



**BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA**

---

---

**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**ANÁLISIS CROMOSÓMICO DEL RATÓN COSECHERO  
*Reithrodontomys megalotis* DE SAN DIEGO METEPEC  
TLAXCALA**

**Tesis que para obtener el título de**

**LICENCIADO EN BIOLOGÍA**

**PRESENTA**

**JOSÉ ÁNGEL MONTERROSAS MARTÍNEZ**

**DIRECTORA DE TESIS**

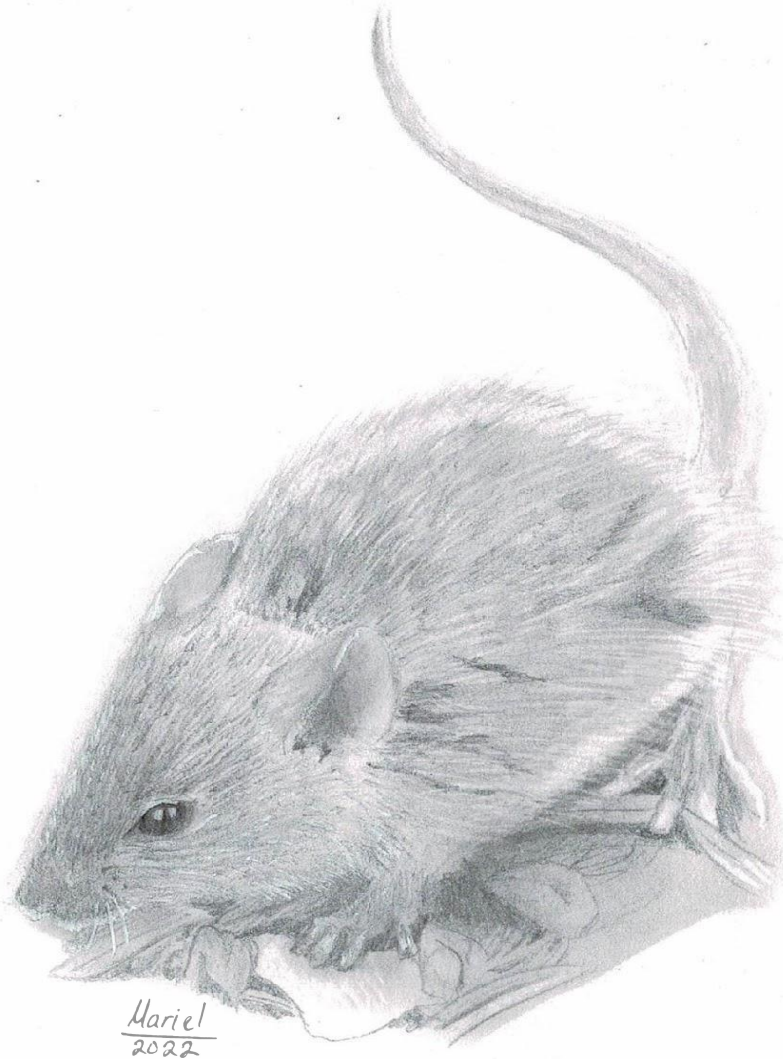
**M. EN C. ROSA MARÍA GONZÁLEZ MONROY**



**NOVIEMBRE, 2023**

*“No tenemos una explicación para todo lo que sucede.  
No controlamos casi nada.  
Y si no estamos abiertos a ese misterio, la vida se vuelve tan  
pequeña...”*

Isabel Allende



***Reithrodontomys megalotis***

## **DEDICATORIA**

Con amor a mis padres José Lucio Monterrosas Ortíz (Q.E.P.D.) y Elizabeth Martínez Guzmán.

Con amor y cariño para mis amigos y colegas, Giovanna Pérez, Aislín Carmona, Nelly Martínez, Xquenda Hironnelle, Jimena Ruíz, Linda García, Elías Mendoza, Daniel Evangelista, Majo Flores y Eduardo Ortíz, quienes fueron mis compañeros de aventuras y que me apoyaron en todo momento para no desistir de mi gran sueño de ser Biólogo.

A Jenny Monterrosas, Antonio Monterrosas, Elvira Zavala, Marco Antonio Laugier, Gloria Ortíz, Elvia Díaz, Abraham Martínez, Teresa Covarrubias, Alejandra Vallarte, Liliana Hernández, Jesús Vidal y Benita, quienes en algún momento de mi vida me han dado lecciones y me han dejado grandes aprendizajes, apoyándome en momentos complicados.

Gracias por la confianza de compartirme su manera de ver la vida, de brindar su amor y conocimiento.

## **AGRADECIMIENTOS**

A la M. en C. Rosa María González Monroy, por darme la oportunidad y confianza de pertenecer al Laboratorio de Mastozoología, por todos sus conocimientos transmitidos, no dejar de creer en mí y brindarme apoyo incondicional en la elaboración de esta tesis.

Al Dr. Jesús Martínez Vázquez por sus observaciones en la revisión de esta tesis, los conocimientos transmitidos y el apoyo incondicional, brindado durante mi estancia en el Laboratorio de Mastozoología.

A la Bióloga Judith Méndez por todos sus conocimientos transmitidos, sus asesoramientos, su confianza y ese gran apoyo incondicional que me brindó.

A la Dra. Laura Torres Morales por sus observaciones en la revisión de esta tesis.

A mis amigos Biólogos Nayeli Martínez y Esteban González por el apoyo brindado en la parte experimental.

A la Bióloga Laura Alejandra Salazar por el apoyo brindado en la parte del muestreo.

Al Dr. Jesús Ángel Tapia López por su apoyo durante la carrera.

# ÍNDICE

<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b>	<b>6</b>
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b>	<b>7</b>
<b>RESUMEN</b>	<b>8</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
1.1 Importancia de la división celular por mitosis	4
<b>1.4 Técnicas en citogenética</b>	<b>12</b>
1.6 Variaciones cromosómicas	14
1.8 Clasificación taxonómica de la especie en estudio, según Ramírez-Pulido et al., 2014.	16
2.1 Distribución	18
2.2 Hábitat	19
2.3 Estado de conservación	20
<b>3. ANTECEDENTES</b>	<b>21</b>
<b>4. JUSTIFICACIÓN</b>	<b>24</b>
<b>5. HIPÓTESIS</b>	<b>25</b>
<b>6. OBJETIVO</b>	<b>26</b>
6.1 Objetivo general	26
6.2 Objetivos específicos	26
<b>7. METODOLOGÍA</b>	<b>27</b>
7.1 Área de estudio	27
7.1.2 Geología y Edafología	28
7.1.4 Flora	29
7.1.5 Clima	29
7.2 Trabajo de campo	29
<b>7.3 Trabajo de laboratorio</b>	<b>31</b>
7.3.1 Extracción de médula ósea	31
<b>7.3.2 Obtención de material cromosómico</b>	<b>31</b>
7.3.4 Elaboración del cariotipo e ideograma	33
<b>8. RESULTADOS</b>	<b>35</b>
8.1 Descripción cromosómica	35
8.2 Clasificación cromosómica	38
8.3 Ideograma de <i>Reithrodontomys megalotis</i>	40
<b>9. DISCUSIÓN</b>	<b>41</b>
<b>10. CONCLUSIONES</b>	<b>44</b>
<b>11. RECOMENDACIONES</b>	<b>45</b>
<b>12. BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>46</b>
<b>APÉNDICE</b>	<b>55</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

- **Figura 1.** Representación de los niveles de organización de cromatina en un cromosoma.
- **Figura 2** Representación del ciclo celular, mostrando la interfase; G1, S y G2 y fase M; mitosis y citocinesis.
- **Figura 3** Unión de los microtúbulos al cinetocoro.
- **Figura 4** Morfología del cromosoma.
- **Figura 5** Clasificación de los cromosomas según la posición del centrómero.
- **Figura 6** Regiones de eucromatina, por bandeo G en *Reithrodontomys megalotis*.
- **Figura 7** Regiones de heterocromatina, por bandeo C en *Reithrodontomys megalotis*.
- **Figura 8** *Reithrodontomys megalotis*.
- **Figura 9** Distribución de *Reithrodontomys megalotis*.
- **Figura 10** San Diego Metepec, Tlaxcala.
- **Figura 11** Área de muestreo en San Diego Metepec, Tlaxcala.
- **Figura 12** Campo mitótico de *Reithrodontomys megalotis* (macho) de San Diego Metepec, Tlaxcala.
- **Figura 13** Cariotipo convencional de *Reithrodontomys megalotis* macho de San Diego Metepec, Tlaxcala.
- **Figura 14** Ideograma de *Reithrodontomys megalotis* macho de San Diego Metepec, Tlaxcala.

