BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

“Análisis cromosómico de *Neotomodon alstoni* de Tepatlaxco de Hidalgo, Puebla.”

Tesis que para obtener el título de
LICENCIADO (A) EN BIOTECNOLOGÍA

PRESENTA:
FERNANDA DANIELA DELGADILLO DÍAZ

DIRECTOR (A) DE TESIS:
M en C. ROSA MARÍA GONZÁLEZ MONROY

Junio 2021

AGRADECIMIENTOS

A) Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP): Por ser el lugar en que vi consolidarse mis sueños y permitirme terminar mis estudios, siempre tendrá un lugar especial en mi corazón.

B) Facultad de Ciencias Biológicas, Licenciatura en Biotecnología: Por ser mi hogar, donde obtuve desde conocimientos apasionantes hasta lecciones de vida que nunca olvidaré, gracias por darme algunos de los mejores años de mi vida.

C) M. en C. Rosa María González Monroy: Gracias por ser quien confió en mí para este proyecto, me permitió aprender cosas totalmente nuevas, por ser tan comprensiva y atenta conmigo, incluso cuando me veía con problemas de ánimo. Gracias por guiarme de la mejor manera y estar abierta a resolver mis dudas. La voy a recordar con mucho cariño siempre, me hubiera gustado poder compartir más tiempo en el laboratorio con usted.

D) Dr. Jesús Martínez Vázquez: Gracias por guiarme tanto en el trabajo de laboratorio como en la salida de campo, siempre con una actitud comprensiva y paciente con todos.

E) Compañeros del Laboratorio de Mastozoología: Gracias por siempre guiarme en la dinámica del laboratorio, por las tardes compartidas en convivios o haciendo nuestro trabajo, sin duda conocí excelentes personas.

F) Dra. María Lorena Luna Guevara: Gracias por ser una de las mejores académicas que pude conocer a lo largo de esta travesía, a pesar de que nunca fue mi maestra y la conocí por otros medios, usted siempre me guio de una forma especial, me dio la confianza de poder trabajar con usted en un pequeño proyecto e incluso me abrió las puertas de su casa. *La quiero mucho.*

DEDICATORIAS

Claudia Ivet Díaz Ramírez (Mi mamá): Te dedico esta tesis por haberme enseñado desde pequeña a tener confianza en mí misma, por siempre apoyarme en mis decisiones estuvieras de acuerdo o no, por estar a mi lado a pesar de las caídas, de las dudas y los conflictos, y sobre todo en los momentos buenos. Compartir contigo este viaje ha sido lo mejor, pues nos permitió conocernos mejor una a la otra. Nunca olvidaré tu manera de cuidarme a lo largo de esta travesía nuestras pláticas por teléfono, eres mi mayor motor y siempre seré tu compañera, *te amo mami.*

Jorge Amador Quiroz (Mi papá): Te dedico esta tesis por todas aquellas charlas que tuvimos solos, has sido parte fundamental en mi carácter, de ti tengo tantas cosas que me enorgullecen. Gracias por darme la confianza para hablar de cualquier cosa y por siempre tener un abrazo fuerte para mí y un consejo franco, eso es lo que más valoro, *te amo papá.*

María Guadalupe Ramírez Curiel (Mi abuela): Te dedico esta tesis por ser esa mujer que me ha inspirado desde niña en muchos aspectos, gracias por siempre recibirme con un abrazo y un beso tan dulce que me reconfortaba todo y con las palabras de aliento que me recargaban de energía, gracias a ti tuve los primeros acercamientos a la ciencia y eso no se me olvida, ¡eres la mejor!, *te amo abuela.*

Victor Hugo Díaz Abad (Mi abuelo): Te dedico esta tesis por ser la persona más fuerte y dedicada que conozco, porque me has enseñado que hay que luchar por conseguir lo que uno desea, por permitirme cultivar una relación tan cercana contigo a raíz de este viaje que fue la universidad. Quiero que sepas que nunca me he sentido más segura que cuando te veía para volver juntos a casa los viernes, *te amo abuelo.*

Jorge Luis Amador Díaz (Mi hermano): Te dedico esta tesis hermano por ser esa personita que daba chispas de felicidad a mi vida, desde tus mensajes hasta las noches de fin de semana en que compartíamos una cena y risas, siempre he creído que tú eres el mejor regalo que mis papás pudieron darme, *te amo hermanito.*

Victor, Angelica y Jesús Díaz Ramírez (Mis tíos): Les dedico esta tesis a ustedes por siempre estar presentes en mi formación, por su cariño manifestado de diferentes formas y por todas las risas que hemos compartido juntos, debo confesar que eran la razón por la que me daba tristeza volver a Puebla, pues no los iba a ver entre semana, *los amo mucho.*

Miguel Ángel Benítez Luna (Mi novio): Te dedico esta tesis por ser esa persona que se convirtió en mi familia, estar contigo todos los días me hizo sentir tan feliz, incluso desde que éramos solo amigos. Gracias por siempre escucharme, por los debates, por la música, los bailes y los días en familia compartidos. Eres el mejor compañero de ciencia que pude haber encontrado, el mejor amigo y sobretodo el mejor novio, *te amo mi chanchito.*

A mis amigos de la carrera: Diana, Miguel, Samael, Mariana, Majo, Jorge, Zahid, entre otros, gracias a todos ustedes porque me permitieron conocerles a cada uno de maneras muy especiales, por compartir noches de diversión y tardes de estrés, comidas e, incluso, las familias de algunos que me cobijaron. Tenerles fue un gran regalo que me dio la vida y deseo conservarlos para siempre, *los quiero muchísimo.*

A mis mejores amigos de la prepa: a Daniel y Martha, gracias por ser parte fundamental de mi vida, ustedes han estado en momentos muy importantes para mí y sé que, pase el tiempo que pase, siempre estarán presentes en mi vida, se han convertido en mis hermanos, *los amo.*

RESUMEN

Los mamíferos son considerados uno de los grupos más importantes y más estudiados en el país megadiverso que es México, por lo tanto es necesario llegar a conocer, en especial, a las especies endémicas que son utilizadas, no solo dentro del país, sino en todo el mundo como importantes modelos experimentales. La citogenética es la ciencia derivada de la biología que une la citología y la genética para el estudio de los cromosomas, su morfología, los correctos procesos de segregación que ocurren en estos, además de los procesos mitóticos y su influencia en la herencia de los organismos, técnicas como la obtención de cariotipos y las técnicas de bandeo G y C conforman también esta rama. El objetivo del presente estudio fue el muestreo en la localidad de Tepatlaxco de Hidalgo, Puebla, México, en el cual se obtuvieron 3 ejemplares de *Neotomodon alstoni* la cual fue determinada como la especie experimental debido a que su estudio citogenético es tan reducido. El trabajo de laboratorio se centró en la obtención de los cariotipos a partir de médula ósea extraída del húmero de los ejemplares siguiendo el método de Baker y Qumsiyeh (1988). Posteriormente, se realizaron laminillas en las cuales se hizo tinción de los cromosomas con una solución de Giemsa, dichas laminillas fueron analizadas en el microscopio, obteniendo aproximadamente 50 campos mitóticos por ejemplar (dos machos y una hembra), de los cuáles fueron descartados aquellos que no contarán con características óptimas y utilizados aquellos que mostraran un complemento cromosómico íntegro, buena tinción y buena morfología de cada cromosoma, para tomar fotografías. De las fotografías se obtuvieron como resultado los cariotipos e idiogramas de macho y hembra, obteniendo como numero diploide 2n=48 y NF=62, como morfología cromosómica se obtuvieron 8 pares de autosomas birrámeos de los cuales 1 par fue metacéntrico, 4 submetacéntricos y 3 subtelocéntricos, los 15 pares restantes fueron telocéntricos, en el caso de los gonosomas, ambos resultaron subtelocéntricos. Se pudo concluir que el cariotipo continúa en evolución, sin embargo aún es considerado como un cariotipo primitivo.

ABSTRACT

Mammals are considered as one of the most studied and important groups of animals in the megadiverse country that is Mexico, this is the reason why it is needed to get to know, specially, the endemic species that are used, not only in Mexico but all around the world as experimental models. Cytogenetics is the biology derived science that unites cytology an genetics for the study of the chromosomes, their morphology, the correct segregation processes that take place in them, besides the mitotic processes and their influence on the inheritance of the organisms, technics such as obtaining karyotypes and G and C-banding are part of this branch. The objective of this study was the sampling at the location of Tepatlaxco de Hidalgo, Puebla, Mexico, in which 3 specimens of *Neotomodon alstoni* were obtained and, therefor it was determined as the experimental model since its cytogenetic study is reduced. Laboratory work focused on obtaining karyotypes from humerus bone marrow of the specimens following the Baker and Qumsiyeh (1988) method. Subsequently, slides were made with stained chromosomes, these were observed under a microscope, obtaining approximately 50 mitotic fields per organism (two males and one female), of which those that did not have optimal characteristics were discarded and, instead, were used those that showed a complete chromosomic complement, a good stain and morphology of each chromosome, to take photographs of. From those photographs were obtained as results the karyotypes and idiograms of male and female, getting as diploid number 2n=48 and FN=62, as chromosomic morphology were obtaines 8 biarmed pairs from which one pair was metacentric, 4 submetacentric and 3 subtelocentric, the remaining 15 pairs were telocentric, both gonosomes were subtelocentric. It was possible to conclude that the karyotype continues to evolve, however, it still considered a primitive karyotype.

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS i

DEDICATORIA ii

RESUMEN iv

ABSTRACT v

INTRODUCCIÓN 1

Morfología cromosómica y tipos de cromatina . . . 10

Clasificación y constantes cromosómicas 15

Bandas cromosómicas C y G 18

Alteraciones cromosómicas 21

Alteraciones estructurales 22

Biología de la especie 30

Clasificación 30

Descripción morfológica. 31

Hábitos 33

Hábitat y distribución 33

Estado de conservación 34

Estudios de conducta y endocrinología . . . 35

ANTECEDENTES 38

Descripción genética de la especie 38

Trabajos de genética 39

JUSTIFICACIÓN 41

OBJETIVOS 42

METODOLOGÍA 43

Área de estudio 43

Ubicación 43

Clima y principales ecosistemas 44

Trabajo de campo 47

Trabajo de laboratorio 47

Elaboración de laminillas 48

Elaboración de cariotipos e idiogramas . . . 49

RESULTADOS 51

DISCUSIÓN 57

CONCLUSIÓN 61

PROPUESTAS 62

LITERATURA CITADA 63

APÉNDICE 73

ÍNDICE DE FIGURAS 74

ÍNDICE DE TABLAS 77

INTRODUCCIÓN

A partir de la urbanización masiva causada por el hombre, gran cantidad de zonas que antes eran conservadas por ser hábitat de diversas especies se han visto alteradas, no sólo en flora sino también en la fauna endémica de cada lugar. La alteración de dichas especies no sólo se ve reflejada en el número de ejemplares, por poner un ejemplo, sino también en sus características fenotípicas y genotípicas, lo cual repercutirá en la evolución de dichas especies (Robinson y Elder, 1983).

Algunas de los nuevos caracteres adquiridos serán positivos, sin embargo, muchos otros van a intervenir en el flujo natural de su desarrollo convirtiéndolos en amenazas para las especies y la biodiversidad del país.

México forma parte del grupo de los 17 países megadiversos, ocupando el doceavo puesto, tal como se muestra en la Tabla 1. Estos países abarcan el 10% del territorio mundial y poseen el 70% de la diversidad planetaria, entre flora y fauna (Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas, 2018).

Para que un país pueda considerarse megadiverso, debe poseer una o más de las siguientes características (Iberdrola, 2019):

- Una posición geográfica idónea, la mayoría de estos países se encuentran en zonas tropicales.
- Diversidad de paisajes, lo cual dará paso a su vez a la diversidad de suelos, ambientes y climas.
- Aislamiento de tierras, pues territorios alejados de los continentes, como las islas, han hecho posible que se desarrollen nuevas especies.
- Un gran tamaño, a mayor territorio, mayor cantidad de especies y paisajes.
- Una historia evolutiva óptima, la cual se da gracias a la zona en que se encuentra el país, en la que puede haber convergencia de flora y fauna con diferente historia.
- Riqueza cultural, la cual hace posible la preservación de las especies, tanto endémicas como no endémicas, además de ser clave para la domesticación de plantas y animales.

Tabla 1. Lista enumerada de los países que conforman el grupo de Países Megadiversos Afines (Batlle, 2020).

Puesto	País
1	Australia
2	Brasil
3	China
4	Colombia
5	Ecuador
6	Estados Unidos
7	Filipinas
8	India
9	Indonesia
10	Madagascar
11	Malasia
12	México
13	Papúa Nueva Guinea
14	Perú
15	República Democrática del Congo
16	Sudáfrica
17	Venezuela

De acuerdo con la Declaración de Cancún (2002), los países megadiversos afines están obligados a cumplir las siguientes clausulas:

- Presentar panoramas en foros internacionales sobre la diversidad biológica.
- Promover la conservación de la diversidad biológica en los países de origen, realizar inventarios de los recursos, invertir en el desarrollo de tecnologías a favor de la diversidad.
- Los bienes, servicios y beneficios que provengan de la conservación deben ser utilizados para el desarrollo sostenible a nivel local.

- Explorar vías de intercambio de información con otros países miembros del grupo en pro de la protección de la diversidad biológica, acceso a recursos biológicos y genéticos y reparto de beneficios.
- Generar incentivos para la conservación y el uso sostenible de recursos.
- Impulsar acciones tanto con otros países como con el sector privado local y foráneo, que esté interesado, para el óptimo desarrollo, conservación, aprovechamiento sostenible y distribución de beneficios.
- Combatir la apropiación indebida de recursos genéticos.

Del 70% de biodiversidad que tienen los países megadiversos afines, México tiene aproximadamente un 12%, según la Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas (2018) se han enlistado circunstancias que ayudaron a que México fuera hogar de tantas riquezas naturales:

- México, junto con Estados Unidos y Colombia, es un país con litorales tanto en el Océano Atlántico como en el Pacífico.
- Su posición geográfica, donde atraviesa el trópico de cáncer, ubica a México en zona tropical.
- La topografía mexicana posee tanto montañas como desiertos, bosques y áreas planas, lo cual ayuda a la proliferación de una gran cantidad de especies.
- Es un país que alberga diversos ecosistemas como manglares, estuarios, lagunas y arrecifes coralinos.

La mastozoología es la ciencia encargada del estudio de los mamíferos, tanto terrestres como acuáticos y semi-acuáticos (Museo de Historia Natural, 2017), esta rama es considerada de gran importancia en la biología de México ya que es uno de los países con mayor diversidad, ocupando el tercer lugar a nivel mundial (Procuraduría Federal de Protección al Medio Ambiente, 2020), el primer lugar en mamíferos marinos (Llorente y Ocegueda, 2008) y, sobretodo, porque cuenta con 162 especies endémicas (Sistema Nacional de Información Ambiental y de Recursos Naturales, 2018), de las cuales, el orden de los roedores es el que más diversidad presenta (Ceballos y Navarro, 1991), sin embargo, aproximadamente el

55% de esas especies endémicas enfrentan problemas de conservación (Ceballos, 1993).

México actualmente cuenta con especies de mamíferos que conforman el 10% del total global, siendo el estado, dentro del país, con mayor presencia de especies la Ciudad de México, con 211 (CONABIO, 2018), los resultados se muestran en la Tabla 2. Lo anterior nos ayuda a entender la importancia de obtener muestreos de esta clase y en los diferentes estados del país, en el caso del presente estudio, dicha tabla de datos demuestra que Puebla está en el lugar 11 a nivel nacional, teniendo 142 especies diferentes dentro de su territorio, entre las cuales se encuentra nuestra especie de interés, esto podría sentar las bases para un estudio integral con otras especies de roedores dentro del estado.

En México, los mamíferos, así como las aves, corresponden a los grupos de los que se tiene un inventario cercano al 100% (Llorente y Ocegueda, 2008) y, de todos los animales que se encuentran en el país, los roedores son la tercera clase con más estudios sobre diversidad genética, solo después de los insectos, que poseen el primer lugar, y los peces marinos, que son el segundo puesto (Piñero *et al.*, 2008), dicho lo anterior, es fácil identificar a las especies que corresponden a estos grupos y tener información respecto a su genética, sin embargo, muchas otras no han sido estudiadas a profundidad.

Como ya se ha mencionado, la huella humana derivada de la deforestación, fragmentación y destrucción de hábitats naturales hace que estas especies se encuentren en peligro constante, además de otras actividades que amenazan su integridad como el tráfico y comercio ilegal de especies silvestres, cacería ilegal, introducción de especies invasoras, la cacería ilegal, faltas al trato digno de ejemplares de fauna silvestre (Procuraduría Federal de Protección del Medio Ambiente, 2020), entre otras, por lo tanto es importante el estudio de estas especies, dentro de cualquier línea de investigación en que pueda entrar la mastozoología, no solo para conocer más acerca de ellas sino para poder llegar a su conservación.

En este caso, se hizo uso de la citogenética en el Laboratorio de mastozoología.

Tabla 2. Especies de mamíferos enlistadas por estados pertenecientes a la República Mexicana (CONABIO, 2018).

Puesto	Entidad Federativa	Especies de mamíferos registradas
1	Ciudad de México	211
2	Oaxaca	206
3	Jalisco	202
4	Veracruz	198
5	Michoacán	162
6	Sonora	159
7	San Luis Potosí	157
8	Durango	150
9	Tamaulipas	149
10	Coahuila	147
11	Puebla	142
12	Guerrero	140
13	Nayarit	135
14	Campeche	127
15	Nuevo León	126
16	Estado de México	124
17	Baja California	123
18	Zacatecas	120
19	Chihuahua	119
20	Hidalgo	116
21	Sinaloa	115
22	Yucatán	115
23	Chiapas	112
24	Quintana Roo	109
25	Tabasco	109
26	Morelos	107
27	Querétaro	105
28	Baja California Sur	99
29	Colima	82
30	Guanajuato	68
31	Tlaxcala	54
32	Aguascalientes	46

Para el estudio del genotipo de las especies que puedan verse afectadas por condiciones externas existe la citogenética, la cual es una rama de la genética encargada del estudio de material hereditario que se condensa durante la división de la célula que lo contiene hasta formar los cromosomas (Silva *et al.*, 2008).

El estudio de la citogenética aborda desde el número de cromosomas de una especie hasta la morfología y las modificaciones o rearreglos cromosómicos de estos (Silva *et al.,* 2008), por lo tanto, es una herramienta muy importante para determinar alteraciones y tratar de dar una explicación a estas, sin embargo existen ejemplos en los que, sin ningún tipo de cambio en la morfología del cromosoma, las mutaciones cambian el flujo evolutivo, otra aplicación para la citogenética es dar una resolución al origen de un grupo taxonómico de interés (Poggio y Naranjo, 2018).

Los primeros trabajos donde se abordó a la citogenética son provenientes de finales del siglo XIX, con los trabajos publicados por Fleming, conocido como uno de los padres de esta rama de la ciencia, en los cuales él describía los cromosomas a partir de ilustraciones gracias a la visión del microscopio (Silva *et al.*, 2008). Años más tarde Waldeyer (1988) introdujo el término “cromosomas” definiéndolo como cuerpo coloreado, proveniente etimológicamente del idioma griego.

La citogenética suele dividirse en dos etapas, derivadas de las técnicas que se empleen, estas son la citogenética clásica o convencional y la citogenética molecular.

