



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ANÁLISIS CROMOSÓMICO DE *Peromyscus levipes*
(MERRIAM, 1898) DE SAN DIEGO METEPEC,
TLAXCALA

TESIS QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
LICENCIADO EN BIOLOGÍA

PRESENTA
RAYMUNDO ZEPEDA SIBAJA

DIRECTOR
DR. JESÚS MARTÍNEZ VÁZQUEZ

PUEBLA

ENERO, 2026



DEDICATORIA

A mi abuelo Pedro Raymundo Zepeda Zenón, por todas las enseñanzas que me dejaste, por el apoyo incondicional que siempre me brindaste, por los consejos oportunos y las risas compartidas en cada historia que contabas. Podría llenar páginas enteras recordando lo que hicimos juntos, pero lo resumo diciendo que fuiste el pilar principal durante gran parte de mi vida. Este camino lo inicié contigo a mi lado, y hoy te envío un abrazo hasta las estrellas.

A Iris de Paloma Solano Domínguez, por tu apoyo incondicional en todos los escenarios posibles. Sin ti, este logro no sería una realidad. Gracias por estar a mi lado y creer en mí incluso cuando yo mismo dudaba.

A mis padres Raymundo Zepeda Xochipa y Clara Luz Sibaja Matias, por su amor, apoyo, sacrificios, consejos y por el tiempo y las oportunidades que dedicaron a mi formación.

A la Sra. Teodora Domínguez Valerio, por acompañarme durante la carrera y abrirme las puertas de su familia y su hogar. Mi gratitud es infinita.

A la Sra. Verónica Domínguez Valerio, que a pesar de la distancia me ha brindado apoyo y me ha tratado como parte de su familia. Infinitas gracias.

A toda mi familia y amigos, por el respaldo constante que me han dado a lo largo de los años.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Jesús Martínez Vázquez, director del presente trabajo, por el apoyo, la paciencia, los consejos y la confianza brindados durante la realización de esta tesis.

A la M. en C. Rosa María González Monroy, por el apoyo y confianza otorgados durante el desarrollo de este proyecto en el laboratorio de mastozoología.

A la Dra. Laura Torres Morales, por el apoyo, los consejos, los ánimos y la confianza que me brindó durante mi estancia en el laboratorio de mastozoología.

A la Biól. Judith Méndez Pació, por sus consejos y apoyo otorgados durante mi estancia en el laboratorio de mastozoología.

A mi familia, por todo el respaldo que me han dado a lo largo de mi vida y en especial durante mi formación universitaria.

A las familias Domínguez Valerio y Sánchez Salazar, por su invaluable apoyo durante mi carrera universitaria.

ÍNDICE

DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTOS	ii
ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS	iv
RESUMEN	v
1. INTRODUCCIÓN	1
1.2 Clasificación taxonómica de <i>Peromyscus levipes</i>	6
1.3 Descripción de la especie	7
1.4 Ecología de la especie	8
2. ANTECEDENTES	9
3. JUSTIFICACIÓN	12
4. OBJETIVOS	13
5. ÁREA DE ESTUDIO	14
6. MATERIALES Y MÉTODOS	16
6.1 Colecta de ejemplares	16
6.2 Tratamiento	16
6.3 Elaboración de laminillas	17
6.4 Construcción del cariotipo	18
6.5 Bando cromosómico G	19
7. RESULTADOS	21
7.1 Cariotipo convencional	21
7.2 Bando cromosómico G	25
7.3 Regionalización biogeográfica-cariotípica de <i>P. levipes</i>	28
8. DISCUSIÓN	31
9. CONCLUSIÓN	34
10. REFERENCIAS	35
11. ANEXO	42

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Provincias biogeográficas de México (Morrone <i>et al.</i> , 2019). 1) Californiana; 2) Baja California; 3) Sonora; 4) Desierto Chihuahuense; 5) Tamaulipas; 6) Península de Yucatán; 7) Sierra Madre Occidental; 8) Sierra Madre Oriental; 9) Faja Volcánica Transmexicana; 10) Cuenca del Balsas; 11) Sierra Madre del Sur; 12) Tierras bajas del Pacífico; 13) Veracruzana y 14) Tierras Altas de Chiapas.	5
Figura 2. <i>Peromyscus levipes</i> . Tomado de Bolaños (2015).....	8
Figura 3. Ubicación de San Diego Metepec, Tlaxcala.....	15
Figura 4. Cariotipo convencional de macho de <i>Peromyscus levipes</i> de San Diego Metepec, Tlaxcala.	22
Figura 5. Idiograma del cariotipo convencional de macho de <i>Peromyscus levipes</i> de San Diego Metepec, Tlaxcala.....	23
Figura 6. Bando cromosómico G de macho de <i>Peromyscus levipes</i> de San Diego Metepec, Tlaxcala.	26
Figura 7. Idiograma del bando cromosómico G de macho de <i>Peromyscus levipes</i> de San Diego Metepec, Tlaxcala.....	¡Error! Marcador no definido.
Figura 8. Distribución geográfica de los registros de número fundamental (NF) de <i>Peromyscus levipes</i> en México, representados dentro de las provincias biogeográficas definidas por Morrone (2019).	30

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Longitudes promedio y clasificación de los cromosomas de <i>Peromyscus levipes</i> en San Diego Metepec Tlaxcala.	24
Tabla 2. Comparación cromosómica entre poblaciones de <i>Peromyscus levipes</i> . .	28

RESUMEN

Peromyscus levipes es una especie endémica de México con gran relevancia ecológica y científica, utilizada como modelo en estudios de ecología, evolución y citogenética debido a su amplia distribución y variabilidad cariotípica. Los estudios citogenéticos realizados con el género *Peromyscus* han sido de gran importancia para la comprensión de la sistemática del género. Se capturó un ejemplar macho de *Peromyscus levipes* en San Diego Metepec, Tlaxcala, del cual se describió el cariotipo convencional y el patrón de bandeo cromosómico G, utilizando la técnica de extracción de médula ósea para la obtención del material celular. El análisis reveló un cariotipo con un $2n=48$ y $NF=56$, el cariotipo consta de 23 pares autosómicos que corresponden a un par metacéntrico pequeño, un par submetacéntrico pequeño, un par subtelocéntrico grande, dos pares subtelocéntricos medianos, 18 pares telocéntricos entre grandes y pequeños; el cromosoma sexual X fue subtelocéntrico mediano y el sexual Y fue submetacéntrico pequeño. El bandeo cromosómico G mostró entre una y 10 bandas oscuras en los pares autosómicos, el cromosoma X presentó siete bandas oscuras y el cromosoma Y una única banda oscura. El $NF=56$ obtenido en el presente estudio coincide con poblaciones previamente reportadas en Acambay (Ciudad de México), Cola de Caballo (Nuevo León) y Ocoyucan (Puebla). Al superponer la distribución de *P. levipes* con las provincias biogeográficas propuestas por Morrone (2019), su distribución abarca tres provincias biogeográficas las cuales son: La sierra madre oriental (SMO), El desierto chihuahuense (DSH) y La faja volcánica Transmexicana (FVT). La FVT y la SMO son las provincias biogeográficas con mayor diversidad en cuanto a número fundamental de *P. levipes*, con un rango de $NF=56-60$, sin embargo, la FVT concentra tres de los cuatro registros de poblaciones de *P. levipes* con un $NF=56$.

1. INTRODUCCIÓN

Los roedores constituyen el orden de mamíferos más abundante en el mundo. Sus características les confieren una gran capacidad de adaptación a diversos ecosistemas, lo que a su vez les otorga un papel fundamental en el desarrollo y estabilidad de los mismos (Hernández-Canchola y Colunga-Salas, 2022). Dentro de este grupo, el género *Peromyscus*, perteneciente a la familia Cricetidae, se distribuye ampliamente en América del Norte y América Central, desde el noroeste de Canadá hasta Panamá, siendo uno de los principales representantes de la familia (Chirhart *et al.*, 2005).

Los representantes del género *Peromyscus* presentan una notable adaptabilidad a distintos ecosistemas, que incluyen humedales a nivel del mar, playas, bosques y elevaciones montañosas de hasta 4300 m.s.n.m (Dewey y Dawson, 2001). Su corta vida, alta tasa evolutiva, elevada fecundidad, rápido crecimiento y dieta variada son características que resaltan su valor ecológico, por ello, los cambios que afectan a sus poblaciones repercuten directamente en el funcionamiento y equilibrio de los ecosistemas, lo que permite considerarlos como bioindicadores de perturbaciones ambientales (Kenney-Hunt *et al.*, 2014; Cobo-Simón *et al.*, 2019).

La dieta de *Peromyscus* es principalmente granívora, lo que los convierte en importantes dispersores de semillas capaces de influir en la demografía de numerosas especies vegetales (Hulme, 2002; MacSwiney *et al.*, 2012). Además, consumen otras estructuras vegetativas como frutos y hojas; los insectos pueden ser parte de su dieta (Gentry y Smith, 1968; Morales, 2010). También desempeñando un papel clave en la cadena trófica al ser una fuente de alimento esencial para diversas especies durante todo el año, como el tecolote moteado mexicano y el coyote (Márquez-Olivas, 2002; Bravo-Vinaja *et al.*, 2005; Martínez-Vázquez *et al.*, 2010).

Las características naturales de este género lo convierten en un modelo excelente para la investigación científica en diversas ramas de la biología, como la

ecología, la sistemática, la genética, la evolución y el comportamiento (Rojas-Rojas y Barboza-Rodríguez, 2007; Weber y Hoekstra, 2009; Tapia-Ramírez *et al.*, 2012; Bradley *et al.*, 2015; León-Tapia, 2021; León-Tapia *et al.*, 2022). Esto ha permitido acumular un vasto conocimiento sobre su historia natural (Bedford y Hoekstra, 2015). Su relevancia en la sistemática de los mamíferos ha llevado a compararlo con *Drosophila* como organismo modelo (Musser y Carleton, 1993; Dewey y Dawson, 2001).

Peromyscus es un género complejo, cuyas especies resultan difíciles de identificar y agrupar (Ramírez-Pulido *et al.*, 2001). Las primeras clasificaciones se basaron únicamente en caracteres morfológicos, pero con el avance científico se han incorporado nuevos métodos de análisis, entre los que destaca la citogenética. Esta disciplina estudia la estructura y función de los cromosomas mediante diversas técnicas de bandeo, lo que ha permitido una mejor comprensión de la sistemática del género (Ramírez-Pulido *et al.*, 2001).

Los cromosomas son estructuras donde se empaquetan el material genético, estos se forman en el núcleo celular durante la división y alcanzan su máxima condensación en la metafase mitótica. Están compuestos por dos cromátidas hermanas unidas por un centrómero, el cual divide al cromosoma en dos brazos: uno corto ("p") y uno largo ("q"); cada cromosoma posee un par homólogo (Alberts *et al.*, 2014). Levan *et al.*, (1964), clasifica los cromosomas según el tamaño de los brazos en telocéntricos, subtelocéntricos, submetacéntricos o metacéntricos.

El conjunto ordenado de cromosomas de una célula constituye un cariotipo. Para caracterizarlo se describen el número diploide ($2n$), que corresponde al número total de cromosomas; el número fundamental (NF), que es el total de brazos cromosómicos p y q de los autosomas, excluyendo el par sexual; y la morfología de los cromosomas sexuales. El ordenamiento del cariotipo se realiza agrupando los pares homólogos según la posición del centrómero y de mayor a menor longitud (Bueno, 2011).