## ÍNDICE DE TABLAS

- **Tabla 1** Nomenclatura de los cromosomas basándose en la posición del centrómero.
- **Tabla 2** Clasificación cromosómica de *Reithrodontomys megalotis* de San Diego Metepec Tlaxcala.

## RESUMEN

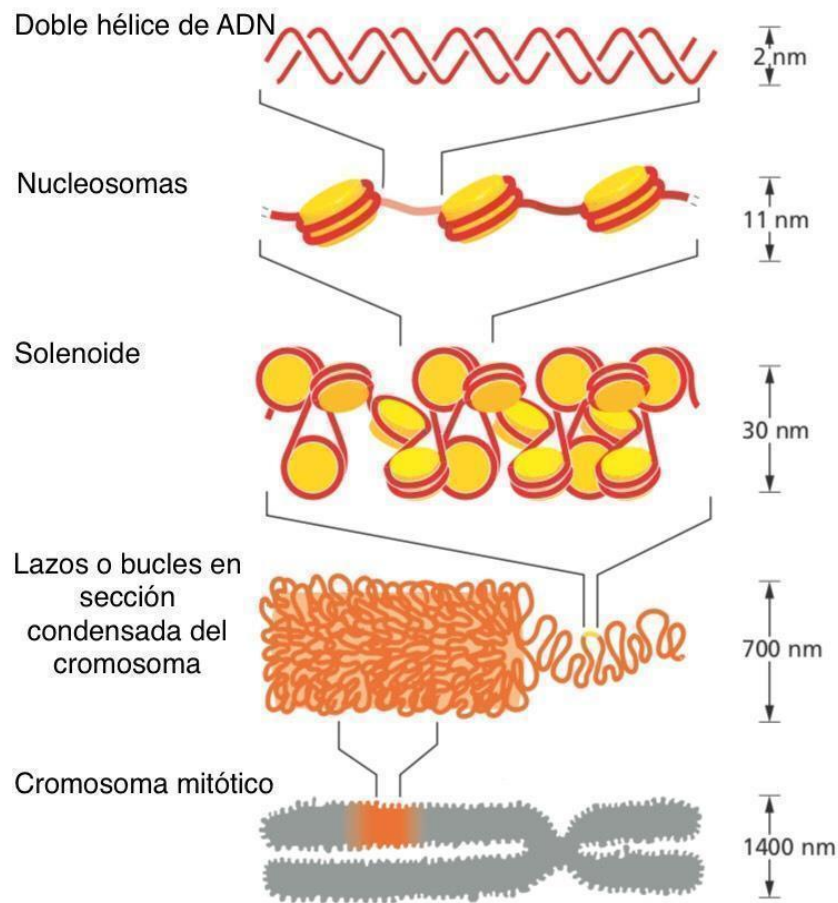
La citogenética es la ciencia que se dedica a estudiar el material hereditario organizado y es de gran importancia para describir y detectar posibles cambios en la morfología de los cromosomas. A lo largo del tiempo, los cromosomas van adquiriendo una complejidad que va de la mano con la evolución de las especies. El objetivo del presente estudio fue realizar el cariotipo de *Reithrodontomys megalotis* de San Diego Metepec, Tlaxcala y compararlo con otros cariotipos. La metodología consistió en la colecta de dos ejemplares de *Reithrodontomys megalotis* para realizar la técnica de extracción de médula ósea, utilizando como inhibidor mitótico colchicina. Se obtuvieron 72 campos mitóticos y se seleccionaron los mejores para realizar el cariotipo y el ideograma. *Reithrodontomys megalotis* de San Diego Metepec, Tlaxcala presentó un  $2n=44$  y un  $NF=84$  presentando 21 pares de cromosomas birrámeos, con una morfología de 15 pares metacéntricos (m), dos pares submetacéntricos (sm) y cuatro pares subtelocéntricos (st). El cromosoma sexual X fue submetacéntrico (sm) y el cromosoma sexual Y fue subtelocéntrico (st). Al compararlo con otros cariotipos, se encontraron variaciones en las constantes cromosómicas, en la morfología de los autosomas y el par sexual. Estos cambios numéricos en los autosomas y de la morfología cromosómica, pueden ser ocasionados al desarrollarse bajo condiciones ambientales diferentes, donde estos cambios cariotípicos pueden ser transmitidos a generaciones siguientes, existiendo un flujo genético entre las poblaciones.

## 1. INTRODUCCIÓN

Estudios realizados por Walther Flemming ayudaron a deducir cómo es que las bases de la herencia que se encuentran regidas por las tres leyes de Mendel, que dependen de factores que la determinan a los que actualmente llamamos genes, que se transmiten de una célula a otra (Karp, 2009). Realizando observaciones en la división celular se logró esclarecer que en el momento en que las células se multiplican, el material genético del núcleo se organiza de manera que se logren formar los “cromosomas” que son filamentos visibles que se transmiten de la célula madre a la célula hija (Karp, 2009). Científicos tenían la idea de que la herencia se encontraba en los cromosomas, o en estos cuerpos coloreados, los cuales serían las primeras ilustraciones de los cromosomas humanos publicadas en 1882 por Walther Flemming (Martins, 1999). Los genes son la unidad básica de la herencia, y se ubican en lugares específicos en cada cromosoma, teniendo una posición a la que se le denomina locus “loci en plural”. Los cromosomas que cuentan con el mismo número de loci se les denominan cromosomas homólogos, y a los cromosomas con loci diferentes se les denomina cromosomas heterólogos, existen variantes en los genes que ocupan un mismo locus en cromosomas homólogos, a las que se les denominan alelos, cada individuo tiene dos alelos, uno paterno y uno materno, y se dice que un organismo es homocigoto cuando tiene dos alelos idénticos en el mismo locus en cromosomas homólogos, o que es heterocigoto cuando tiene dos alelos diferentes en el mismo locus en cromosomas homólogos (Lacadena, 1995). El término cromosoma fue introducido por Waldeyer (1888), teniendo como objetivo la triple función de conservar, transmitir y remitir la información genética, adquiriendo una complejidad en aumento a través del tiempo en la evolución de los grupos taxonómicos, siendo los cromosomas sin duda alguna, caracteres de gran importancia para deducir relaciones filogenéticas, en la que su estructura y comportamiento están involucrados para que este proceso trate de ser lo más íntegro posible.

Sutton y Boveri formularon la teoría cromosómica de la herencia entre 1902 y 1903. Para 1960 se publica la técnica de cultivo de leucocitos de sangre periférica humana, logrando obtener cultivos de cromosomas de muchas especies, siendo un suceso de gran importancia para el desarrollo de la citogenética (Ortega *et al.*, 2018). La citogenética se define como la rama de la genética que estudia el material hereditario organizado en “cromosoma” bajo cualquier nivel o dimensión (Lacadena, 1995). Naciendo históricamente como una ciencia híbrida, tomando de la citología los aspectos cualitativos, físicos y descriptivos, mientras que por otro lado tomando los aspectos cuantitativos y fisiológicos de la genética (Swanson, 1960). La citogenética animal brinda información muy importante sobre una caracterización de la descripción respecto al número y morfología de los cromosomas aparte de ser fundamental para el estudio de rearrreglos cromosómicos de los animales (Ortega *et al.*, 2018). Por otro lado, la citogenética evolutiva, ayuda a determinar ontologías u homologías entre los grupos taxonómicos, basándose en los cambios dentro de los cromosomas a través del tiempo, dilucidando relaciones filogenéticas y contribuyendo al estudio evolutivo de las especies (Lannuzzi, 2007).

Los cromosomas cuentan con algunas características que los hacen complejos, por ejemplo, el poseer una constante numérica en donde todas las células somáticas del organismo de la misma especie tendrán el mismo número de cromosomas, denominándose homólogos, con una individualidad, es decir que no están unidos unos a otros. Cada uno de los cromosomas tiene una forma y tamaño específico, aunque varían en su estado de condensación a lo largo del ciclo celular (Malumbres, 2011). La cadena de ADN se asocia a proteínas histonas que son ricas en residuos de lisina y arginina o de igual forma puede asociarse a proteínas no histonas, ricas en aminoácidos y prolina, con las que puede presentar diferentes grados de condensación, ya sea en collar de cuentas con fibras de 11 nanómetros (nm), en donde cada cuenta es una subunidad llamada nucleosoma. Estos nucleosomas, son subunidades que se repiten a lo largo de la cromatina (Aguilar, 2019; Alberts *et al.*, 2014; Figura 1).



