelo Etrex22x, la altitud y localidad.

Los ejemplares capturados fueron transportados vivos para su posterior procesamiento y se encuentran bajo resguardo del laboratorio de Mastozoología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la BUAP.

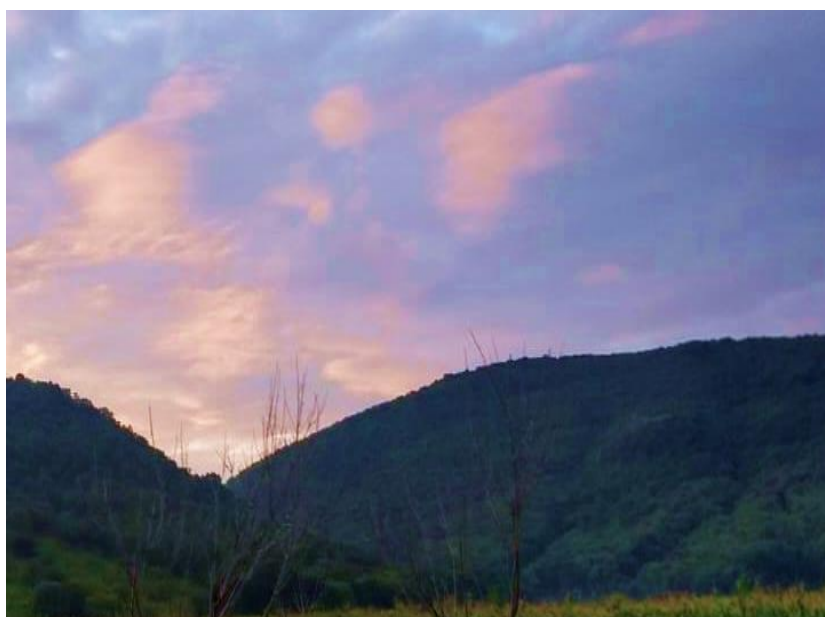


Figura.5. Imagen del sitio de muestreo: Santiago Coltzingo, Ocoyucan, Puebla. Fotografía tomada por Serendy Romero Cuatzo.

5.2. Trabajo de laboratorio

5.2.1. Obtención de cromosomas

En el laboratorio los ejemplares se pesaron utilizando una balanza tipo pesola Microline y al mismo tiempo fueron caracterizados sexualmente observando la anatomía externa de sus órganos sexuales de acuerdo con Schlomer *et al.* (2013)

Posteriormente, a cada ejemplar se le aplicó la técnica de extracción de médula ósea propuesta por Lee (1969) y Baker y Qumsiyeh (1988), la cual consistió en lo siguiente:

A cada ejemplar se le inyectó, de acuerdo con su peso, colchicina vía intraperitoneal, siendo una proporción de 0.1 ml por cada 10 gr de peso. Una vez inyectados, se esperó 30 minutos, esto con el fin de que la colchicina actuara como inhibidor mitótico, haciendo que las células se detuvieran en la etapa de metafase del ciclo celular. Inmediatamente después de la inyección de colchicina se sacrificaron los ejemplares por medio de dislocación cervical.

A cada espécimen se le tomaron las siguientes medidas morfométricas (en milímetros) con ayuda de una regla común: longitud total del cuerpo, longitud de la cola, longitud de la pata trasera, y longitud de la oreja. Posteriormente, se extrajeron los fémures y tibias de cada ejemplar. Después, se les realizó un corte en la epífisis en el extremo proximal y con ayuda de una jeringa de 5 ml con solución hipotónica, se extrajo la médula ósea la cual se vació en tubos de centrifuga de 15 ml, conteniendo una solución hipotónica de KCl al 0.075 M a 37°C, esto con el fin de que entrara la solución a la célula provocando que éstas se hincharan debido a la alta concentración de sales que hay en el medio intracelular. Este aumento de volumen celular permitió que los cromosomas se extendieran a los tubos de centrifuga, a los cuales se les colocó de esta solución hipotónica hasta llegar a un volumen de 7 ml, se incubaron por 40 minutos a una temperatura de 37°C, luego se centrifugaron a 800 rpm durante ocho minutos, y a continuación se eliminó el sobrenadante con una pipeta Pasteur dejando al paquete celular, al cual se le colocaron 5 ml de solución fijadora de Carnoy (metanol-ácido acético en proporción 3:1) previamente elaborado y refrigerado, aplicándolo por las paredes del tubo para evitar que se rompieran las células por sus propiedades químicas.

Finalmente, se resuspendió para hacer que la solución fijara totalmente al paquete celular. Aunado a lo anterior, a los ejemplares se les realizó el proceso de taxidermia científica para ser registrados en la base de datos e incorporados en la Colección científica de mamíferos de la Facultad de Ciencias Biológicas de la BUAP.

5.2.2. Elaboración de laminillas

Para la elaboración de laminillas, se lavaron los portaobjetos para eliminar la grasa y otros elementos que pudieran tener, como suciedad. Una vez limpios, los portaobjetos se colocaron en un frasco con alcohol al 70% previamente refrigerado, siguiendo la técnica de Pardue y Gall (1970).

Por otro lado, a cada tubo con el material celular previamente refrigerado durante 24 horas, se centrifugó de nuevo a 800 rpm durante ocho minutos, se le quitó el sobrenadante y nuevamente se le colocó solución fijadora Carnoy y se resuspendió. Después, con una pipeta Pasteur se tomó parte de la muestra celular, y a una altura de aproximadamente dos metros se dejaron caer de tres a cuatro gotas sobre el portaobjetos, al cual se le aplicó la técnica de aire-fuego (Baker y Qumsiyeh, 1988); utilizando un cerillo para aplicar el calor, e inmediatamente se le aplicó aire comprimido, dejándolo secar a temperatura ambiente.

Posteriormente, cada laminilla se tiñó con Giemsa durante 16 minutos, después se enjuagaron con agua destilada para eliminar residuos de la misma tinción, y se dejaron secar a temperatura ambiente. Finalmente, las laminillas se observaron al microscopio óptico con los objetivos 10X y 40X para ubicar, con ayuda de una laminilla de ubicación, la posición del campo mitótico en metafase, y poder realizar la toma de fotografías correspondientes.

5.2.3. Construcción del cariotipo

Se identificaron en el microscopio aquellos campos mitóticos que cumplieran con las siguientes características: separados, número cromosómico completo, morfología visible y una buena resolución, a los que se fotografiaron utilizando una cámara PROGRESGRYPHAX integrada a un microscopio Leica Microsystems DM1000 LED, y estas se imprimieron en papel fotográfico tipo mate.

Posteriormente los cromosomas fueron recortados y ordenados por pares homólogos de acuerdo con su tamaño y posición del centrómero. Se midieron los brazos cortos (p) y brazos largos (q) utilizando la aplicación ImageJ versión 2023, así como también se tomó la longitud promedio del brazo corto (p) y la longitud promedio del largo (q) de 10 cariotipos y se clasificaron de acuerdo con Levan *et al.* (1964).

El Índice centromérico (IC), se calculó con la siguiente fórmula de Levan *et al.* (1964):

$$IC = \frac{p}{p + q} * 100$$

Donde:

IC= Índice centromérico
p= Longitud del brazo corto
q= Longitud del brazo largo

El Índice centromérico está dado por la relación de la longitud del brazo corto entre la longitud total del cromosoma y todo esto multiplicado por 100 (Levan *et al.*, 1964).

El acomodo de los cromosomas se realizó de acuerdo con su morfología y fueron ordenados por su longitud de manera decreciente, e igualmente se obtuvieron las constantes cromosómicas, 2n (Número cromosómico) y NF (Número fundamental).

Para la elaboración del ideograma se utilizaron los valores de longitud total del cromosoma, longitud del brazo corto (p) y brazo largo (q). En el caso del ideograma de bandas G y C se utilizó el software Pixlr Editor versión 2023.

5.3. Bandas cromosómicas G

Para la elaboración del bandeo cromosómico G se realizó la técnica de Grouchy y Turleau (1977) y Patton y Baker (1978), que consistió en lo siguiente: las laminillas con las muestras se dejaron envejecer siete días y posteriormente se colocaron en la estufa de cultivo a 65°C durante 16 horas, esto con el propósito de endurecer a los cromosomas y obtener un patrón de bandeo en ellos. Transcurrido este tiempo, se dejaron enfriar a temperatura ambiente, y se sumergieron en solución de Tripsina al 0.025% durante 150 segundos. Inmediatamente después se metieron al amortiguador de Fosfato Salino (PBS) en dos vasos Coplin, en el cual a cada laminilla se le hizo un lavado 10 veces en cada uno. Posteriormente, se tiñeron en Tinción Wright durante dos minutos, pasado el tiempo se sumergieron en Tinción Giemsa durante cuatro minutos (para la tinción Wright y Giemsa fue importante que el pH estuviese a 6.8), y

se enjuagaron solo una vez en agua destilada, dejándolas secar a temperatura ambiente para luego ser observadas al microscopio óptico con los objetivos 10X y 40X.