La citogenética clásica es aquella etapa que comprende desde que se estableció la teoría cromosómica de la herencia de Sutton-Boveri en 1902 (Lacadena, 1996), en la cual, gracias a sus estudios sobre la meiosis pudieron concluir que los cromosomas son aquellas unidades que poseen las partículas de la herencia, posteriormente denominadas genes, y que existen cromosomas con morfología similar en cada célula germinal denominados “cromosomas homólogos” (Delgado-Echeverría, 2007).

En esta etapa se encuentran técnicas cuyo principal objetivo es la descripción morfológica de los cromosomas, las técnicas de bandeo y con esto la posible diferenciación de cromosomas que puedan servir como marcadores, todo esto con ayuda de la microscopía óptica y electrónica (Lacadena, 1996). Los primeros trabajos de la citogenética clásica fueron, en su mayoría, encaminados en el estudio de los cromosomas del maíz, dando como resultado los primeros mapas cromosómicos con sus componentes diferenciados por su tamaño, posición del centrómero, entre otras características (Herrera, 2007).

Dentro de esta etapa se pueden considerar también a personajes importantes, considerados como los padres de la citogenética tales como Cyril Dean Darlington, quien fuese uno de los pioneros en la citología e inclinado más por la rama de la botánica, realizó múltiples estudios sobre entrecruzamiento genético y, gracias a la microscopía, describió diversas etapas por las que pasa la morfología de un cromosoma a lo largo de la mitosis (Lacadena, 1996).

Otra persona importante dentro de la primera etapa de la citogenética es Theophilus Painter, quien descubrió la presencia del cromosoma Y y, con esto, sentó las bases para un descubrimiento importante que se daría posteriormente el cual fue la determinación del sexo a partir de los cromosomas homólogos X0 (llamado así en ese entonces) o XY (Silva *et al.,* 2008), de igual forma, él reportó que según sus estudios el número total de cromosomas en los humanos era 48 (Painter, 1921).

Posteriormente, la llegada de los estudios realizados por Tijo y Levan en 1956 quienes fueron los primeros en proponer el número cromosómico de los humanos que fuera 2n=46, llevando a las siguientes interrogantes como la presencia de enfermedades por los cambios o falta de cromosomas completos y en su número, dando así el primer acercamiento importante entre la citogenética y la medicina.

La citogenética convencional contempla técnicas que datan de más de medio siglo de existencia, el análisis de los cromosomas en algunas ocasiones se realiza con sondas específicas y, en otras, únicamente con la obtención del cariotipo (Hernández *et al.,* 2002).

La muestra que se cultiva para la obtención de cariotipos puede provenir de diversos tejidos como lo son: sangre, médula ósea, líquido amniótico, ganglio, bazo, masas tumorales o efusiones tumorales (Hernández *et al.,* 2002).

Un análisis cromosómico necesita de células que se encuentren en metafase, de esta forma los cromosomas se encuentran condensados y con una morfología clara, dichas células deben ser capaces de dividirse rápidamente si es que serán cultivadas para después obtener los cromosomas; aquellas que contienen estas características y, por lo tanto, las que son más utilizadas para su cultivo son las células de sangre periférica como los linfocitos, los fibroblastos, las células del líquido amniótico y las de algunos tumores (Silva *et al.,* 2008)

Según Oliva *et al.* (2004), existen diversas limitaciones de la citogenética convencional, como lo son:

- Número y calidad de los cromosomas en metafase no es el adecuado siempre.
- No es posible distinguir a simple vista cambios en el cromosoma y reorganizaciones.
- No se pueden identificar cromosomas marcadores, únicamente regiones, gracias a las bandas cromosómicas.
- No se puede identificar cariotipos complejos.
- En ocasiones, el hallar un cariotipo normal hace que la investigación no tenga muchas más vertientes.

Todas estas limitaciones fueron posteriormente cubiertas por las técnicas desarrolladas para dar paso a la citogenética molecular, comenzando así una nueva era.

A finales de los años 60s, se dio el inicio de la citogenética molecular, la cual es una conjunción de la citogenética clásica y la biología molecular, en ella las técnicas de esta última ciencia son aplicadas en elementos base de la citogenética como lo son tejidos, cromosomas, células, entre otros (Herrera, 2007).

La principal técnica de la citogenética molecular es la hibridación in situ, en primera instancia se utilizaron las sondas de ADN o ARN, marcadas radioactivamente, las cuales fueron reportadas principalmente en trabajos como el de Jhon *et al.* en 1969, posteriormente, comenzaron a utilizarse sondas con fluorocromos que se denominaron hibridación in situ fluorescente o FISH, la cual se convirtió en la principal técnica de la citogenética molecular y una herramienta muy utilizada en la biomedicina (Herrera, 2007).

De igual forma, las técnicas de Multiplex Hibridación In-situ Fluorescente (M-FISH) y la Hibridación Genómica Comparada (CGH) forman parte de la citogenética molecular, utilizadas principalmente para el estudio de cariotipos complejos (Herrera, 2007).

El fundamento de la hibridación in situ es la localización de secuencias específicas de ácidos nucleicos gracias a las sondas complementarias que se diseñan y se crean para dichas secuencias las cuales, al momento de ser pareadas, desprenderán una señalización que, como ya se mencionó anteriormente, puede ser dada por el fluorocromo o la radiactividad (Guillazo *et al.*, 2007).

Ahora bien, el estudio citogenético de roedores data de tiempo atrás, uno de los primeros trabajos de importancia dentro de esta rama fue publicado por Makino (1942) en el cual realizó un estudio de los cromosomas de *Rattus norvergicus* comparando su morfología entre ejemplares domesticados y salvajes. Consecuentes a este trabajo se encuentran los de Hungerford y Nowell (1963), Yoshida *et al.* (1965), Nadler (1969), Yong (1969), Bianchi *et al.*, (1969), entre muchos otros, entonces la citogenética de roedores comenzó a tomar más fuerza.

Las razones por las que el estudio de los roedores en México comenzó a popularizarse abarca desde el interés por la conservación, hasta el hecho de que muchas de estas especies llegaban hasta territorios estadounidenses, por lo tanto, se convertían en blanco de estudio para los académicos de dicha nacionalidad (Uribe *et al.*, 1974).

El estudio de los cromosomas eucariotas, tales como se mencionó anteriormente, es posible únicamente en metafase (Bueno, 2011), tanto en meiosis como en mitosis, esto debido a que es en esta fase que se encuentra condensado el ADN previamente replicado en la fase S del ciclo celular; la morfología, el tamaño, la organización y el número de cromosomas son factores que determinan la diferencia entre especies y las secuencias específicas de ADN que se pueden estudiar después mediante otras técnicas moleculares, es por eso que a continuación ahondaremos más en los elementos que conforman a los cromosomas.

Morfología cromosómica y tipos de cromatina

Una vez que el ADN se encuentra condensado, este se organiza en cromosomas, los cuales a su vez muestran una morfología general (Figura 1), y que se enlista y explica a continuación:

1) Un par de cromátidas, llamadas hermanas, las cuales son idénticas.
2) En los extremos tanto superiores como inferiores se encuentran los telómeros, los cuales se conocen como porciones de ADN altamente compacto y cuya función es el impedimento de la fusión de los extremos cromosómicos entre sí.
3) El punto que une ambas cromátidas se le llama centrómero o constricción primaria, el cual, junto con el cinetócoro, es responsable de los movimientos que se dan en el cromosoma a lo largo de las fases mitóticas y meióticas (Alemañ, 2016). Según la posición del centrómero es que es posible clasificar a los cromosomas (Eynard *et al.*, 2008), como se verá más adelante.
4) Existen también los brazos, tanto corto como largo. Por convención al brazo corto, llamado p, se le coloca en los diagramas siempre en la parte superior y al brazo largo, llamado q, en la parte inferior. Según el tipo de cromosoma, este puede poseer dos brazos.
5) También existen cromosomas con otras estructuras como las constricciones secundarias y los satélites.

a. Las constricciones secundarias son regiones que se encuentran en los extremos de los brazos y que están ampliamente asociadas con la región organizadora nuclear (o en inglés también llamada NOR), la cual posee los genes codificantes para el ARN ribosomal.
b. Los satélites por su parte son aquellas regiones pequeñas de forma esférica que permanecen unidas al cromosoma únicamente a causa de las constricciones secundarias.

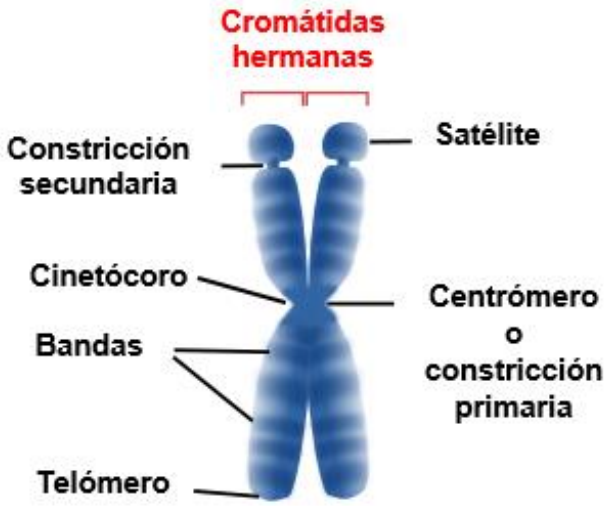

Figura 1. Morfología de un cromosoma. (Megías *et al.*, 2019).

Los cromosomas se encuentran compuestos por una sustancia en forma de fibra resultado de la interacción entre el ADN, proteínas denominadas histónicas y no histónicas y ARN en menor proporción (Cáceres, 1989). Es importante hablar de las proteínas por las cuales el ADN es capaz de plegarse de una forma determinada que nos ayude a visualizar la forma clásica de los cromosomas como los conocemos, estas son las proteínas histónicas, de ellas existen cinco tipos, tienen un papel fundamental en la estructura de la cromatina, las histonas ya identificadas son H1, H2A, H2B, H3 y H4 (Figura 2).

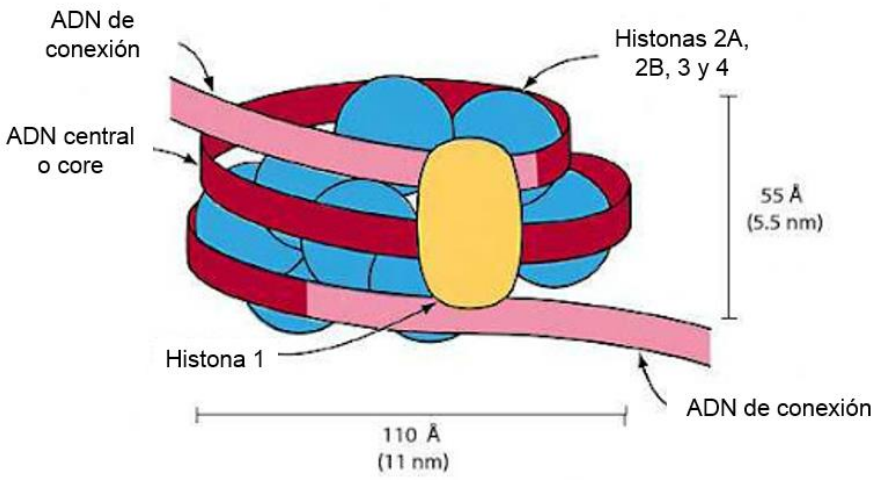

Figura 2. Estructura de un nucleosoma formado por los distintos tipos de ADN y las proteínas histónicas. Adaptado de Claros (2011).

Todas ellas son ricas en diversos aminoácidos como Lys y Arg, además de que se encuentran en cantidades equimoleculares con respecto al ADN, es decir 1:1. No todos los tipos de histonas se encuentran en todas las especies mientras que otras se encuentran altamente conservadas (Ferreira *et al.*, 2005), es decir, se encuentran en todas las especies, sin importar su evolución y otros factores.

También existen otras proteínas ancladas al ADN que se denominan no histónicas, las cuales sirven como una especie de armazón para la molécula al compactarse en forma de cromosoma.

Las proteínas no histónicas varían de acuerdo con la célula, entre ellas se pueden enlistar las ADN y ARN polimerasas y algunas otras que sirven como reguladoras (Ferreira *et al.*, 2005), sin embargo, existen también las proteínas pertenecientes al "grupo de alta movilidad" y son llamadas comúnmente HMG por sus siglas en inglés (Aragón *et al.*, 2019). Estas proteínas se dividen en tres grupos: HMGA, HMGB y HMGN, los cuales tienen funciones diferentes gracias a sus diferencias en estructura también (Hock *et al.*, 2007).

El nucleosoma es una estructura conformada por un aproximado de 200 pares de bases de ADN en conjunto con proteínas estructurales, entre otros componentes, formando octámeros (Raya, 2004). La formación de los octámeros se da con la

presencia de un par de cada histona del tipo H3, H4, H2A y H2B, posteriormente el ADN da dos vueltas alrededor de dicha estructura, teniendo cada vuelta un aproximado de 80 pb (Babu y Verma, 1987), finalmente se sella con la presencia de la histona H1, y se une a los siguientes octámeros a partir del ADN de conexión.

Un conjunto de nucleosomas en forma de “cuentas de collar” y, organizados de forma helicoidal unos con otros, es lo que forma la cromatina y posteriormente el cromosoma (Figura 3).

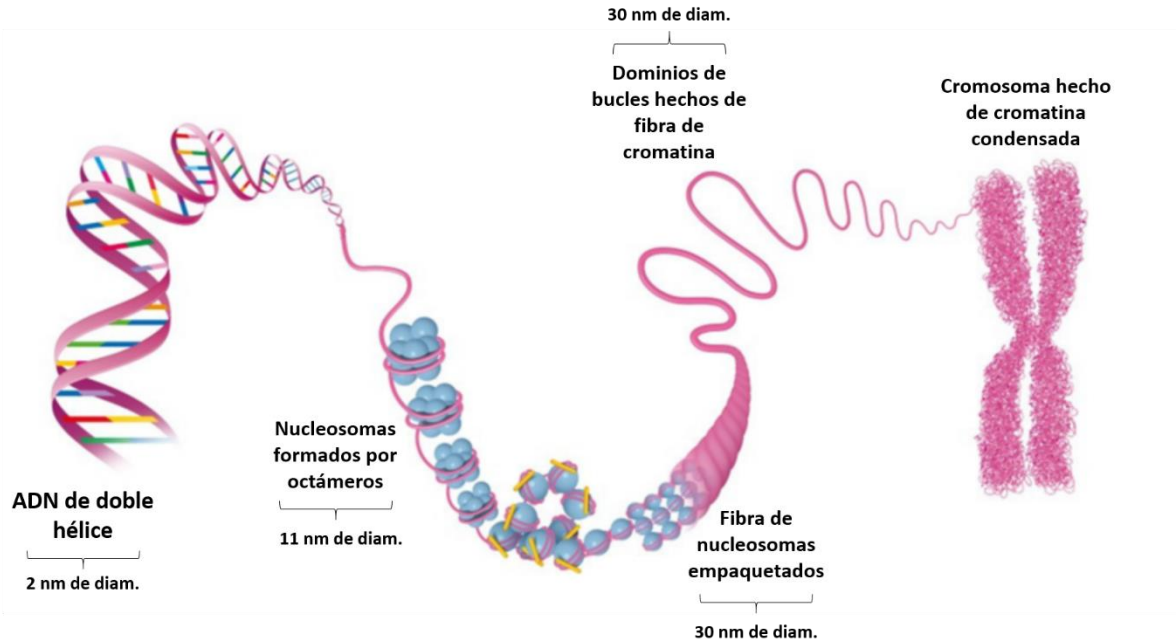

Figura 3. Estructuras que conforman un cromosoma desde una molécula de ADN. Adaptada de Uriarte, (2019).

La cromatina que compone los cromosomas se puede dividir en dos tipos distintos dependiendo de su densidad y su nivel de compactamiento:

- Heterocromatina: Es el tipo de cromatina que se encuentra altamente condensada y empaquetada, además de que contiene secuencias repetitivas de ADN, por lo tanto, no serán fácilmente transcritas por el simple hecho de que este material genético no es de fácil acceso para la maquinaria proteica necesaria para la traducción. Con anterioridad a estos segmentos del genoma se les consideraba “ADN basura”, sin embargo, actualmente se sabe

que son regiones muy importantes pues cumplen funciones como reguladoras y algunas otras sí codifican para proteínas con notables fenotipos anclados a ellas.

Existen dos tipos de heterocromatina, tanto la constitutiva como la facultativa, la primera es aquella cromatina que constituye del 10 al 20% de la heterocromatina total del cromosoma y es altamente repetitiva, se encuentra principalmente en el centrómero de los cromosomas, a estas secuencias cortas repetidas en tándem se les conoce como satélites-α en su mayoría, aunque también existen los satélites I, II y III, los cuales serán diferentes para cada cromosoma (Passarge, 2007).

La heterocromatina constitutiva es estable y se conserva como heterocromatina a lo largo del desarrollo de las células en todos los tejidos, sin embargo, también es propensa a ser polimórfica, esto quiere decir que pueden presentarse cambios en el número de secuencias repetitivas o en su orden, afectando así el tamaño total de la heterocromatina en sí (Mattei y Luciani, 2003). La heterocromatina constitutiva se puede visualizar altamente teñida después de un bandeo cromosómico C.

La heterocromatina facultativa por su parte es aquella que posee segmentos de tipo LINE que están dispersos a lo largo de todo el cromosoma y están compuestos de 6 a 7 kpb, contienen ADN medianamente repetitivo, lo que la hace inestable pues puede pasar de heterocromatina a eucromatina dependiendo el estado de desarrollo o tipo de célula y de las condiciones ambientales a las que esta se encuentre expuesta (Mattei y Luciani, 2003).

Este tipo de heterocromatina nunca aparece teñida después de una técnica de bandeo cromosómico C, sin embargo, si se puede visualizar por bandeo cromosómico G.

- Eucromatina: La eucromatina es aquella que se encuentra menos empaquetada, haciéndola de fácil acceso para la maquinaria proteica responsable de la transcripción. Por el contrario de la heterocromatina, en la cual puede haber genes que se transcriben, pero no se expresan, los genes de la eucromatina una vez transcritos siempre se van a expresar y tendrán anclado un fenotipo a ellos (Raya, 2004).

  La eucromatina se encuentra más alejada de la periferia nuclear o de la membrana, de esta forma es que se encuentra "protegida" por la heterocromatina (Babu y Verma, 1987).

Clasificación y constantes cromosómicas

Una vez sentadas las bases anteriores sobre la composición de los cromosomas, es importante denotar ahora la clasificación que hay de estos. Dentro de la citogenética existe una característica propia de la clasificación dada por las características de los brazos de los cromosomas propuesta por Levan *et al.* (1964) en la cual los cromosomas se diferenciaban en 4 categorías: metacéntricos (m), submetacéntricos (sm), subtelocéntricos (st) y telocéntricos (t; Figura 4).

- Metacéntrico (m): Cromosomas cuyo centrómero se encuentra en la zona central, tanto el brazo corto (p) como el brazo largo (q) parecen tener la misma longitud a simple vista.

- Submetacéntrico (sm): Aquellos cuyo centrómero se encuentra más cercano a uno de los extremos, hay una diferencia más notable entre la longitud de p y q.

- Subtelocéntrico (st): Cromosomas cuyo centrómero se encuentra mucho más próximo a uno de los telómeros, hay una diferencia muy clara entre p y q.

- Telocéntrico (t): Cromosomas que no tienen brazo p, únicamente q ya que el "centrómero" se encuentra completamente en uno de los extremos.

Los tipos de cromosomas planteados hicieron mucho más fácil la diferenciación entre estos y así el poder estudiarlos de una forma mejor, para posteriormente poder compararlos con trabajos anteriores respecto a otras características como el patrón de bandas.