**Figura 1.** Representación de los niveles de organización de la cromatina en un cromosoma (Alberts *et al.*, 2014).

En solenoides con fibras de 30 nm, que se observan en los núcleos en interfase, donde el filamento nucleosómico se enrolla en una forma helicoidal que permite realizar una compactación de otras 6 a 7 veces, otro nivel en la estructura de la cromatina es en serie de lazos o bucles formadas por fibras de 250 nm. Por último, la sección condensada del cromosoma, una hebra de 700 nm, donde el enrollamiento de la fibra de 250 nm origina el cromosoma mitótico, durante la metafase cada cromátida individual mide alrededor de 700 nm de espesor. La sección del cromosoma con las dos cromátidas presenta un espesor de 1.400 nm (Aguilar, 2019).

Los principales componentes de un cromosoma son el ADN, ARN presente en el núcleo interfásico y proteínas de dos tipos que pueden ser histonas y no histonas, las cuales se unen a la cadena de ADN (Krebs *et al.*, 2014). Que para algunos autores estos componentes en conjunto se les denomina cromatina (Rieger *et al.*, 1976). Para otros autores la cromatina solo asocia al ADN y a las histonas que forman los nucleosomas (Kornberg, 1974).

### **1.1 Importancia de la división celular por mitosis**

El ciclo celular es un proceso en el cual, la célula da seguimiento al monitoreo de las condiciones adecuadas para la división celular, activando no solo la maquinaria bioquímica para iniciar la replicación del ADN, sino también a la segregación cromosómica, para al final obtener dos células genéticamente estables (Malumbres, 2011). La función del ciclo celular no solo es originar nuevas células, sino que se asegure que el proceso se realice con una regulación adecuada, bajo condiciones estrictas de nutrición, pH y temperatura. Las células somáticas serán producidas genética, estructural y funcionalmente idénticas a la célula madre sin que haya sufrido algún rearrreglo cromosómico, para que esto se lleve a cabo la célula dirige un complejo de procesos citoplasmáticos y nucleares (Lomanto *et al.*, 2003). La duración de un ciclo celular varía entre especies y entre distintos tejidos de las especies, ya que la división celular también es requerida para reemplazar células que fueron perdidas por muerte celular programada, por un mal funcionamiento o algún daño (Lomanto *et al.*, 2003).

La división celular consta de dos fases: la primera fase se conoce como interfase, en la cual la célula no se divide y se lleva a cabo el crecimiento celular, con la célula duplicando todos sus organelos y moléculas. La interfase está integrada por tres fases, la fase G1, fase S y fase G2, en las cuales se realiza el crecimiento y metabolismo normal de la célula, la síntesis de ADN y de histonas, y la síntesis de proteínas, respectivamente (Angulo *et al.*, 2012; Figura 2); la segunda fase M, en la cual se llevan a cabo la mitosis y la citocinesis (Angulo *et al.*, 2012; Figura 2), las cuales se describen a continuación.

Se cumple la función de que los cromosomas duplicados se distribuyan en dotaciones completas para cada célula, esta distribución se da gracias al estado de condensación de los cromosomas durante la mitosis, junto con el ensamblaje de los microtúbulos, denominado huso mitótico. En la fase mitótica se activa un complemento único de genes, codificando proteínas que actúan solamente en la mitosis, y desapareciendo en otras fases del ciclo celular (Sánchez y Trejo, 2006).

En la profase se da un enrollamiento de las hebras de cromatina, llamado condensación, dándole una forma gruesa y corta a estas hebras, una vez formada la condensación de todo el material genético (ADN) que se encuentra en forma de cromátida, se les puede denominar cromosomas (Lomanto *et al.*, 2003). También se da lugar al desarrollo bipolar del huso mitótico, la envoltura nuclear se rompe, el nucleolo y el nucleosoma se disuelven, y los centriolos se mueven hacia los polos opuestos de la célula, y comienza la formación del huso mitótico, gracias a un complejo de microtúbulos (centriolos, asteres y huso acromático) llamado aparato mitótico que permite la migración de los cromosomas (Sánchez y Trejo, 2006).

La prometafase es la encargada de que los microtúbulos del huso mitótico puedan acomodarse en la región nuclear, y a estos se unan los cinetocoros que maduran en el centrómero, produciendo que exista una tensión en los cromosomas (Lomanto *et al.*, 2003). En esta fase, las cohesinas se desintegran de los brazos de las cromátidas hermanas, uniendo la región centromérica (Angulo *et al.*, 2012).

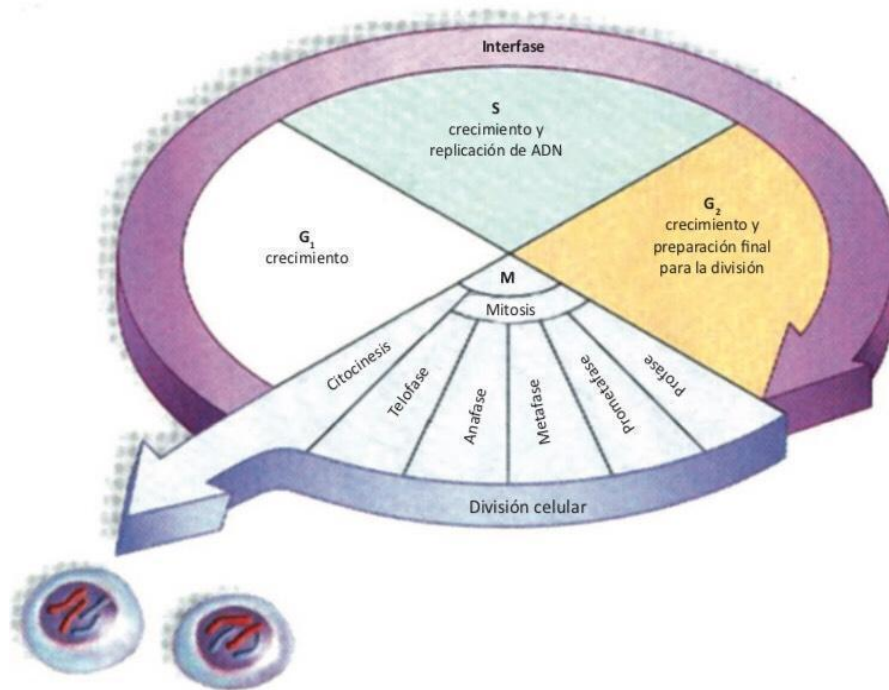
En metafase, se observa la aparición del huso acromático, en donde se ubican los cromosomas alineándose en el punto medio entre los polos de la célula o placa metafásica, con una estructura más gruesa. Constando de dos cromátidas que serán unidas por el centrómero, alcanzando una alta condensación. Una de las dos cromátidas de cada cromosoma se unirá por su cinetocoro a los microtúbulos de un polo y su cromátida hermana a los microtúbulos del polo opuesto. El huso mitótico cuenta con dos tipos de microtúbulos: los polares y los cinetocóricos. Los polares, también reciben el nombre de no-cinetocóricos, estos no están unidos a los cinetocoros de los cromosomas y sólo se extienden de cada polo de la región ecuatorial, donde se

superponen entre los cromosomas, y los cinetocóricos que se extienden de cada polo si se unen a los cinetocoros de los cromosomas (Sánchez y Trejo, 2006).

Al detener la división celular en esta fase, las cromátidas se encuentran completamente condensadas, gracias a esto, se logra distinguir con mayor exactitud la constitución y particularidades de los cromosomas de la célula de una especie, determinando su número y morfología (Ortega *et al.*, 2018).

En anafase, una vez que los cinetocoros apareados se dividen, cada una de las cromátidas se desliza hacia un polo opuesto del huso mitótico, guiándose por los microtúbulos, los cromosomas toman forma de “V” con el vértice mirando al polo, en el que se encuentra el cinetocoro, y la fase termina cuando todos los cromosomas llegan a los polos y los microtúbulos se despolarizan (Angulo *et al.*, 2012).