5.4. Bandas cromosómicas C

Para la elaboración del bandeo cromosómico C se utilizó la técnica descrita por Summer *et al.* (1971) y Arrighi y Hsu (1971), en la cual se utilizaron laminillas con los campos mitóticos dejándolas envejecer durante siete días, posteriormente se colocaron en un vaso Coplín con HCl al 2% durante 15 minutos, esto con el propósito de realizar una hidrólisis enzimática, se lavaron con agua destilada tres veces y se dejaron secar a temperatura ambiente. Al mismo tiempo, en un vaso Coplin con Hidróxido de Bario ($\text{Ba}(\text{OH})_2$) se sumergió a baño maría en un controlador digital de temperatura PolyScience, ajustando la temperatura a 45°C de la solución saturada $\text{Ba}(\text{OH})_2$ con el objetivo de desnaturalizar el ADN, se colocaron las laminillas en el vaso Coplin con la solución saturada $\text{Ba}(\text{OH})_2$ a 45°C durante dos minutos con treinta segundos, después se enjuagó en HCl al 2% una vez y seguidamente se enjuagaron tres veces en agua destilada y se dejaron secar a temperatura ambiente.

Posteriormente, se colocaron en cámaras húmedas (cajas Petri con papel filtro como base humedecido con solución 2XSSC), a lo largo de cada laminilla se le colocaron 10 gotas de 2XSSC con una pipeta Pasteur y se les colocó un cubreobjetos en la zona donde se situaban los campos cromosómicos. Inmediatamente después se colocaron en la estufa a 65°C durante 16 horas, luego se retiró el cubreobjetos cuidadosamente y enseguida se enjuagaron tres veces en agua destilada, se dejaron secar a temperatura ambiente, para sumergirlas en alcohol al 70% durante cinco minutos, enseguida se sumergieron en alcohol al 95% durante cinco minutos y se secaron a temperatura ambiente. Enseguida se tiñeron con Giemsa al 4% preparado con amortiguador salino Fosfato de sodio durante ocho minutos, después se enjuagaron una vez con agua destilada, y finalmente se dejaron secar a temperatura ambiente para observarlos bajo el microscopio óptico.

6. RESULTADOS

A partir de la colocación de las trampas tipo Sherman se pudieron obtener cinco ejemplares de *Peromyscus levipes* en la zona de estudio. De estos cinco ejemplares dos fueron machos y tres hembras.

Se obtuvieron 24 laminillas de los cinco ejemplares y se analizaron un total de 460 campos mitóticos en metafase. Cabe mencionar que solo se tomaron fotografías a aquellas laminillas que tuvieran las características: número cromosómico completo, que estuvieran separados, con una morfología visible y con una buena resolución (Figuras 6 y 7).



Figura 6. Campo mitótico (100X) del ejemplar macho de *Peromyscus levipes* de Santiago Coltzingo Ocoyucan, Puebla

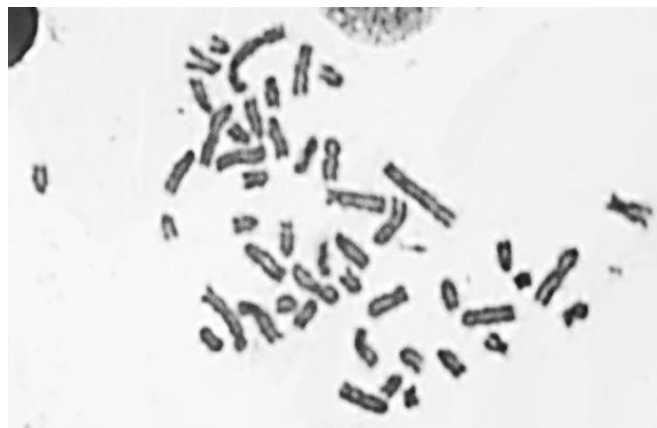


Figura 7. Campo mitótico (100X) del ejemplar hembra de *Peromyscus levipes* de Santiago Coltzingo Ocoyucan, Puebla

Cariotipo

De acuerdo con lo observado, el ratón de patas ágiles (*Peromyscus levipes*) presentó un cariotipo de $2n=48$ y $NF=56$. El complemento autosómico estuvo constituido por cinco pares de cromosomas birrámeos: un par metacéntrico pequeño, el segundo par submetacéntrico pequeño, el tercero y cuarto par subtlocéntricos grandes y el quinto par subtlocéntrico mediano, con 18 pares monorrámeos de grandes a pequeños, todos telocéntricos.

El cromosoma X fue considerado del tipo submetacéntrico grande y el cromosoma Y fue submetacéntrico pequeño (Figuras 8, 9 y 10).

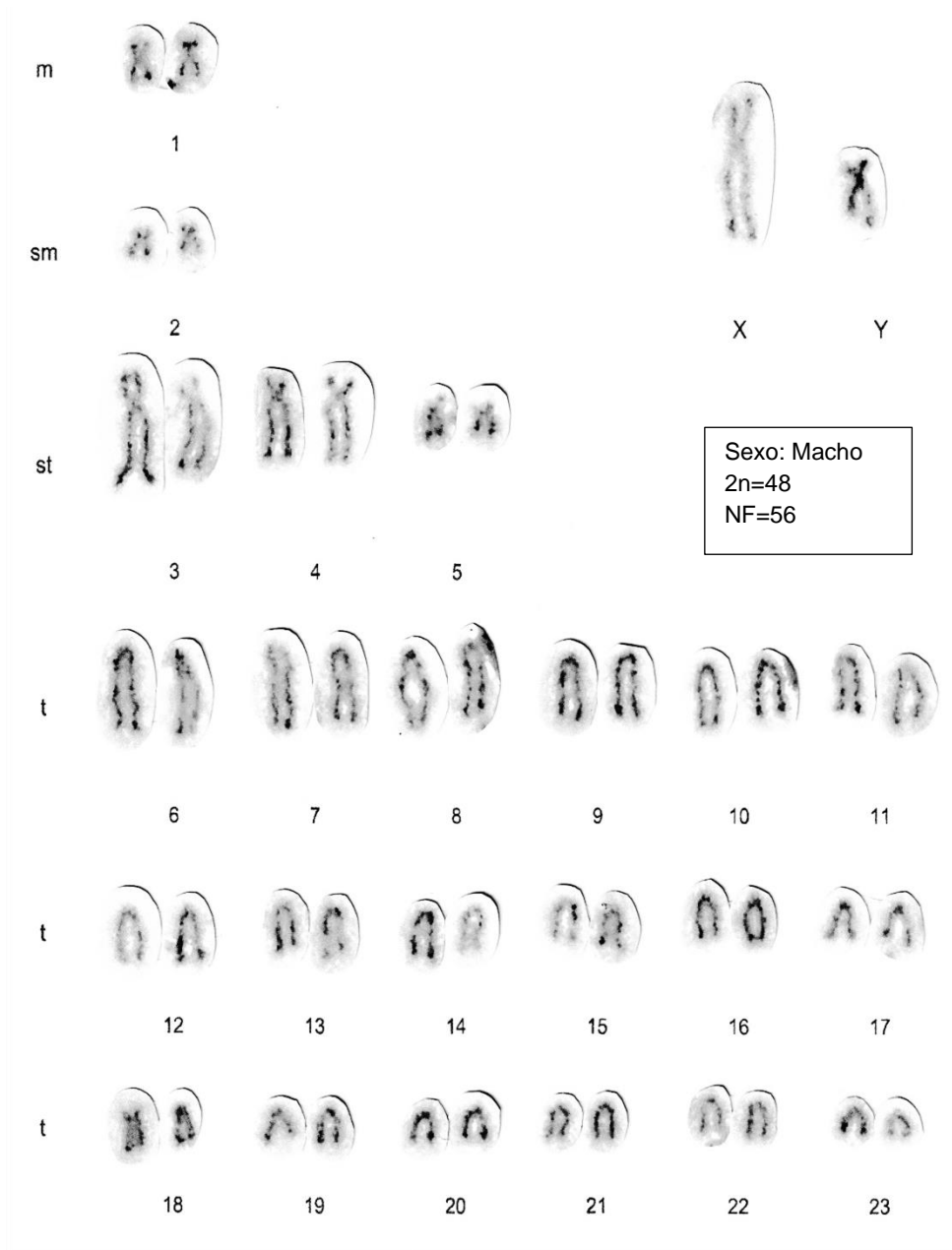


Figura 8. Cariotipo convencional de ejemplar macho de *Peromyscus levipes* de Santiago Coltzingo, Ocoyucan, Puebla.