El desarrollo de técnicas de bandeo cromosómico, que generan patrones únicos de regiones claras y oscuras en cada cromosoma, han permitido identificar

cambios estructurales en los mismos (Greenbaum y Baker, 1978; Álvarez-Castañeda y González-Ruiz, 2008). El bandeo cromosómico G es una de las técnicas de bandeo más utilizado en la citogenética para identificar cambios estructurales en los cromosomas, con esta técnica se visualiza un patrón de bandas claras y oscuras las cuales ayudan a la identificación de los cromosomas, ya que cada uno presenta un patrón de bandas específico (Huang y Chen, 2016). Las bandas claras son ricas en Guanina y Citosinas, en estas regiones el material genético se encuentra menos compacto y es en donde se encuentra una mayor cantidad de genes activos; Las bandas oscuras están compuestas principalmente de Adenina y Timina, en estas regiones el material genético se encuentra más compacto y presenta un menor número de genes activos (Huang y Chen, 2016).

Los cambios estructurales, conocidos como rearrreglos cromosómicos, pueden ser intracromosómicas (inversiones, deleciones, anillos, duplicaciones) o intercromosómicas (translocaciones, translocaciones robertsonianas, cromosomas di-céntricos; Nikoloff y Ruiz, 2021). En particular, las inversiones pericéntricas han demostrado tener importancia evolutiva (Committee for the Standardization of Chromosomes of *Peromyscus*, 1977; Rogers *et al.*, 1984; Nikoloff y Ruiz, 2021). Estos rearrreglos pueden modificar el número fundamental (NF) y, al compararse entre individuos de una misma especie o género, permiten inferir la dinámica evolutiva del cariotipo (Nirchio y Oliveira, 2014).

La gran diversificación de especies dentro de *Peromyscus* se refleja también en la variación de sus cariotipos (Álvarez-Castañeda y González-Ruiz, 2008), lo que responde a procesos de diferenciación cromosómica asociados a la evolución del grupo. México alberga aproximadamente 56 especies de este género, con una elevada densidad y un notable número de endemismos (Aguilar, 2000; Ramírez-Pulido *et al.*, 2001). Para comprender mejor esta diversidad, resulta importante considerar el contexto biogeográfico.

La propuesta de Morrone *et al.* (2002) sobre las 14 provincias biogeográficas de México (Figura 1) ha sido clave para entender la distribución y diferenciación de la biota nacional. Estas provincias fueron delimitadas con base en criterios

faunísticos y florísticos, y representan unidades históricas con identidad ecológica y evolutiva propia (Espinosa-Organista *et al.*, 2001; Morrone *et al.*, 2002).

El estado de Tlaxcala se encuentra dentro de la Faja Volcánica Transmexicana (FVT), una de las 14 provincias biogeográficas propuestas por Morrone (2019). Esta provincia atraviesa el centro del país desde Jalisco hasta Veracruz y se caracteriza por su compleja topografía, diversidad climática y elevada heterogeneidad ecológica, lo que la convierte en un área de alta riqueza biológica y endemismo (Espinosa-Organista *et al.*, 2001; Morrone *et al.*, 2002). Además, la FVT funciona como un corredor biogeográfico que conecta elementos neárticos y neotropicales, favoreciendo procesos de diferenciación genética y especiación en diversos grupos de vertebrados, incluidos los roedores (Morrone *et al.*, 2017; Morrone, 2019).

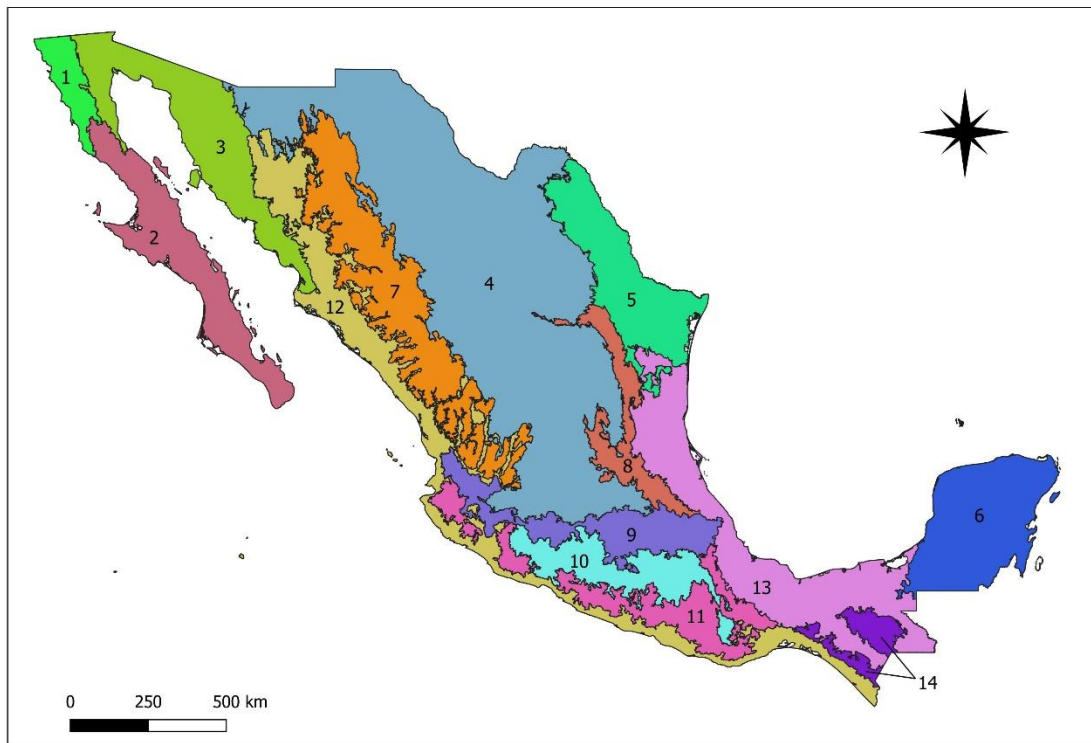


Figura 1. Provincias biogeográficas de México (Morrone *et al.*, 2019). 1) Californiana; 2) Baja California; 3) Sonora; 4) Desierto Chihuahuense; 5) Tamaulipas; 6) Península de Yucatán; 7) Sierra Madre Occidental; 8) Sierra Madre Oriental; 9) Faja Volcánica Transmexicana; 10) Cuenca del Balsas; 11) Sierra Madre del Sur; 12) Tierras bajas del Pacífico; 13) Veracruzana y 14) Tierras Altas de Chiapas.

1.2 Clasificación taxonómica de *Peromyscus levipes*

Reino

Animalia

Phylum

Chordata

Clase

Mammalia

Orden

Rodentia

Familia

Cricetidae

Género

Peromyscus

Especie

P. levipes (Merriam, 1898)

1.3 Descripción de la especie

Peromyscus levipes (Figura 2), conocido comúnmente como ratón de patas ágiles, presenta una morfología distintiva dentro del grupo *boylii*, con características que permiten su diferenciación mediante análisis craneométricos y cariotípicos (Álvarez-Castañeda y González-Ruiz, 2009). La coloración dorsal varía entre un beige ocráceo intenso y un tono leonado, con pelos oscuros que en ocasiones forman una franja negruzca difusa. Los flancos son de color leonado, con una transición no abrupta hacia la región ventral. Los anillos orbitales son negruzcos y se acentúan ligeramente hacia el área canosa entre los ojos y la base de las orejas. Las orejas son oscuras, con un borde blanco tenue, y presentan un mechón de pelo negruzco en la base anterior. La superficie ventral es blanca o blanco cremoso, y algunos individuos exhiben una mancha pectoral. El pelaje de las articulaciones del tarso también es blanco. La cola es bicolor: café oscuro en la parte superior y blanca en la inferior (Álvarez-Castañeda y González-Ruiz, 2009). En cuanto a medidas corporales, la longitud total de *P. levipes* varía entre 120 y 180 mm, con una longitud de cola de 91 a 115 mm, longitud de oreja de 19 a 22 mm, y longitud de la pata de 22 a 24 mm. El peso corporal oscila entre 18 y 30 g (Schmidly *et al.*, 1988; Álvarez-Castañeda y González-Ruiz, 2009).



Figura 2. *Peromyscus levipes*. Tomado de Bolaños (2015).

1.4 Ecología de la especie

Peromyscus levipes es una especie endémica de México cuya distribución abarca principalmente la Sierra Madre Oriental (SMO), parte de la FVT y áreas del Desierto Chihuahuense en las zonas de transición con estas dos provincias biogeográficas. Esta especie habita principalmente en zonas rocosas dentro de asociaciones de bosque mixto, bosque mesófilo de montaña, pastizales altos de zacatón y vegetación mixta, lo que refleja su capacidad de adaptación a distintos microhábitats en regiones montañosas (Álvarez-Castañeda y González-Ruiz, 2009). Es una especie nocturna y terrestre, con dieta omnívora basada en semillas, frutos e insectos, lo que le confiere un papel importante como dispersor de semillas y regulador de artrópodos. Sus densidades poblacionales pueden variar según el grado de perturbación del hábitat, alcanzando hasta 39 individuos/hectárea en sitios conservados (Romero-Almaraz *et al.*, 2004). Podemos considerarla una especie clave y sensible a la alteración del hábitat, con relevancia ecológica en los ecosistemas en los que se distribuye.

2. ANTECEDENTES

Peromyscus levipes fue descrito por Merriam, 1898. *P. levipes* se encuentra dentro del complejo de especies del grupo *boylli*. Las características de su cariotipo incluyen tres pares birrámeos grandes, dos pequeños y un polimorfismo cromosómico presente en los pares tres y seis (Houseal *et al.*, 1987; Smith, 1990).

Uno de los primeros registros del cariotipo de *P. levipes* (Lee *et al.*, 1972) se realizó a partir de cuatro ejemplares capturados en el estado de Michoacán. Estos individuos presentaron un $2n=48$ y un $NF=54$. Su cariotipo estaba compuesto por dos pares birrámeos grandes, dos pares birrámeos pequeños, 19 pares acrocéntricos, un cromosoma X subtelocéntrico largo y un cromosoma Y metacéntrico pequeño. En ese momento, la población estudiada difería de las demás especies del grupo *boylli* por presentar dos pares de cromosomas grandes birrámeos, en lugar de uno o tres.

Otro estudio revisó la variación cariotípica de *Peromyscus boyllii* en México (Schmidly y Schroeter, 1974). Ellos describieron cariotipos de *P. levipes* con un $NF=52$ en poblaciones de Oaxaca, Chiapas e Ixmiquilpan (Hidalgo). Las poblaciones de Río Galindo (Querétaro) y Michoacán presentaron un $NF=54$, como las descritas por Lee *et al.* (1972). Un intervalo de $NF=58-60$ se registró en poblaciones de Pinal de Amoles (Querétaro), Amealco (Querétaro) y Ciudad Valles (San Luis Potosí).