La telofase es de gran importancia, ya que, en esta fase, se da una invaginación en la membrana plasmática y el huso mitótico se desorganiza, después de que se haya reconstruido la cromátida, el nucleolo y la envoltura nuclear que se forma alrededor de cada una de las dotaciones cromosómicas, los cuales recuperan una vez más su forma difusa al desenrollarse. Por último, dando lugar a la citocinesis, creándose una nueva membrana celular después de la producción de los núcleos hijos, formando un surco de escisión indentado, dividiendo la célula original en dos células hijas (Sánchez y Trejo, 2006).



**Figura 2.** Representación del ciclo celular, mostrando la interfase; G<sub>1</sub>, S y G<sub>2</sub> y fase M; mitosis y citocinesis (Angulo *et al.*, 2012).

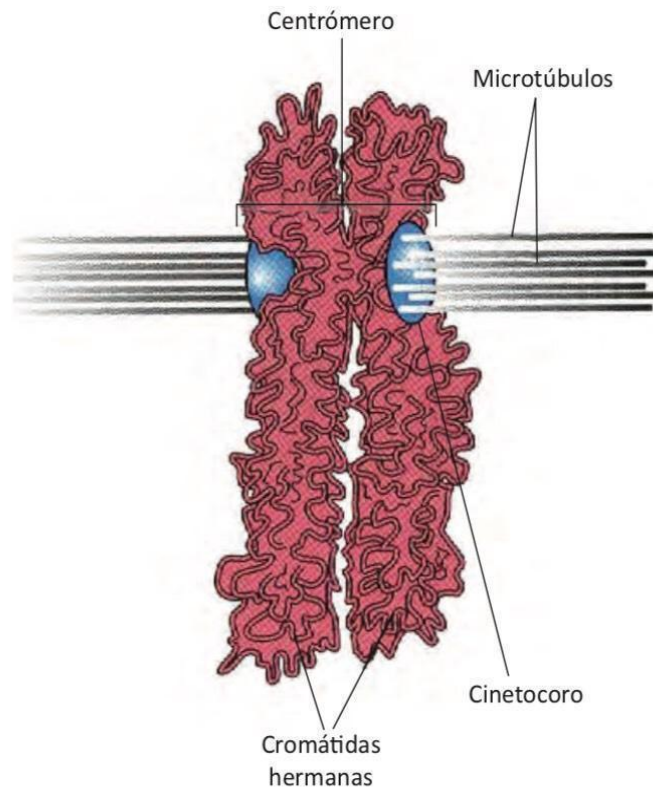
## 1.2 Diferenciación estructural cromosómica

Los cromosomas son estructuras nucleares en forma de bastón que son el resultado de una condensación de la cromatina durante el proceso celular de la mitosis (ver párrafos anteriores) que reparte equitativamente el material genético a las células hijas (Lomanto *et al.*, 2003).

Las cromátidas hermanas, es decir, cada una de las hebras de DNA duplicadas se unen al centrómero, y en el caso de los fragmentos cromosómicos que carezcan de un centrómero, no se unen al huso mitótico y por consiguiente no aparecen en los núcleos de cualquiera de las células hijas (Earnshaw y Leammli, 1983).

El centrómero tiene una función muy importante durante la mitosis, es el punto de unión de dos cromátidas, que en su estructura incluye al cinetocoro con una forma de disco,

zona que se asocia con los microtúbulos del huso acromático durante la división celular (Angulo *et al.*, 2012; Figura 3).

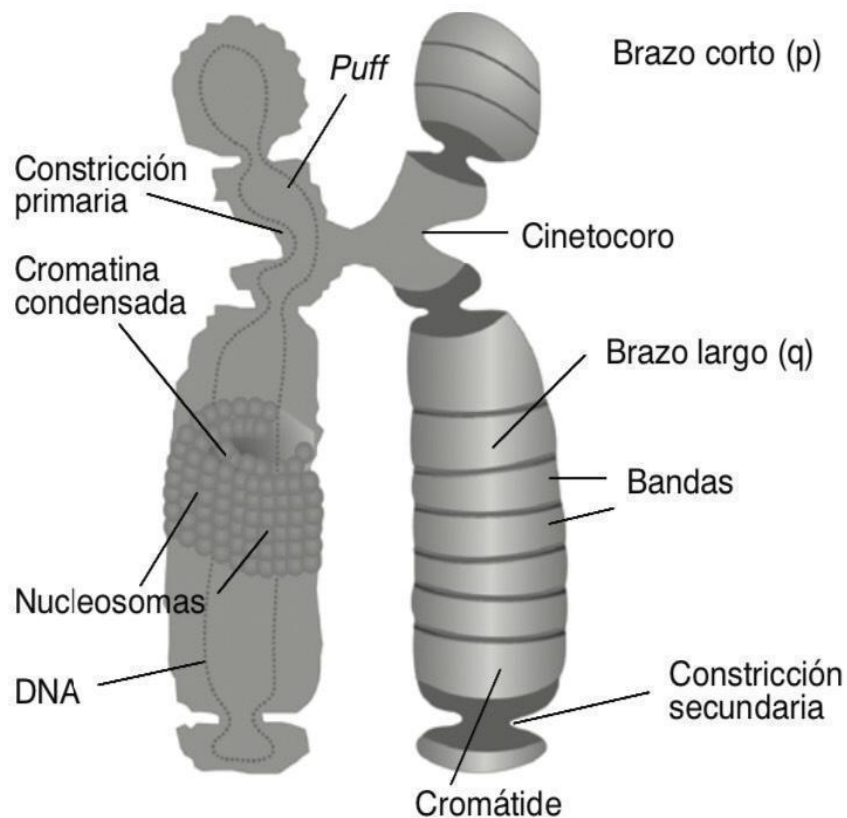


**Figura 3.** Unión de los microtúbulos al cinetocoro (Angulo *et al.*, 2012).

Los telómeros se encuentran en los extremos de los cromosomas y están formados por ADN no codificante con secuencias mesuradamente largas (de 100 a 300 kilobases kb) de repeticiones en tándem de una secuencia simple de hexanucleótido (TTAGGG), cuya función es asegurar que la replicación del ADN sea completa gracias a la telomerasa, cuidar la integridad y estabilidad estructural del cromosoma y colocar al cromosoma en el núcleo (Aguilar, 2019).

El cariotipo de una especie contiene un número diploide ( $2n$ ) que representa el número total de cromosomas, un número fundamental (NF) que representa el número de brazos de los autosomas.

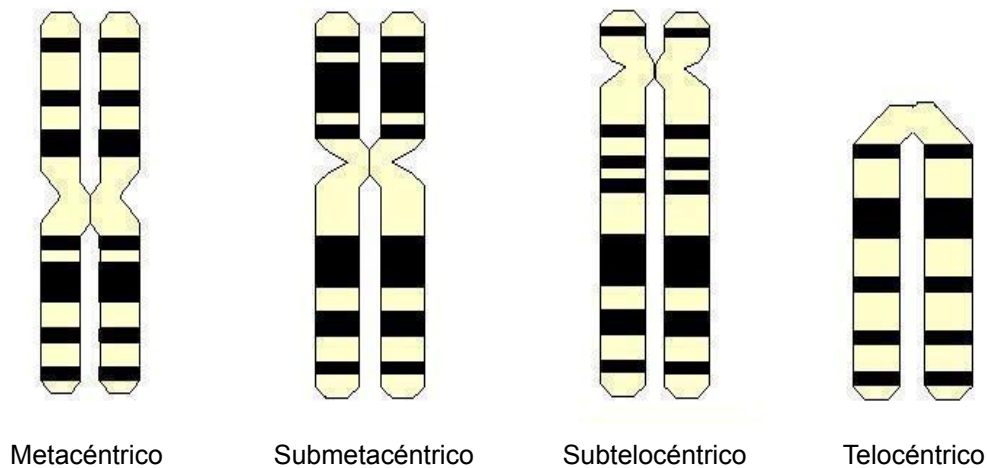
El cromosoma presenta una morfología específica, que en su estructura contiene un centrómero que lo divide en dos brazos que pueden tener una longitud igual o diferente (birrámeo) o de un solo brazo (monorrámeo), donde el brazo corto es representado con una “p” y se encuentra en la parte superior del cromosoma, y el brazo que es largo es representado con una “q”, que se encuentra en la parte inferior del cromosoma (Levan *et al.*, 1964; Sánchez y Trejo, 2006; Figura 4).