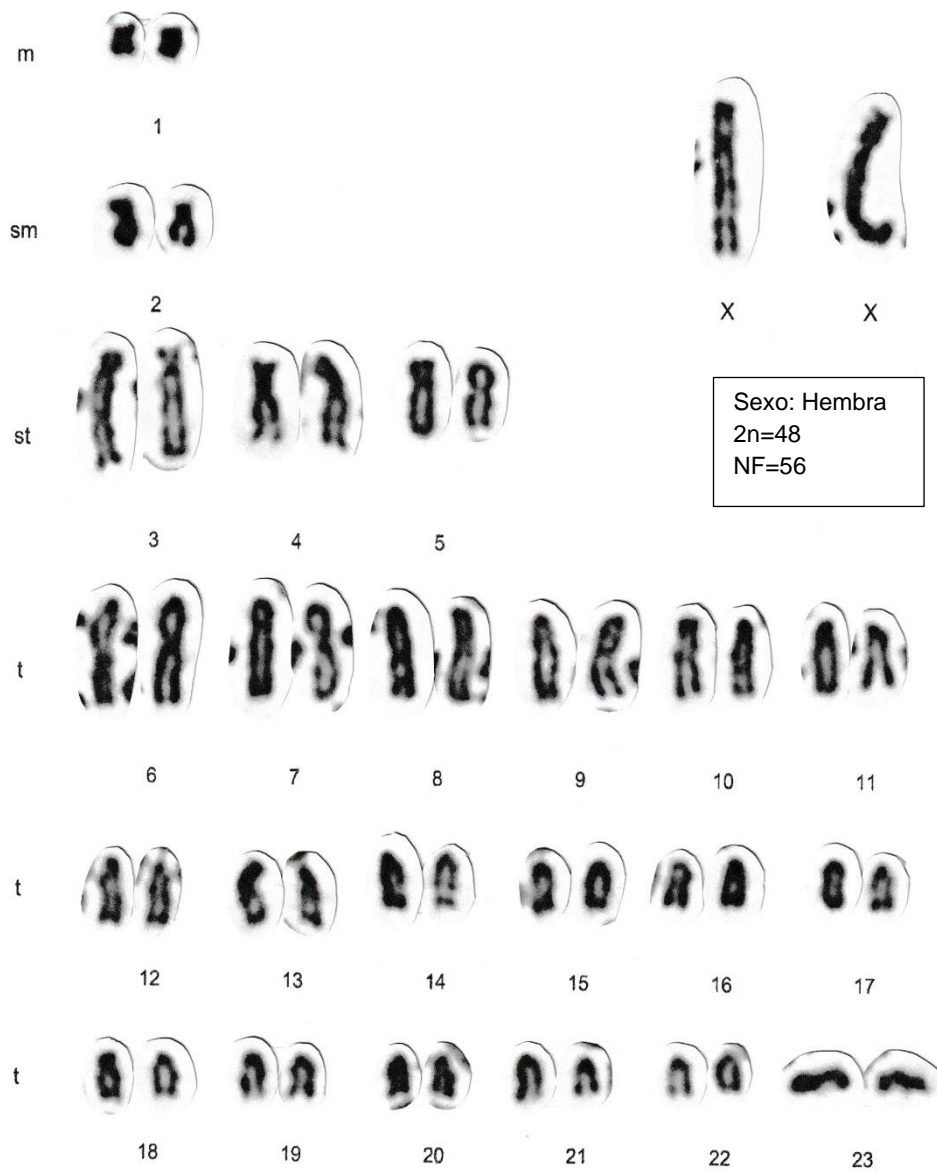


Figura 9. Cariotipo convencional de ejemplar hembra de *Peromyscus levipes* de Santiago Coltzingo, Ocoyucan, Puebla.

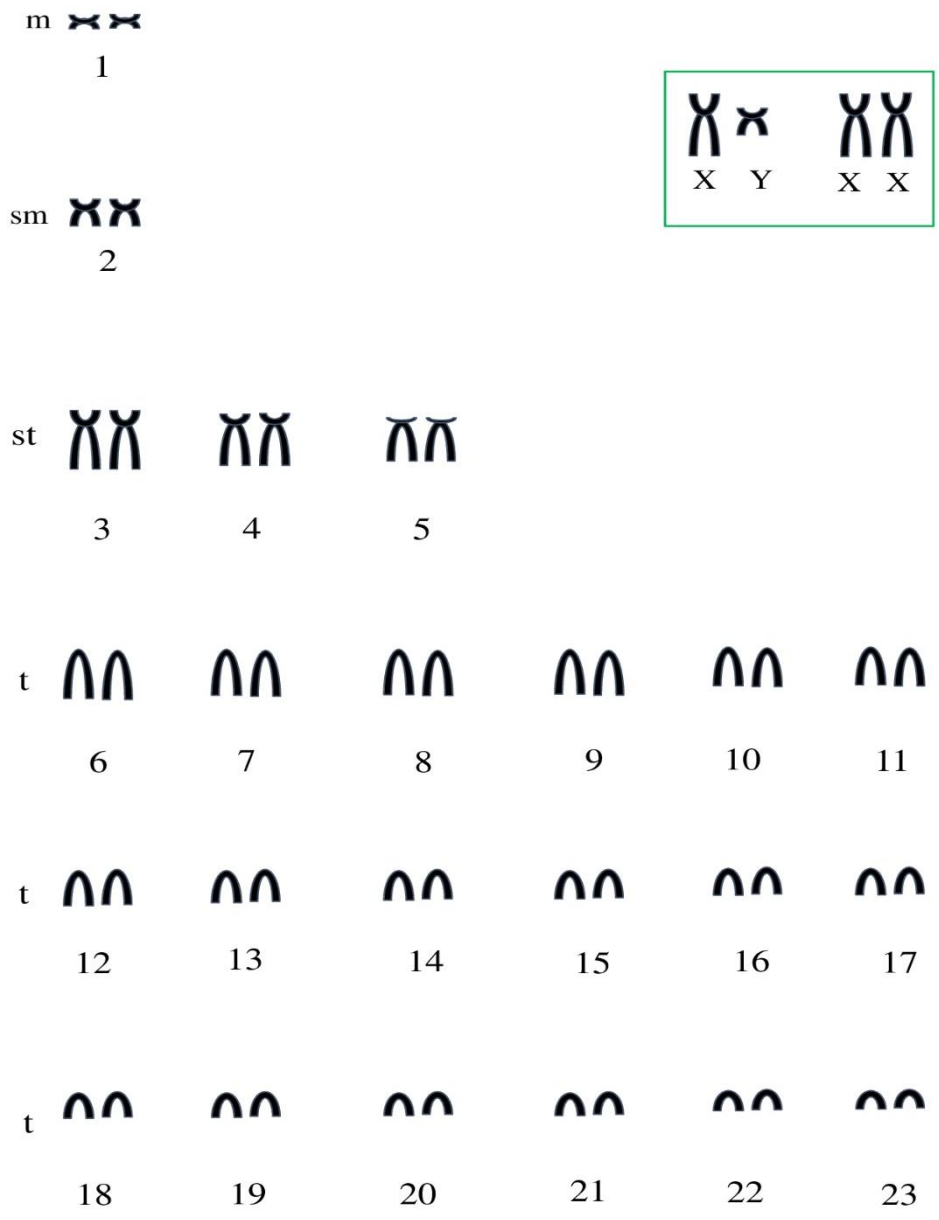


Figura 10. Ideograma de *Peromyscus levipes* de Santiago Coltzingo, Ocoyucan, Puebla.

Las longitudes promedio de los brazos en los cromosomas birrámeos fueron, en el primer par cromosómico, de 0.348 cm de longitud promedio del brazo corto (LPp), y 0.413 cm de longitud promedio del brazo largo (LPq).

En el segundo par, fue de 0.479 cm LPp y 0.863 cm LPq. En el tercer par fue 0.656 cm LPp y 1.980cm LPq. En el cuarto par fue de 0.447 cm LPp y 1.827cm LPq y finalmente, en el quinto par fue 0.199 cm LPp y 1.653 cm LPq.

En los cromosomas monorrámeos, la longitud promedio del brazo corto fue en el par siete con una LPq igual a 1.996 cm. Esta longitud fue descendiendo sucesivamente en los siguientes pares cromosómicos.

El cariotipo convencional se agrupó de acuerdo con la clasificación de Levan *et al.* (1964) en orden descendente (Tabla 1):

Tabla 1. Longitudes promedio y clasificación de los cromosomas de *Peromyscus levipes* en Coltzingo, Ocoyucan, Puebla. LPp: Longitud promedio del brazo corto, DSp: Desviación estándar del brazo corto, LPq: Longitud promedio del brazo largo, DSq: Desviación estándar del brazo largo, LPp+q: Longitud promedio total del cromosoma, DSp+q: Desviación estándar total del cromosoma e IC: Índice centromérico

Par cromosómico	LPp	DSp	LPq	DSq	LPp+q	DSp+q	IC	Clasificación de Levan <i>et al.</i> (1964)
1	0.348	0.123	0.413	0.147	0.762	0.266	45.622	m
2	0.479	0.178	0.863	0.468	1.342	0.621	36.867	sm
3	0.656	0.252	1.980	0.666	2.636	0.907	24.649	st
4	0.447	0.218	1.827	0.637	2.275	0.687	20.368	st
5	0.199	0.168	1.653	0.991	1.852	0.860	15.449	st
6	-	-	1.996	0.589	1.996	0.589	-	t
7	-	-	1.867	0.862	1.867	0.862	-	t
8	-	-	1.838	0.545	1.838	0.545	-	t
9	-	-	1.818	0.549	1.818	0.549	-	t
10	-	-	1.570	0.506	1.570	0.506	-	t
11	-	-	1.544	0.493	1.544	0.493	-	t
12	-	-	1.432	0.528	1.432	0.528	-	t
13	-	-	1.297	0.499	1.297	0.499	-	t
14	-	-	1.207	0.399	1.207	0.399	-	t
15	-	-	1.147	0.402	1.147	0.402	-	t
16	-	-	1.090	0.425	1.090	0.425	-	t
17	-	-	1.076	0.439	1.076	0.439	-	t
18	-	-	1.032	0.354	1.032	0.354	-	t
19	-	-	0.997	0.402	0.997	0.402	-	t
20	-	-	0.922	0.384	0.922	0.384	-	t
21	-	-	0.919	0.366	0.919	0.366	-	t
22	-	-	0.819	0.314	0.819	0.314	-	t
23	-	-	0.752	0.304	0.752	0.304	-	t
X	0.877	0.325	1.888	0.588	2.765	0.816	31.452	sm
Y	0.415	0.164	0.820	0.349	1.235	0.493	33.583	sm

6.2. Patrón de bandas cromosómicas G

En cuanto al bandeo G de *Peromyscus levipes*, se observó que los cromosomas grandes tanto de macho como de la hembra presentaron entre ocho a 12 bandas de eucromatina oscuras y claras en total.