En una revisión de la distribución geográfica de la variación cariotípica entre poblaciones del grupo *boylli* en México, Houseal *et al.* (1987) presentaron inferencias taxonómicas basadas en datos cariotípicos, distribución geográfica y hábitats generales. Retomaron las descripciones previas de *P. levipes* (Lee *et al.*, 1972; Schmidly y Schroeter, 1974) y concluyeron que el rango del número fundamental de la especie según la literatura era $NF=52-60$. Realizaron colectas en las mismas localidades registradas por los autores anteriores y en otras nuevas, como Las Abritas (San Luis Potosí, $NF=58$), El Lobo (Querétaro, $NF=58$), Santa Inés (Querétaro, $NF=58$), Mexquititlán (Querétaro, $NF=60$), Tranca (Hidalgo, $NF=58$),

Zacualtipán (Hidalgo, NF=58–60), Zimapán (Hidalgo, NF=52), Jonacapa (Hidalgo, NF=52), Mineral del Monte (Hidalgo, NF=58), El Susto (Hidalgo, NF=58), Huauchinango (Puebla, NF=52–53), Chignahuapan (Puebla, NF=52–54 y 58), Cerro La Malinche (Tlaxcala, localidad tipo, NF=58), México–Querétaro (NF= 60), Volcán de Colima (Jalisco, NF=68), Los Azufres (Michoacán, NF=56), Pátzcuaro (Michoacán, NF=56), Dos Aguas (Michoacán, NF=65–68), Filo de Caballo (Guerrero, NF=49–54), Llano de las Flores (Oaxaca, NF=48–54) y Juquila (Oaxaca, NF=49–51). Los autores sugirieron que las poblaciones con un rango fijo de NF=52 pertenecen a *P. b. boylii* y *P. b. rowleyi*, y no a *P. levipes*. Asimismo, propusieron que las poblaciones de Michoacán descritas por Lee *et al.* (1972) con NF=54, identificadas como *P. levipes*, en realidad corresponden a otra especie no identificada en ese trabajo, hipótesis sustentada con comparaciones aloenzimáticas. Determinaron que las poblaciones con NF=48–54 pertenecen a *P. beatae*. Por su parte, *P. levipes* fue clasificado en el grupo III, con un rango NF=56–60 y con una fijación en NF=58–60. No se encontraron diferencias en las comparaciones aloenzimáticas y morfológicas entre las poblaciones con esos NF, además la localidad tipo (Cerro La Malinche, Tlaxcala) respalda la restricción del nombre *P. levipes* a las poblaciones dentro de este rango. Estos cariotipos se caracterizan por contar con tres pares autosómicos birrámeos grandes, uno de tamaño mediano y dos pequeños. Con base en ello, concluyeron que el taxón *P. levipes* incluiría poblaciones de Querétaro (El Lobo, Santa Inés, Pinal de Amoles, Amealco y Mexquititlán), Hidalgo (Tranca, Zacualtipán, Jonacapa, Mineral del Monte y El Susto), Tlaxcala (La Malinche), norte de Puebla (Chignahuapan) y Veracruz (Xalapa).

Smith (1990), realizó un análisis cladístico de las especies del grupo *boylii*. En él revisó cariotipos de poblaciones de *P. levipes* en Molango (Hidalgo), Cola de Caballo (Nuevo León), Teacalco (Tlaxcala) y Amealco (Querétaro), describiendo un rango de NF = 56–60.

Bradley *et al.* (2004) describieron individuos con NF=54–56 mediante secuenciación del gen mitocondrial citocromo-b y datos cariotípicos, proponiendo

una nueva especie denominada *P. schmidlyi*. También discutieron las relaciones filogenéticas del grupo *boylli* a partir de material de colecciones científicas. *P. levipes* presentó un NF=56 en Acambay (Ciudad de México), NF=58–60 en Amealco (Querétaro), NF=58–60 en Teacalco (Tlaxcala) y NF=56–60 en Cola de Caballo (Nuevo León).

Finalmente, Romero (2024) describió una población de *P. levipes* en Santiago Coltzingo, Ocoyucan (Puebla). Esta población presentó un $2n=48$ y un NF=56, con un cariotipo compuesto por un par metacéntrico pequeño, un par submetacéntrico pequeño, dos pares subtelocéntricos grandes, un par subtelocéntrico mediano y 18 pares telocéntricos de diferentes tamaños. El cromosoma X fue submetacéntrico grande, mientras que el Y correspondió a submetacéntrico pequeño.

3. JUSTIFICACIÓN

El género *Peromyscus* constituye un grupo excepcional para la investigación científica debido a su amplia diversidad, adaptabilidad ecológica y relevancia en la estabilidad de los ecosistemas donde habita. Dentro de este género, los estudios citogenéticos han demostrado ser una herramienta fundamental no solo para su clasificación sistemática, sino también para comprender los procesos de diferenciación y dinámica evolutiva que lo caracterizan.

El análisis citogenético de distintas poblaciones de *Peromyscus levipes* adquiere especial importancia, ya que permite identificar y comparar la variabilidad cariotípica existente entre ellas. Esta información puede resultar esencial para esclarecer relaciones evolutivas, delimitar taxones de manera más precisa y aportar evidencia sólida a los estudios de sistemática y biogeografía del grupo.

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GENERAL

- Describir el cariotipo de *Peromyscus levipes* de San Diego Metepec, Tlaxcala.

4.2 OBJETIVOS PARTICULARES

- Obtener la morfología de los autosomas y del par sexual de *Peromyscus levipes* de San Diego Metepec, Tlaxcala.
- Obtener el número diploide y fundamental de *Peromyscus levipes* de San Diego Metepec, Tlaxcala.
- Obtener el patrón de bandeo cromosómico G de *Peromyscus levipes* de San Diego Metepec, Tlaxcala.
- Comparación cromosómica del cariotipo de *Peromyscus levipes* de San Diego Metepec, Tlaxcala con trabajos cariotípicos previos de la misma especie.

5. ÁREA DE ESTUDIO

El municipio de Tlaxcala tiene una extensión territorial aproximada de 52.5 km², lo que representa el 1.3 % de la superficie total del estado y está conformado por 17 localidades (INEGI, 2010). Presenta un clima templado subhúmedo con lluvias en verano, una temperatura promedio anual de 16.9 °C y una precipitación media anual de 885.6 mm. La vegetación predominante corresponde a bosque de coníferas y pastizales (INEGI, 2010). En cuanto a su geología, predomina la roca ígnea extrusiva (73.50 %), mientras que los tipos de suelo más representativos son Cambisol (84.95 %) y Leptosol (13.93 %; INEGI, 2010).

San Diego Metepec es una localidad perteneciente al municipio de Tlaxcala, ubicada en la zona centro-sur del estado (Figura 3). Las coordenadas geográficas del municipio son 19° 19' 00" de latitud norte y 98° 14' 16" de longitud oeste, con una altitud media de 2228 m s. n. m. (INEGI, 2005). Limita al norte con los municipios de Totolac, Xaltocan, Amaxac de Guerrero y Apetatitlán de Antonio Carvajal; al este con Apetatitlán de Antonio Carvajal, Chiautempan, La Magdalena Tlaltelulco y Santa Isabel Xiloxotla; al sur con Santa Isabel Xiloxotla, Tepeyanco, San Jerónimo Zacualpan, Tetlatlahuca y San Damián Texoloc; y al oeste con San Damián Texoloc, Panotla y Totolac (INEGI, 2005).

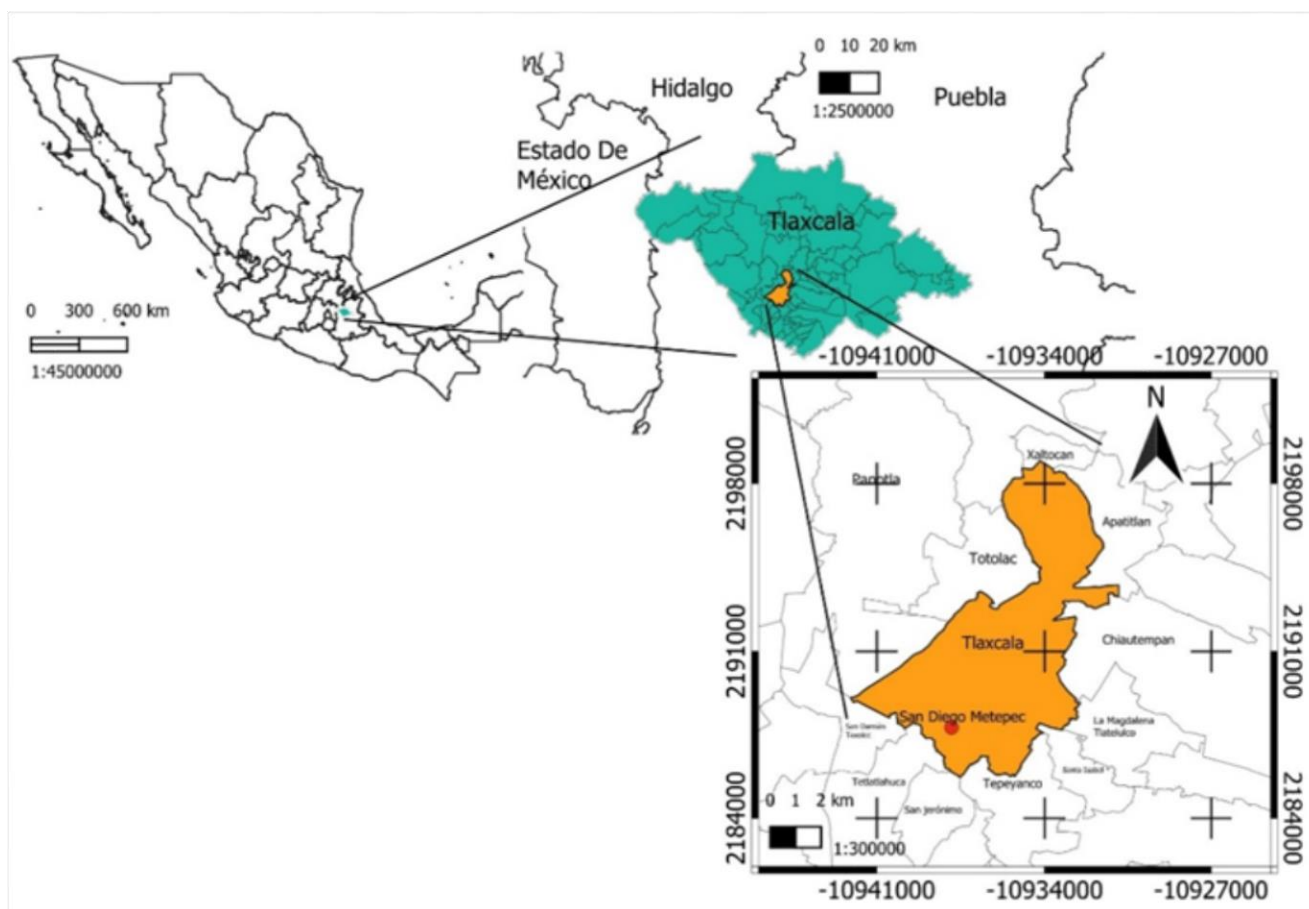


Figura 3. Ubicación de San Diego Metepec, Tlaxcala.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Colecta de ejemplares

La colecta de ejemplares se realizó en el municipio de San Diego Metepec, Tlaxcala, durante febrero de 2020. Para ello, se colocaron 30 trampas tipo Sherman, cada una cebada con una mezcla de hojuelas de avena y saborizante de vainilla. Las trampas fueron instaladas poco antes de anochecer, en horario vespertino, siguiendo un transecto con una separación de 10 metros entre cada unidad, y se retiraron al amanecer del día siguiente.