**Figura 4.** Morfología del cromosoma (Sánchez y Trejo, 2006).

Su morfología se puede diferenciar mejor en la etapa de metafase, ya que la condensación de los cromosomas es máxima. Según la ubicación del centrómero los cromosomas se pueden clasificar en cuatro tipos (Levan *et al.*, 1964; Saavedra, 2020; Figura 5).

- Metacéntrico (m): El centrómero se encuentra en una posición central, en donde los brazos “p” y “q” son casi del mismo tamaño.
- Submetacéntrico (sm): El centrómero se encuentra ligeramente separado del centro, provocando que el brazo corto “p” sea de menor longitud que el brazo largo “q”.
- Subtelocéntrico (st): El centrómero está cerca a uno de los extremos, provocando que el brazo corto “p” sea muy reducido y el brazo largo “q” sea más grande.
- Telocéntrico (t=a): El centrómero está localizado en uno de los extremos, finalizando al cromosoma, apareciendo solo el brazo largo “q”.



**Figura 5.** Clasificación de los cromosomas según la posición del centrómero (modificado de Saavedra, 2020).

Levan *et al.* (1964) proponen un sistema de clasificación que se basa en la posición del centrómero, que se puede calcular mediante una fórmula del índice centromérico, utilizando la longitud de los brazos cromosómicos (el brazo corto “p” y el brazo largo “q”), indicando la región en que se ubica el centrómero, puntualizando si el cromosoma es metacéntrico, submetacéntrico, subtelocéntrico y telocéntrico (Tabla 1).

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

**IC = Índice Centromérico**

**q = Longitud del brazo largo**

**p = Longitud del brazo corto**

**Tabla 1.** Nomenclatura de los cromosomas basándose en la posición del centrómero (Levan *et al.*, 1964).

Nomenclatura	IC
M	50.0
m	47.5
	45.0
	42.5
	40.0
	37.5
sm	35.0
	32.5
	30.0
	27.5
	25.0
st	22.5
	20.0
	17.5
	15.0
	12.5
t	10.0
	7.5
	5.0
	2.5
T	0.0

IC= Índice centromérico

m= metacéntrico sm= submetacéntrico st= subtelocéntrico t= telocéntrico

### **1.3 Cariotipo e ideograma**

El cariotipo de un individuo se define como el conjunto de características de los autosomas y los cromosomas sexuales, como su organización, número total de cromosomas, su tamaño y posición del centrómero o constricción primaria (Puerto, 2001). El ideograma es una representación esquemática mediante un dibujo a escala, que actúa como un mapa citogenético en el que se puede observar el centrómero y la presencia de satélites, brindando una representación de los cromosomas (Lacadena, 1996).

### **1.4 Técnicas en citogenética**

En mamíferos pequeños la obtención de cromosomas se realiza utilizando un inhibidor mitótico, el cual inhibe la formación del huso mitótico y retrasa la separación de los centrómeros, por ejemplo, la colchicina (Sánchez *et al.*, 2015). La colchicina es un antimitótico que detiene la mitosis en metafase, y aunque es muy utilizada en estudios citogenéticos, también se puede sustituir por colcemida que es una sustancia sintética con una acción similar (Silva *et al.*, 1991).

Según Baker *et al.* (1982), utilizar inhibidores mitóticos permite obtener un buen aumento del número de células en estado de metafase, se debe inhibir la división celular en esta etapa, ya que en este estado es más fácil estudiar los cromosomas. Posteriormente se obtiene la médula ósea del húmero y el fémur, ya que son huesos largos que permiten que se facilite el procedimiento, cortando las porciones terminales de la epífisis e inyectando una solución hipotónica para obtener el material celular (Pérez *et al.*, 2006).

En la década de los 60 se crearon técnicas de tinción que facilitaban la identificación total de los pares cromosómicos, así como la identificación de alteraciones estructurales (Silva *et al.*, 1991). Caspersson *et al.* (1970), realizaron observaciones de colorantes fluorescentes como es la Quinacrina, que al teñir los cromosomas metafásicos produjeron bandas pálidas y brillantes, creándose así, con este descubrimiento,

protocolos que se utilizan en la actualidad para obtener diferentes tipos de bandeo. El descubrimiento de estas técnicas que producen patrones de bandeo en los cromosomas forma parte de los acontecimientos más importantes en la citogenética, ya que ayudan en la creación de cariotipos, y con ello se facilite identificar rearrreglos cromosómicos, como deleciones, translocaciones, duplicaciones o inversiones en los cromosomas (Caspersson *et al.*, 1970).

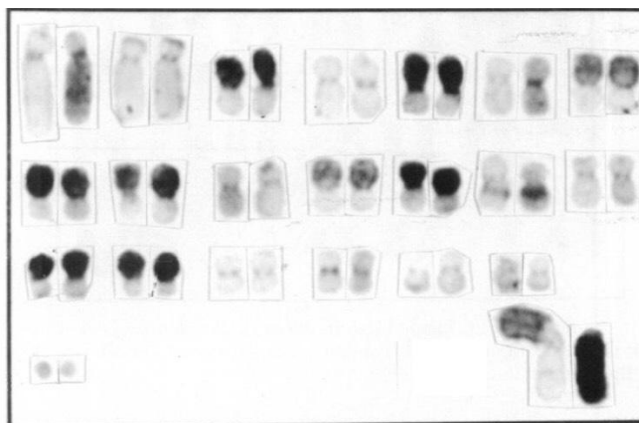
Las bandas cromosómicas G y Q se relacionan con la constitución de bases del ADN en las regiones bandeadas que contienen regiones ricas en adenina y timina (A-T) y replican el ADN en un estadio más tardío de la fase S del ciclo celular. Basadas en tratamientos enzimáticos que esclarecen diferentes patrones de bandas de la eucromatina a lo largo del cromosoma (Sánchez *et al.*, 2015).

En el caso de las bandas cromosómicas G, estas permiten identificar las regiones de eucromatina (Robbins y Baker, 1980; Figura 6). Esto es posible utilizando como tratamiento a la Tripsina y posteriormente la tinción con Giemsa-Wright (Schreck y Disteché, 2001), mostrando bandas claras que son secuencias ricas en guanina y citosina, conteniendo ADN con muchos genes y bandas oscuras que son regiones heterocromáticas ricas en A-T encontrándose altamente condensada y que contienen ADN compuesto por muy pocos genes (Solari, 2011).



**Figura 6.** Regiones de eucromatina, por bandeo cromosómico G en *Reithrodontomys megalotis* (Robbins y Baker, 1980).

En el caso de las bandas cromosómicas C, indican la heterocromatina constitutiva que se distribuye regularmente en las regiones centroméricas y en algunos cromosomas en los telómeros. La técnica de bandeo cromosómico C se lleva a cabo con un tratamiento de hidróxido de bario, el cual degrada ADN cromosómico y lo extrae selectivamente de la eucromatina (Rodríguez y Portieles, 2003) y tiñendo con Giemsa se logran crear tinciones selectivas en la heterocromatina constitutiva, donde estas bandas por lo regular aparecen en el centrómero (Robbins y Baker, 1980; Figura 7).



**Figura 7.** Regiones de cromatina constitutiva, por bandeo cromosómico C en *Reithrodontomys megalotis* (Robbins y Baker, 1980).

## 1.6 Variaciones cromosómicas

Los cariotipos de las especies actuales de mamíferos son muy variados, esto lleva a la conclusión de que el desarrollo de diversificación evolutiva va de la mano con alteraciones morfológicas en los cromosomas. Bandeos cromosómicos G permiten identificar posibles rearrreglos cromosómicos. Distintos tipos de rearrreglos cromosómicos, como traslocaciones, inversiones, deleciones, duplicaciones y cambios en la heterocromatina son algunas de las más importantes en la evolución de los cariotipos. Sus cambios cuantitativos más frecuentes son adiciones de heterocromatina en la región centromérica o en los brazos cromosómicos (Pérez *et al.*, 2006).

Las traslocaciones son el salto de un segmento cromosómico a otro cromosoma no homólogo, existen dos tipos de traslocación, puede ser recíproca o no recíproca. En la traslocación recíproca dos cromosomas intercambian segmentos, mientras que en la traslocación no recíproca sólo un segmento de un cromosoma se traslada a otro (Griffiths *et al.*, 1999).