Los cromosomas autosómicos medianos tuvieron entre cuatro a seis bandas de eucromatina oscuras y claras en total, mientras que en los cromosomas birrámeos pequeños tuvieron entre dos a tres bandas de eucromatina oscuras y claras en total (Figuras 11, 12, 13 y 14).

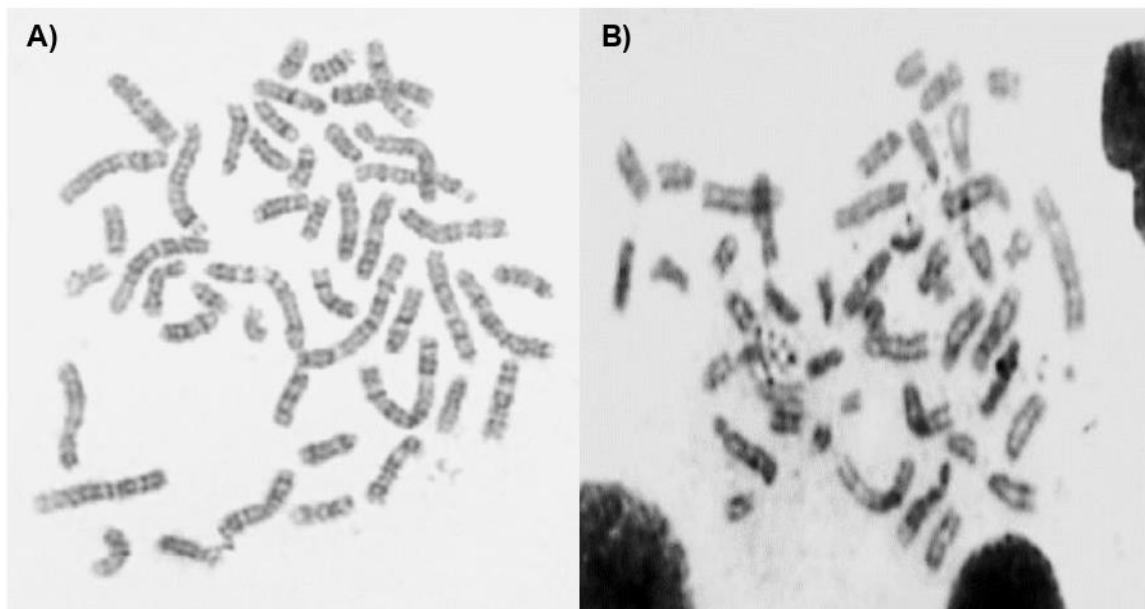


Figura 11. Campo mitótico (100X) con bandas cromosómicas G de *Peromyscus levipes* de Santiago Colzingo, Ocoyucan, Puebla. (A) Ejemplar de un macho; (B) Ejemplar de una hembra.

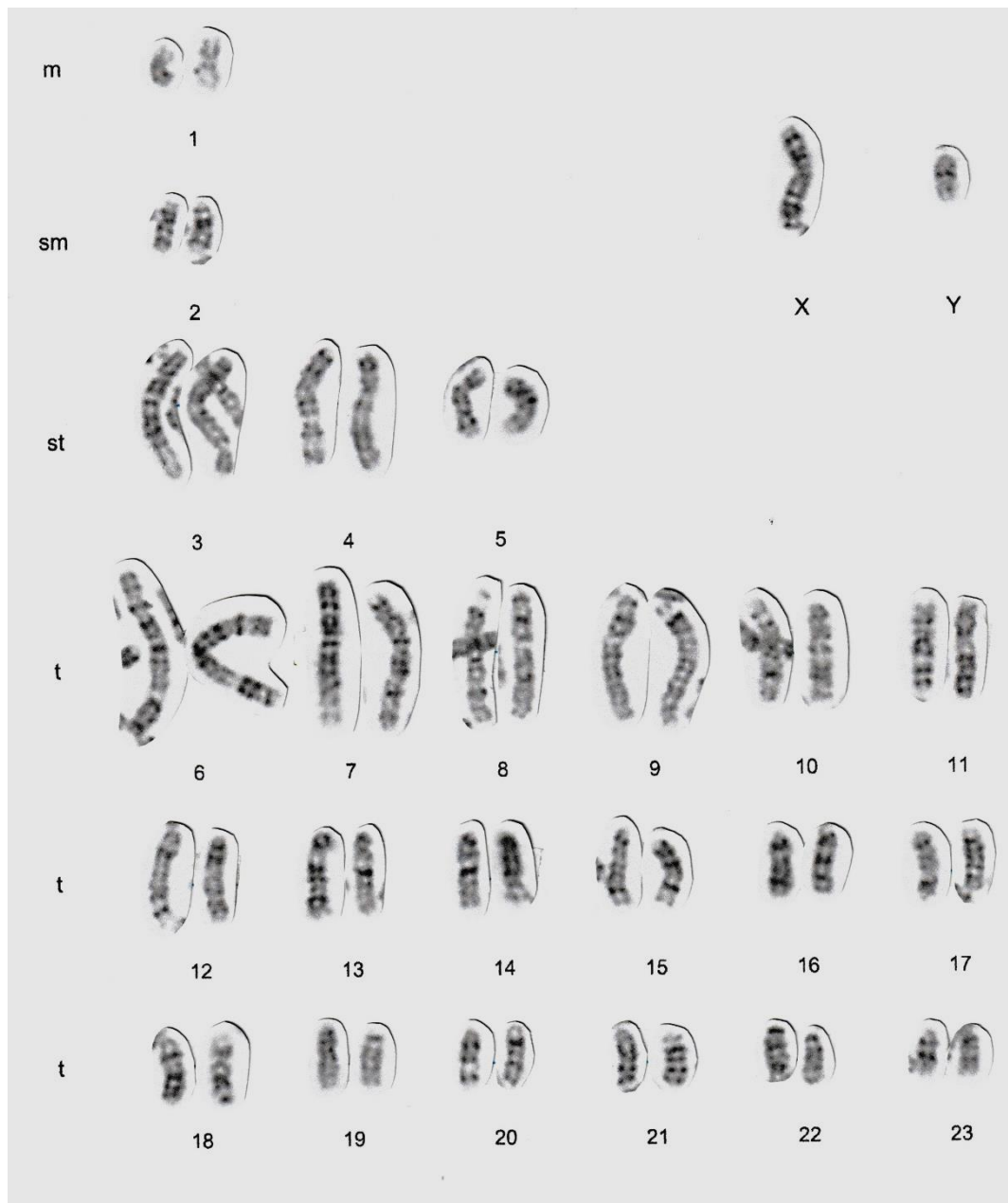


Figura 12. Cariotipo de bandas cromosómicas G del ejemplar macho de *Peromyscus levipes* de Santiago Coltzingo, Ocoyucan, Puebla.