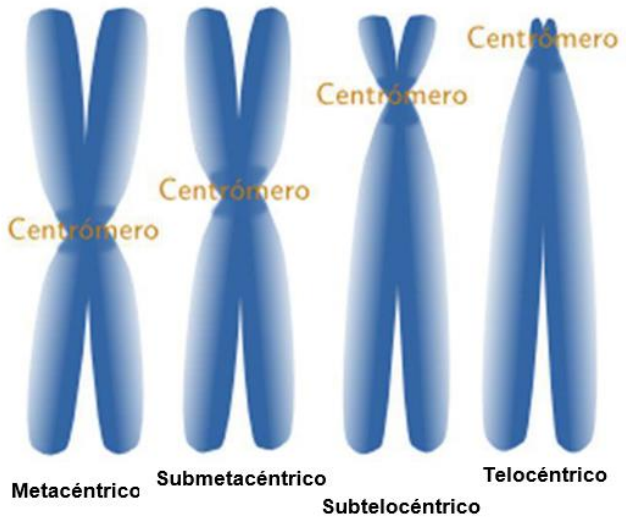

Figura 4. Clasificación de los cromosomas (Atlas of plant and animal histology, 2019).

Para la clasificación se tiene que obtener el índice centromérico (IC) de un cromosoma de cada par cromosómico, para lo cual como primer paso se deben medir la longitud del brazo corto p así como la del brazo largo q de dicho cromosoma, con la ayuda de un vernier para que sea una medida confiable, después de esto se obtiene el IC de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$IC = (\frac{p}{p+q})(100)$$

Una vez se tiene el IC, se debe identificar a qué clasificación corresponde (Tabla 3). En el apartado *i,* el valor obtenido, y de esta forma se clasificará cada par

cromosómico. Dicha tabla es una comparativa entre los valores d (diferencia entre brazo largo y brazo corto), r (radio de brazo) e i (índice centromérico).

Tabla 3. Clasificación cromosómica de acuerdo con Levan *et al.* (1964)

Nomenclatura	d	r	i
m	0.0	1.00	50.0
m	0.5 1.0 1.5 2.0 2.5	1.05 1.22 1.35 1.50 1.67	47.5 45.0 42.5 40.0 37.5
sm	3.0 3.5 4.0 4.5 5.0	1.86 2.08 2.33 2.64 3.00	35.0 32.5 30.0 27.5 25.0
st	5.5 6.0 6.5 7.0 7.5	3.44 4.00 4.71 5.67 7.00	22.5 20.0 17.5 15.0 12.5
t	8.0 8.5 9.0 9.5	9.00 12.33 19.00 39.00	10.0 7.5 5.0 2.5
t	10.0	∞	0.0

A lo largo del desarrollo de la ciencia que es la citogenética, ha sido acordado que al obtener un cariotipo, la forma de organizar los cromosomas es numerar los autosomas en pares homólogos de forma decreciente con base en su tamaño, y los cromosomas sexuales serían acomodados en un espacio a parte como cromosomas X y Y (Thews *et al.*, 1983).

Otro punto importante dentro de la citogenética es la presencia de las constantes cromosómicas, presentes en todos los cariotipos existentes. Estas constantes son:

- El número de cromosomas, también representado como 2n para organismos diploides y n para organismos haploides.

- El número fundamental, representado como NF, lo cual corresponde al número de brazos de los autosomas presentes en el complemento cromosómico.
- La LR o longitud relativa de los cromosomas.

Bandas cromosómicas C y G

Las técnicas de citogenética comenzaron a revolucionarse hasta que se llegó a técnicas de estudio tanto meióticas como mitóticas tales como el bandeo de cromosomas y la hibridación in situ sobre estos mismos (Herrera, 2007). El bandeo cromosómico es una técnica que sirve para la identificación de cromosomas ya diferenciados con anterioridad, como es el ejemplo del cariotipo humano. Sin embargo, el bandeo no sólo es útil en citogenética humana, sino también en vegetal y de otros animales.

Según Drets (2002) otra interpretación de ciertas técnicas de bandeo es el reconocimiento de puntos donde se dieron aberraciones como reordenamientos, deleciones, etc., en los cromosomas. Esta es una herramienta muy eficaz para la caracterización e identificación de diversos síndromes que pudieran sufrir los organismos estudiados.

La técnica de bandeo cromosómico es una técnica importante dentro del campo de la citogenética que lo que busca es obtener marcas, dependientes de la técnica utilizada y las diferentes metodologías creadas para cada tipo de bandeo, que sirven, por ejemplo, para la identificación de pares cromosómicos y reconocimiento tanto de segmentos como de cromosomas individuales en su totalidad, evaluación del cromosoma con base en su normalidad comparada con trabajos anteriores, alteraciones y rearreglos cromosómicos, entre otros (Schreck y Disteche, 2001).

✶ Bandas cromosómicas C

Las bandas cromosómicas C se denominan así ya que son aquellas que son empleadas para designar regiones de heterocromatina constitutiva, aquella que contiene secuencias de ADN denominadas altamente repetitivas (Nirchio y Oliveira, 2014). Dichas regiones altamente repetitivas se encuentran mínimamente en los telómeros y son más visibles en la región centromérica (Figura 5), es por eso que se les dio el nombre de “Bandas cromosómicas C” (Drets, 2002).

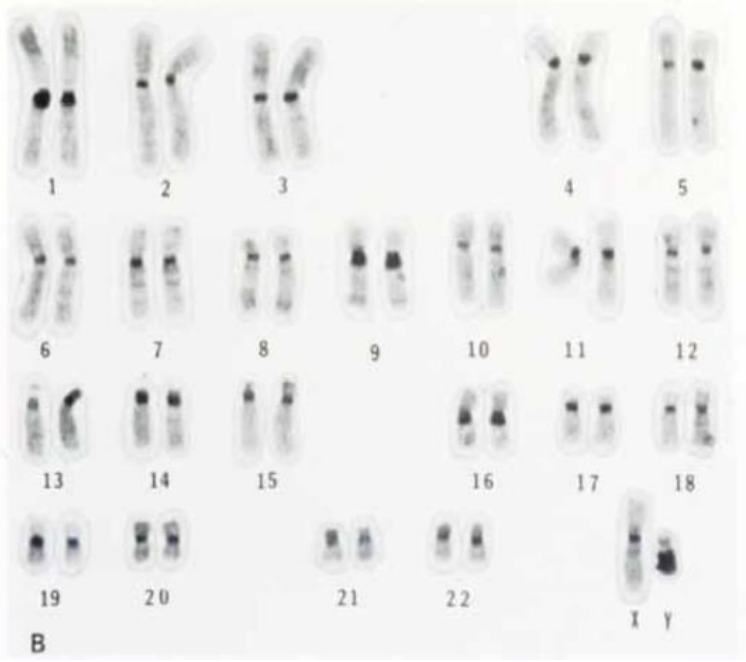

Figura 5. Ejemplo de un bandeo cromosómico C, se puede notar la tinción principalmente en los centrómeros (Alvarado, 2017).

El ADN de estas regiones se puede identificar únicamente con un tratamiento simple con Hidróxido de Bario, el cual degrada el ADN cromosómico y lo extrae selectivamente de la eucromatina, lo cual permite que las zonas de heterocromatina se tiñan mucho mejor con Giemsa (Rodríguez y Portieles, 2003), también se tiñen de mejor forma porque la heterocromatina constitutiva es capaz de renaturalizarse rápidamente después del procesamiento de tinción (Mattei y Luciani, 2003); tiene muy pocos o ningún gen dependiendo del cromosoma, por lo tanto se mantiene condensado casi la mayoría del ciclo celular, excepto al final de la fase S que es

cuando se replica (Drets, 2002). Este tipo de bandeo se utiliza más comúnmente para el reconocimiento de polimorfismos de la heterocromatina (Solari, 2004).

- ✶ Bandas cromosómicas G

Las bandas cromosómicas más utilizadas son las bandas cromosómicas G ya que la durabilidad de su tinción es muy buena. Existen métodos diversos para el Bandeo cromosómico G pero la base de este siempre es el tratamiento de las proteínas cromosómicas con Tripsina y posteriormente la tinción con Giemsa-Wright (Schreck y Disteche, 2001).

Las bandas cromosómicas G proporcionan un patrón de bandas oscuras y claras (Figura 6), las bandas oscuras denotan ADN compuesto por pocos genes (Drets, 2002; Solari, 2004), secciones ricas en AT cuya replicación es tardía y su condensación es temprana al momento de realizarse la mitosis, por lo tanto, esto significa que las bandas oscuras son la regiones heterocromáticas ricas en AT que se encuentran altamente condensadas, esto significa que este ADN se replica en la segunda mitad de del periodo S del ciclo celular, es decir, denota una replicación tardía (Solari, 2004); por su parte, las bandas claras denotan secuencias ricas en GC con muchos genes en ellas, por lo tanto son las regiones de eucromatina y que se encuentran mucho menos condensadas, cuya replicación es temprana y su condensación es tardía (Drets, 2002).

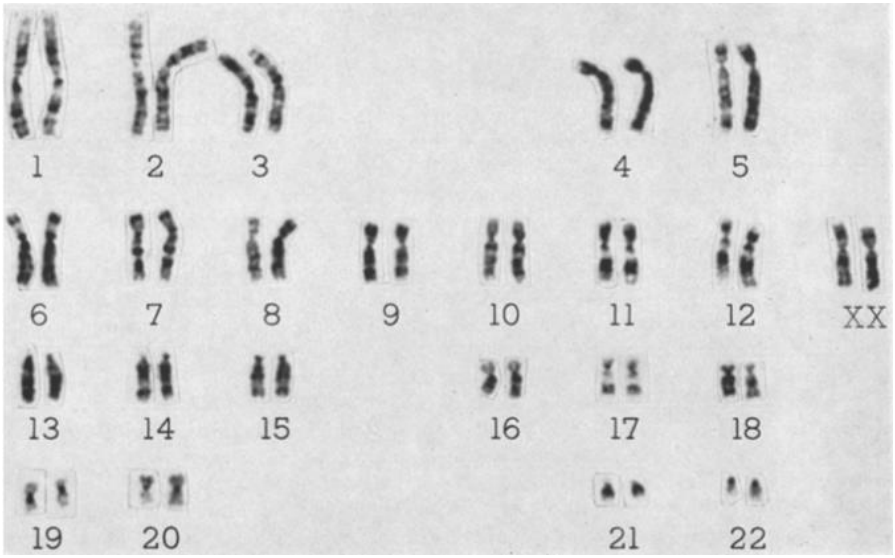

Figura 6. Ejemplo de bandeo cromosómico G (Yunis y Sanchez, 1973).

Lo anteriormente mencionado convierte a este bandeo en una buena opción si se quieren diferenciar pares cromosómicos y regiones de estos, mostrando la eucromatina, así como para la determinación de algún tipo de rearreglo cromosómico.

Según Alvarado (2017), las técnicas de bandeo cromosómico tienen diversos significados, tales como:

- ✓ Densidad de genes
- ✓ Composición de bases
- ✓ Secuencias repetidas dispersas
- ✓ Organización genómica
- ✓ Conformación de la cromatina

Alteraciones cromosómicas

Como es bien conocido, los cromosomas contienen toda la información necesaria para hacer de un organismo funcional y con características únicas, por lo que cualquier anomalía en estos conllevará a consecuencias importantes para el sistema, algunas de ellas pueden ser benéficas, por ejemplo, para la evolución del individuo, sin embargo, otras pueden llevar a dificultades para el óptimo desarrollo.

En términos generales, las alteraciones cromosómicas, también conocidas como cromosomopatías, consisten en el exceso o déficit de la cantidad de material genético (Curtis *et al.*, 2008) esto puede ser dado tanto en un cromosoma entero como en porciones de este. Las alteraciones cromosómicas se dividen en dos tipos: numéricas y estructurales, sin embargo, las alteraciones numéricas no se presentan comúnmente en mamíferos como los roedores, y si lo hacen estos no llegan a nacer vivos o mueren una vez nacidos, por lo tanto no serán abordadas, por su parte, las alteraciones estructurales son explicadas detalladamente a continuación.

Alteraciones estructurales

Este tipo de alteraciones son causadas por fallos en los cuales se generan rupturas que después no son unidas de forma correcta, provocando reordenamientos o rearreglos erróneos (Moreno, 2015). Dentro de este tipo de anomalías existen dos subclases, los reordenamientos balanceados, en los cuales no habrá pérdida ni ganancia de material genético, y los reordenamientos no balanceados o desequilibrados, donde existirá pérdida o ganancia del material genético.

Este tipo de rearreglos son fácilmente visibles cuando se obtienen los cromosomas y al ser teñidos se ve alterado el patrón de bandas o cuando se altera la morfología del cromosoma (Ballesta *et al.,* 2004). Dichas anomalías pueden ser heredadas de una generación a otra o surgir de novo, es decir, sin antecedentes conocidos.

Múltiples estudios sugieren que aquellas variaciones cromosómicas heredadas pueden influir en el desarrollo con la aparición de un síndrome, sin embargo, también las variaciones de novo se han relacionado con la formación de gran variedad de cánceres y tumores (Bueno, 2011).

Para los rearreglos estructurales balanceados han sido documentados pocos casos donde haya consecuencias fenotípicas, esto debido a que la información genética no presenta ninguna falta, aquellos casos donde se pueden constatar cambios fenotípicos es cuando el sitio de ruptura se da en un gen específico (Moreno, 2015).

Existen diversos rearreglos cromosómicos estructurales, sin embargo, los enlistados a continuación son los más comunes:

- **Inversiones:** Estas variaciones ocurren cuando existe la ruptura de un fragmento que posteriormente se vuelve a insertar en el mismo sitio pero en orientación opuesta.

  Existen dos tipos, las **inversiones pericéntricas** son aquellas en que existe un punto de ruptura en cada brazo del cromosoma, incluida la región centromérica, y el fragmento da un giro de 180° para después reinsertarse (Rivas *et al.*, 2015). Gracias a este rearreglo, un cromosoma metacéntrico

puede convertirse en uno telocéntrico, y viceversa. Son variaciones muy comunes en mamíferos (Calvario, 2016; Figura 7).

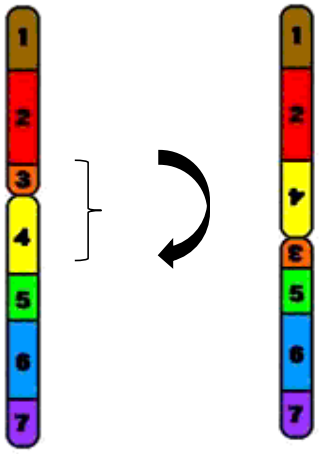

Figura 7. Ejemplo de inversión pericéntrica en la cual, el fragmento 3 y el fragmento 4 realizan un giro de 180° para después reintegrarse en el cromosoma, abarcando el centrómero. Adaptada de Tokyo Medical University (2003).

Las **inversiones paracéntricas** se dan cuando dos puntos de quiebre se dan en un mismo brazo del cromosoma. No involucran al centrómero y no cambia el tamaño de los brazos del cromosoma, solo pueden ser detectadas por técnicas de bandeo (Sánchez y Venegas, 1996; Figura 8).

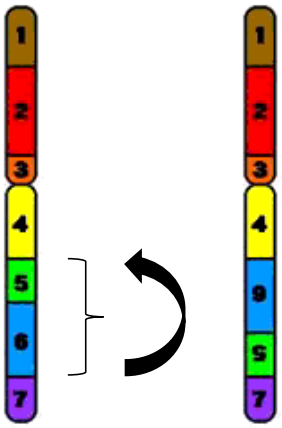

Figura 8. Ejemplo de inversión paracéntrica en la cual, el fragmento 5 y el fragmento 6 realizan un giro de 180° para después reintegrarse en el cromosoma, sin abarcar el centrómero. Adaptada de Tokyo Medical University (2003).

En resumen, ambas inversiones anteriormente descritas son fenómenos en los cuales un cromosoma sufre rupturas en dos puntos y se vuelve a insertar dicho fragmento de ADN pero de forma invertida en el cuerpo del mismo.

- **Translocaciones**: Estas variaciones se definen como el intercambio de segmentos entre dos cromosomas diferentes y existiendo en cada uno de ellos un punto de ruptura (Torriani *et al.,* 2014). Dentro de las translocaciones existen dos tipos diferentes: recíprocas y no recíprocas (también llamadas fusiones).

Las **translocaciones recíprocas** implican rupturas en dos cromosomas no homólogos, hay intercambio de fragmentos y no hay alteración en el número de cromosomas (Torriani *et al*., 2014; Figura 9).

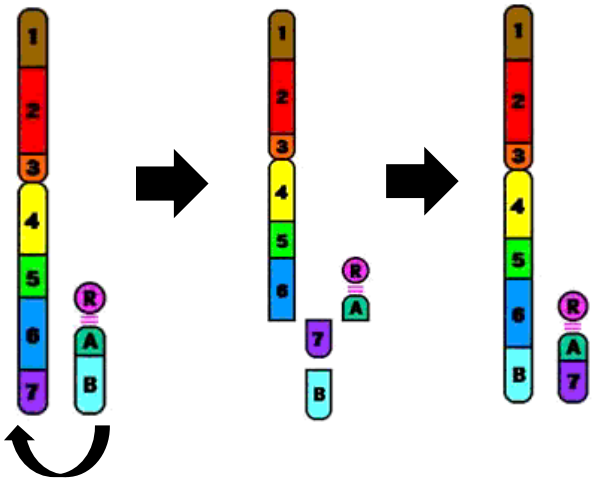

Figura 9. Ejemplo de translocación recíproca en el cual el fragmento 7 es intercambiado por el fragmento B, ambos pertenecientes a cromosomas no homólogos. Adaptada de Tokyo Medical University (2003).

Las **translocaciones no recíprocas** son las variaciones en el número de cromosomas que se dan por la unión de dos cromosomas acrocéntricos, es decir, un cromosoma completo se une a otro (Guapi *et al.*, 2018; Figura 10).

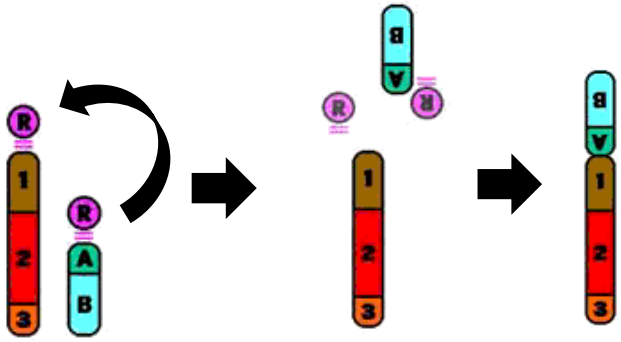

Figura 10. Ejemplo de translocación no recíproca o Robertsoniana, en el cual se da la pérdida de los fragmentos R, que suponen regiones muy pequeñas de ADN y, de esta forma, los cromosomas acrocéntricos pasan a unirse para ser uno solo. Adaptada de Tokyo Medical University (2003).

Uno de cada 900 individuos es portador de una translocación Robertsoniana, como también son llamadas (Espinosa *et al.*, 2013). En humanos, las personas portadoras de este tipo de anomalías presentan comúnmente problemas de infertilidad, abortos espontáneos, muerte fetal, etc. (Guapi *et al*., 2018), sin embargo este tipo de anomalías representan un mayor riesgo para el fenotipo de la descendencia del organismo que lo posee (Dinulos, 1997).

- **Inversiones**: Consideradas un tipo translocaciones no recíprocas, ya que existe el paso de un segmento de ADN de un cromosoma a otro de un par diferente, en este caso habrá exceso de material genético en uno y falta en el otro, de ahí su nombre. También se dan casos en los que el segmento de material se mueve dentro del mismo cromosoma (Moreno, 2015). De cualquier forma, es complicado que este tipo de rearreglo suceda ya que se necesitan tres puntos de ruptura (Figura 11).