Tras verificar la captura del organismo, se procedió al registro de los datos del sitio de muestreo, incluyendo localidad, coordenadas geográficas, altitud y fecha de colecta. Se logró la captura de un individuo macho, el cual fue trasladado vivo al Laboratorio de Mastozoología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP) para su procesamiento.

6.2 Tratamiento

El material celular fue obtenido mediante la técnica de extracción de médula ósea propuesta por Lee (1969) y posteriormente refinada por Baker y Qumsiyeh (1988).

Una vez en el laboratorio, se procedió a la caracterización sexual del organismo, el cual fue pesado utilizando un dinamómetro de la marca Pesola. Posteriormente, se le administró una inyección intraperitoneal de colchicina, en una dosis de 0.1 ml por cada 10 gramos de peso y se dejó actuar durante 30 minutos. Esta solución tiene como finalidad inhibir el huso mitótico y obtener células en metafase.

Transcurrido el tiempo, el organismo fue sacrificado mediante dislocación cervical. Se tomaron las medidas morfométricas convencionales en milímetros:

longitud total del cuerpo, longitud de la cola vertebral, longitud de la pata trasera y longitud de la oreja. Inmediatamente después, y sin exceder los cinco minutos posteriores al sacrificio, se extrajeron los fémures y las tibias. A estos se les retiró el tejido muscular y se cortaron las epífisis en el extremo proximal con tijeras.

La médula ósea fue extraída introduciendo la punta de una aguja de una jeringa con solución hipotónica de KCl 0.075 M en la cavidad medular, inyectando cuidadosamente para liberar el contenido en un tubo de centrífuga de 15 ml que contenía 7 ml de la misma solución. Esta solución hipotónica permite la entrada de agua a las células, provocando su hinchamiento y el aumento del volumen citoplasmático, lo que facilita que los cromosomas permanezcan en suspensión.

La muestra fue incubada a 37 °C durante 40 minutos. Posteriormente, se centrifugo a 800 rpm durante 8 minutos en una centrífuga de la marca Sorvat. Una vez finalizado el proceso, se extrajo el sobrenadante con una pipeta Pasteur y la muestra se resuspendió en fijador Carnoy (metanol-ácido acético en proporción 3:1), preparado con 30 minutos de anticipación. El fijador fue aplicado cuidadosamente por las paredes internas del tubo, evitando el contacto directo con el paquete celular. Finalmente, las muestras fueron refrigeradas.

El organismo colectado fue sometido a taxidermia científica, registrado en la base de datos correspondiente y depositado en la colección de mamíferos de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP).

6.3 Elaboración de laminillas

La elaboración de las laminillas se realizó siguiendo la técnica descrita por Baker *et al.* (1982) y Baker y Qumsiyeh (1988).

En primer lugar, los portaobjetos fueron lavados cuidadosamente, asegurando que presentaran una capa homogénea de agua al observarlos. Posteriormente, se colocaron en un frasco con alcohol al 96 %, previamente refrigerado. La muestra se retiró de la refrigeración y se centrifugó a 800 rpm durante

8 minutos. Mientras tanto, se preparó la solución fijadora de Carnoy, ya que debe utilizarse fresca.

Una vez centrifugada la muestra, se eliminó el sobrenadante y el sedimento celular se resuspendió cuidadosamente en la solución fijadora de Carnoy recién preparada. Con una pipeta Pasteur se tomaron tres gotas de la suspensión y se dejaron caer sobre portaobjetos inclinados a 45°, desde una altura aproximada de tres metros. Esta técnica permite la ruptura de las membranas celulares por impacto, generando campos mitóticos con cromosomas bien separados. Inmediatamente después, se aplicó calor con un cerillo, el cual se agitó para apagarlo, y el material celular se extendió con aire comprimido. Finalmente, las laminillas se dejaron secar a temperatura ambiente.

Cada laminilla fue etiquetada con la fecha de elaboración, número de laminilla y los datos del organismo correspondiente.

El proceso de tinción se llevó a cabo en un vaso Coplin, utilizando una solución de Giemsa compuesta por 48 ml de agua, 2 ml de buffer de fosfatos y 1 ml de colorante. Las laminillas se sumergieron durante 8 minutos, se enjuagaron con agua destilada y se dejaron secar a temperatura ambiente. Una vez secas, las laminillas se observaron al microscopio con los objetivos de 10X y 40X para seleccionar los campos mitóticos con cromosomas bien definidos y claramente separados; posteriormente, estos campos fueron analizados y fotografiados utilizando el objetivo de 100X.

6.4 Construcción del cariotipo

Los campos cromosómicos seleccionados fueron fotografiados con una cámara marca Jenotik integrada a un microscopio óptico marca Leica DM1000 LED. Las imágenes obtenidas se retocaron en el programa de edición Photopea, con el objetivo de resaltar los cromosomas sin alterar su morfología. Posteriormente, las imágenes fueron impresas en papel fotográfico y cada cromosoma fue recortado cuidadosamente, procurando no dañar su estructura. Los cromosomas se

emparejaron con sus homólogos considerando el tamaño de los brazos y la posición del centrómero, con lo cual se construyó el cariotipo de los organismos.

Se midieron los brazos cortos (p) y largos (q) de 10 cariotipos utilizando el programa ImageJ. A partir de estas mediciones se calculó la longitud promedio de los brazos p y q de cada par cromosómico. La clasificación se realizó siguiendo los criterios de Levan *et al.* (1964), mediante el cálculo del índice centromérico con la siguiente fórmula:

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

Donde:

IC= Índice centromérico

p= Longitud del brazo corto

q= Longitud del brazo largo

El armado final del cariotipo se efectuó ordenando cada par cromosómico de acuerdo con la posición del centrómero y de mayor a menor longitud. El número cromosómico (2n) se determinó contando el total de cromosomas, mientras que el número fundamental (NF) se estableció contabilizando el número total de brazos cromosómicos, excluyendo el par sexual. Finalmente, se elaboró un ideograma del cariotipo para su representación gráfica.

6.5 Bando cromosómico G

El bando cromosómico G se realizó siguiendo la técnica descrita por Grouchy y Turleau (1977) y Paton y Baker (1978). Para este procedimiento, las laminillas se dejaron envejecer entre 5 y 7 días. Posteriormente, se colocaron en una estufa de secado durante 16 horas a 65 °C, con el propósito de endurecer los cromosomas y obtener patrones de bando más definidos.

Una vez retiradas de la estufa y enfriadas a temperatura ambiente, las laminillas se trataron con tripsina al 0.025 % durante 3 minutos. Concluido este tiempo, se enjuagaron en solución amortiguadora de fosfato salino (PBS), sumergiéndolas y retirándolas rápidamente 10 veces en cada uno de dos vasos Coplin. A continuación, se colocaron en un vaso Coplin con buffer preparado para tinción Wright (buffer Sorensen con pH 6.8 y colorante Wright) durante 3 minutos. Sin enjuague intermedio, se transfirieron a otro vaso Coplin que contenía buffer para tinción Giemsa (buffer Sorensen con pH 6.8 y colorante Giemsa) durante 6 minutos. Finalmente, se enjuagaron una sola vez en agua destilada, se dejaron secar a temperatura ambiente y fueron observadas al microscopio óptico marca (), utilizando los objetivos de 10X, 40X y 100X.

Aquellos campos con un bandeo bien definido fueron seleccionados y fotografiados con el objetivo de 100X.

6.6 Regionalización biogeográfica-cariotípica de *P. levipes*

La regionalización de *Peromyscus levipes* se realizó superponiendo los registros de número fundamental (NF) de las poblaciones mencionados en el apartado de antecedentes y el descrito en el presente estudio con el esquema de provincias biogeográficas propuesto por Morrone (2019). Este autor plantea que México constituye una zona de transición biogeográfica, donde convergen elementos neárticos y neotropicales, y que puede dividirse en 14 provincias distribuidas en tres grandes regiones: Neártica, Neotropical y la Zona de Transición Mexicana. Esta última incluye áreas como la FVT, la SMO y el DCH, regiones que coinciden con la distribución conocida de *P. levipes* y que permiten contextualizar la variación cariotípica de la especie dentro de un marco biogeográfico más amplio.

7. RESULTADOS

7.1 Cariotipo convencional

Se capturo un ejemplar macho de *Peromyscus levipes* en San Diego Metepec, Tlaxcala. A partir de las muestras obtenidas se elaboraron 16 laminillas, en las cuales se localizaron 639 campos cromosómicos en metafase. De estos, se seleccionaron los mejores para la construcción del cariotipo convencional y para la aplicación de la técnica de bandeo cromosómico G.

Los análisis revelaron que *P. levipes* en San Diego Metepec, Tlaxcala, presenta un número diploide de $2n=48$ y un número fundamental de $NF=56$. Su cariotipo está conformado por 23 pares (Figura 4 y 5) autosómicos y un par sexual. Se construyeron 10 cariotipos convencionales de *P. levipes*, todos ellos provenientes de metafases obtenidas del mismo individuo. Cada cariotipo está compuesto por:

- 1 par metacéntrico pequeño.
- 1 par submetacéntrico pequeño.
- 1 par subtelocéntrico grande.
- 2 pares subtelocéntricos medianos.
- 18 pares telocéntricos, de tamaños que van de grandes a pequeños.

En cuanto a los cromosomas sexuales, el cromosoma X corresponde a subtelocéntrico mediano, mientras que el cromosoma Y fue submetacéntrico pequeño.