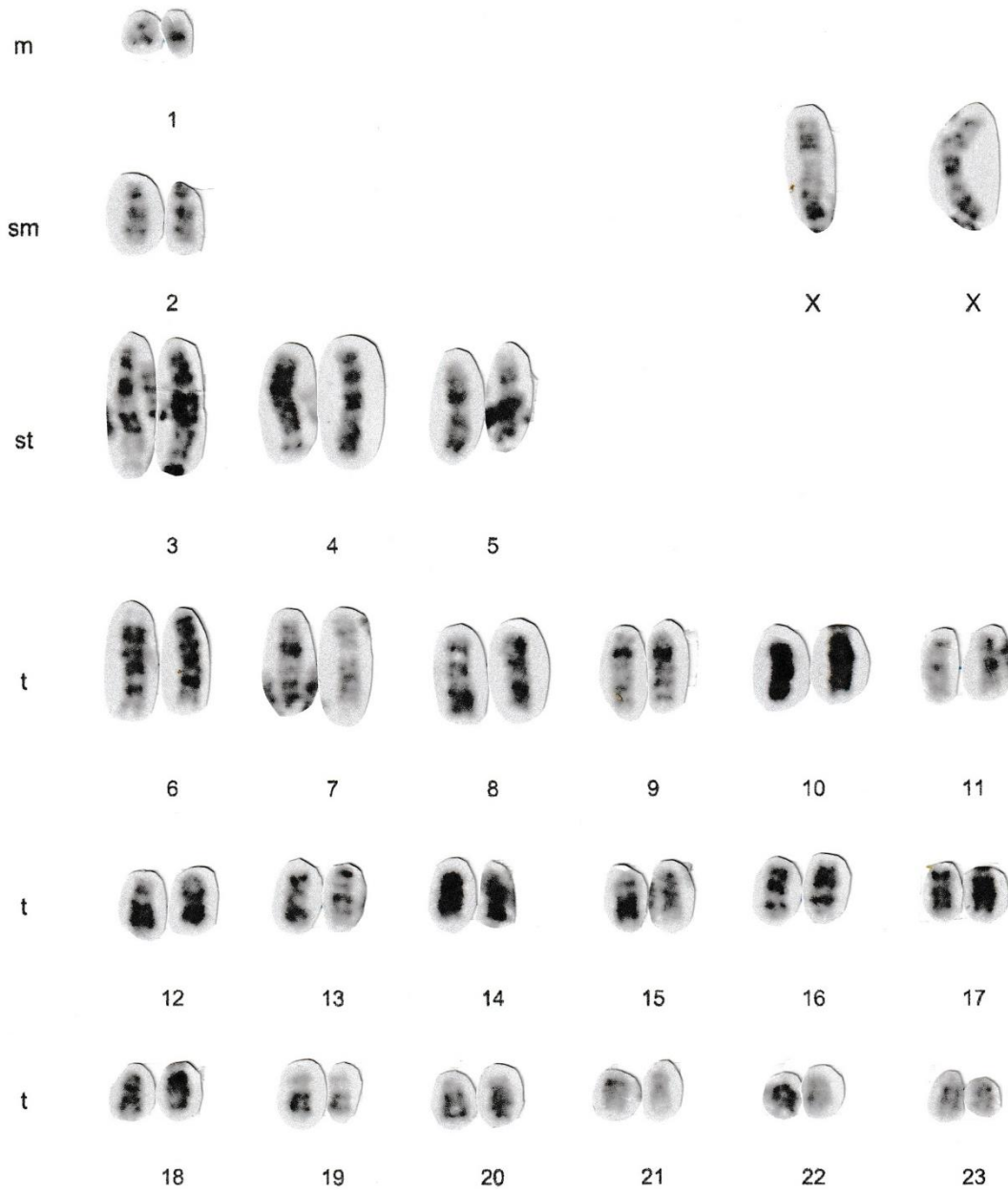


Figura 13. Cariotipo de bandas cromosómicas G del ejemplar hembra de *Peromyscus levipes* de Santiago Coltzingo, Ocoyucan, Puebla.

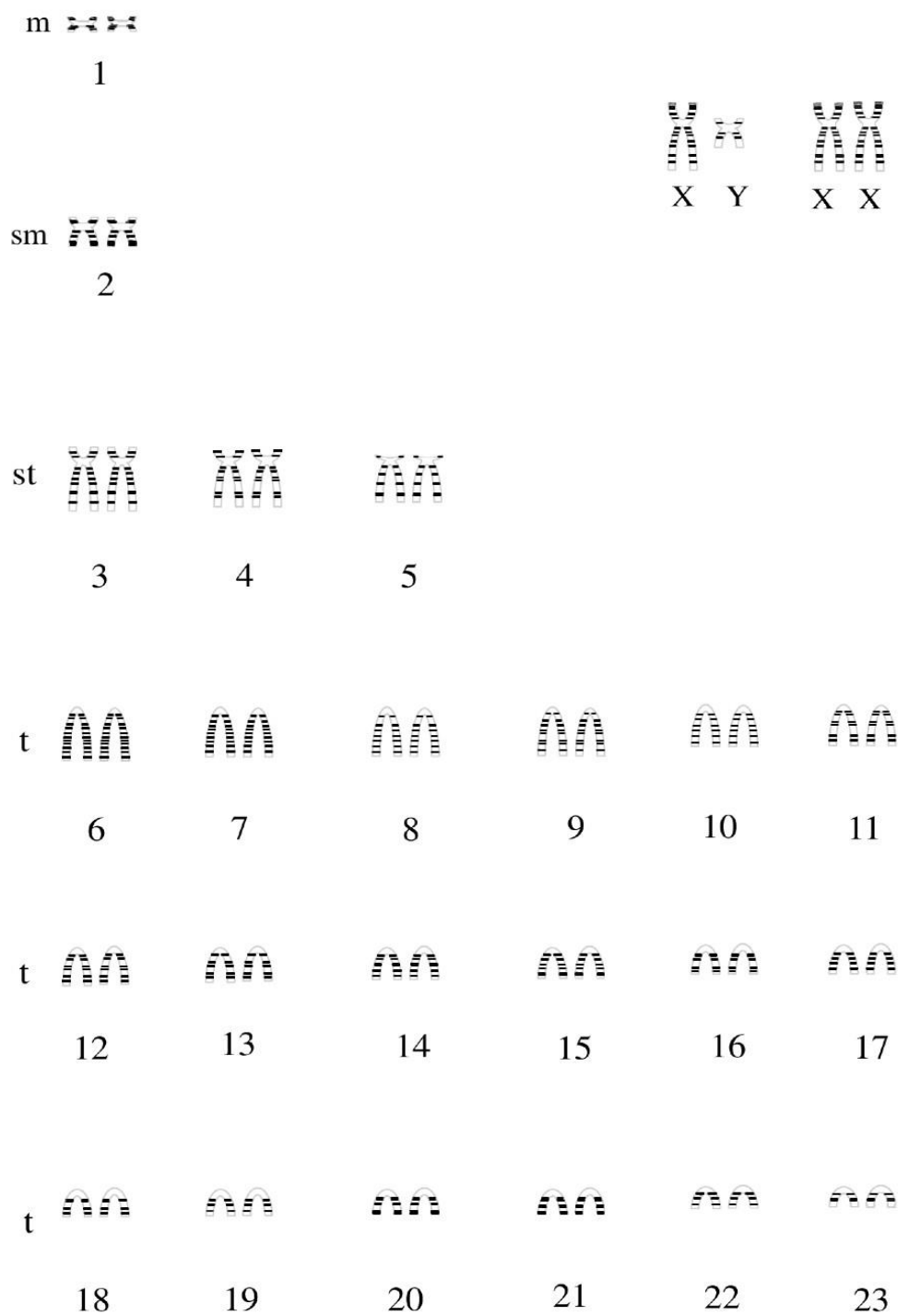


Figura 14. Ideograma del patrón de bandas cromosómicas G de *Peromyscus levipes* de Santiago Coltzingo, Ocoyucan, Puebla. "X" submetacéntrico y "Y" submetacéntrico.

6.3. Patrón de bandas cromosómicas C

Con respecto al bandeo cromosómico C de *Peromyscus levipes*, se observó heterocromatina constitutiva en la región del centrómero de los autosomas.

En cuanto a los cromosomas sexuales, en el cromosoma X y Y se observó heterocromatina constitutiva en la región del centrómero (Figuras 15, 16 y 17).

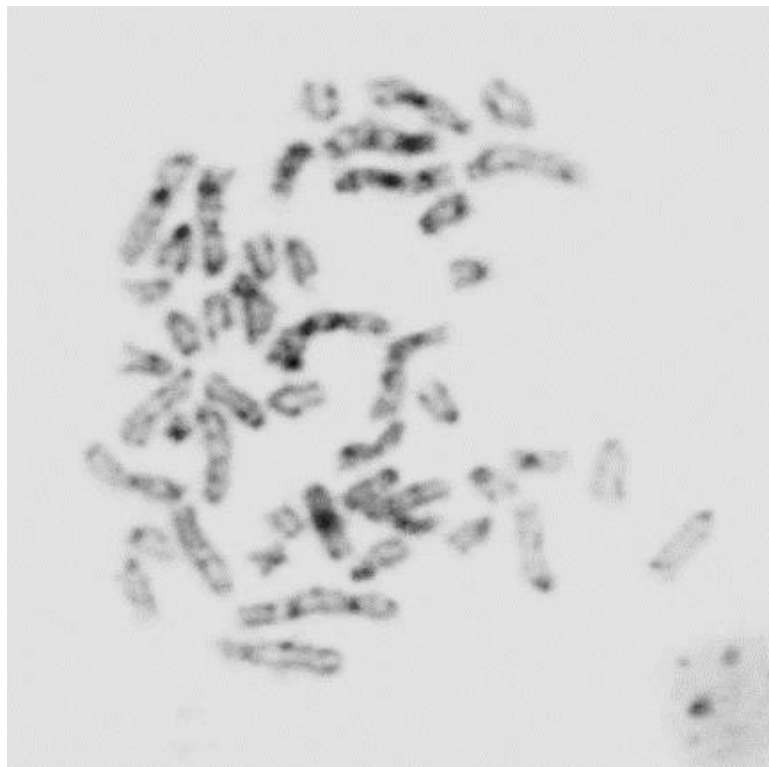


Figura 15. Campo mitótico (100X) con bandas cromosómicas C del ejemplar macho de *Peromyscus levipes* de Santiago Colzingo, Ocoyucan, Puebla.



Figura 16. Cariotipo de bandas cromosómicas C del ejemplar macho de *Peromyscus levipes* de Santiago Coltzingo, Ocoyucan, Puebla.