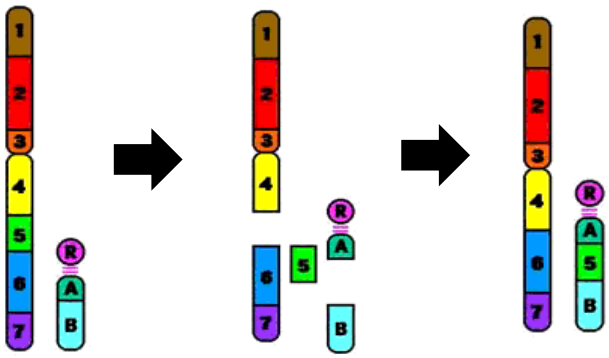

Figura 11. Ejemplo de inserción, en el cual el fragmento 5 pasa de un cromosoma a otro no homólogo, existen 3 puntos de ruptura: la ruptura del fragmento 5 con el 4, la ruptura del fragmento 5 con el 6 y la ruptura, en el otro cromosoma del sitio donde se va a insertar el nuevo fragmento. Adaptada de Tokyo Medical University (2003).

- **Duplicaciones y deleciones:** Las **duplicaciones** son los cambios cuantitativos más comunes en los cromosomas, consisten únicamente en fragmentos de ADN que son copiados y vueltos a insertar en la cromatina. Se consideran factores que propician la especiación y evolución de los organismos (Calvario, 2016) y ocurren en cromosomas homólogos o en un mismo cromosoma (Figura 12).

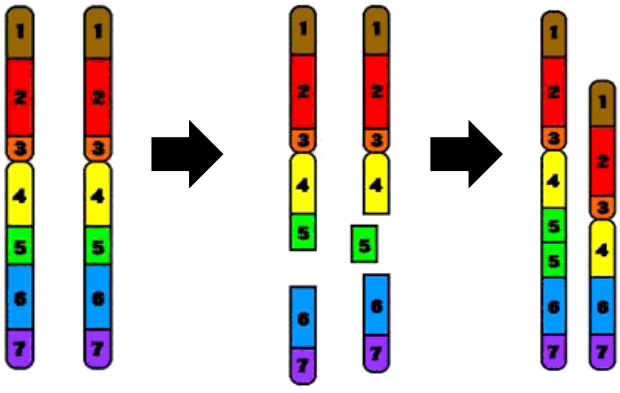

Figura 12. Ejemplo de duplicación en el que el fragmento 5 de un cromosoma es copiado e insertado de nuevo en su cromosoma homólogo. Adaptada de Tokyo Medical University (2003).

Las **deleciones** suelen denominarse terminales cuando existe un solo punto de quiebre en el cromosoma, lo cual indica que la eliminación del fragmento de ADN ocurrió en una de las zonas terminales de alguno de los brazos del cromosoma (Figura 13), por otra parte, se consideran deleciones intersticiales cuando dichas supresiones de material genético ocurren a lo largo del cuerpo del cromosoma y existen dos puntos de ruptura (Gard, 2013) (Figura 14).

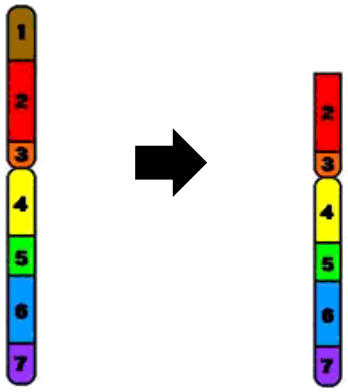

Figura 13. Ejemplo de deleción terminal en el que el fragmento 1 es eliminado, existiendo un solo punto de ruptura. Adaptada de Tokyo Medical University (2003).

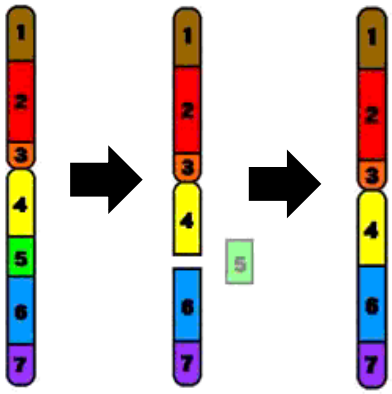

Figura 14. Ejemplo de deleción intersticial en el que el fragmento 5 es eliminado, existiendo dos puntos de ruptura: la separación de dicho fragmento con los fragmentos 4 y 6. Adaptada de Tokyo Medical University (2003).

En el caso de las duplicaciones, estas pueden ser directas o invertidas, dependiendo de la forma en que se vuelva a introducir en el cromosoma, estas pueden ocurrir en cualquier segmento de este.

- **Isocromosomas**: Son aquellas anomalías en las cuales, existe un proceso de meiosis anormal, por lo tanto, durante la metafase existe una división transversal del centrómero, en lugar de longitudinal, lo cual desencadena que exista un cromosoma del par con el brazo corto duplicado y el otro con el brazo largo duplicado (Ballesta *et al.*, 2004; Figura 15). Este tipo de anomalía es muy poco frecuente.

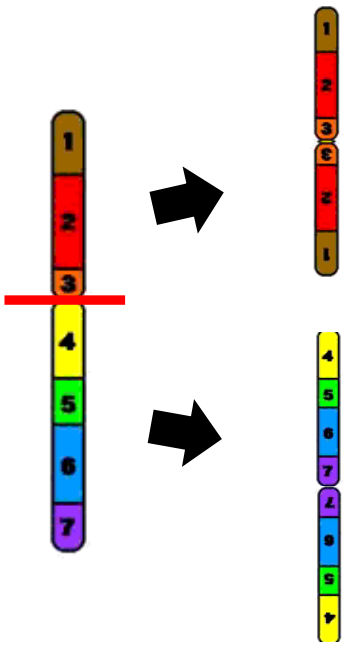

Figura 15. Ejemplo de isocromosomas en el que el cromosoma es separado transversalmente, de esta forma, tanto los brazos largos como los cortos se unen entre sí dando origen a dos cromosomas diferentes. Adaptada de Tokyo Medical University (2003).

- **Cromosomas dicéntricos**: Aquellas alteraciones donde hay una fusión de dos cromosomas lo cual da paso a sólo una pieza con dos centrómeros (Gard, 2013; Figura 16).

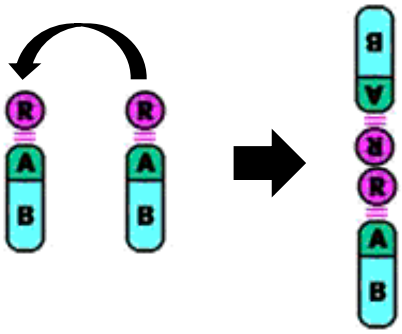

Figura 16. Ejemplo de cromosoma dicéntrico, en el cual dos cromosomas se fusionan dando paso a uno solo con dos centrómeros. Adaptada de Tokyo Medical University (2003).

- **Cromosomas en anillo:** Ocurre cuando en un cromosoma se dan dos deleciones terminales, las cuales dan paso a dos extremos que se unen a continuación, haciendo así que se enrolle el cromosoma formando un círculo o anillo (Gard, 2013; Figura 17).

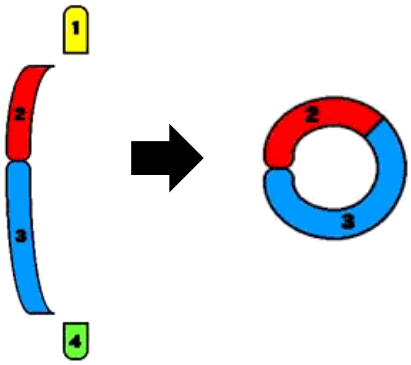

Figura 17. Ejemplo de cromosoma en anillo o anular, en este caso se pierden los extremos formados por los fragmentos 1 y 4, posteriormente se fusionan los extremos de los fragmentos restantes 2 y 3, dando una forma de anillo. Adaptada de Tokyo Medical University (2003).

Este tipo de anomalías hacen que el cromosoma termine siendo desactivado, y un ejemplo común es el síndrome de Turner, en el que un cromosoma X se convierte en cromosoma anillo y sólo se posee un cromosoma X funcional.

Biología de la especie

Se refiere a aquellos factores bajo los cuales pueden vivir y características que poseen individuos lo que los hace pertenecientes a una especie dentro de un ecosistema o nicho ecológico, en este apartado se mencionaran diversos aspectos que comprenden dichas características y condiciones bajo las cuales los individuos de *N. alstoni* coexisten.

Clasificación

La primera descripción del género *Neotomodon* fue hecha por Merriam (1898), en su publicación se determinó, gracias al estudio de 57 ejemplares recabados de los estados de Puebla, Veracruz, Michoacán y alrededores del Estado de México, la existencia de tres especies pertenecientes a este género: *N. alstoni*, *N. perotensis* y *N. orizabae.* Sin embargo, años después y gracias a estudios realizados por Davis y Follansbee (1945) se pudo constatar que únicamente existe una especie, la cual es *Neotomodon alstoni*, mientras que las otras dos descritas anteriormente por Merriam fueron catalogadas como subespecies, las cuales se diferencian por su ubicación, también llamadas “razas geográficas”.

Las subespecies finalmente quedaron con el nombre de *Neotomomdon alstoni alstoni* y *Neotomodon alstoni perotensis*, dando como resultado el cambio del nombre de la especie mencionada anteriormente por Merriam como *Neotomodon orizabae* (Álvarez, 1993).

Reino Animalia

Filo Chordata

Clase Mammalia

Infraclase Eutheria

Orden Rodentia

Familia Cricetidae

Género *Neotomodon*

Especie *Neotomodon alstoni*

Descripción morfológica

Los organismos pertenecientes a la especie *Neotomodon alstoni* también llamados "ratón de los volcanes", son mamíferos roedores de tamaño pequeño pertenecientes a la superfamilia Muroidea, deben su nombre común a que viven en las montañas del centro de México, país del que son endémicos (Chávez, 2005). La morfología de esta especie no está ampliamente documentada, sin embargo, según la CONABIO los describe como roedores cuya longitud total del cuerpo de 10 a 13 cm, mientras que la cola mide de 8 a 11 cm. El peso varía de 40 a 60 g (CONABIO, 2008). Regularmente son confundidos con ratones del género *Peromyscus* pues a simple vista comparten características, sin embargo, se diferencian en que posee un mayor tamaño y en el tamaño de la cola bicolor que poseen, pues la cola de *Neotomodon* es más corta (Figura 18).

Su pelaje es denso y suave, de color gris oscuro generalmente en la parte dorsal, mientras los costados son de colores amarillentos y el vientre blanco, todo esto en ejemplares adultos, los organismos jóvenes son de un color gris uniforme a lo largo del cuerpo. Sus orejas son grandes con relación al cuerpo y no tienen pelo, las patas trasera son bastante largas y delgadas, la cola, a su vez, es más corta que la cabeza y el cuerpo, mientras que su cráneo es ancho y bastante alto (Merriam, 1898).

Posee seis mamas, un par ubicado en la zona pectoral y dos pares en la zona inguinal.

Figura 18. *N. alstoni* fotografiado desde un costado y desde arriba, se puede notar en estas imágenes la cola corta, el pelaje y las características de las orejas (Cruzado, 2019; Castillo, 2005).

En la Tabla 4, se muestran comparativas de medidas longitudinales de la especie entre machos y hembras.

Tabla 4. Comparación de medidas generales entre machos y hembras de *N. alstoni* (Williams *et al*., 1985).

Longitud (mm)	*Macho*	*Hembra*
Longitud total	204.4	211.1
Longitud de la cola	90.7	94.1
Longitud del pie trasero	25.8	25.6
Longitud de la oreja	20.8	21.1
Longitud del cráneo	29.7	29.9
Longitud palatina	13.5	13.6
Longitud nasal	12.5	12.5
Longitud de los dientes maxilares	5.0	5.1

Hábitos

Es una especie que es activa principalmente durante la noche, sin embargo, la mayor cantidad de actividad es realizada antes de la media noche (entre las 8:00 y 9:00 p.m.), sus madrigueras se encuentran en áreas drenadas y generalmente tapadas con vegetación (Ceballos y Galindo, 1984).

Es una especie que puede reproducirse bien tanto de forma salvaje como en cautiverio. Son capaces de reproducirse todo el año, sin embargo, los partos son mayores del mes de abril a septiembre, en los cuales nacen un promedio de 3.1 crías (Chávez, 2005). El periodo de gestación es de 25 a 35 días y la lactancia dura de 20 a 30 días (Olivera y Ramírez, 1986).

Su alimentación está basada en tallos, brotes y hojas de hierbas variadas, por otra parte, los animales que los depredan son víboras, aves rapaces y mamífero carnívoros (Ceballos y Galindo, 1984).

Hábitat y distribución

Esta especie es endémica de México, específicamente se encuentra en el Eje Neovolcánico, el cual abarca los estados de Nayarit, Colima, Jalisco, Michoacán, Guanajuato, Querétaro, Edo. De México, Hidalgo, Morelos, Puebla y Veracruz (Yarza, 2003), según Ruíz y Gómez (2010), en dicho año se obtuvieron por primera vez ejemplares de la especie *Neotomodon alstoni* en su estudio mastofaunístico del Parque Nacional Malinche, en el estado de Tlaxcala.

Esta especie habita en altitudes que van desde 2500 hasta 4300 msnm (Davis y Follansbee, 1945), y principalmente en pastizales de alta montaña, también llamados “zacatonales”, en las raíces de los cuales construye su madriguera. Los zacatonales son ecorregiones que consisten en praderas y matorrales que se encuentran en las regiones volcánicas del centro de México (Steinman, 2019).

Figura 19. Distribución de la especie en el centro del país, México. Adaptada de CONABIO (2008).

Por otra parte, la vegetación presente en las zonas donde esta especie se puede encontrar está conformada por bosques mezclados de pinos y robles (Davis y Follansbee, 1945; Figura 19).

Estado de conservación

Según la Red List de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza y Recursos Naturales, por sus siglas en inglés IUCN, la especie *Neotomodon alstoni* se encuentra clasificada como especie LC (Least Concern), es decir, menor preocupación (Álvarez y Castro, 2016), lo cual significa que no está catalogada como una especie en peligro de extinción.

Según la IUCN, las actividades que se toman como medidas de conservación para esta especie es que habita en zonas que comúnmente se encuentran vigiladas y protegidas.

Estudios de conducta y endocrinología

Poco se tenía documentado de esta especie más allá de su taxonomía, su relación con el género *Peromyscus* y su distribución, la cual es ampliamente conocida, sin embargo, fue a partir de 1989 que, en México, autores como Granados y Luis comenzaron a darle un enfoque a dicha especie como modelo animal experimental, lo cual disparó la necesidad del estudio de esta especie para diversos campos de la biología, entre las cuales se destacan el área conductual, endocrinología y la biología de la reproducción.

Dentro de los diversos estudios publicados por dichos autores sobre *Neotomodon alstoni* se enlistan las características que hacen de esta una de las mejores especies que se pueden utilizar como modelo de estudio, las cuales son:

1) Docilidad: Se describió a los ejemplares de esta especie como ratones con una buena docilidad presentada desde el momento en que son capturados en su hábitat hasta que llegan a su nuevo entorno de laboratorio.
2) Adaptación: Son organismos que se adaptan fácilmente a las condiciones de laboratorio.
3) Capacidad reproductiva: Poseen fertilidad y longevidad por encima de muchas otras especies de ratones utilizadas en laboratorios.
4) Resistencia: Es una especie que demostró notable resistencia a las enfermedades que afectan de manera espontánea a otras especies de ratones convencionales.

Martínez *et al.*, (1997) finalmente, y a partir de los estudios mencionados anteriormente, pudieron introducir a la cepa llamada “GFC-UNAM” utilizada posteriormente para el estudio de las propiedades de anclaje de las proteínas conocidas como canales intracelulares liberadores de calcio, también llamados R y R (receptores de rianodina), en músculo esquelético, hígado, corazón y cerebro, y a su vez comparándolo con otras cinco especies de roedores utilizados también como modelos de estudio. Cabe mencionar que este fue el primer estudio en el cual se introdujo a la especie como un modelo de estudio en las ciencias biomédicas.

Ayala *et al.,* (1998) realizaron un estudio electrofisiológico de los patrones de sueño de *N. alstoni* pues se consideró de importancia ya que no se había dado ese enfoque anteriormente, y porque se conocen como roedores activos durante la noche. Con este estudio sentaron bases para la hipótesis que dicta que la luz natural tiene un efecto en el cerebro de los ejemplares de nuestra especie lo cual hace que cambien sus patrones de sueño-despertar, sin embargo, no fue posible llegar a ninguna conclusión concisa pues todo el estudio fue realizado bajo condiciones constantes de luz.

Villalpando *et al.,* (2000) comenzaron a enfocarse más en la biología de la reproducción de *Neotomodon alstoni* como modelo de estudio, con el objetivo de conocer la motilidad y morfología de los espermatozoides obtenidos del epidídimo directamente, puesto que estos serían individuos que han sido expuestos a condiciones de captura y encierro por varios días.

Gracias a la metodología empleada, en la cual se hizo uso de varios tipos de microscopía, se pudo concluir que los espermatozoides de *N. alstoni* poseen más características ultraestructurales, entre las que destacan dos particularmente, el desarrollo asimétrico del axonema y la presencia de un anillo posterior. Este es un dato importante pues estas diferencias estructurales que tienen con ejemplares de otras cepas usadas como modelos de estudio comúnmente utilizadas pueden significar temas de estudio también en el ámbito reproductivo.

Luis *et al.,* (2009) reconocieron el papel de los machos de *N. alstoni* en el comportamiento de las hembras al momento de tener crías en cautiverio, se sabe que los roedores macho, por lo general, no tienen un papel presente en el cuidado de las crías junto con la hembra, es más común que sea esta última la única encargada del cuidado. Se concluyó que cuando el macho está presente al amamantar a las crías, las hembras ponen menos atención a las mismas, sin embargo, cuando el macho no está presente las hembras olfatean y asean las camas para sus crías con mayor frecuencia. Por otro lado, fue mayor la cantidad de crías que continuaron vivas y desarrollándose después de la lactancia cuando se

encontraban juntos tanto la hembra como el macho, esto debido a que ambos se encargaban de dar atención a las crías.

Un ejemplo más para proponer a *N. alstoni* como un modelo de estudio fue publicado por Carmona *et al.* (2012), en dicho trabajo se evaluaron tanto la actividad circadiana como los perfiles diarios de plasma relacionados con síndromes metabólicos (obtención de niveles de glucosa, triacilglicéridos, insulina, leptina, etc.) en ejemplares machos y hembras, obesos y delgados, se pudo determinar que la obesidad, consecuencia en su mayoría de niveles altos de leptina e insulina, altera la actividad tanto diurna como nocturna de los ejemplares, llegando así al estudio dependiente del sexo.

ANTECEDENTES

Descripción genética de la especie

Las especies pertenecientes a la superfamilia Muroidea son ampliamente estudiados a nivel citogenético pues se sabe que hay gran cantidad de rearreglos en el cariotipo entre miembros de la misma especie, subespecie e, incluso, poblaciones únicamente por estar ubicados en diferentes regiones (Uribe *et al.*, 1974). Según Uribe *et al*., (1974), el número diploide de esta especie es de 48 (2n=48) y su número fundamental es de 66 (NF=66). Dicho complemento cromosómico muestra tener 23 pares de autosomas, de los cuales, 8 pares son cromosomas birrámeos mientras que 15 pares son acrocéntricos, es decir, poseen un solo brazo. Estas características posicionan a la especie como una similar a muchas del género *Neotomodon*, ya que poseen un número diploide igual y además 8 pares de autosomas birrámeos (Uribe *et al.*, 1974).