Las inversiones son de las alteraciones más comunes en los cariotipos de los mamíferos y se diferencian por ser giros de 180° de fragmentos cromosómicos que pueden ser pericéntricas o paracéntricas. En las inversiones paracéntricas el giro de 180° no incluye al centrómero y las rupturas ocurren en uno u otro brazo del cromosoma (Pérez *et al.*, 2006). En inversiones pericéntricas el giro de 180° incluye al centrómero y según su tamaño afectado, un cromosoma metacéntrico puede convertirse en telocéntrico o viceversa, ya que las rupturas ocurren cada una en un brazo diferente del cromosoma (Ortega *et al.*, 2018).

Las deleciones son anomalías en las que existe la ausencia de algún segmento de un cromosoma, este segmento puede ser intersticial o terminal (Biocare Medical México, 2021).

Las duplicaciones son rearrreglos cromosómicos en las que se encuentra repetido un segmento de un cromosoma y por consiguiente existe más de una copia de ese segmento dentro del cromosoma (Martínez, 2016).

Una inserción es un tipo de rearrreglo cromosómico que genera más de dos rupturas cromosómicas, involucrando la ruptura y el rearrreglo de un fragmento dentro del mismo u otro cromosoma, es decir, que se adicionan uno o más nucleótidos en un segmento de ADN, la inserción puede implicar desde uno o hasta grandes cantidades de nucleótidos, incluso la parte completa de un cromosoma (Ortega *et al.*, 2018).

Las fusiones son uniones de cromosomas no homólogos con la pérdida del centrómero en uno de ellos, actualmente llamados dicéntricos, los cuales son inestables e implican pérdida de material genético (Medline, 2021).

## 1.7 Biología de *Reithrodontomys*

El género *Reithrodontomys* es un grupo de roedores perteneciente a los Peromyscinos y presenta 21 especies, de las cuales ocho se distribuyen por Estados Unidos y Canadá y 13 se distribuyen en México y tres de ellas son endémicas (Musser y Carleton, 1993). Investigadores han demostrado que existe una gran diferenciación genética y morfológica que hace delimitar a las especies pertenecientes a *Reithrodontomys*. Los marcadores morfológicos y moleculares son de gran importancia para estudios sistemáticos, sin embargo, los estudios citogenéticos realizados en las especies demuestran que los datos cromosómicos no coinciden con la organización que se le ha asignado de acuerdo con su morfología. Investigadores mexicanos y de otros países del mundo, han realizado importantes aportaciones, junto con distintas herramientas como métodos explícitos de inferencia filogenética, nuevas estrategias para la colecta de especímenes, técnicas moleculares y citogenéticas, entre otras, que permiten obtener conocimiento de la mastofauna y diversidad biológica de nuestro país (Arellano *et al.*, 2006).

## 1.8 Clasificación taxonómica de la especie en estudio, según Ramírez-Pulido *et al.*, 2014.

**Reino:** Animalia

**Phylum:** Chordata

**Clase:** Mammalia

**Orden:** Rodentia

**Familia:** Cricetidae

**Subfamilia:** Cricetinae

**Tribu:** Hesperomyini

**Género:** *Reithrodontomys*

**Especie:** *Reithrodontomys megalotis* (Baird, 1858)

### 1.9 Biología de *Reithrodontomys megalotis* (Baird, 1858)

El nombre común de *Reithrodontomys megalotis* es ratón cosechero común (Stuart, 2011; Figura 8). Su nombre *megalotis*, se refiere a “Oreja grande” en latín. Es una especie perteneciente a la familia Cricetidae y es el roedor más abundante en zonas húmedas (Cervantes, 1987). *Reithrodontomys megalotis* cuenta con 16 subespecies, de las cuales, cinco se distribuyen en México (Hall, 1981).

Existe una gran variabilidad en la morfología de la especie *R. megalotis*, la anchura del encéfalo puede ser igual o menor de 10.7 mm y el tercer molar siempre se encontrará incompleto, es decir, no se encuentra bien desarrollado en comparación con otras especies como *R. fulvescens* y *R. hirsutus* que tienen el tercer molar bien desarrollado, y la cola de *R. megalotis* es bicolor (Hooper, 1952).



**Figura 8.** *Reithrodontomys megalotis* (Stuart, 2011).

## 2.0 Morfología

*Reithrodontomys megalotis* es un roedor de tamaño muy pequeño en comparación con otros roedores, midiendo de 55 a 180 mm de largo, con una cola de longitud más grande que la del cuerpo, con la presencia de muy poco pelo en todo su cuerpo, presentando seis tubérculos en las patas traseras y distinguiéndose de los Peromyscinos por presentar un surco longitudinal al centro de los dientes incisivos superiores (Hooper, 1952).

Se ha encontrado que existe una variación cuantitativa y cualitativa entre hembras y machos. Las hembras presentan tres pares de mamas, dos inguinales y un par pectoral. Los machos presentan las glándulas de Cooper bien desarrolladas, así como también las glándulas vesiculares y ampulares, y cuatro pares de glándulas ventrales prostáticas y sin la presencia de glándulas prepuciales (Webster y Jones, 1982).

La coloración del pelaje se puede distinguir dependiendo de algunos factores, por ejemplo, en zonas bajas podemos encontrar a especies con coloración clara y en zonas más altas a especies con el pelaje más oscuro (Hooper, 1952).

Su medida craneal es longitud mayor de 19.5 – 23.8 mm, con caja craneal redondeada y lisa. La anchura cigomática de 10.1 – 11.6 mm, el arco cigomático delgado y presentando placas cigomáticas anchas. Constricción interorbital de 2.9 – 3.3 mm; agujero incisivo de 4.1 – 4.8 mm e hilera superior de dientes de 3.0 – 3.6 mm (Webster y Jones, 1982).

## 2.1 Distribución

La distribución de la especie *Reithrodontomys megalotis* abarca desde el suroeste de Canadá pasando por el este de California e Indiana (invadida actualmente por especies del género *Reithrodontomys*), cruzando México hasta el sur (Hooper, 1952; International Union for Conservation of Nature, 2021; Figura 9).



**Figura 9.** Distribución de *Reithrodontomys megalotis* (International Union for Conservation of Nature (IUCN), 2021).

## 2.2 Hábitat

*Reithrodontomys megalotis* puede compartir hábitat con otras especies del mismo género, a excepción de *R. ventris* y *R. montanus* de quienes está separado ecológicamente. Habita alrededor de cultivos agrícolas y entre la maleza que crece en ella misma, así como en hierba que crece entre la vegetación (Webster y Jones, 1982).

Se puede encontrar en zonas de marismas, desérticas y bosques de pino y encino, con pastizales libres de vegetación y en zonas de cultivo (Villa y Cervantes, 2003). También comparte hábitat con algunas subespecies que habitan en los desiertos y en los bosques de pino y roble. Se ha reportado que hacen sus nidos en forma circular o elíptica hasta con un diámetro de un metro en el suelo debajo de troncos, ramas, arbustos y maleza (Hooper, 1952).

### **2.3 Estado de conservación**

Actualmente *Reithrodontomys megalotis* no se encuentra como especie amenazada en la NOM-059-2010 de la SEMARNAT (2010). En la IUCN (2016) se presenta en la categoría de preocupación menor.

### 3. ANTECEDENTES

Urbina *et al.*, (2007) realizaron el análisis cromosómico de *R. megalotis* en cuatro localidades del estado de Puebla: Alhuaca, El Rancho, El Durazno y Cuahutlamingo.

De la localidad de Alhuaca que se sitúa en el municipio de Vicente Guerrero, Puebla, se analizaron dos ejemplares de *Reithrodontomys megalotis*, presentando el primer cariotipo un  $2n=40$  y un  $NF=76$ , con 14 pares metacéntricos, cinco pares submetacéntricos, el cromosoma X submetacéntrico y el cromosoma Y fue subtelocéntrico. En el segundo cariotipo se presentó un cariotipo con un  $2n=42$  y un  $NF=80$ , con siete pares metacéntricos, 10 pares submetacéntricos, tres pares subtelocéntricos, el cromosoma sexual X y el cromosoma sexual Y fueron subtelocéntricos.

En la localidad El Rancho que se encuentra en el municipio de Ahuazotepec, Puebla, *Reithrodontomys megalotis*, presentó un cariotipo que cuenta con un  $2n=42$  y un  $NF=80$ , con 14 pares metacéntricos, tres pares submetacéntricos, tres pares subtelocéntricos, el cromosoma X y el cromosoma Y fueron subtelocéntricos.