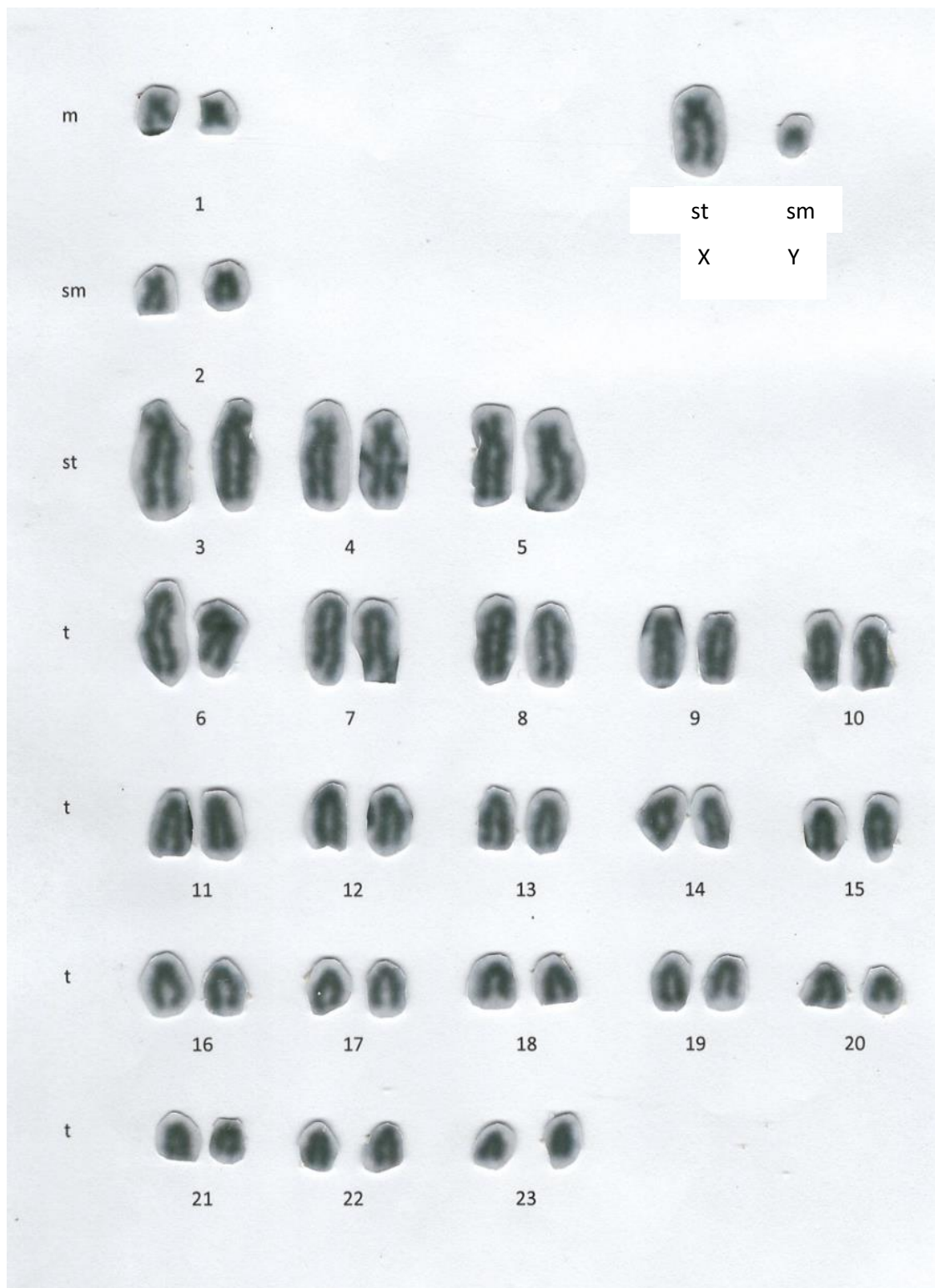


Figura 4. Cariotipo convencional de macho de *Peromyscus levipes* de San Diego Metepec, Tlaxcala.

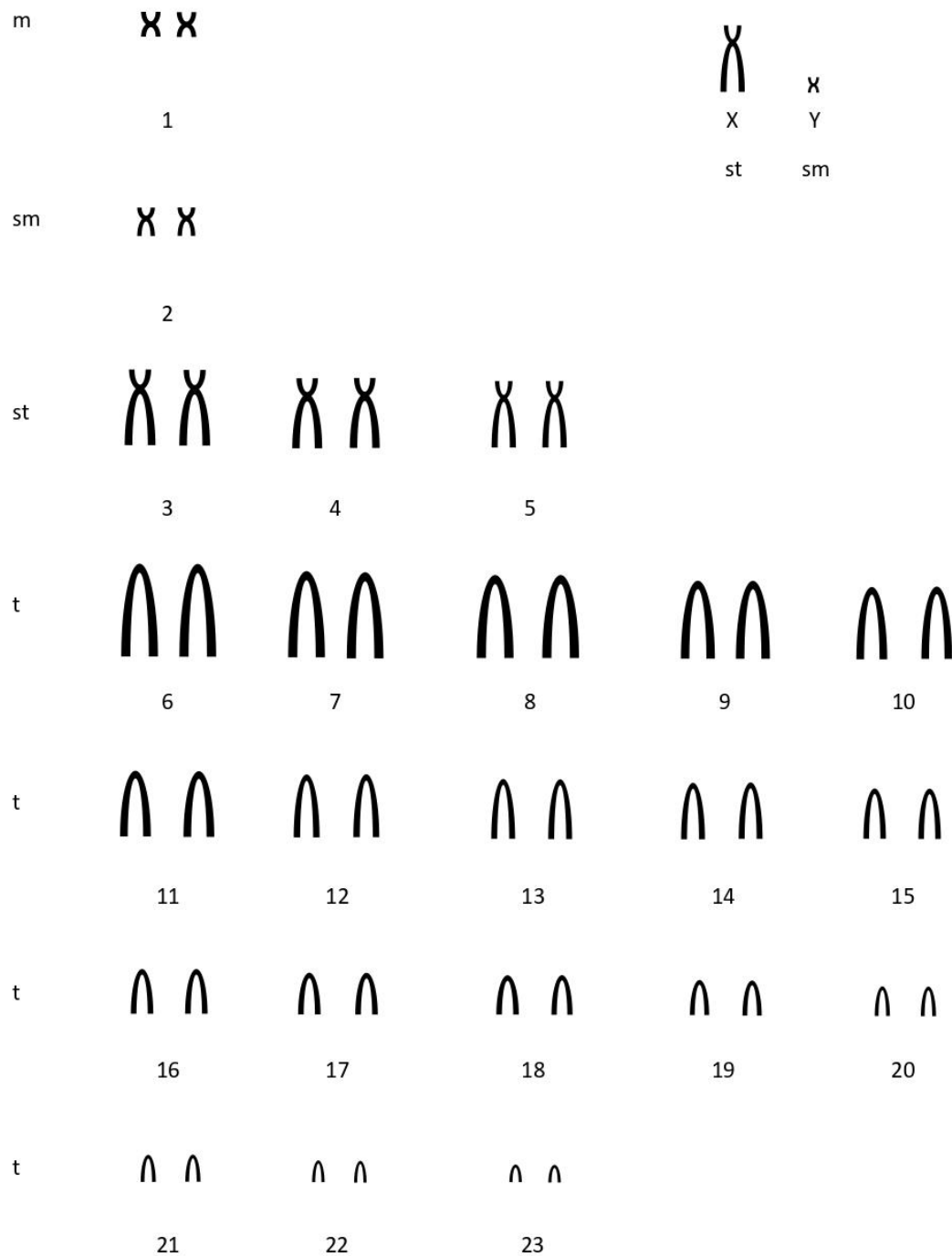


Figura 5. Idiograma del cariotipo convencional de macho de *Peromyscus levipes* de San Diego Metepec, Tlaxcala.

En la Tabla 1 se presentan las longitudes relativas de los cromosomas y su clasificación de acuerdo con los criterios propuestos por Levan *et al.* (1964).

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

Par cromosómico	LRp	DSp	LRq	DSq	LR p+q	DS p+q	IC	Clasificación Levan <i>et al.</i> (1964)
1	0.21	0.02	0.23	0.02	0.44	0.05	47.77	m
2	0.17	0.1	0.44	0.27	0.62	0.37	28.71	sm
3	0.32	0.05	1.5	0.32	1.82	0.34	17.67	st
4	0.26	0.08	1.08	0.22	1.34	0.25	19.54	st
5	0.19	0.04	0.86	0.27	1.06	0.3	18.43	st
6			1.29	0.21				t
7			1.11	0.14				t
8			1.03	0.14				t
9			0.94	0.13				t
10			0.88	0.13				t
11			0.78	0.08				t
12			0.74	0.08				t
13			0.68	0.05				t
14			0.65	0.05				t
15			0.62	0.07				t
16			0.58	0.06				t
17			0.53	0.06				t
18			0.52	0.06				t
19			0.49	0.06				t
20			0.46	0.05				t
21			0.43	0.04				t
22			0.4	0.06				t
23			0.33	0.05				t
X	0.2	0.03	0.82	0.18	1.02	0.2	19.46	st
Y	0.08	0.02	0.2	0.03	0.281	0.05	28.16	sm

7.2 Bandeo cromosómico G

Se analizaron mediante bandeo cromosómico G 10 cariotipos de *P. levipes*, todos ellos provenientes de metafases obtenidas del mismo individuo. En los autosomas birrámeos se observaron entre dos y 10 bandas oscuras, mientras que en los autosomas monorrámeos se visualizaron entre una y 10 bandas oscuras (Figura 6 y 7). El cromosoma X presentó siete bandas oscuras y el cromosoma Y mostró una sola banda oscura.

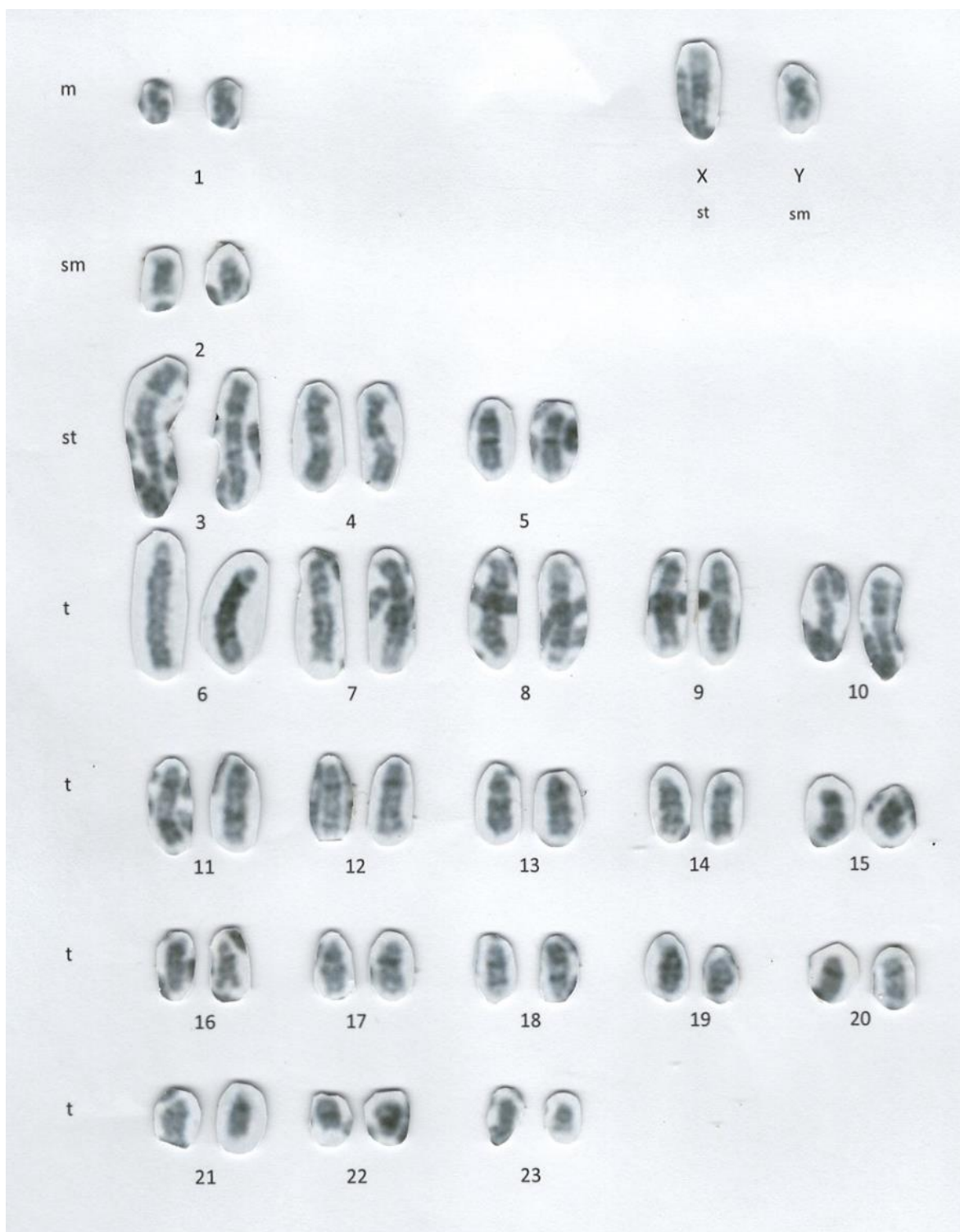


Figura 6. Bando cromosómico G de macho de *Peromyscus levipes* de San Diego Metepec, Tlaxcala.