Se define también al cromosoma X como uno largo y submetacéntrico mientras que el cromosoma Y se describe como largo y subtelocéntrico, el cual posee una longitud similar a la del par 11 de autosomas (Figura 20).

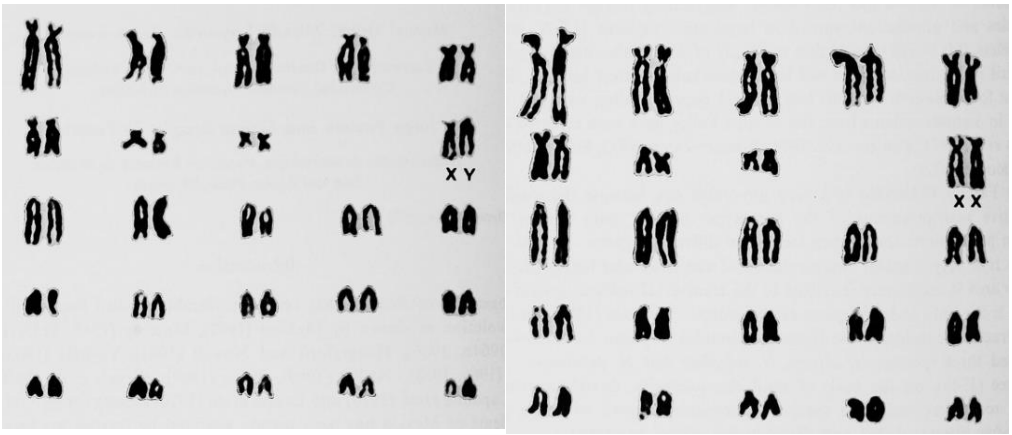

Figura 20. Cromosomas de *N. alstoni*. Uribe *et al.,* (1974).

Gracias al trabajo de Uribe *et al.* (1974), posteriormente se comenzó a tomar en cuenta a *Neotomodon alstoni* como una especie relativa al género *Peromyscus* y *Baiomys* gracias a que poseen el mismo 2n=48 (Yates *et al.*, 1979).

Trabajos de genética

Como fue mencionado anteriormente, la primera vez que se describió tanto la morfología como la taxonomía, entre otras características, de la especie *Neotomodon alstoni* fue en 1898 con la publicación de Merriam. En esta publicación se menciona que el estudio fue posible gracias a una colección de ejemplares obtenidos a lo largo de algunos estados del país, de los cuales en un principio no se conocía la especie ni se tenían bien diferenciadas sus características morfológicas.

Posteriormente fueron Davis y Follansbee (1945) quienes determinaron, gracias a un estudio con mayor cantidad de ejemplares que existe únicamente una especie de *Neotomodon alstoni*, la cual cuenta a su vez con dos subespecies diferenciadas entre sí por las zonas en que se pueden encontrar. Se concluye aquí que las, erróneamente llamadas tres especies eran inseparables entre sí, tomando en cuenta el no solapamiento de caracteres (Álvarez y Mayo, 1993).

Gracias al trabajo publicado por Yates *et al*. (1979) se describieron las bandas G y C de *Neotomodon alstoni* (aunque para este tiempo, en muchas publicaciones aún seguían dándole el nombre de *Peromyscus alstoni* a pesar de que desde los primeros estudios sobre esta especie ya era catalogada dentro del género *Neotomodon)* las cuales, se determinó, tenían gran parecido con bandas obtenidas de cariotipos primitivos que se tenían del género *Peromyscus*. Esto dio como resultado que en dicha publicación se concluyera que ambos, *Neotomodon* y *Peromyscus*, son congéneres y que poseen historia evolutiva en común.

En trabajos posteriores se describieron diferencias, denominadas como variables discretas, en la anatomía del complejo *Neotomine-Peromyscine* las cuales se daban en la anatomía craneal, dentadura, canal alimentario, morfología del falo masculino y algunas otras características externas (Dean, 1980).

Bradley *et al.,* (2004) estudiaron las relaciones filogenéticas que hay entre especies del complejo *Neotomine-Peromyscine*, el cual alberga a nuestra especie de interés, gracias a la secuenciación del gen mitocondrial del citocromo-b. Estos estudios

destacaron que *Neotomodon alstoni* pertenece al clado II, junto con otros cinco géneros: *Megadontomys, Osgoodomys, Peromyscus, Reithrodontomys* y *Ochrotomys,* con los que comparte diversas características y tiene una relación filogenética más amplia.

En el trabajo de Pérez *et al.* (2009) realizaron un análisis funcional del gen promotor del receptor de FSH (hormona folículo estimulante), esto se hizo generando clones de 946 pb de la región 5' del gen y comparando sus funciones con las de otros mamíferos. Se descubrió que esa región del gen comparte homología con rata en un 74%, con ratón 129/J en un 71%, con humanos en un 64% y con ovejas en un 59%.

En años posteriores se empezaron a estudiar otros aspectos de la genómica de *N. alstoni.* Scott (2016) descubrió, gracias a pruebas de PCR, un nuevo elemento transponible perteneciente a la familia de los transposones mys, los cuales son específicos para los roedores pertenecientes a la familia *Cricetidae*, este nuevo elemento se nombró "secuencia relacionada a mys" (mysRS, son sus siglas en ingles), los resultados destacaron que dicho elemento parece ser específico para un grupo taxonómico de roedores, y que su origen proviene de aproximadamente de 9 millones de años atrás, por un ancestro de la subfamilia *Neotominae*.

En el trabajo de Miranda *et al.* (2018) se pudo determinar que una deficiencia genética en *N. alstoni* causa que tenga tendencia a la obesidad, ya que no es común que los roedores, en condiciones controladas y en cautiverio la desarrollen. Plantean así, que este es un modelo animal interesante para el estudio de la etología de condiciones como la obesidad, sin embargo, no se ha podido determinar ni siquiera un patrón genético por el que se pueda explicar esto.

Como se pudo inferir, existen estudios múltiples en los cuales *N. alstoni* es el modelo animal por sus características de fácil y rápida adaptación al cautiverio, sin embargo, son poquísimos los trabajos en los cuales se estudia el cariotipo como tal de esta especie, lo cual hace difícil tanto su comparación como la continuación de estudios donde los cromosomas podrían jugar un papel importante.

JUSTIFICACIÓN

La citogenética es una rama importante de la genética que tiene aplicaciones varias: en las ciencias genómicas, en la medicina, en la sistemática, en la ecología, entre otras. Esta ciencia destaca por las muchas alternativas y técnicas que existen para poder desempeñarse dentro de ella; dentro de la biotecnología, es sumamente importante el estudio del genoma de los organismos pues es ahí donde encontramos en su totalidad la información que dicho individuo tenga que brindarnos.

Este trabajo busca aportar a la citogenética un estudio de la especie *N. alstoni* proveniente de Tepatlaxco de Hidalgo, Puebla, una especie y una zona que no había sido estudiada con anterioridad dándole este enfoque. El poder estudiar la citogenética de esta especie abre un panorama grande pues, como ya se mencionó anteriormente, es una especie endémica de México que es exportada para servir como modelo de estudio y cuyas características han sido descritas dentro del ámbito de su comportamiento, su biología de la reproducción, entre otros, sin embargo, la descripción de su complemento cromosómico hace que puedan ser identificadas, posteriormente, zonas con genes clave para conocer su desarrollo, reordenamientos cromosómicos que sirvieran para detectar deficiencias en el organismo o elementos que los hacen clave como modelos de estudio, aquellos que pudiesen estar ligados a fenotipos específicos y que, de alguna manera, fueran indicio de la evolución de esta especie, dando así un panorama mucho más amplio para llegar a la conservación de esta especie y trabajar en poder educar a la comunidad en por qué es importante salvaguardar las especies endémicas del país.

OBJETIVOS

Objetivo general

- Obtener el cariotipo y de *Neotomodon alstoni* de la localidad de Tepatlaxco de Hidalgo, Puebla.

Objetivos específicos

- Describir las constantes cromosómicas de *Neotomodon alstoni* de Tepatlaxco de Hidalgo, Puebla.

- Elaborar el idiograma de los cariotipos obtenidos.

METODOLOGÍA

Área de estudio

Ubicación

La zona de recolección de ejemplares fue en el municipio de Tepatlaxco de Hidalgo, Puebla, el cual se encuentra en las faldas del volcán “La Malinche” (Gobierno Municipal de Tepatlaxco de Hidalgo, 2018), dicho municipio se encuentra en la zona central del estado, con coordenadas geográficas 19° 00' 36" y 19° 11' 42" de latitud norte y los meridianos 97° 54' 06" y 98° 00' 00" de longitud occidental.

Al norte limita con el estado de Tlaxcala, al sur con Amozoc y Acajete y al oriente también con este último, al poniente limita con la ciudad de Puebla (INAFED, 2019). Se le considera parte de la zona metropolitana Puebla-Tlaxcala (INEGI, 2009).

El punto estratégico de recolección de los ejemplares contaba con las coordenadas geográficas 19° 11' 39.62" de latitud norte y 90° 00' 6.026" de longitud occidental, en la localidad de Pilactitla, perteneciente Tepatlaxco de Hidalgo, Puebla, que es la cabecera municipal (Figura 21 y 22). Este punto fue elegido por estar en una zona de zacatonales con una concentración de árboles menor para tener más fácil acceso a la colocación y posterior recolección de las trampas.

Su superficie es de 69.39 km^2, lo cual lo convierte en el 168° municipio más grande con respecto a los demás que componen el estado (INAFED, 2019).

En la zona confluyen dos regiones morfológicas, se considera que de la cota 2,500 hacia el norte forma parte de las faldas inferiores de la Malinche, y de la misma cota hacia el sur forma parte del valle de Tepeaca. Este municipio muestra como principal característica topográfica un descenso constante e irregular de norte a sur, el cual se va suavizando conforme avanza. Su altura sobre nivel del mar está entre 2,360 y 3,400 mts (INAFED, 2019).

Pertenece a la cuenca del Río Atoyac; no contiene corrientes superficiales importantes, únicamente arroyos que bajan a la Malinche intermitentemente y se concentran en el valle de Tepeaca para unirse posteriormente al Atoyac.

Clima y principales ecosistemas

Esta denominada como una zona de clima templado perteneciente al valle de Tepeaca, muestra un descenso de temperatura conforme se va avanzando de norte a sur. El clima que predomina es el templado subhúmedo con lluvias en verano, de igual forma se presenta el clima semifrío subhúmedo con lluvias en verano, el cual se localiza en las partes más altas del volcán la Malinche, exceptuando la cumbre que presenta clima frío.

Como ya se mencionó anteriormente, la zona ha sufrido de deforestaciones grandes, pues el norte debería estar cubierto de bosques de coníferas en las faldas de la Malinche y, por el momento, sólo quedan algunos ejemplares de pinos en la frontera con el estado de Tlaxcala. Estas zonas que han sido deforestadas se han utilizado para el cultivo. El zacatonal de alta montaña es la ecoregión en la que se realizó el muestreo (Figura 23), este tipo de ecosistemas son comunes en regiones volcánicas del centro de México, como lo es en el volcán Malinche.

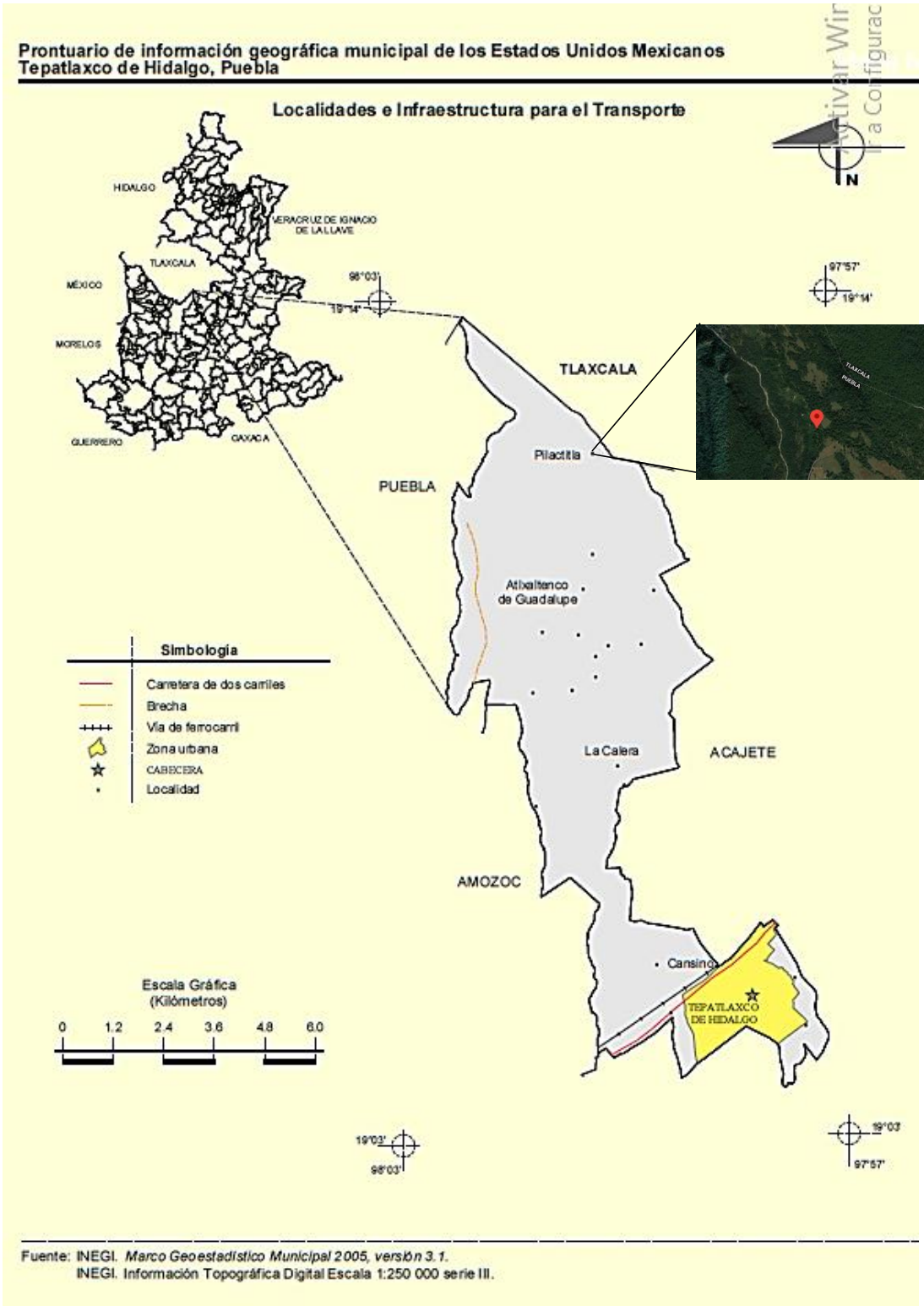

Figura 21. Mapa de Tepatlaxco de Hidalgo, Puebla. Aquí podemos observar las diferentes localidades que comprende el municipio. El sitio de muestreo fue en la localidad de Pilactitla (Obtenido de INEGI, 2009).

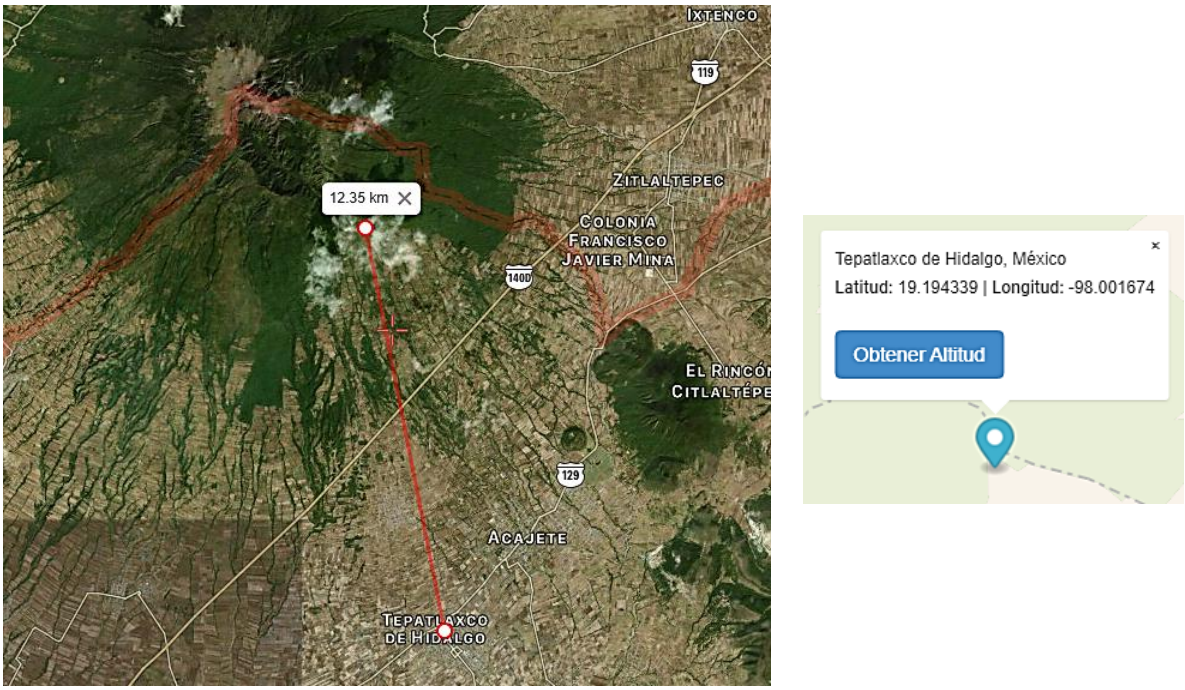

Figura 22. Distancia del municipio de Tepatlaxco de Hidalgo al punto de recolección específica con coordenadas Latitud: 19.194339, Longitud: -98.001674, el cual se encontró a 12.35 km (Obtenido de satellites.pro)

Figura 23. Fotografías del lugar donde se realizó el muestreo. Obtención propia.

Trabajo de campo

El trabajo de campo se basó en la selección del lugar específico donde se colocaron trampas; se eligió un lugar alejado del paso de los autos y personas en general. En total se colocaron 30 trampas Sherman con avena y vainilla dentro como cebo para los ratones, las trampas se dejaron parte de la tarde y toda la noche, a la mañana siguiente fueron recolectadas las trampas y se realizó una identificación rápida a partir de la observación de los ejemplares recolectados apoyándose de una bolsa de plástico transparente para poder observar las características, posteriormente las trampas fueron trasladadas hasta el laboratorio de mastozoología de la Escuela de Biología, en la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

Trabajo de laboratorio

Una vez estuvieron en el laboratorio los ratones, el primer paso fue decidir con qué especie se trabajaría, se eligieron los ejemplares de *N. alstoni* ya que se recolectaron dos hembras y un macho y se trasladaron de la trampa Sherman a una bolsa para tener mejor control de los organismos (Figura 24), ahí se implementó el método de Baker y Qumsiyeh (1988). Se inyectó vía intraperitoneal colchicina (utilizado como inhibidor mitótico) (véase apéndice), se dejó actuar por un tiempo de 30 a 40 minutos máximo. Una vez pasado este tiempo, se sacrificó el ejemplar por medio de dislocación cervical, se obtuvieron los huesos femorales (Figura 25) y se colocó la médula con ayuda de una jeringa de insulina en un tubo Falcon con solución hipotónica previamente incubada ya que debe estar a 37° C para que las células sobrevivan.