En el sitio El Durazno, el cual pertenece al municipio de Nopalucan, Puebla, *Reithrodontomys megalotis*, presentó un cariotipo que cuenta con un  $2n=42$  y un  $NF=80$ , con 12 pares metacéntricos, cinco pares submetacéntricos, tres pares subtelocéntricos, el cromosoma sexual X subtelocéntrico y el cromosoma sexual Y fue submetacéntrico.

En Cuahutlamingo, perteneciente al municipio de Tlatlauquitepec, Puebla, *Reithrodontomys megalotis*, presentó un cariotipo con un  $2n=44$  y un  $NF=80$ , con 13 pares metacéntricos, cuatro pares submetacéntricos, tres pares subtelocéntricos, un par telocéntrico, el cromosoma X subtelocéntrico y el cromosoma Y fue submetacéntrico.

De acuerdo con lo reportado por Roth (1972), los primeros fósiles encontrados de *Reithrodontomys fulvescens* en cuevas de la meseta Edwards del centro de Texas, pertenecen al Pleistoceno tardío, periodo en el que ocurrió un evento de especiación simpátrica con *Reithrodontomys megalotis*. Asimismo, Hibbard y Taylor (1960), han reportado que los fósiles más antiguos de *R. megalotis*, se han encontrado en Cragin Quarry, Kansas, también pertenecientes al Pleistoceno tardío. Proponiendo que el Medio Oeste fue de donde se diversificaron algunas especies del género *Reithrodontomys*.

Baker y Mascarello, (1969) sugieren que la condición para que un cariotipo sea primitivo, es que su número diploide debe oscilar entre 48-52, consistiendo de la mayoría de autosomas acrocéntricos. Carleton y Myers (1979) proponen, que la variación cromosómica que se da en el género *Reithrodontomys*, fue producida por reordenamientos cromosómicos, dando lugar a cromosomas birrámeos, que según Baker *et al.* (1979) son resultantes de inversiones pericéntricas.

Robbins y Baker (1980) realizaron el cariotipo y el bandeo cromosómico C y G de *Reithrodontomys megalotis* en Ellis, Kansas, reportando que presenta un  $2n=42$  y un  $NF=80$ , con 14 pares metacéntricos, cuatro pares submetacéntricos, dos pares subtlocéntricos, el cromosoma sexual X submetacéntrico y el cromosoma sexual Y fue subtlocéntrico. Al realizar el bandeo cromosómico C, los pares cromosómicos 3, 5, 8, 9, 12, 15 y 16, presentaron en mayor proporción heterocromatina constitutiva en el centrómero de los autosomas y los pares cromosómicos 1, 2, 4, 6, 7, 10, 13, 14, 17, 18, 19 y 20, presentaron en menor proporción heterocromatina constitutiva en el centrómero de los autosomas. De los resultados del bandeo cromosómico G, obtuvieron que los pares cromosómicos del 3 al 20, contienen de 2 a 3 bandas de eucromatina y los pares cromosómicos 1 y 2 contenían seis bandas de eucromatina. Según Robbins y Baker (1980) *Reithrodontomys fulvescens* es la especie más primitiva del género, dando como resultado un  $2n=50$ , a esto, de acuerdo con su trabajo realizado, sugieren que, para que *Reithrodontomys megalotis* pudiera obtener un cariotipo igual al de *R.*

*fulvescens*, tuvo que haber pasado por 20 eventos (nueve adiciones de heterocromatina constitutiva, cuatro translocaciones y siete inversiones pericéntricas).

Blanks y Shellhammer (1968) reportaron que *Reithrodontomys megalotis* de Monterey, California, presenta un  $2n=42$  y un  $NF=80$ , con nueve pares metacéntricos, ocho pares submetacéntricos y tres pares subtelocéntricos, el cromosoma sexual X fue submetacéntrico y el cromosoma sexual Y fue subtelocéntrico.

Shellhammer (1967) colectó ejemplares de *Reithrodontomys megalotis* en San Francisco, California, reportando un  $2n=44$  y un  $NF=84$ , presentando 21 pares birrámeos, el cromosoma sexual X resultó ser submetacéntrico y el cromosoma sexual Y fue telocéntrico.

Matthey (1961) reportó que *Reithrodontomys megalotis* de San Francisco, California, presentando un  $2n=44$  y un  $NF=84$ , presentando 21 pares birrámeos, el cromosoma sexual X fue submetacéntrico y el cromosoma sexual Y fue telocéntrico.

#### 4. JUSTIFICACIÓN

Ejemplares de *Reithrodontomys megalotis* con distinta distribución geográfica, han presentado un número diploide y un número fundamental diferente, esto puede variar por distintos factores. Siendo la primera investigación citogenética en Tlaxcala de *Reithrodontomys megalotis*, el presente estudio contribuye a conocer más acerca de su genética, así como determinar sus variaciones y complemento cromosómicos, ya que no todas las especies del género *Reithrodontomys* han sido estudiadas a nivel genético, pese a que los roedores pertenecen al grupo más abundante de mamíferos.

## 5. HIPÓTESIS

Si trabajos realizados en localidades de Puebla, en distintos estados de la República Mexicana y en Estados Unidos, han encontrado cambios en la morfología cromosómica de la especie *Reithrodontomys megalotis*. Entonces se espera conocer más sobre el complemento cromosómico e identificar si existen variaciones cromosómicas entre las poblaciones de *Reithrodontomys megalotis* con las del presente trabajo realizado en San Diego Metepec, Tlaxcala.

## 6. OBJETIVO

### 6.1 Objetivo general

Obtener el cariotipo de *Reithrodontomys megalotis* de San Diego Metepec, Tlaxcala.

### 6.2 Objetivos específicos

Describir e interpretar el cariotipo de *Reithrodontomys megalotis* de San Diego Metepec, Tlaxcala.

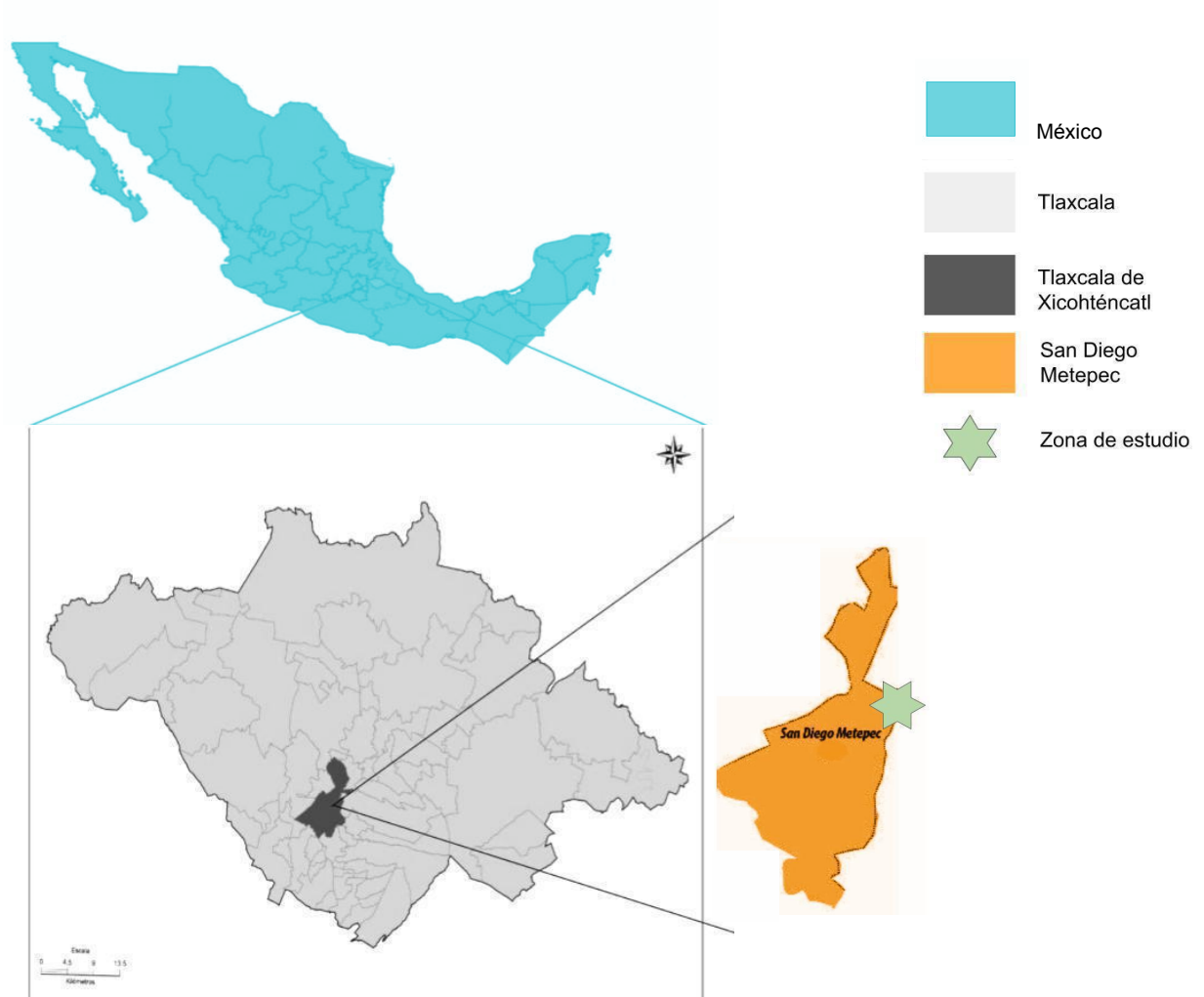
Realizar el ideograma de *Reithrodontomys megalotis* de San Diego Metepec, Tlaxcala.