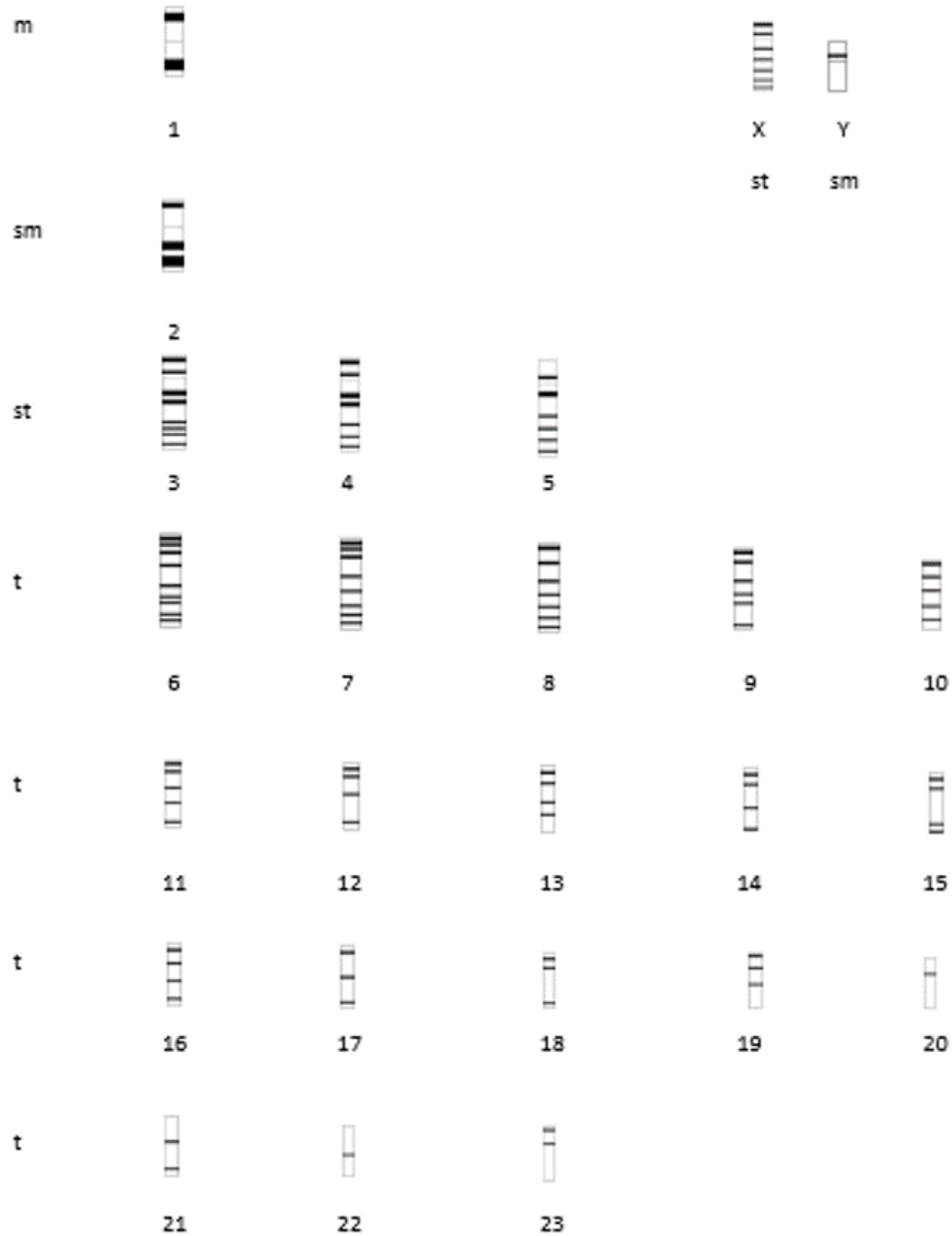


Figura 7. Idiograma del bandeo cromosómico G de macho de *Peromyscus levipes* de San Diego Metepec, Tlaxcala.

7.3 Regionalización biogeográfica-cariotípica de *P. levipes*.

En la tabla 2 se muestran los registros cariotípicos de *P. levipes*, incluyendo el descrito en el presente estudio.

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

Localidad	2n	NF	Nº de Pares de autosomas birrámeos	Nº de Pares de Autosomas monorrámeos	X	Y	Autores
Pinal de amoles (Querétaro)	48	58	6	17	st	sm	Schmidly y Schroeter (1974)
Amealco (Querétaro)	48	59, 60	7	16	st	sm	Schmidly y Schroeter (1974)
Ciudad valles (San Luis Potosí)	48	60	7	16	st	sm	Schmidly y Schroeter (1974)
Las Abritas (San Luis Potosí)	48	58	6	17	sm	sm	Houseal <i>et al.</i> (1987)
El Lobo (Querétaro)	48	58	6	17	sm	sm	Houseal <i>et al.</i> (1987)
Santa Inés (Querétaro)	48	58	6	17	st	sm	Houseal <i>et al.</i> (1987)
MexQUITILÁN (Querétaro)	48	60	7	16	sm	sm	Houseal <i>et al.</i> (1987)
Tranca (Hidalgo)	48	58	6	17	sm	sm	Houseal <i>et al.</i> (1987)
Zacualtipán (Hidalgo)	48	58,60	6-7	16-17	sm	sm	Houseal <i>et al.</i> (1987)
Jonacapa (Hidalgo)	48	60	7	16	sm	sm	Houseal <i>et al.</i> (1987)
Mineral del Monte (Hidalgo)	48	58	6	17	sm	sm	Houseal <i>et al.</i> (1987)
El Susto (Hidalgo)	48	58	6	17	sm	sm	Houseal <i>et al.</i> (1987)
Cerro la Malinche (Tlaxcala)	48	58	6	17	sm	sm	Houseal <i>et al.</i> (1987)

Chignahuapan (Puebla)	48	58	6	17	sm	sm	Houseal <i>et al.</i> (1987)
Xalapa (Veracruz)	48	60	7	16	sm	sm	Houseal <i>et al.</i> (1987)
Acambay (Ciudad de México)	48	56	5	18			Bradley <i>et al.</i> (2004)
Teacalco (Tlaxcala)	48	58-60	6-7	16-17			Bradley <i>et al.</i> (2004)
Cola de Caballo (Nuevo León)	48	56, 58, 60	5-6-7	16-17-18			Bradley <i>et al.</i> (2004)
Ocoyucan (Puebla)	48	56	5	18	sm	sm	Romero (2024)
San Diego Metepec (Tlaxcala)	48	56	5	18	st	sm	Presente estudio

Superponiendo la información de la tabla 1 con el mapa de las regiones biogeográficas propuesto por Morrone (2019) se observa *P. levipes* se distribuye en las provincias biogeográficas la SMO, el DCH y la FVT.

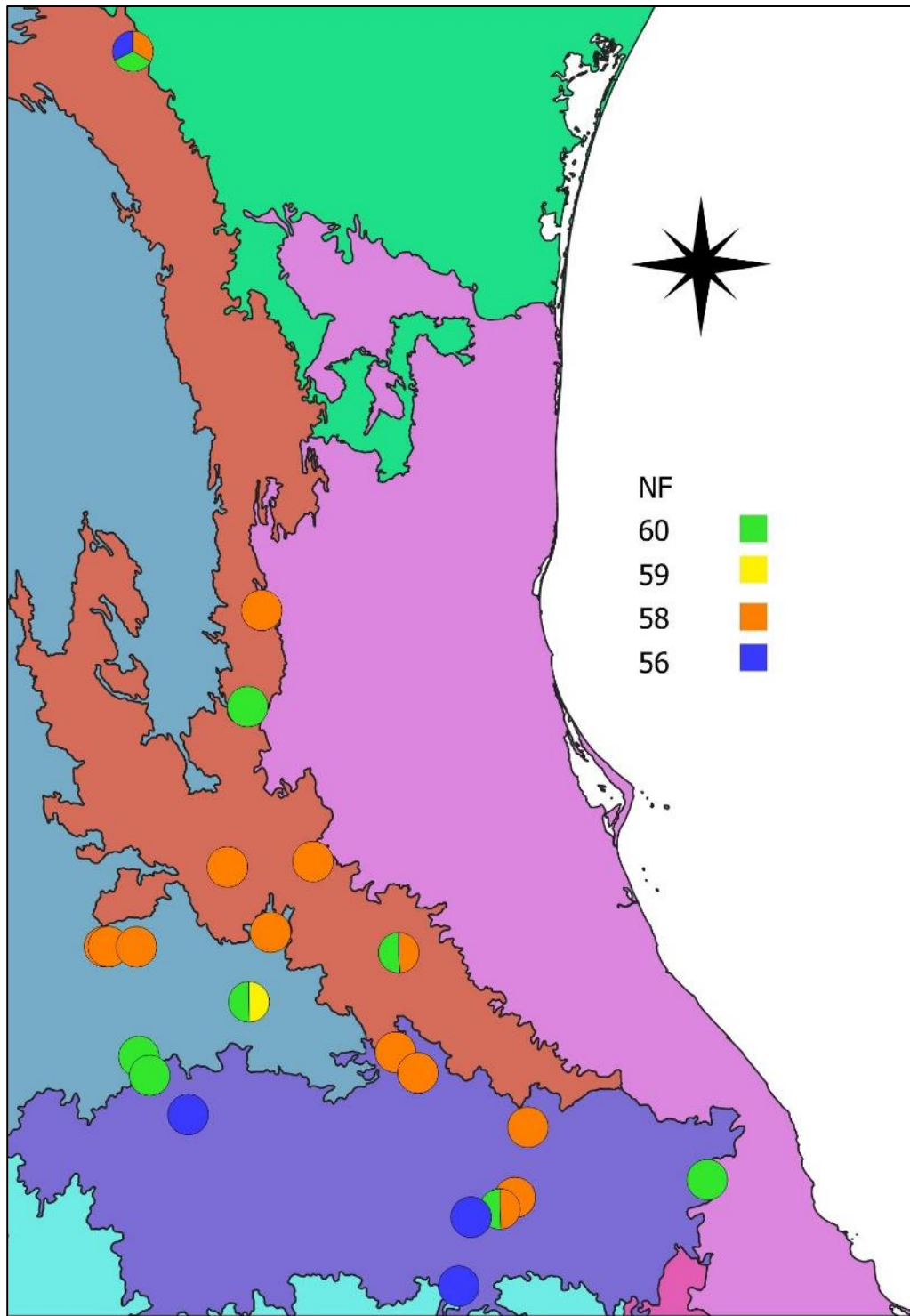


Figura 7. Distribución geográfica de los registros de número fundamental (NF) de *Peromyscus levipes* en México, representados dentro de las provincias biogeográficas definidas por Morrone (2019).