Una vez obtenida la médula en el tubo se dejaron incubar 40 minutos y posteriormente se centrifugaron a 800 rpm por 8 minutos para que haya la formación de un precipitado de células. Después de ser centrifugadas, se fijan las células retirando el sobrenadante y colocando por las paredes del tubo la solución Carnoy (véase apéndice) en el cual las células ya podrán ser conservadas en refrigeración.

Figura 24. Ejemplar macho en el laboratorio dentro de una bolsa de plástico para identificarle y posteriormente inyectarle colchicina para empezar el proceso de obtención de médula ósea. Obtención propia.

Figura 25. Proceso de obtención de médula a partir del hueso femoral en el laboratorio. Obtención propia.

Elaboración de laminillas

La elaboración de dos laminillas se hizo por goteo en portaobjetos limpios y fríos, tratados anteriormente con alcohol al 70%; la altura y temperatura alta (dada por exposición a fuego posterior al goteo) se utilizaron como factores que favorecieron la ruptura de células y extensión de cromosomas.

Una vez seco el portaobjetos después del goteo, se tiñó con Giemsa (véase apéndice). Se dejaron teñir ambas laminillas por 8 minutos, se enjuagaron únicamente metiendo y sacando rápidamente en agua destilada y se dejaron secar. Posteriormente se hizo la identificación de campos mitóticos en el microscopio con los objetivos de 10x y 40x y con ayuda de una laminilla de ubicación, posteriormente con el objetivo de 100x se tomaron fotos de los campos donde mejor se distingue tanto la morfología de los cromosomas como el número total del conjunto de estos.

Elaboración de cariotipos e idiograma

El cariotipo fue obtenido tomando fotografías de los mejores campos bajo el objetivo 100x. Las características necesarias para que un campo fuera fotografiado son las siguientes:

- Buena morfología de los cromosomas, que sea posible apreciar bien las cromátidas hermanas y los brazos.
- Cromosomas bien teñidos, es decir, que en la imagen se presenten nítidos.
- Separación suficiente entre cromosomas, para que se facilite el trabajo al acomodarlos conforme a su tamaño.
- Que el campo contenga el total de cromosomas correspondiente a la especie, previamente investigado y comprobado con referencias.

Cada uno de los campos visualizados al microscopio, fueron registrados con el cuadrante en el que se encontraron con la laminilla de localización, en este caso se hicieron dos laminillas para el ejemplar macho y una laminilla para el ejemplar hembra, obteniendo así 5 fotografías de campos óptimos para el cariotipo del macho y 4 fotografías para el cariotipo de la hembra. Es necesario tener varios campos candidatos y tomar una fotografía de cada uno para tener suficiente material con que trabajar posteriormente.

Una vez obtenidas las fotos, estas fueron editadas, se les modificó tanto la nitidez, como el color a balance de blancos y el contraste, esto con el motivo de tener la morfología lo mejor definida posible.

Posteriormente se procedió a hacer los recortes de cada cromosoma de cada foto, y fueron pegados en una hoja diferente cada uno, acomodándolos de mayor a menor tamaño y con base en la clasificación de Levan *et al.* (1964) en metacéntricos, submetacéntricos, subtelocéntricos y telocéntricos.

Una vez realizado esto, con la ayuda de un vernier fueron tomadas las medidas de cada brazo, con esto fueron calculadas las longitudes relativas de cada cromosoma, tanto del brazo p como del brazo q, y posteriormente las desviaciones estándar, finalmente, con los datos ya mencionados, fueron obtenidos los índices

centroméricos de cada par, de esta forma se reacomodaron los cromosomas de mayor a menor tamaño.

Gracias a esto se pudo realizar también el idiograma del cariotipo ordenado, el cual se realizó con el mismo programa Word. Un idiograma es una representación esquematizada de los cromosomas obtenidos, en el cual también se destacan en ocasiones las bandas cromosómicas, son altamente utilizados en bioinformática para destacar regiones que contienen genes de interés y sea más fácil su localización y estudio (Rong *et al.,* 2016). En el idiograma se esquematizan todos los cromosomas, incluidos el par sexual.

RESULTADOS

El cariotipo, como ya se mencionó anteriormente, se obtuvo tomando fotografías de los mejores campos con el objetivo 100x y editando dichas fotografías de manera que la morfología de los cromosomas se distinguiera de la mejor forma posible. En la Figura 26 se muestra un ejemplo de fotografía ya editada de un campo mitótico.

De las 2 laminillas realizadas para ejemplar macho, 5 campos mitóticos fueron elegidos y solo uno fue el que se ordenó para obtener su idiograma, el mismo procedimiento se siguió con el ejemplar hembra, se realizó una sola laminilla y fueron 4 campos mitóticos obtenidos. Para ambos casos, fueron descartados aquellos que tuvieran defectos tanto numéricos como morfológicos que pudieran notarse a simple vista, en algunos se dio el caso de que no estuvieran completos o que los gonosomas o par sexual no estuvieran bien definidos para poder dar el mejor ejemplo posible conforme al sexo.

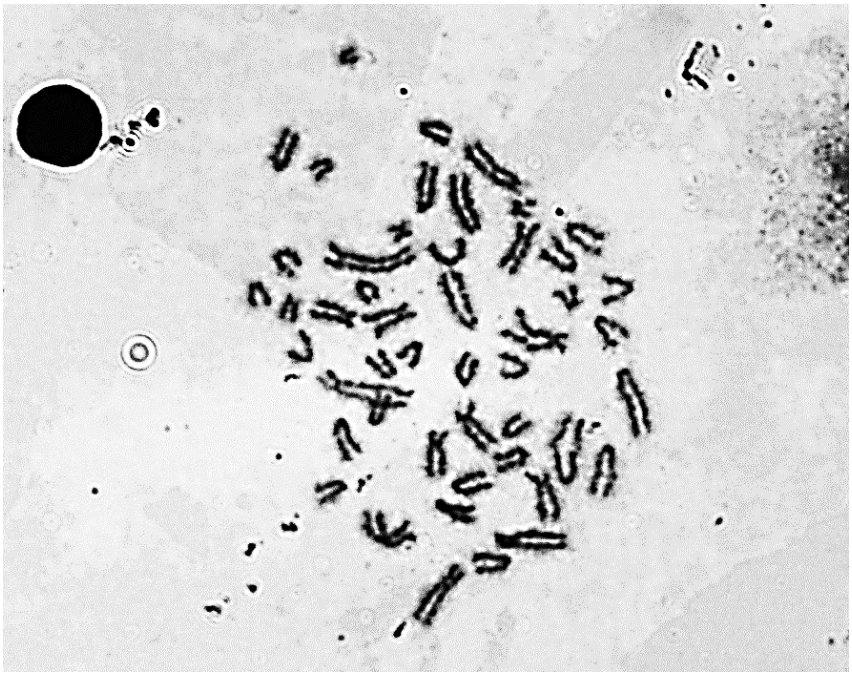

Figura 26. Cariotipo de *N. alstoni* de Tepatlaxco de Hidalgo, Puebla.

El cariotipo convencional obtenido para *Neotomodon alstoni* del municipio de Tepatlaxco de Hidalgo, Puebla es 2n=48 y un NF=62. De acuerdo a la morfología

cromosómica se obtuvo un par de autosomas metacéntrico (m), cuatro pares submetacéntricos (sm), tres pares subtelocéntricos (st) y 15 pares telocéntricos (t), tanto el cromosoma sexual X como el Y son subtelocéntricos.

En las Figuras 27 y 28 podemos ver ambos cariotipos convencionales, tanto el de de macho como el de hembra, ordenados conforme a la clasificación de Levan *et al.* (1964). En ambos cariotipos podemos observar que el único par metacéntrico es pequeño, por su parte, el cromosoma X es largo en ambos cariotipos y considerado subtelocéntrico mientras que el cromosoma Y es telocéntrico y pequeño.

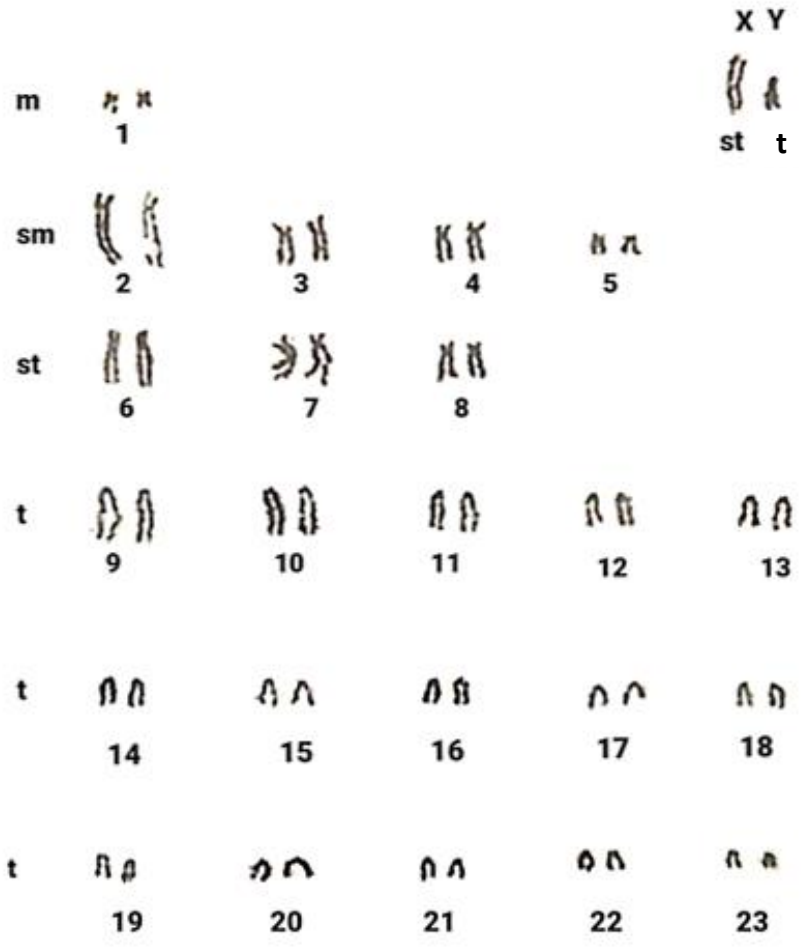

Figura 27. Cariotipo convencional de *Neotomodon alstoni* macho de la localidad de Tepatlaxco de Hidalgo, Puebla.

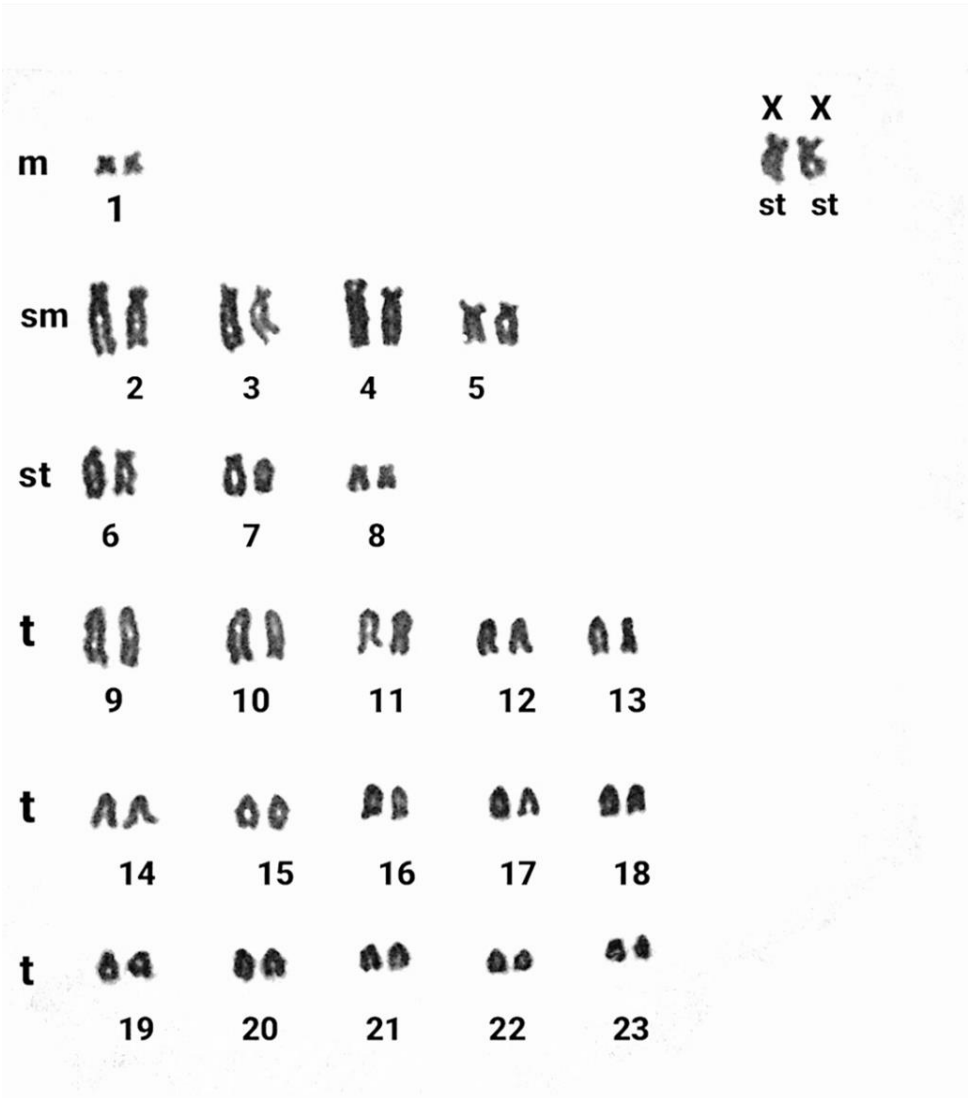

Figura 28. Cariotipo convencional de *Neotomodon alstoni* hembra de la localidad de Tepatlaxco de Hidalgo, Puebla.

En la Tabla 5 se muestra la clasificación del índice centromérico de *Neotomodon alstoni* del Municipio de Tepatlaxco de Hidalgo, Puebla. En dicha tabla se muestra que el rango mayor a 40 corresponde a los autosomas metacéntricos, de 25-39.9 corresponde a los autosomas submetacéntricos, de 20-24.9 corresponde a los autosomas subtelocéntricos, los autosomas restantes resultaron ser telocéntricos.

Tabla 5. Clasificación del índice centromérico de *Neotomodon alstoni* de la localidad de Tepatlaxco de Hidalgo, Puebla.

Par Cromosómico	LRp	DS p	LRq	DS q	LRp+q	DS p+q	IC	Clasificación de Levan *et al*. (1964)
1	7.41	0.18	10.94	0.45	18.35	0.63	40.38	m
2	12.82	0.49	29.16	2.12	41.98	2.61	30.53	sm
3	6.99	0.55	18.02	1.78	25.01	2.33	27.94	sm
4	10.49	0.72	27.65	1.56	38.14	2.28	27.5	sm
5	16.21	0.63	46.66	1.18	62.87	1.81	25.78	sm
6	11.62	0.68	35.99	1.07	47.61	1.75	24.4	st
7	12.05	0.96	40.65	0.5	52.7	1.46	22.81	st
8	8.02	0.40	27.15	0.90	35.17	1.3	22.80	st
9	-	-	44.5	3.79	44.5	3.79	-	t
10	-	-	42.82	1.55	42.82	1.55	-	t
11	-	-	36.05	1.15	36.05	1.15	-	t
12	-	-	31.7	1.11	31.7	1.11	-	t
13	-	-	29.19	0.94	29.19	0.94	-	t
14	-	-	29.1	0.89	29.1	0.89	-	t
15	-	-	25.75	0.86	25.75	0.86	-	t
16	-	-	25.43	0.86	25.43	0.86	-	t
17	-	-	25.26	0.81	25.26	0.81	-	t
18	-	-	24.54	0.75	24.54	0.75	-	t
19	-	-	22.94	0.69	22.94	0.69	-	t
20	-	-	21.63	0.68	21.63	0.68	-	t
21	-	-	20.22	0.66	20.22	0.66	-	t
22	-	-	18.86	0.58	18.86	0.58	-	t
23	-	-	15.47	0.54	15.47	0.54	-	t
X	8.52	0.49	38.53	1.20	47.05	1.69	18.10	st
Y	-	-	20.75	1.66	20.75	1.66	-	t

- LRp: Longitud Relativa del brazo corto
- LRq: Longitud Relativa del brazo largo
- DSp: Desviación estándar del brazo corto
- DSq: Desviación estándar del brazo largo
- IC: índice centromérico

En las Figuras 29 y 30 se puede observar el ideograma de ambos cariotipos convencionales, los cuales son representaciones esquemáticas de cada par cromosómico perteneciente al cariotipo, de igual forma, se puede apreciar que los autosomas metacéntricos son pequeños así como algunos telocéntricos.

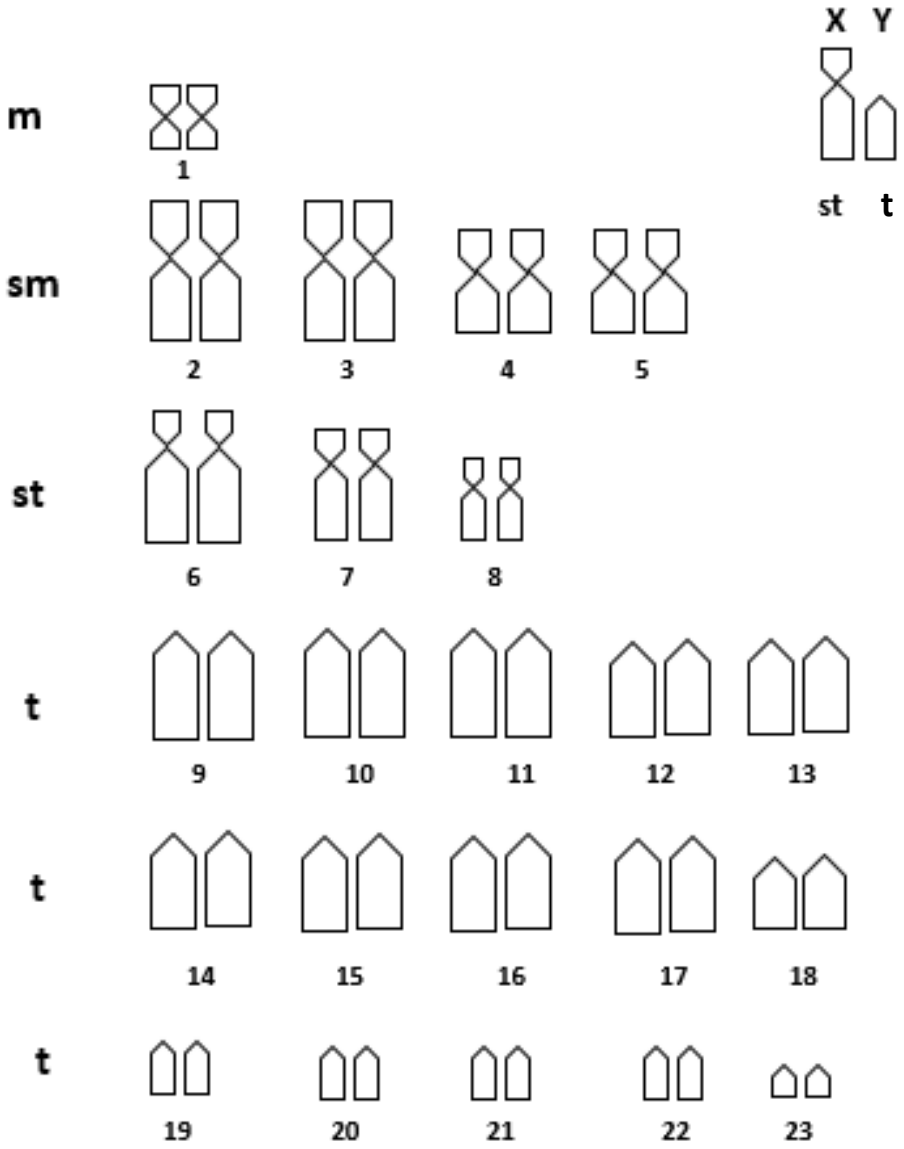

Figura 29. Ideograma del cariotipo de *Neotomodon alstoni* macho del Municipio de Tepatlaxco de Hidalgo, Puebla.