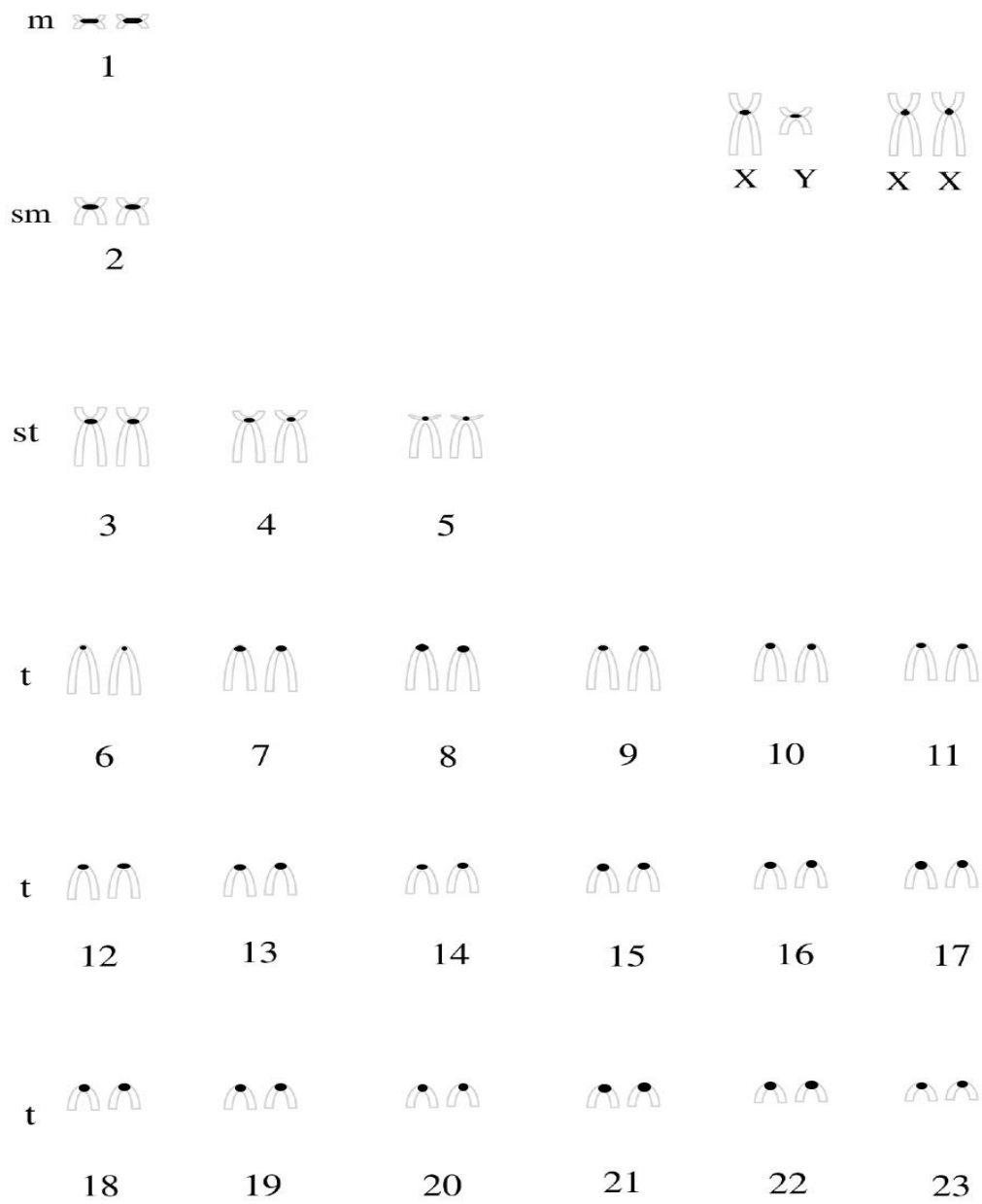


Figura 17. Ideograma del patrón de bandas cromosómicas C de *Peromyscus levipes* de Santiago Coltzingo, Ocoyucan, Puebla.

Al momento de comparar la información generada en el presente trabajo con los obtenidos en otras poblaciones de *Peromyscus levipes*, se observó que el 2n fue igual en todos los grupos. Sin embargo, el NF fue diferente en algunas zonas de México, como por ejemplo en Michoacán. El valor más alto de NF se registró en Tecali de Herrera Puebla en el 2009, mientras que el de menor valor correspondió al de Jiquilpan, Michoacán de 1972.

Cabe resaltar que, en la localidad de Acambay en el estado de México, se obtuvo un NF similar (Tabla 2).

Tabla 2. Comparación cromosómica entre poblaciones de *Peromyscus levipes*

Localidad/Estado	2n	NF	Par de autosomas Birráneos	m	sm	st	t	X	Y	Autor (es)
Acambay, Estado de México	48	56	5				18			Bradley <i>et al.</i> (2004)
Jiquilpan, Michoacán	48	54	4				19	st	m	Lee <i>et al.</i> (1972)
Noreste de Puebla	48	58	6				17	sm	sm	Álvarez y González (2009)
Tecali de Herrera, Puebla	48	60	7		5	2	16	sm	sm	Calixto <i>et al.</i> (2009)
Coltzingo, Ocoyucan, Puebla	48	56	5	1	1	3	18	sm	sm	Presente estudio

7. DISCUSIÓN

El cariotipo del ratón de patas ágiles *Peromyscus levipes* del municipio de Ocoyucan, Puebla presentó un número cromosómico diploide $2n=48$, lo cual concuerda con lo establecido por el Comité para la estandarización de cromosomas de *Peromyscus* (1977). Esto indica que no hay una variación en el número cromosómico dentro de este género independientemente de su distribución (Kalcounis-Rueppell y Spoon, 2009).

Con respecto a los valores obtenidos del NF, que en este caso fue de 56, se observó que difieren de lo reportado por Lee *et al.* (1972) y Bradley *et al.* (2014). Sin embargo, fue el mismo valor para la población de Acambay, Estado de México. Estos resultados indican que existe variación en el número de brazos cromosómicos, siendo posiblemente una respuesta a cambios estructurales en la morfología cromosómica como inversiones pericéntricas en los cromosomas birrámeos, esto como consecuencia de la posición geográfica entre las zonas, ya que la presencia de barreras geográficas involucra la adaptación de diferentes hábitats, tolerancia ambiental o inclusive al cambio climático global a lo largo del espacio-tiempo (Greenbaum *et al.*, 1994; Mata *et al.*, 2015), cambios a los que responden los organismos.

En cuanto a la morfología cromosómica sexual se observó una congruencia con lo reportado por Álvarez y González (2009), en donde *Peromyscus levipes* presentó el par sexual conformado por el cromosoma X submetacéntrico grande y el cromosoma Y submetacéntrico pequeño. Así mismo, los resultados concordaron con el estudio realizado por Calixto *et al.* (2009) en Tecali de Herrera, Puebla. Sin embargo, el número de brazos cromosómicos fue diferente entre cada población. Cabe señalar que este es el primer estudio realizado en esta zona, por lo que sugiere que la falta de estudios en diferentes regiones del estado no permite homogenizar los resultados, por lo que es importante realizar diferentes muestreos para evitar sesgos.

Sin embargo, los resultados difieren del estudio de Lee *et al.* (1972,) ya que *Peromyscus levipes* de Jiquilpan, Michoacán presentó el cromosoma sexual X

subtelocéntrico grande y el cromosoma Y metacéntrico pequeño. Estas diferencias pudieran deberse a que dicha población presento rearrreglos cromosómicos en el par sexual a causa de ajustes funcionales del organismo a su ambiente en consecuencia a una alteración en su ambiente (Morrone., 2001).

El patrón de bandas cromosómicas G de *Peromyscus boylii* en Coahuila presentó en los cromosomas grandes de ocho a 13 bandas, en los cromosomas medianos de cuatro a seis bandas y en los cromosomas pequeños entre una a cinco bandas, por lo que se esperaba que *Peromyscus levipes* al ser una especie dentro del género, presentara diferencias en cuanto al número de bandas en los cromosomas grandes y medianos. Sin embargo, no fue así, ya que los cromosomas medianos fueron similares en las dos especies. Estas diferencias quizá se deban a la distribución de eucromatina o incluso a posibles rearrreglos cromosómicos. Ciertamente el género *Peromyscus* presenta variación cromosómica como adiciones heterocromáticas e inversiones pericéntricas, tal es el caso que *Peromyscus levipes* ha tenido inversiones pericéntricas, principalmente en el cromosoma seis y en el cromosoma tres, generando polimorfismo cromosómico, lo cual ha sido reportado por Greenbaum *et al.* (1994) y Smith *et al.* (1994). Hasta el momento, no se ha generado un cariotipo estándar para la especie *Peromyscus levipes* que pudiera confirmarlo (*sensu* Nirchio y Oliveira, 2014).

Respecto al bandeo cromosómico C, la heterocromatina constitutiva se ubicó en la región centromérica de *Peromyscus levipes* de Santiago Coltzingo Ocoyucan Puebla, lo cual concuerda con Smith *et al* (1994), donde la misma especie, pero de Molango, Hidalgo, el patrón de bandeo cromosómico C se restringió a dicha zona, esto nos indica que no hay diferencias en el patrón cromosómico C.

8. CONCLUSIÓN

Este es el primer estudio realizado en Santiago Colzingo Ocoyucan Puebla que analiza el cariotipo de la especie *Peromyscus levipes*

Se analizó el cariotipo de cinco ejemplares de *Peromyscus levipes* del municipio de Colzingo, Ocoyucan, Puebla, correspondientes a dos machos y tres hembras.

El cariotipo convencional de *Peromyscus levipes* del municipio de Colzingo, Ocoyucan, Puebla fue $2n=48$ y $NF=56$.