8. DISCUSIÓN

El análisis citogenético de *Peromyscus levipes* en San Diego Metepec, Tlaxcala, reveló un cariotipo con $2n=48$ y $NF=56$. Este resultado se encuentra dentro del rango de variación descrito para la especie, que va de $NF=56-60$ (Houseal *et al.*, 1987; Smith, 1990; Bradley *et al.*, 2004), y coincide con lo reportado en poblaciones de Acambay (Ciudad de México), Cola de Caballo (Nuevo León) y Ocoyucan (Puebla) (Bradley *et al.*, 2004; Romero, 2024). El cariotipo con mayor número de registros en el área de distribución de la especie es el $NF=58$ (Tabla 2; Figura 8).

La distribución de *P. levipes* abarca tres provincias biogeográficas principales: la Sierra Madre Oriental (SMO), el Desierto Chihuahuense (DCH) y la Faja Volcánica Transmexicana (FVT; Morrone, 2019). La SMO se caracteriza por su relieve montañoso, con bosques templados y mesófilos, y un clima húmedo que favorece la continuidad de hábitats, estas características mantienen más conectadas a las poblaciones, lo que podría reducir la probabilidad de generar una diferenciación cariotípica (Espinosa-Organista *et al.*, 2001). El DCH, en contraste, presenta condiciones áridas y extremas, con vegetación xerófila y ambientes relativamente homogéneos, lo que limita la diversidad de microhábitats, estas características podrían llegar a limitar el tamaño poblacional y la diversidad genética (Ramírez-Pulido *et al.*, 2001). La FVT, caracterizada por su compleja topografía conformada por sierras, valles y volcanes, junto con su heterogeneidad climática y ecológica, probablemente ha favorecido procesos de aislamiento poblacional y diferenciación cromosómica, lo que explicaría la coexistencia de poblaciones con distintos números fundamentales dentro de un rango relativamente estrecho (Espinosa-Organista *et al.*, 2001; Morrone, 2019). En la Figura 8 se puede apreciar que en la FVT se concentran los cariotipos con $NF= 56, 58$ y 60 en un área relativamente reducida tanto latitudinal como longitudinalmente. A pesar de que en la DCH se presentan los $NF= 58, 59$ y 60 y en la SMO los $NF=56, 58$ y 60 estos se encuentran de una manera menos agrupada. Los datos más agrupados del $NF=58$ entre la DCH y la SMO presentan una distribución latitudinal relativamente corta, pero una distancia longitudinal más amplia, mientras que los $NF=60$ además de

presentar un número menor de registros se encuentran en áreas más reducidas. El hecho de que en la FVT se hayan registrado los NF=56, 58 y 60 y que tres de los cuatro registros conocidos de NF=56 estén dentro de esta región, coincide y refuerza estudios biogeográficos que la señalan como un área de alta riqueza biológica y endemismo, resultado de complejos procesos geológicos y evolutivos (Morrone, 2019; Escalante *et al.*, 2024). En cola de caballo, Nuevo León, se han registrado los NF=56, 58 Y 60, esto puede deberse a características propias de la zona en donde se encontraron estas poblaciones, ya que el NF=56 de esa localidad es el único registro para toda la SMO, y a una distancia aproximada de 827 km de los registros de la FVT.

La comparación de los cromosomas sexuales obtenidos en este estudio con los descritos en estudios previos (Schmidly y Schroeter, 1974; Houseal *et al.*, 1987; Romero, 2024) muestran una estabilidad en la morfología del cromosoma Y, mientras que el cromosoma X presenta una variación entre submetacéntrico y subtelocéntrico. Esta variación puede deberse a rearrreglos estructurales, ya que el cromosoma X suele seguir siempre una trayectoria hacia la especialización mientras que el cromosoma Y suele mantener su morfología y raras veces se ve modificado por rearrreglos cromosómicos (Wei y Barbash, 2015).

El bandeo cromosómico G permitió observar el patrón de bandas claras y oscuras dando como resultado entre dos y 10 bandas oscuras en los autosomas birrámeos, entre una y 10 bandas oscuras en autosomas monorrámeos, así como siete bandas en el cromosoma X y una sola banda oscura en el cromosoma Y. Estos patrones difieren a los reportados por Romero (2024) ya que reporta de dos a 12 bandas en cromosomas autosómicos para Coltingo, Ocoyucan, Puebla. Esta diferencia en el número de bandas puede deberse a rearrreglos estructurales como deleciones, traslocaciones, inversiones o duplicaciones, sin embargo, es necesario realizar técnicas citogenéticas más avanzadas para la detección de estos rearrreglos, como puede ser la prueba FISH (Fluorescence In Situ Hybridization), esta prueba ha sido utilizada para identificar rearrreglos y variaciones estructurales en los cromosomas, también es una gran herramienta para realizar un mapeo

comparativo entre especies (Dawson *et al.* 1999). En el análisis de variabilidad cromosómica, la citogenética clásica constituye una herramienta fundamental para la identificación de poblaciones con potencial interés evolutivo.

9. CONCLUSIÓN

El presente estudio aporta nueva evidencia citogenética sobre *Peromyscus levipes* en San Diego Metepec, Tlaxcala, registrando un número diploide de $2n=48$ y un número fundamental de $NF=56$. Este valor se encuentra dentro del rango restringido de $NF=56-60$ descrito para la especie, y coincide con poblaciones previamente documentadas en Acambay (Ciudad de México), Cola de Caballo (Nuevo León) y Ocoyucan (Puebla) (Bradley *et al.* 2004; Romero, 2024).

El análisis de bandeo cromosómico G permitió identificar patrones entre dos y 10 bandas oscuras en autosomas birrámeos, entre una y 10 en autosomas monorrámeos, así como, siete bandas en el cromosoma X y una en el cromosoma Y.

En conjunto, los hallazgos de este trabajo no solo amplían el conocimiento sobre la variación cariotípica de *P. levipes* en la FVT, sino que también destacan la importancia de integrar enfoques citogenéticos, biogeográficos y evolutivos para comprender la dinámica de diversificación del grupo *boylii*. Estos resultados constituyen una base sólida para futuros estudios que incorporen análisis moleculares y comparativos a mayor escala, con el fin de delimitar con mayor precisión los límites taxonómicos y evolutivos de la especie.

10. REFERENCIAS

- Aguilar, S. M. de los A. (2000). Estudio de la distribución geográfica de *Peromyscus ochraventer* y análisis de su variabilidad cromosómica. Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. Informe final SNIB-CONABIO proyecto No. L306. México D. F.
- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K. y Walter, P. (2014). Biología molecular de la célula (6.^a ed.). Garland Science.
- Álvarez-Castañeda, S. T. y González-Ruiz, N. (2008). Análisis preliminar de las relaciones filogenéticas entre los grupos de especies del género *Peromyscus*. En C. Lorenzo, E. Espinoza y J. Ortega (Eds.). Avances en el estudio de los mamíferos de México II (Pp. 5-26). Asociación Mexicana de Mastozoología, A.C.
- Álvarez-Castañeda, S. T. y González-Ruiz, N. (2009). *Peromyscus levipes* (Rodentia: Cricetidae). Mammalian Species, 824:1–6.
<https://doi.org/10.1644/824.1>
- Baker, R. J., Qumsiyeh, M. B. y Rautenbach, I. L. (1988). Evidence for eight tandem and five centric fusions in the evolution of the karyotype of *Aethomys namaquensis* (Rodentia: Muridae). Genetica, 76(3):161-169.
- Baker, R. J., Qumsiyeh, M. B. y Hood, C. S. (1982). Role of chromosomal banding patterns in understanding mammalian evolution. Pp. 67-65 in current Mammalogy (H. HGenoways, ed), Vol. 1 Plenum publishing corporation U.S.A.
- Bradley, R. D., Carroll, D. S., Haynie, M. L., Muñiz-Martínez, R., Hamilton, M. J. y Kilpatrick, C. W. (2004). A new species of *Peromyscus* from western Mexico. Journal of Mammalogy, 85:1184–1193.
- Bradley, R. D., Schmidly, D. J., Amman, B. R., Platt, R. N., Neumann, K. M., Huynh, H. M., Muñiz-Martínez, R., López-González, C. y Ordóñez-Garza, N. (2015).

Datos moleculares y morfológicos revelan múltiples especies en *Peromyscus pectoralis*. Journal of Mammalogy, 96(2):446–459.

Doi: <https://doi.org/10.1093/jmammal/gyv049>

Bravo-Vinaja, M. G., Tarango-Arámbula, L. A., Clemente-Sánchez, F., Mendoza-Martínez, G. D., Alcántara-Carbajal, J. L., y Soto-Aquino, H. V. (2005). Composición y variación de la dieta del tecolote moteado mexicano (*Strix occidentalis lucida*) en Valparaíso, Zacatecas, México. Agrociencia, 39(5): 509-515.

Bueno, M. L. (2011). cromosomas, vehículos en la organización y transmisión de los caracteres. Acta Biológica Colombiana, 16(3):43-60.

Chirhart, S. E., Honeycutt, R. L. y Greenbaum, I. F. (2005). Microsatellite variation and evolution in the *Peromyscus maniculatus* species group. Molecular Phylogenetics and Evolution, 34(2):408-4015.

Doi: <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2004.10.018>

Cobo-Simón, I., Méndez-Cea, B., Portillo, H., Elvir, F., Vega, H. y Gallego, F. J. (2019). Testing the effectiveness of conservation management within biosphere reserves: the case of the Mexican deer mouse (*Peromyscus mexicanus*) as a bioindicator. Integrative Zoology, 14(5):422-434. Doi:10.1111/1749-4877.12371

Committee for the standardization of chromosomes of *Peromyscus*, (1977). Standardized karyotype of deer mice, *Peromyscus* (Rodentia). Cytogenetic and Genome Research, 19(1):38–43. <https://doi.org/10.1159/000130792>

Dawson, W. D., Young, S. R., Wang, Z., Liu, L. W., Greenbaum, I. F., Davis, L. M., Y Hall, B. K. (1999). *Mus* and *Peromyscus* chromosome homology established by FISH with three mouse paint probes. Mammalian genome: official journal of the International Mammalian Genome Society, 10(7):730–733. <https://doi.org/10.1007/s003359901080>