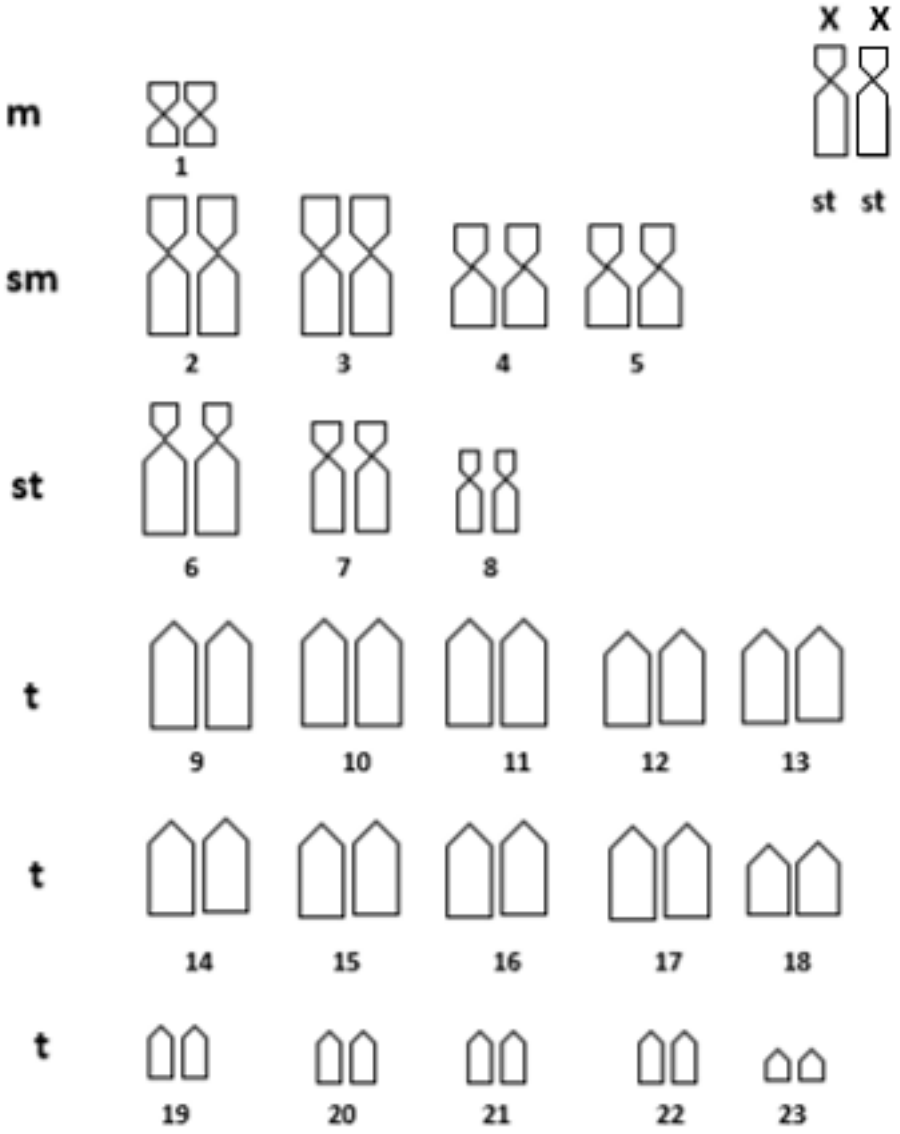

Figura 30. Ideograma del cariotipo de *Neotomodon alstoni* hembra del Municipio de Tepatlaxco de Hidalgo, Puebla.

DISCUSIÓN

Con los datos obtenidos se puede determinar que el cariotipo de *Neotomodon alstoni* de Tepatlaxco de Hidalgo, Puebla tiene un número cromosómico de 2n=48 y un NF=62, lo cual concuerda parcialmente con los datos reportados por Uribe *et al.* (1974), quien fuera el primero en estudiar la citogenética de nuestra especie de estudio, determinó un número cromosómico 2n=48 y un número fundamental NF=66, al igual que el trabajo de Yates *et al.* (1979) en el que se determinaron los mismos valores, dichos muestreos fueron realizados en la Ciudad de México, a diferencia del nuestro que se realizó en el Estado de Puebla.

En ambos trabajos mencionados anteriormente, se reportaron la existencia de 24 autosomas, de los cuales 15 pares son acrocéntricos y 8 son birrámeos, los cromosomas sexuales también son considerados como birrámeos, nuestros resultados arrojaron los mismos datos.

Además, coinciden en la obtención de un par considerado como metacéntrico y 15 considerados telocéntricos, sin embargo, difieren en el número de pares considerados como submetacéntricos y subtelocéntricos, obteniendo en el trabajo de Uribe *et al.* (1974) tres sm y cuatro st, mientras que en nuestro trabajo se obtuvieron cuatro sm y tres st; por otra parte, los gonosomas difieren al ser reportados en el presente estudio como st el cromosoma X y el cromosoma Y como t, mientras que en los estudios de Yates *et al.* (1979) y Uribe *et al.* (1974) el cromosoma X es sm y el Y es st (Tabla 6).

Todo esto demuestra que la diferencias en los sitios de muestreo, a pesar de ser la misma especie, puede causar cambios en las constantes cromosómicas. Los diferentes tipos de vegetación, el clima, ciertas barreras como lo son montañas, lagos, ríos, etc., pueden ser algunos factores que difieran de un sitio a otro y den variabilidad genética a los sujetos de estudio (Gobierno de Canarias, 2019).

Es en el trabajo de Rogers *et al.* (1984) que se mencionan asociaciones cladísticas de *P.* (*Neotomodon) alstoni* (nombrado así ya que se incluía a este especie como una más del género *Peromyscus*) con *Peromyscus lepturus,* en dicho estudio se obtuvieron los cariotipos de diversas especies pertenecientes al género

Peromyscus, y se pudo determinar que existen inversiones en los cromosomas 2, 3, 7 y 9 que comparten ambas especies, esto da una idea de las alteraciones cromosómicas que pueden ocurrir en el cariotipo de *Neotomodon alstoni*, además de los cromosomas 5, 10 y 15 que poseen inversiones consideradas ancestrales ya que se encuentran en muchas otras especies del género.

Las primeras inversiones mencionadas (2, 3, 7 y 9) representan una etapa importante en la evolución del cariotipo de las especies que las poseen y fueron determinadas en *N. alstoni* por homología de bandas G con otras especies del género, posteriormente se llegó a considerar a *Neotomodon* como congénere. Por lo tanto, se considera que *N. alstoni* puede estar derivado de una especie ancestral que comparte junto con otras especies como *Peromyscus floridanus*, *Peromyscus lepturus*, entre otros.

Tabla 6. Comparación de análisis cromosómico de *Neotomodon alstoni* proveniente de diferentes localidades.

Especie	Localidad	2n	NF	m	sm	st	t	X	Y	Autor
Neotomodon alstoni	Distrito Federal (Cdmx), México	48	66	1	3	4	15	sm	st	Uribe *et al.* (1974)
	Distrito Federal (Cdmx), México	48	66	1	3	4	15	sm	st	Yates *et al.* (1979)
	Tepatlaxco de Hidalgo, Puebla, México.	48	62	1	4	3	15	st	t	Presente estudio (2021)

Baker y Mascarello (1969) consideran que es necesario el estudio de múltiples grupos para conocer las tendencias en la evolución cromosómica de los mamíferos, en su trabajo se determina que el género más estudiado es *Peromyscus* el cual tiene un número diploide de 48 en la mayoría de los casos, sin embargo existe variación más comúnmente en el NF, el cual puede ir de 56 a 96.

Por su parte, *Neotomodon alstoni* posee el mismo número diploide (48), no obstante, su NF varía como lo hemos visto en los ejemplos anteriormente mencionados.

Se ha sugerido que el cariotipo primitivo de los cricétidos (roedores pertenecientes a la familia Cricetidae, como es el caso de *Neotomodon alstoni* y el género *Peromyscus*) poseía un número diploide que variaba entre 48 y 50 cromosomas telocéntricos (Baker y Mascarello, 1969), por lo tanto, aquellos cricétidos cuyo número diploide y NF sea diferente al mencionado pueden considerarse especies evolucionadas cromosómicamente hablando, y se cree que la mayoría de las alteraciones cromosómicas que han sufrido ambos géneros pueden ser inversiones pericéntricas.

En el mundo de la citogenética se considera más viable que un cromosoma telocéntrico pierda su centrómero, se fusione con otro cromosoma telocéntrico y formen así un cromosoma metacéntrico, a que un cromosoma metacéntrico se fisione y forme dos telocéntricos, en este caso sería necesaria la obtención de un nuevo centrómero, lo cual es una tarea más difícil para el organismo (Baker y Mascarello, 1969). Por lo tanto en trabajos como el de Hsu y Arrighi (1968) se considera que los cariotipos que poseen una mayor cantidad de cromosomas telocéntricos son cariotipos más primitivos.

Dada la premisa anterior, podríamos considerar a *Neotomodon alstoni* proveniente de Tepatlaxco de Hidalgo, Puebla como una especie con un cariotipo menos primitivo que el de los dos estudios previos sobre *Neotomodon alstoni* provenientes de Ciudad de México, ya que se determinó que posee más autosomas submetacéntricos que subtelocéntricos, a pesar de tener los gonosomas como subtelocéntrico y telocéntrico, lo cual podría ser, como ya se mencionó anteriormente, resultado de inversiones pericéntricas.

Neotomodon alstoni también ha sido emparentado con el género *Neotoma*, sin embargo, la razón de este parentesco se debe a la morfología cromosómica que comparten más que por similitudes entre sus números diploides o fundamentales, ya que difieren mucho los de ambos géneros (Engstorm y Bickham, 1983).

Es en este mismo estudio Engstorm y Bickham (1983) mencionan que diversas especies que, en dicho tiempo, eran consideradas dentro del género *Peromyscus*, tales como *Baiomys, Neotomodon, Onychomys,* entre otras, a pesar de tener variaciones considerables en el número fundamental, poseen patrones de bandas G altamente conservados, sin embargo, en el presente estudio esta información no pudo ser comprobada.

Con respecto a la información que se tiene de los cariotipos con bandeo cromosómico de *Neotomodon alstoni*, Yates *et al.* (1979) reportó heterocromatina centromérica para todos los autosomas en el caso del bandeo C, en el cromosoma X, también se pudo observar heterocromatina en el brazo más corto (p), aunque pudiese parecer que es una gran cantidad de heterocromatina en realidad no es así si se compara con otras especies de *Peromyscus*, lo cual algunos autores toman como marcador de cariotipos primitivos (Greenbaum y Baker, 1978), esta información, al igual que la dada anteriormente sobre el bandeo G de la especie debe ser confirmada en un estudio posterior.

Al realizar la investigación de este trabajo fue notable que la bibliografía enfocada al análisis del cariotipo de *Neotomodon alstoni* es muy escasa, siendo los únicos dos enfocados a esta especie los ya mencionados, esto hace difícil la comparación, sin embargo, el hecho de que esta especie esté tan emparentada filogenéticamente con *Peromyscus* hace fácil el poder observar inferencias que nos permitan dar un mejor sustento al análisis cromosómico.

CONCLUSIÓN

- El cariotipo convencional para *Neotomodon alstoni* del municipio de Tepatlaxco de Hidalgo, Puebla, México es un 2n=48 y un NF=62.
- La morfología cromosómica obtenida es de 1 par metacéntrico, 4 pares submetacéntricos, 3 pares subtelocéntricos y 15 pares telocéntricos. En cuanto a los cromosmas sexuales, el cromosoma X es subtelocéntrico y el cromosoma Y es telocéntrico.
- *Neotomodon alstoni* es una especie congénere de *Peromyscus*.
- El cariotipo de *Neotomodon alstoni* está evolucionando aún, sin embargo posee ciertas características por las cuales puede considerarse como primitivo a comparación de otras especies, (esta misma característica puede darnos la hipótesis de que ha sido una especie bien conservada, que no ha tenido que hacer modificaciones en su genoma para lograr a una adaptación como tendría que ser si hubieran alteraciones graves en su ecosistema.
- El hecho de que sea una especie con un cariotipo primitivo no significa que sea una especie primitiva en sí, ya que otras características bien desarrolladas de esta especie, como la docilidad, el fácil manejo, la fácil reproducción, entre otras, la convierten en una de las especies más utilizadas como modelo experimental en estudios de endocrinología, biología de la reproducción, etc.

PROPUESTAS

- ✓ Continuar con técnicas de bandeo C y G para *Neotomodon alstoni* de Tepatlaxco de Hidalgo, Puebla.

- ✓ Catalogar algunos cromosomas como marcadores para estudiar su homología en cariotipos de otras especies y así poder determinar más fácilmente inferencias filogenéticas.

- ✓ Realizar técnicas moleculares como la secuenciación del genoma para corroborar mutaciones genéticas.

- ✓ Determinar qué genes son altamente útiles específicamente de esta especie que la hacen un buen modelo experimental, a partir de PCR y electroforesis.

LITERATURA CITADA

Alemañ, M. 2016. Centro de Fertilidad Genética. Obtenido de https://cefegen.es/blog/partes-de-un-cromosoma-cuales-son

Alvarado, E. 2017. Cariotipo, alteraciones cromosómicas numéricas. Obtenido de https://docplayer.es/23761142-Cariotipo-alteraciones-cromosomicas-numericas-dra-elena-alvarado-leon-dpto-de-morfologia-humana-unt.html

Álvarez, S., y I. Castro. 2016. IUCN Red List. Obtenido de https://www.iucnredlist.org/species/14600/22345400#conservation-actions

Álvarez, T., y E. Mayo. 1993. Hábitos alimentarios de *Neotomodon alstoni.* Acta Zoológica Mexicana pp. 1-51.

Aragón, C. C., J. A. Llanos, I. Posso, I. Nieto, N. Perea, A. F. Ortiz, y G. J. Tobón. 2019. Papel de las proteínas de alta movilidad (HMGB1) en el lupus eritematoso sistémico. Revista Colombiana de Reumatología 27:37-45.

Baker, R. J., y J. T. Mascarello. 1969. Karyotypic analyses of the genus *Neotoma* (*Cricetidae, Rodentia*). Cytogenetic and Genome Research 8:187-198.

Ballesta, F., A. Carrió, y R. Oliva. 2004. Alteraciones cromosómicas. Consecuencias clínicas. Pp. 129-148 en Genética médica. Edicions Universitat Barcelona. Barcelona, España.

Batlle, M. 2020. Estos son los países más biodiversos del mundo. National Geographic. Obtenido de https://viajes.nationalgeographic.com.es/a/paises-mas-biodiversidad-mundo_15317

Bianchi, N. O., J. Paulette, y L. A. de Vidal. 1969. Complement with 38 chromosomes in two south American populations of *Rattus rattus.* Experientia 25:1111-1112.

Bradley, R., C. Edwards, D. Carroll, y C. Kilpatrick. 2004. Phylogenetic Relationships of Neotomine-Peromyscine Rodents: Based on DNA

Sequences from the Mitochondrial Cytochrome-b Gene. Journal of Mammalogy 85:389-395.

Bueno, M. L. 2011. Cromosomas, vehículos en la organización y transmisión de los carácteres. Acta Biol. Colombiana, 16:43-60.

Cáceres, J. F. 1989. Biblioteca Central Dr. Luis F. Leloir. Obtenido de https://bibliotecadigital.exactas.uba.ar/download/tesis/tesis_n2227_Caceres.pdf

Calvario, E. 2016. Variación cromosómica de *Choeronycteris mexicana* (Chiroptera: Phyllostomidae) de Santo Domingo Huehuetlán el Grande, Puebla. Puebla, PUE. Obtenido de http://benem-mt.iii.com/iii/cpro/DigitalItemPdfViewerPage.external?id=240349110429071 7&itemId=1005948&lang=spi&file=%2Fiii%2Fcpro%2Fapp%3Fid%3D24034 91104290717%26itemId%3D1005948%26lang%3Dspi%26nopassword%3D true%26service%3Dblob%26suite%3Ddef#locale=spi&g

Carleton, M. D. 1980. Phylogenetic relationships in Neotomine-Peromyscine rodents (Muroidea) and a reappraisal of the dichotomy within new world Cricetinae. Museum of Zoology, University of Michigan. Obtenido de https://deepblue.lib.umich.edu/bitstream/handle/2027.42/56401/MP157.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Carmona, V., C. Fuentes, A. Carmona, I. Aguilar, R. Cárdenas, y M. Miranda. 2012. Obesity alters circadian behavior and metabolism in sex dependent manner in the volcano mouse *Neotomodon alstoni*. Phisiology & Behavior pp. 727-733.

Castillo, E. 2005. Ratón de los volcanes. Obtenido de https://www.naturalista.mx/observations/851571

Ceballos, G. 1993. La extinción de especies. Revista Ciencias Número Especial 7:5-10.

Ceballos, G., y L. Galindo. 1984. Mamíferos silvestres de la cuenca de México. Ed. Limusa, México.

Ceballos, G., y D. Navarro. 1991. Diversidad y Conservación de mamíferos Mexicanos. Pp. 167-198 en Topics in Latin American mammalogy; history, biodiversity, and conservation (Mares, M. A. y Schmidly, D. J.). University of Oklahoma. Oklahoma, EE. UU.

Centro de Información de Enfermedades Genéticas y Raras (GARD). 2013. National Institutes of Health. Obtenido de https://rarediseases.info.nih.gov/files/preguntas-m%C3%A1s-frecuentes-sobre-los-trastornos-cromos%C3%B3micos.pdf

Chávez, T. C. B. 2005. Ratón de los volcanes: *Neotomodon alstoni*. Pp. 669-701 en G. Ceballos y G. Oliva, Los mamíferos silvestres de México.

Claros, M. G. 2011. Superenrrollamiento toroidal. Obtenido de http://www.biorom.uma.es/contenido/av_bma/apuntes/t3/toroidal.html

Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas. 2018. Gobierno de México. Obtenido de https://www.gob.mx/conanp/articulos/mexico-megadiverso-173682

CONABIO. 2008. Enciclovida. Obtenido de http://enciclovida.mx/especies/33483

CONABIO. 2018. Catálogo de autoridades taxonómicas de especies de la biota con distribución en México. Base de datos SNIB-Conabio, México

Cruzado, J. 2019. Ratón de los volcanes. Obtenido de https://www.naturalista.mx/observations/37571691

Curtis, H., N. S. Barnes, A. Schnek, y A. Massarini. 2008. Curtis, Biología. Editorial Médica Panamericana. Madrid, España.

Darlington, C. D. 1932. Recent advances in cytology. Nature, pp. 5-6

Davis, W. B., y L. A. Follansbee. 1945. The Mexican volcano mouse, *Neotomodon*. Journal of Mammalogy 26:401-413.