La morfología cromosómica consistió en un par cromosómico metacéntrico, un par cromosómico submetacéntrico, tres pares cromosómicos subteloecéntricos y 18 pares cromosómicos telocéntricos.

Los cromosomas sexuales X y Y fueron submetacéntricos.

El patrón de bandeo cromosómico G en los cromosomas autosómicos grandes presentaron entre ocho a 12 bandas totales, los autosomas medianos presentaron entre cuatro a seis bandas en total y los autosomas pequeños de dos a tres bandas de eucromatina oscuras y claras en total.

El patrón de bandeo cromosómico C en los cromosomas se observaron bandas en las regiones centroméricas.

Hubo diferencias en cuanto al cariotipo observado en diferentes zonas de México, tal es el caso que en Michoacán se registro el NF mas bajo y en Tecali de Herrera Puebla el NF más alto. Sin embargo, el numero cromosómico permaneció constante.

Estas diferencias encontradas pudieran deberse a posibles cambios estructurales en la morfología cromosómica en consecuencia a la adaptación de las especies en diferentes hábitats, alteraciones en el ambiente, cambio climático global y/o a las barreras geográficas.

9. BIBLIOGRAFÍA

1. Alcalá, F. 2021. ¿Qué es un cromosoma y cuáles son sus principales alteraciones? *Formación* Alcalá. <https://www.formacionalcala.com/articulos/144/que-es-un-cromosoma-y-cuales-son-sus-principales-alteraciones>
2. Álvarez, S., y N. González. 2009. *Peromyscus levipes* (Rodentia: Cricetidae). *Mammalian Species*, 824(824), 1–6. <https://doi.org/10.1644/824.1>
3. Arrighi, F. E, y T. C. Hsu. 1971. Localization of heterochromatin in human chromosomes. *Cytogenetics*;10(2):81-6. doi: 10.1159/000130130. PMID: 4106483.
4. ASE. 2022. *Ocoyucan*. AuditoriaPuebla.Gob.mx. <https://www.auditoriapuebla.gob.mx/sujetos-de-revision/cuentas-publicas/ayuntamientos/item/ocoyucan>
5. Baeza, C., V. Finot, y E. Ruiz. 2015. Comparative karyotype analysis of populations in the *Alstroemeria presliana* Herbert (*Alstroemeriaceae*) complex in Chile. *Genetics and Molecular Biology*, 38(2), 199–204. <https://doi.org/10.1590/S1415-4757382220140277>
6. Bickmore, W. 2001. Análisis de cariotipo y bandeo cromosómico. Unioviado.es. Recuperado el 1 de noviembre de 2022, de <https://www.unioviado.es/esr/pp/bandmethods.pdf>
7. Borzan, Ž., y S. E. Schlarbaum. 2004. Genetics and genetic resources | cytogenetics of forest tree species. *En* J. Burley (Ed.), *Encyclopedia of Forest Sciences* (pp. 204–214). Elsevier.
8. Bradley, R. D., N., Ordóñez-Garza, C. W., Thompson, E. A., Wright, G., Ceballos, C. W., Kilpatrick, y D. J., Schmidly. 2022. Two new species of *Peromyscus* (Cricetidae: Neotominae) from the Transverse Volcanic Belt of Mexico. *Journal of Mammalogy*, 103(2), 255–274. <https://doi.org/10.1093/jmammal/gyab128>
9. Bradley, R. D., Carroll, D. S., Haynie, M. L., Martínez, R. M., Hamilton, M. J., y C. W. Kilpatrick, 2004. A New Species of *Peromyscus* from Western Mexico. *Journal of Mammalogy*, 85(6), 1184–1193. <http://www.jstor.org/stable/4094480>
10. Bradley, R. D., N., C. G., Ordóñez-Garza, H. M. Sotero-Caio, C. W. Huynh, L. I. Kilpatrick, I. Iñiguez-Dávalos, y D. J. Schmidly. 2014. Morphometric,

- karyotypic, and molecular evidence for a new species of *Peromyscus* (Cricetidae: Neotominae) from Nayarit, Mexico. *Journal of Mammalogy*, 95(1), 176–186. <https://bioone.bibliotecabuap.elogim.com/journals/journal-of-mammalogy/volume-95/issue-1/13-MAMM-A-217/Morphometric-karyotypic-and-molecular-evidence-for-a-new-species-of/10.1644/13-MAMM-A-217.full>
11. Bueno, M. L. 2011. Cromosomas, vehículos en la organización y transmisión de los caracteres. De Universidad Nacional de Colombia. <http://www.scielo.org.co/pdf/abc/v16n3/v16n3a3.pdf>
 12. Calixto, L., J. Martínez. y R. González. 2009. Descripción cromosómica de *Peromyscus levipes* en Tecali de Herrera Puebla. Sociedad Mexicana de genética. de Yumpu.com <https://www.yumpu.com/es/document/read/14825011/2009-sociedad-mexicana-de-genetica> Pagina 44-45
 13. Cerón, A. 2018. ¿Por qué los científicos experimentan con ratas y ratones? México Ciencia y Tecnología. Recuperado el 3 de noviembre de 2022, de <http://www.cienciamx.com/index.php/ciencia/salud/21031-por-que-experimentan-ratas-ratones>
 14. Ceballos, G. 2005. Orden Rodentia. En Los mamíferos silvestres de México, G. Ceballos y G. Oliva (eds.). Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad-Fondo de Cultura Económica. México, D.F. p. 530-531.
 15. Cervantes, F. y C., Ballesteros. 2012. Estudios sobre la Biología de Roedores Silvestres Mexicanos. UNAM. Sitio web: http://www.mastozoologiamexicana.com/books/Estudio_sobre_biologia_roedores_mexicanos.pdf
 16. Cherlyedath, S. 2019. Cytogenetic Analysis - Cytogenetics, de News Medical. Sitio web: <https://www.news-medical.net/health/Cytogenetic-Analysis-Cytogenetics.aspx>
 17. Constructora Grucogomm, S. A. de C. V. 2011. Atlas de riesgos del municipio de Ocoyucan., 2011. [Proyectomesoamerica.org](http://rmgir.proyectomesoamerica.org). Sitio web: http://rmgir.proyectomesoamerica.org/PDFMunicipales/2011/vr_21106_AR_OCOYUCAN.pdf
 18. Diario oficial de la federación Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, Protección ambiental-Especies nativas de México de flora y fauna silvestres-Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-

- Lista de especies en riesgo.
https://dof.gob.mx/nota_detalle_popup.php?codigo=5173091
19. INEGI. 2000. Espacio y datos de México.
<https://www.inegi.org.mx/app/mapa/espacioydatos/default.aspx?ag=211060001>
 20. ITIS, Alexander, S. Hodson, A. Mitchell, D. Nicolson, D. Orrell, y G. Perez, 2022. The Integrated Taxonomic Information System. Catalogue of Life Checklist (Version 2022-08-01). ITIS. <https://www.gbif.org/species/2437991>
 21. Guenet, F., J. Benavides, J. Panthier, y X., Montagnetelli. 2015. *Cytogenetics*. In Genetics of the Mouse. Springer, Berlin, Heidelberg.
https://doi.org/10.1007/978-3-662-44287-6_3
 22. González, G., y J. Arroyo. 2012. Lista Actualizada de los mamíferos de México 2012. Revista Mexicana de Mastozoología, 2(1), 27.
<https://doi.org/10.22201/ie.20074484e.2012.2.1.20>
 23. Greenbaum, I. F., S. J. Gunn, S. C. Smith, B. F. McAllister, D. W. Hale, R. J. Baker, M. D. Engstrom, M. J. Hamilton, L.W. Modi, G. Robbins, W. Rogers, F. Ward, E. Dawson, L. Pathak, y F. B. Stangl. 1994. Cytogenetic Nomenclature of deer mice, *Peromyscus* (Rodentia): Revision and review of the Standardized karyotype. Cytogenetic and Genome Research, 66(3), 181-195.
<https://doi.org/10.1159/000133696>
 24. Gupta, D., R., P. Ford y S., Biju. 2019. Embryo Rescue and Cytogenetic Manipulation. En M. Singh (Ed.), Lentils (pp. 57–81). Elsevier.
 25. Kalcounis-Rueppell, M. C., y T. R. Spoon. 2009. *Peromyscus boylii* (Rodentia: Cricetidae). Mammalian Species, 838, 1–14. <https://doi.org/10.1644/838.1>
 26. León T.M.A. 2014. Los roedores múridos de México: los pequeños mamíferos exitosos. CONABIO. Biodiversitas, 113:8-11.
 27. Lee, M. R., D. J., Schmidly, y C. C. Huheey, 1972. Chromosomal Variation in Certain Populations of *Peromyscus boylii* and Its Systematic Implications. Journal of Mammalogy, 53(4), 697–707. <https://doi.org/10.2307/1379208>
 28. Malumbres, M. 2020. Control of the Cell Cycle. En Abeloff 's Clinical Oncology (pp.56-73). EE. UU.: ELSEVIER.
 29. Mata, M., C. Manríquez, N. Octavio, y G. Sánchez. (2015). El área de distribución de las especies: revisión del concepto. Acta universitaria, 25(2), 03-19. <https://doi.org/10.15174/au.2015.690>