- De Grouchy, J. y Turleau, C. (1977). Clinical atlas of human chromosomes. New York: John Wiley & Sons.
- Dewey, M. J. y Dawson, W. D. (2001), Deer mice: “The *Drosophila* of North American mammalogy” †. *Genesis*, 29(3):105-109.
- <https://doi.org/10.1002/gene.1011>
- Escalante, T., Elguea-Manrique, L. M. y Espíritu-Guerrero, P. C. (2024). Cariotipos y relaciones geográficas entre especies endémicas de la Faja Volcánica Transmexicana, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 95, e955319. <https://doi.org/10.22201/ib.20078706e.2024.95.5319>
- Espinosa-Organista, D., Morrone, J. J., Aguilar-Zúñiga, C. y Llorente-Bousquets, J. (2001). Hacia una clasificación natural de las provincias biogeográficas mexicanas. Informe final SNIB-CONABIO, Proyecto Q054
- Gentry, J. B. y Smith, M. H. (1968). Food habits and burrow associates of *Peromyscus polionotus*. *Journal of Mammalogy*, 49(3):562.
- Doi:10.2307/1378235
- Greenbaum, I. F. y Baker, R. J. (1978). Determination of the primitive karyotype for *Peromyscus*. *Journal of Mammalogy*, 59(4):820-834.
- Doi: <https://doi.org/10.2307/1380146>
- Hernández-Canchola, G. y Colunga-Salas, P. (2022). Por absurdo que parezca debemos proteger a las ratas y ratones, ¡Son nuestros aliados! *Therya ixmana*, 1(3):77-79. Doi:10.12933/therya_ixmana-22-230
- Houseal, T. W., Greenbaum, I. F., Schmidly, D. J., Smith, S. A. y Davis, K. M. (1987). Karyotypic Variation in *Peromyscus boylii* from Mexico. *Journal of Mammalogy*, 68(2):281–296. <https://doi.org/10.2307/1381467>
- Huang, H., y Chen, J. (2016). Chromosome Bandings. In *Methods in Molecular Biology* (pp. 59–66). Springer New York. Doi:10.1007/978-1-4939-6703-2_6

- Hulme, P. (2002). Seed eaters: seed dispersal, destruction and demography. En D. J. Levey, W. R. Silva, y M. Galetti (Eds.), *Frugivores and seed dispersal: Ecological, Evolutionary and Conservation Issues* (pp. 257-273). CABI, Wallingford, Oxfordshire. Doi:10.1079/9780851995250.0257
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI), (2005). Síntesis sociodemográfica municipal de Tlaxcala, Tlaxcala. INEGI. www.inegi.org.mx/contenidos/productos/prod_serv/contenidos/espanol/bvini/inegi/productos/censos/poblacion/sint_sociodem/Sint_Tlaxcala.pdf
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI), (2010). Compendio de información geográfica municipal 2010 Tlaxcala, Tlaxcala. INEGI. https://www.inegi.org.mx/contenidos/app/mexicocifras/datos_geograficos/29/29033.pdf
- Kenney-Hunt, J., Lewandowski, A., Glenn, T. C., Glenn, J. L., Tsyusko, O. V., O'Neill, R. J. y Felder, M. R. (2014). A genetic map of *Peromyscus* with chromosomal assignment of linkage groups (a *Peromyscus* genetic map). *Mammalian Genome*, 25(3-4):160–179. Doi:10.1007/s00335-014-9500-8
- Lee, M. R. (1969). A widely applicable technic for direct processing of bone marrow for chromosomes of vertebrates. *Stain technology*, 44(3):155.
- Lee, M. R., Schmidly, D. J. y Huheey, C. C. (1972). Chromosomal variation in certain populations of *Peromyscus boylii* and its systematic implications. *Journal of Mammalogy*, 53(4):697–707. <https://doi.org/10.2307/1379208>
- León-Tapia, M. Á., Rico, Y., Fernández, J. A. y Espinosa de los Monteros, A. (2022). Molecular, morphometric, and spatial data analyses provide new insights into the evolutionary history of the *Peromyscus boylii* species complex (Rodentia: Cricetidae) in the mountains of Mexico. *Systematics and Biodiversity*, 20(1): 1–19. Doi: <https://doi.org/10.1080/14772000.2022.2127966>
- Levan, A., Fredge, K., Sandberg, A. (1964). Nomenclature for centromeric position in chromosomes. *Hereditas*, 52:202-220.

- MacSwiney G., M. C., Hernández-Betancourt, S. F., Panti-May, J. A. y Pech-Canché, J. M. (2012). Ecología poblacional del ratón yucateco *Peromyscus yucatanicus* (Rodentia: Cricetidae) en las selvas de Quintana Roo, México. En F. A. Cervantes, C. Ballesteros-Barrera (Eds.). Estudios sobre la Biología de Roedores Silvestres Mexicanos (pp. 237-246). Universidad Nacional Autónoma de México-Universidad Autónoma Metropolitana.
- Márquez-Olivas M. (2002). Determinación de la dieta del tecolote moteado mexicano (*Strix occidentalis lucida*) en Sierra Fría, Aguascalientes. Anales del Instituto de Biología. Serie Zoología, 73(2):205-211.
- Martínez-Vázquez, J., Gonzalez-Monroy, R. M. y Diaz-Diaz, D. (2010). Hábitos alimentarios del Coyote en el parque nacional Pico de Orizaba. Therya, 1(2): 145-154. Doi: 10.12933/therya-10-4
- Merriam, C. H. (1898). Description of twenty new species and a new subgenus of *Peromyscus* from Mexico and Guatemala. Proceedings of the Biological Society of Washington 12:115–123.
- Morales, X. (2010). Contribuciones para la facilitación de los estudios sobre dieta en ratones silvestres, tomando como ejemplo al género *Peromyscus*. Tesis de maestría, Universidad Autónoma Metropolitana.
- <https://bindani.izt.uam.mx/concern/tesiuams/xs55mc25z?locale=fr>
- Morrone, J. J. (2002). Toward a synthesis of Mexican biogeography. Journal of Biogeography, 29(1):3–14. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2699.2002.00637.x>
- Morrone, J. J. (2019). Regionalización biogeográfica y evolución biótica de México: encrucijada de la biodiversidad del Nuevo Mundo. Revista Mexicana de Biodiversidad, 90, e902980.
- Morrone, J. J., Escalante, T. y Rodríguez-Tapia, G. (2017). Mexican biogeographic provinces: Map and shapefiles. Zootaxa, 4277(2):277–279.

- Morrone, J. J., Espinosa-Organista, D. y Llorente-Bousquets, J. (1999). Mexican biogeographic provinces: Preliminary scheme, general characterizations, and synonymies. *Acta Zoológica Mexicana* (n.s.), 85:105–123.
- Musser, G. G. y Carleton, M. D. (1993). Familia Muridae. En D. E. Wilson y D. M. Reeder, (Eds.). “Especies de mamíferos del mundo” (pp. 501-755.) Smithsonian Institution Press, Washington, DC.
- Nikoloff, N. y Ruiz, C. (2021). Introducción a la citogenética. En Catanesi, C. I., y Villegas Castagnasso, E. E. (Coords.) Elementos de genética (pp. 48-68). Editorial de la Universidad Nacional de La Plata.
- Nirchio, Mauro y Oliveira, Claudio. (2014). Citogenética como herramienta taxonómica en peces. *Saber*, 26(4):361-372.
- Patton, J. C. y Baker, R. J. (1978). Chromosomal homology and evolution of phyllostomatoid bats. *Systematic Zoology*, 27:449-462.
- Ramírez-Pulido, J., Castro-Campillo, A. y Salame-Méndez, A. (2001). Los *Peromyscus* (Rodentia: Muridae) en la colección de mamíferos de la Universidad Autónoma Metropolitana-Unidad Iztapalapa (UAMI). *Acta zoológica mexicana*, (83):83-114.
- Rogers, D. S., Greenbaum, I. F., Gunn, S. J. y Engstrom, M. D. (1984). Cytosystematic value of chromosomal inversion data in the genus *Peromyscus* (Rodentia: Cricetidae). *Journal of Mammalogy*, 65(3):457-465.
- Rojas, R., L., y Barboza R., M. (2007). Ecología poblacional del ratón *Peromyscus mexicanus* (Rodentia: Muridae) en el Parque Nacional Volcán Poás, Costa Rica. *Revista de Biología Tropical*, 55(3-4):1037-1050.
- Romero, C. S. (2024). Descripción cromosómica de *Peromyscus levipes* (Merriam, 1898) de Santiago Coltzingo Ocoyucan, Puebla. Tesis de licenciatura. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

<https://hdl.handle.net/20.500.12371/20921>

- Romero-Almaraz, M. L., García-Estrada, C. y Sánchez-Hernández, C. (2004). *Peromyscus levipes* (Rodentia: Muridae) in deciduous forest in southeastern Morelos, Mexico. *The Southwestern Naturalist*, 49(1):125–128.
- Schmidly, D. J. y Schroeter, G. L. (1974). Karyotypic Variation in *Peromyscus boylii* (Rodentia: Cricetidae) from Mexico and Corresponding Taxonomic Implications. *Systematic Zoology*, 23(3):333–342.
- <https://doi.org/10.2307/2412540>
- Schmidly, D. J., Bradley, R. D. y Cato, P. S. (1988). Morphometric differentiation and taxonomy of three chromosomally characterized groups of *Peromyscus boylii* from east-central Mexico. *Journal of Mammalogy*, 69:462–480.
- Smith, S. A. (1990). Cytosystematic evidence against monophyly of the *Peromyscus boylii* species group (Rodentia: Cricetidae). *Journal of Mammalogy*, 71:654–667.
- Tapia-Ramírez, G., López-González, C., González-Romero, A. y Hernández-Betancourt, S. F. (2012). Diversidad de roedores y su relación con la heterogeneidad del ambiente en la cuenca del río Nazas, Durango, México. En F. Cervantes y C. Ballesteros-Barrera (Eds.), *Estudios sobre la biología de roedores silvestres de México* (pp. 59–70). Universidad Nacional Autónoma de México-Universidad Autónoma Metropolitana.
- Weber, J. N. y Hoekstra, H. E. (2009). The evolution of burrowing behavior in deer mice (genus *Peromyscus*). *Animal Behaviour*, 77(3):603–609. Doi: 10.1016/j.anbehav.2008.10.031
- Wei, K. H., y Barbash, D. A. (2015). Never settling down: frequent changes in sex chromosomes. *PLoS biology*, 13(4), e1002077. Doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1002077>

11. ANEXO

Solución hipotónica (0.075 M KCl)

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

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

Fijador Carnoy

Proporción 3:1

Metanol 15 ml y ácido acético 5 ml.

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

Tinción Giemsa convencional

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

- Solución amortiguadora

10M NaH_2PO_4 (Solución A o fosfato monosódico).

Se peso 0.69 g y se diluyo en 50 ml de agua destilada, del cual se utilizaron 15 ml.

10M Na_2PO_4 (Solución B o fosfato sódico).

Se peso 0.71 g y se diluyeron en 50 ml de agua destilada, del cual se utiliza 10 ml.

De la solución A se tomaron 15 ml y de la solución B se tomaron 10 ml, se aforo. Se puede mantener en refrigeración (4°C) hasta que no se observe contaminada.

Tinción Giemsa 2% para bandas cromosómicas G

Se preparo un vaso con solución Tripsina, dos vasos Coplin con solución PBS, un vaso Coplin con tinción Wright, un vaso Coplin con tinción Giemsa 2% y un vaso con agua destilada.

- Tinción Giemsa 2%

6 ml de solución stock.

44 ml de solución buffer de Sorensen (pH 6.8).

- Tinción Wright

12 ml de solución stock.

36 ml de buffer de Sorensen (pH6.8).

- Buffer de Sorensen para bandas cromosómicas G

Se peso 3.315 g de fosfato de potasio monobásico (KH_2PO_4).

Se peso 1.28 g de fosfato disódico (Na_2HPO_4).

Se disolvió en 400 ml de agua destilada, aforar a 500ml.

- Solución stock de tripsina

Se peso 0.05 g de Tripsina Difco (1:250) y se diluye en 50 ml de buffer de fosfato salino (PBS).

- Dilución de Tripsina (0.25%)

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