Declaración de Cancún. 2002. Declaración de Cancún de países megadiversos afines. Obtenido de http://www.uasb.edu.ec/UserFiles/369/File/PDF/CentrodeReferencia/Temasdeanalisis2/derechoaunambientesano/documentos/declaraciondecancun.pdf

Delgado-Echeverría, I. 2007. El descubrimiento de los cromosomas sexuales: Un hito en la historia de la biología. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Madrid, España.

Dinulos, M. B. 1997. Clinical Cytogenetics. Obtenido de http://www3.uah.es/biomodel/citogene/horwitz/cytogen3.htm

Drets, M. E. 2002. Una saga citogenética: El descubrimiento de los métodos de bandeo cromosómico. Significado y proyección biomédica. Revista Médica Uruguay 18:107-121.

Engstorm, M. D., y J. W. Bickham. 1983. Karyotype of *Nelsonia neotomdon*, with notes on the primitive karyotype of *Peromyscine* rodents. Journal of Mammalogy 64:685-688.

Esparza, E., A. Cárdenas, J. C. Huicochea, y M. A. Aráujo. 2017. Cromosomas, cromosomopatías y su diagnóstico. Revista Mexicana de Pediatría 84:30-39.

Espinosa, D. C., D. Guerrero, y O. Fernández. 2013. Aberración cromosómica balanceada. A propósito de un caso. Obtenido de https://www.medigraphic.com/pdfs/multimed/mul-2013/mul134m.pdf

Eynard, A. R., M. A. Valentich, y R. A. Rovasio. 2008. Histología y embriología del ser humano: bases celulares y moleculares. Médica Panamericana. Buenos Aires, Argentina.

Genetic Alliance; The New York-Mid-Atlantic consortium for genetic and newborn screening services. 2009. NCBI. Obtenido de https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK132208/

Giovambattista, G., y P. Peral. 2010. Genética de animales domésticos. Inter-Médica. Buenos Aires, Argentina.

Gobierno de Canarias. 2019. Biología y Geología 4. Obtenido de http://www3.gobiernodecanarias.org/medusa/ecoblog/mafogonl/files/2019/10/89094650-b-y-g-4o.pdf

Gobierno Municipal de Tepatlaxco de Hidalgo. 2018. Tepatlaxco de Hidalgo. Obtenido de http://tepatlaxcodehidalgo.puebla.gob.mx/

Granados, H., J. Luis, A. Carmona, G. Espinosa, y T. Arenas. 1996. Comportamiento agresivo del macho del ratón de los volcanes *Neotomodon alstoni.* Rev. Biol. Trop*. 44*:861-865.

Greenbaum, I. F., y R. J. Baker. 1978. Determination of the primitive karyotype for *Peromyscus.* Journal of Mammalogy. 59:820-834.

Guapi, V. H., G. J. De la Cruz, y S. P. Mera. 2018. Translocación rob(13;15)(q10;q10): a propósito de un caso. Universitas Médica*, 59*(2).

Guillazo, G., D. A. Redolar, M. Torras, A. Vale, y C. Soriano. 2007. Fundamentos de Neurociencia. Editorial UOC.

Hernández, J. M., N. C., Gutiérrez, M. B., González, y J. L., García. 2002. Técnicas de estudio cromosómico. Citogenética convencional, hibridación in situ fluorescente y sus variedades. Aplicaciones clínicas. Medicine 8:4392-4397.

Herrera, J. C. 2007. La citogenética molecular y su aplicación en el estudio de los genomas vegetales. Agronomía Colombiana 25:26-35.

Hock, R., T. Furusawa, T. Ueda, y M. Bustin. 2007. HMG chromosomal proteins in development and disease. Trends in Cell Biology 17:72-79.

Hsu, T. C., y F. E. Arrighi. 1968. Chromosomes of *Peromyscus (Rodentia, Cricetidae)*. Cytogenetic and Genome Research 7:417-446.

Hungerford, D. A., y P. C. Nowell. 1963. Sex chromosome polymorphism and the normal karyotype in three strains of the laboratory rat. Journal of morphology 113:275-285.

IBERDROLA. 2019. Países megadiversos. Obtenido de https://www.iberdrola.com/medio-ambiente/paises-megadiversos#:~:text=El%20Centro%20de%20Seguimiento%20de,%2C%20India%2C%20Indonesia%2C%20Madagascar%2C

INAFED. 2019. INAFED. Obtenido de http://www.inafed.gob.mx/work/templates/enciclo/EMM21puebla/municipios/21163a.html

INEGI. 2009. Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos, Tepatlaxco de Hidalgo, Puebla. Obtenido de http://www3.inegi.org.mx/contenidos/app/mexicocifras/datos_geograficos/21/21163.pdf

Jhon, H. A., M. L. Birnstiel, y K. W. Jones. 1969. RNA-DNA Hybrids at the Cytological Level. Nature 223:582-587.

Lacadena, J. R. 1996. Citogenética. Editorial Complutense. Madrid, España.

Llorente, J., y S. Ocegueda. 2008. Estado del conocimiento de la biota. Pp. 283-322 en Capital natural de México, vol. I: Conocimiento actual de la biodiversidad. CONABIO, México.

Luis, J., L. Ramírez, A. Carmona, G. Ortíz, J. Delgado, y R. Cárdenas. 2009. Paternal . Pp. 283-322 en Capital natural de México, vol. I: Conocimiento actual de la biodiversidad. CONABIO, México.

Makino, S. 1942. Studies on the Murine Chromosomes: II. Morphological comparison of the chromosomes between the wild form and the domesticated variety of *Rattus norvegicus Berkenhout*. Hokkaido University collection of Scholarly and Academic Papers 8:31-34.

Mattei, M. G., y J. Luciani. 2003. Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology. Obtenido de http://atlasgeneticsoncology.org/Educ/HeterochromID30058SS.html

Megías, M., P. Molist, y M. Á. Pombal. 2019. The cell: more information, chromosomes. En Atlas of Plant and Animal Histology. Obtenido de https://mmegias.webs.uvigo.es/02-english/5-celulas/ampliaciones/8-cromosomas.php

Merriam, C. H. 1898. A new genus (*Neotomodon*) and three new species of murine rodents from the mountains of southern Mexico. Proceedings of the biological society of Washington 12:127-129.

Miranda, M., M. Pérez, C. R. Juárez, y A. Carmona. 2018. The volcano mouse Neotomodon alstoni of central Mexico, a biological model in the study of breeding, obesity, and circadian rhythms. General and Comparative Endocrinology, pp. 1-6.

Moreno, M. 2015. Universidad Complutense de Madrid. Obtenido de https://eprints.ucm.es/54631/1/5331023900.pdf

Museo de Historia Natural. 2017. ¿Qué es la mastozoología?. Obtenido de https://museohn.unmsm.edu.pe/mastozoologia.html

Nadler, C. F. 1969. Comparative mammalian cytogenetics. Springer Verlag, pp. 277-309.

Oliva, R., F. Ballesta, J. Oriola, y J. Clária. 2004. Genética Médica. Publicacions I Edicions de la Universitat de Barcelona. Barcelona, España.

Painter, T. S. 1921. The Y chromosome of men. Science 53:503-504.

Passarge, E. 2009. Cromosomas. Editorial Médica Panamericana S. A. de C. V. Pp. 180, en E. Passarge, Color Atlas of Genetics. New York, EE. UU.

Pérez, M. A., H. Macías, A. Acosta, A. M. Pasapera, R. Fierro, A. Ulloa, y R. Gutiérrez. 2009. Molecular cloning and functional analysis of the FSH

receptor gene promoter from the volcano mouse (*Neotomodon alstoni alstoni*). Endocrine 37:98-105.

Piñero, D., J. Caballero, D. Cabrera, y C. Canteros. 2008. La diversidad genética como instrumento para la conservación y el aprovechamiento de la biodiversidad: estudios en especies mexicanas. En Conabio, capital natural de México, volumen I: Conocimiento actual de la biodiversidad. Comisión Nacional para el conocimiento y uso de la biodiversidad. CONABIO, México.

Poggio, L., y C. A., Naranjo. 2018. Capítulo V: Citogenética. Pp. 69-79 en Biotecnología y Mejoramiento Vegetal. Obtenido de https://www.researchgate.net/publication/324219124_II-Capitulo_5_Citogenetica

Procuraduría Federal de Protección al Medio Ambiente. 2020. Mamíferos en México. Obtenido de https://www.gob.mx/profepa/es/articulos/mamiferos-en-mexico-primera-parte?idiom=es

Raya, J. C. 2004. La estructura de la cromatina y la regulación de la transcripción. Acta Universitaria 14:59-66.

Rivas, E., P. Rojas, y A. Reyes. 2015. Inversión pericéntrica del cromosoma 1. Presentación de un caso. Rev. Finlay 5:285-288.

Robinson, T. J., y F. F. B. Elder. 1993. Cytogenetics: Its role in wildlife management and the genetic conservation of mammal. Biological conservation 63:47-51.

Rodríguez, R., y R. Portieles. 2003. Establecimiento de la técnica de Bandeo-C en clones silvestres del complejo Saccharum. Revista CENIC Ciencias Biológicas 34:137-140.

Rogers, D. S., I. F. Greenbaum, S. J. Gunn, y M. D. Engstrom. 1984. Cytosystematic value of chromosomal inversion data in the genus *Peromyscus* (*Rodentia:Cricetidae*). Journal of Mammalogy 65:457-465.

Rong, Y., C. Wakefield, y B. Broom. 2016. Ideogram Viewer Program distributed by the author. Department of Bioinformatics and Computational Biology, University of Texas, EE.UU.

Sánchez, M. A. y P. Venegas. 1996. Inversión paracéntrica en el brazo corto del cromosoma 1, en un paciente con problemas de obesidad y aprendizaje. Rev. Médica del Hospital Nacional de Niños Dr. Carlos Sáenz Herrera, pp. 5-7.

Schreck, R. R., y C. M. Disteche. 2001. Chromosome banding techniques. Pp. 4.2.1-4.2.36 en Current Protocols in Human Genetics (Dracopoli, N. C.). Jhon Wiley & Sons.

Scott, M. M. 2016. Eastern Michigan University, Digital Commons. Obtenido de https://commons.emich.edu/cgi/viewcontent.cgi?referer=https://scholar.google.com.mx/&httpsredir=1&article=2163&context=theses

Silva, C. T., N. C. Contreras, y D. J. Fonseca. 2008. Utilidad de la citogenética en la medicina actual. Educación y Práctica de Medicina 33:309-316

Sistema Nacional de Información Ambiental y de Recursos Naturales. 2018. Informe de Medio Ambiente, Obtenido de https://apps1.semarnat.gob.mx:8443/dgeia/informe18/tema/cap4.html

Solari, A. J. 2004. Genética humana: fundamentos y aplicaciones en medicina. Panamericana. Buenos Aires, Argentina.

Steinman, V. L., L. Arredondo, Y. Ramírez, S. Maza-Villalobos, R. A. Hernández, y A. Mastretta. 2019. La vegetación alpina mexicana. Editorial Impresora Apolo. Ciudad de México, México.

Thews, G., E. Mutschler, y P. Vaupel. 1983. Anatomía, fisiología y patofisiología del hombre. Manual para farmacéuticos y biólogos. Reverté. Barcelona, España.

Tijo, J. H., y A. Levan. 1956. The chromosome number of man. Hereditas Journey 42:1-6.

Tokyo Medical University. 2003. Tokyo Medical University: Gnetics Study Group. Obtenido de http://www.tokyo-med.ac.jp/genet/index-e.htm

Torriani, M. G. P., G. N. González, A. Y. Bravo, R. L. Maceira, y V. A. Tejeda. 2014. Reordenamientos cromosómicos estructurales balanceados en un caso de diagnóstico prenatal citogenético. Revista Cubana de Genética Comunitaria, pp. 28-31.

Uriarte, J. M. 2019. Núcleo celular. Obtenido de https://www.caracteristicas.co/nucleo-celular/

Uribe, M., A. Laguarda, J. Romero, J. Paulete, y S. S. Paulete. 1974. Cytogenetic analysis of *Neotomodon alstoni alstoni*. Cytologia 39:437-442.

Villalpando, I., H. Villafan, D. Aguayo, A. Zepeda, H. Espitia, y A. Chavez. 2000. Ultrastructure and motility of the caudal epididymis spermatozoa from the volcano mouse (*Neotomodon alstoni* Merriam, 1898). Journal of Experimental Zoology *287*:316-326.

Waldeyer, W. 1888. Uber Karyokineze ind ihre beziehung zu den befruch-tungsvörgangen. Arch Mikrosk Anat, pp. 1-122.

Yarza de la Torre, E. 2003. Los volcanes del sistema volcánico transversal. Investigaciones Geográficas 50:221-234.

Yates, T. L., R. J. Baker, y R. K. Barnett. 1979. Phylogenetic Analysis of Karyological Variation in Three Genera of *Peromyscine* Rodents. Systematic Biology 28:40-48.

Yong, H. S. 1969. Karyotypes of Malayan rats (*Rodentia-Muridae*, genus *Rattus* Fischer). Chromosoma 27:245-267.

Yoshida, T. H., A. Nakamura, y T. Fukaya. 1965. The chromosome number of the black rat, Rattus rattus. Chromosoma 16:70-73.

Yunis, J. J., y O. Sanchez. 1973. G-Banding and chromosome structure. Chromosoma 44:15-23.

APÉNDICE

Solución hipotónica

- 0.075 M KCl

Se pesan 0.56 gr de KCl y se diluye en 100ml. De agua destilada.

Se puede utilizar máximo dos días si no está contaminada y se almacena en refrigeración.

Fijador Carnoy

Proporción 3:1

- 3: Metanol.
- 1: Ácido acético.

Debe ser preparado 30 minutos antes de ser utilizado, manteniéndolo en el congelador.

Giemsa para tinción convencional

- Solución amortiguadora:
- 10M NaH_2PO_4

Se pesan 0.69 gr y se diluye en 50 ml. De agua destilada.

Solución A: Se utilizan 15ml.

- 10 M Na_2HPO_4 Se pesan 0.71gr del reactivo y se diluyen en 50ml. De agua destilada.

Solución B: Se utilizan 10ml.

Esta solución se puede mantener en refrigeración a 4˚C, hasta que no se observe contaminada.

- Solución concentrada de Giemsa (Microlab) 1ml.
- Solución amortiguadora (pH 6.5-6.8) 2ml.
- Agua destilada 47 ml.

➢ ÍNDICE DE FIGURAS

- **Figura 1:** Morfología de un cromosoma.
- **Figura 2:** Estructura de un nucleosoma formado por los distintos tipos de ADN y las proteínas histónicas.
- **Figura 3:** Estructuras que conforman un cromosoma desde una molécula de ADN.
- **Figura 4:** Clasificación de los cromosomas.
- **Figura 5:** Ejemplo de un bandeo cromosómico C, se puede notar la tinción principalmente en los centrómeros.
- **Figura 6:** Ejemplo de bandeo cromosómico G.
- **Figura 7:** Ejemplo de inversión pericéntrica en la cual, el fragmento 3 y el fragmento 4 realizan un giro de 180° para después reintegrarse en el cromosoma, abarcando el centrómero.
- **Figura 8:** Ejemplo de inversión paracéntrica en la cual, el fragmento 5 y el fragmento 6 realizan un giro de 180° para después reintegrarse en el cromosoma, sin abarcar el centrómero.
- **Figura 9:** Ejemplo de translocación recíproca en el cual el fragmento 7 es intercambiado por el fragmento B, ambos pertenecientes a cromosomas no homólogos.
- **Figura 10:** Ejemplo de translocación no recíproca o Robertsoniana, en el cual se da la pérdida de los fragmentos R, que suponen regiones muy pequeñas de ADN y, de esta forma, los cromosomas acrocéntricos pasan a unirse para ser uno solo.
- **Figura 11:** Ejemplo de inserción, en el cual el fragmento 5 pasa de un cromosoma a otro no homólogo, existen 3 puntos de ruptura: la ruptura del fragmento 5 con el 4, la ruptura del fragmento 5 con el 6 y la ruptura, en el otro cromosoma del sitio donde se va a insertar el nuevo fragmento.
- **Figura 12:** Ejemplo de duplicación en el que el fragmento 5 de un cromosoma es copiado e insertado de nuevo en su cromosoma homólogo.
- **Figura 13:** Ejemplo de deleción terminal en el que el fragmento 1 es eliminado, existiendo un solo punto de ruptura.

- **Figura 14:** Ejemplo de deleción intersticial en el que el fragmento 5 es eliminado, existiendo dos puntos de ruptura: la separación de dicho fragmento con los fragmentos 4 y 6.
- **Figura 15:** Ejemplo de isocromosomas en el que el cromosoma es separado transversalmente, de esta forma, tanto los brazos largos como los cortos se unen entre sí dando origen a dos cromosomas diferentes.
- **Figura 16:** Ejemplo de cromosoma dicéntrico, en el cual dos cromosomas se fusionan dando pasó a uno solo con dos centrómeros.
- **Figura 17:** Ejemplo de cromosoma en anillo o anular, en este caso se pierden los extremos formados por los fragmentos 1 y 4, posteriormente se fusionan los extremos de los fragmentos restantes 2 y 3, dando una forma de anillo.
- **Figura 18:** *N. alstoni* fotografiado desde un costado y desde arriba, se puede notar en estas imágenes la cola corta, el pelaje y las características de las orejas.
- **Figura 19:** Distribución de la especie en el centro del país, México.
- **Figura 20:** Cromosomas de *N. alstoni*.
- **Figura 21:** Mapa de Tepatlaxco de Hidalgo, Puebla. Aquí podemos observar las diferentes localidades que comprende el municipio. El sitio de muestreo fue en la localidad de Pilactitla (Obtenido de INEGI, 2009).
- **Figura 22:** Distancia del municipio de Tepatlaxco de Hidalgo al punto de recolección específica con coordenadas Latitud: 19.194339, Longitud: -98.001674, el cual se encontró a 12.35 km (Obtenido de satellites.pro)
- **Figura 23:** Fotografías del lugar donde se realizó el muestreo. Obtención propia.
- **Figura 24:** Fotografía de un ejemplar macho en el laboratorio dentro de una bolsa de plástico para identificarle y posteriormente inyectarle colchicina para empezar el proceso de obtención de médula ósea. Obtención propia.
-
- **Figura 25:** Fotografía del proceso de obtención de médula a partir del hueso femoral en el laboratorio. Obtención propia.
- **Figura 26:** Cariotipo de *N. alstoni* de Tepatlaxco de Hidalgo, Puebla.

- **Figura 27:** Cariotipo convencional de *Neotomodon alstoni* macho de la localidad de Tepatlaxco de Hidalgo, Puebla.
- **Figura 28:** Cariotipo convencional de *Neotomodon alstoni* hembra de la localidad de Tepatlaxco de Hidalgo, Puebla.
- **Figura 29:** Ideograma del cariotipo de *Neotomodon alstoni* macho del Municipio de Tepatlaxco de Hidalgo, Puebla.
- **Figura 30:** Ideograma del cariotipo de *Neotomodon alstoni* hembra del Municipio de Tepatlaxco de Hidalgo, Puebla.

➢ ÍNDICE DE TABLAS

- **Tabla 1:** Lista enumerada de los países que conforman el grupo de Países Megadiversos Afines.
- **Tabla 2:** Especies de mamíferos enlistadas por estados pertenecientes a la República Mexicana.
- **Tabla 3:** Clasificación cromosómica.
- **Tabla 4:** Comparación de medidas generales entre machos y hembras de *N. alstoni.*
- **Tabla 5:** Clasificación del índice centromérico de *Neotomodon alstoni* de la localidad de Tepatlaxco de Hidalgo, Puebla.
- **Tabla 6:** Comparación de análisis cromosómico de *Neotomodon alstoni* proveniente de diferentes localidades.