30. Mattei, M. G, y J., Luciani. 2003. Heterocromatina, del Cromosoma a la Proteína. Atlasgeneticsoncology.org. Recuperado el 1 de noviembre de 2022, de <https://atlasgeneticsoncology.org/teaching/30140/heterocromatina-del-cromosoma-a-la-prote-in;na>
31. McIntosh, J. R. 2016. Mitosis. Cold Spring Harbor perspectives in biology, 8(9), a023218. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a023218>
32. Morrone, J. (2001). Sistemática, biogeografía, evolución Los patrones de la biodiversidad en tiempo-espacio (1.a ed.). Universidad Nacional Autónoma de México. <https://www.libros.unam.mx/digital/V9/35.pdf>
33. Myers, P., R. Espinosa, C. S, T. Jones, G. S. Hammond y T. A. Dewey. 2022. *Peromyscus levipes*. Animaldiversity.org. https://animaldiversity.org/accounts/Peromyscus_levipes/classification/
34. Nimer, S. 2012. Your easy way to chromosomes. Google Books. Recuperado 10 de octubre de 2022, de <https://books.google.com.mx/books?id=KmxtCN6ZzXoC&pg=PA82&lpg=PA82&dq=the+short+arm+of+the+chromosome+is+labeled+the+%E2%80%9Cp+arm.%E2%80%9D+The+long+arm+of+the+chromosome+is+labeled+the+%E2%80%9Cq+arm.&source=bl&ots=vrm042vk3O&sig=ACfU3U1sF4owKsYdUqVNsnfTAXa5dgy1fQ&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEwjIzaHXw-H6AhUQlmoFHRzAA5kQ6AF6BAghEAM#v=onepage&q=the%20short%20arm%20of%20the%20chromosome%20is%20labeled%20the%20%E2%80%9Cp%20arm.%E2%80%9D%20The%20long%20arm%20of%20the%20chromosome%20is%20labeled%20the%20%E2%80%9Cq%20arm.&f=false>
35. Nirchio, M., y C., Oliveira. 2014. Citogenética como herramienta taxonómica en peces. saber. Revista Multidisciplinaria del Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente, 26, 1315-0162
36. Ordóñez-Garza, N. V. J., J. Swier, Hanson, D. Sotero-Caio, y R. D. Bradley. 2013. The karyotype of *Peromyscus grandis* (Rodentia: Cricetidae). Therya, 4(3), 575-580. <https://doi.org/10.12933/therya-13-122>
37. Ortega, M., J. Torres y J. Osorio. 2018. Fundamentos de citogenética humana y animal. UNAD. <https://doi.org/e-ISBN:978-958-651-651-8>
38. Pardue ML, y JG. Gall JG. 1970. Chromosomal localization of mouse satellite DNA. Science. Jun 12;168(3937):1356-8. doi: 10.1126/science.168.3937.1356. PMID: 5462793.

39. Pierce, B. 2009. Genética: Un enfoque conceptual. Editorial Médica Panamericana. Tercera Edición. España. 20-22 pp.
40. Robbins, L. W., y R. J. Baker. 1981. An assessment of the nature of chromosomal rearrangements in 18 species of *Peromyscus* (Rodentia: Cricetidae). Cytogenetic and Genome Research. <https://doi.org/10.1159/000131649>
41. Rojas, R. L., y R. M., Barboza. 2007. Ecología poblacional del ratón *Peromyscus mexicanus* (Rodentia: Muridae) en el Parque Nacional Volcán Poás, Costa Rica. Revista de biología tropical, 55(3–4), 1037–1050. <https://doi.org/10.15517/rbt.v55i3-4.5976>
42. Schoch, C. L, 2020 Taxonomía de NCBI: una actualización completa sobre curación, recursos y herramientas. Base de datos (Oxford) baaaa062. PubMed: 32761142 PMC: PMC7408187.
43. Schlomer BJ, M. Feretti M, E. Rodriguez, S. Blaschko, G. Cunha, y L. Baskin. 2013. Sexual differentiation in the male and female mouse from days 0 to 21: a detailed and novel morphometric description. J Urol. 190(4 Suppl):1610-7. doi: 10.1016/j.juro.2013.02.3198. Epub 2013 Mar 7. PMID: 23473905; PMCID: PMC4104111.
44. SEMARNAT. 2019. Desarrollo Inmobiliario “City Lomas” Santiago Coltzingo, Ocoyucan, Puebla. SEMARNAT.GOB.MX. <https://apps1.semarnat.gob.mx:8443/dgiraDocs/documentos/pue/estudios/2019/21PU2019UD040.pdf>
45. Smith, S. A., I. F., Greenbaum y D. J. Schmidly. 1994. A Problematic Specimen of *Peromyscus* with an Unusual Karyotype. The Southwestern Naturalist, 39(3), 289–291. <https://doi.org/10.2307/3671597>
46. Stimpson, K. M. y B. A., Sullivan. 2013. Centrómero. En S. Maloy y K. Hughes (Eds.), Brenner 's Encyclopedia of Genetics (págs. 500–502). Elsevier.
47. Sumner, A. T., H. J., R. A., Evans, R. A. Buckland. 1971. New technique for distinguishing between human chromosomes. Nat New Biol. 7;232(27):31-2. doi: 10.1038/newbio232031a0. PMID: 4105244.
48. Tigano, A., R., A. D., Khan, D., Omer, O., Weisz, A. S., Dudchenko, S., Multani, R. R., Pathak, E. L., Behringer, H., Aiden, Fisher, y M. D. MacManes. 2022. Chromosome size affects sequence divergence between species through the

interplay of recombination and selection. *Evolution; international journal of organic evolution*, 76(4), 782–798. <https://doi.org/10.1111/evo.14467>

10. ANEXO

Solución hipotónica (0.075 M KCl)

Se pesan 0.56g de KCl, aforándolo en 100ml de agua destilada.

Su uso es de máximo dos días bajo refrigeración, sin estar contaminada.

Fijador Carnoy

Proporción 3:1

Metanol 15ml y Ácido acético 5ml.

Se prepara 30 minutos antes de ser utilizado, bajo refrigeración.

Tinción Giemsa convencional

Se prepara en un vaso Coplin 47 ml de agua destilada, 2ml Giemsa (MICROLAB) y 1 ml de solución AB (amortiguadora).

- Solución amortiguadora

10M NaH_2PO_4 (Solución A o fosfato monosódico)

Se pesan 0.69gr y se diluye en 50ml de agua destilada, del cual se utilizan 15ml

10M Na_2PO_4 (Solución B o fosfato sódico)

Se pesan 0.71gr y se diluye en 50ml de agua destilada, del cual se utiliza 10ml. De la solución A se toman 15 ml y de la solución B se toman 10 ml, se afora, y se puede mantener a refrigeración (4°C) hasta que no se observe contaminada.

Tinción Giemsa 2% Bandas cromosómicas G

Se prepara un vaso con solución tripsina, 2 vasos Coplin con solución PBS, un vaso Coplin con tinción Wright, un vaso Coplin con tinción Giemsa 2% y un vaso con agua destilada.

- Tinción Giemsa 2%

6ml de solución stock

44ml de solución buffer de Sorensen (pH 6.8)

- Tinción Wright

12ml de solución stock

36 ml de buffer de Sorensen (pH6.8)

- Buffer de Sorensen Bandas cromosómicas G

Pesar 3.315gr de fosfato de potasio monobásico (KH_2PO_4)

Pesar 1.28 gr de fosfato disódico (Na_2HPO_4)

Disolver en 400ml de agua destilada, aforar a 500ml

- Solución stock de tripsina

Se pesan 0.05gr de Tripsina Difco (1:250) y se diluyen en 50 ml de buffer de fosfato salino (PBS)

Difusión de tripsina (0.25%)

Se diluyen 10 ml de solución stock de tripsina con 30 ml de PBS (Se debe mantener en refrigeración a 4°C)

Tinción Giemsa 4% preparado con buffer de fosfato de Sodio para Bandas C
(Arrigui, 1971, modificada)

- Buffer de fosfato de Sodio

- 0.01M de NaH_2PO_4

Se pesan 0.069gr de fosfato monosódico y se diluyen en 50ml de agua destilada

- 0.01M de Na_2HPO_4

Se pesan 0.071gr de fosfato disódico y se diluyen en 50ml de agua destilada

Se toman 34ml de la dilución de fosfato monosódico y 50ml del fosfato disódico, combinándolos entre sí.

- Para la tinción Giemsa 4% se toman 2ml de Giemsa (Microlab) y 48 ml del del buffer.

Solución de Ácido Clorhídrico

- Solución stock de HCl de 5N

Se toman 2ml de HCl 5N y 48ml de agua destilada para obtener 0.2N (Se mantiene a temperatura ambiente)

Solución saturada de Hidróxido de Bario

Pesar 5gr de Hidróxido de Bario (BaOH) en 50ml de agua destilada (Se prepara 2 semanas antes de utilizarlo)

Solución Stock 10XSSC para bandas cromosómicas C

NaCl 1.5M

Pesar 4.384gr del cloruro de sodio

$Na_3C_6H_5O_7$ 0.15M

Pesar 2.206gr de citrato de sodio

Los dos reactivos se diluyen en 50 ml de agua destilada (La solución debe mantenerse en refrigeración a 4°C)

Se toman 10ml de 10XSSC y 40ml de agua destilada para obtener una solución 2XSSC (Se mantiene a refrigeración a 4°C y se utiliza un día)