Comparar el cariotipo de *Reithrodontomys megalotis* de San Diego Metepec, Tlaxcala con otras poblaciones.

## 7. METODOLOGÍA

### 7.1 Área de estudio

Localidad de San Diego Metepec, perteneciente al municipio de Tlaxcala de Xicohtencatl, que se encuentra en el estado de Tlaxcala, México (Figura 10).



**Figura 10.** San Diego Metepec, Tlaxcala.

### **7.1.1 Extensión y Orografía**

La localidad de San Diego Metepec se encuentra a 5.1 km de Tlaxcala de Xicohtencatl, que es la capital del municipio que recibe el mismo nombre. La localidad se encuentra a una altura de 2300 metros sobre el nivel del mar y cuenta con una población aproximada de 3500 habitantes. El municipio de Tlaxcala, Xicohtencatl está integrado por 12 localidades y 9 delegaciones, representa el 0.2 % de superficie del país de México y se encuentra entre las coordenadas 19° 43' 44" y 19° 06' 18" de latitud norte y entre los 97° 37' 32" y 98° 42' 30" de longitud oeste. Tlaxcala colinda al norte, este y sur con Puebla, al oeste con el Estado de México y al noroeste con el estado de Hidalgo (INEGI, 2017).

Su territorio es principalmente plano ya que pertenece al Valle de Puebla-Tlaxcala y con relieves al norte en donde podemos encontrar el Cerro Ostos de 2460 metros sobre el nivel del mar y el Cerro Tepepan de 2320 metros sobre el nivel del mar y cuenta con una topografía de meseta (INEGI, 2017).

### **7.1.2 Geología y Edafología**

San Diego Metepec, presenta una geología Ts (Igei), que quiere decir ígnea extrusiva, a esto se refiere, que las rocas ígneas son resultado de eventualidades volcánicas, las de tipo extrusiva hacen referencia a casos en los que el enfriamiento se dio de manera acelerada sobre la superficie terrestre. Un 60% de la cobertura superficial del suelo de la zona en estudio es de tipo cambisol, y, por otro lado, el 40% es de tipo leptosol, la textura del suelo es de tipo media. Cabe mencionar que los suelos leptosoles son aptos principalmente para agricultura de agaves y para el desarrollo urbano (Actualización del Programa Parcial de Desarrollo Urbano Metepec, 2021).

### **7.1.3 Fauna**

En el matorral se puede encontrar a la liebre de cola negra, al coyote, a la paloma de alas blancas, cacomixtles, zorrillos, halcones, conejos y víboras de cascabel. En el

bosque se encuentran especies como *Pseudoeurycea bellii*, *Litoria caerulea*, *Meles meles*, *Coturnix coturnix* y diferentes especies de quirópteros, esciúridos y urodela, y en ambientes acuáticos se localizan *Lithobates heckscheri* y *Cyprinus carpio* (INEGI, 2017).

#### **7.1.4 Flora**

Por el tipo de clima que existe en el municipio se encuentran en las zonas muy húmedas matorrales y pastizales, así como los bosques que predominan, como lo son el de encinos, coníferas y en las zonas más altas de los volcanes, por debajo de las nieves perpetuas, se encuentra la pradera de alta montaña (INEGI, 2017).

#### **7.1.5 Clima**

Se ha registrado en la localidad de San Diego Metepec, Tlaxcala, un clima templado subhúmedo con lluvia de verano. La temperatura promedio es de 16.9°C con una mínima de 7.2°C y una máxima de 24.3°C. Con una precipitación pluvial anual promedio de 885.6 mm, con una mínima precipitación al mes más seco a 697.7 mm y con una máxima precipitación al mes más lluvioso a 1 062.1 mm (INEGI, 2017).

La agricultura ocupa en el municipio de Tlaxcala, Xicohtencatl, un 74% y se practica por lo regular de forma temporal. El clima templado subhúmedo que caracteriza a la región favorece el desarrollo de diversos cultivos como lo son el maíz, haba, frijol, espinaca, amaranto, alfalfa, lechuga, ajo, cebolla y col, entre otros (INEGI, 2017).

### **7.2 Trabajo de campo**

Los ejemplares se colectaron en la localidad de San Diego Metepec, Tlaxcala, con coordenadas geográficas de latitud N 19° 17' 36.6" y longitud O 98° 14' 52.079" donde se realizó un transecto, en el cual se colocaron 30 trampas Sherman, cada una separada por 10 metros, en las que se les puso como cebo hojuelas de avena con vainilla (Figura 11).

Las trampas Sherman se quedaron toda la noche en el lugar de estudio, y al día siguiente por la mañana se recogieron todas las trampas y se identificaron los ejemplares recolectados. Se tomaron datos del sitio de muestreo, como lo son, las coordenadas geográficas, la localidad, la altitud y las fechas de colecta.

Se obtuvieron dos ejemplares machos de *Reithrodontomys megalotis*. Posteriormente los ejemplares fueron trasladados al laboratorio de mastozoología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la BUAP para su estudio.



**Figura 11.** Área de muestreo en San Diego Metepec, Tlaxcala.

### **7.3 Trabajo de laboratorio**

A cada uno de los ejemplares se les determinó el sexo y se pesaron en una balanza tipo pesola. Posteriormente se les inyectó intraperitonealmente 0.1 ml de colchicina a una concentración de 0.004% por cada 10 gr de peso a cada ejemplar, con la finalidad de inhibir el huso acromático y así detener la mitosis en etapa de metafase. Dejando actuar el inhibidor mitótico durante 35 minutos.

Transcurrido el tiempo cada uno de los ejemplares se sacrificó por dislocación cervical y se le midió la longitud total, longitud de la cola, longitud de la pata y de la oreja. Una vez tomadas las medidas de los especímenes, a cada organismo se le extrajeron los fémures y las tibias, retirando el músculo de los huesos por completo y cortando las epífisis en el extremo proximal.

#### **7.3.1 Extracción de médula ósea**

Mediante la técnica propuesta por Lee (1969) y Baker y Qumsiyeh (1988), de los huesos retirados del ejemplar, se extrajo la médula ósea con la ayuda de una jeringa de 3 ml con solución hipotónica dejando caer la médula ósea en tubos de centrifuga de 15 ml que contenían solución hipotónica de KCl 0.075 M a 37°C provocando una osmosis de agua que entra a la célula, hinchándose y aumentando su volumen, a su vez haciendo que los cromosomas floten en su interior.

El material celular se resuspendió suavemente con una jeringa nueva hasta producir una suspensión celular homogénea, aplicando más solución hipotónica a los tubos de centrifuga hasta alcanzar un volumen de 5 ml. Inmediatamente los tubos de centrifuga se incubaron durante 40 minutos a una temperatura de 37°C.

#### **7.3.2 Obtención de material cromosómico**

Al haber transcurrido el tiempo de incubación, el material celular se centrifugó a 800 rpm durante 8 minutos, una vez centrifugado el material celular, se eliminó el

sobrenadante de solución hipotónica KCl 0.075 M con la ayuda de una pipeta Pasteur sin tocar el botón celular, dejando solución en la misma proporción que el botón celular.

A continuación, a cada tubo se le añadió 5 ml de solución fijadora de Carnoy (metanol-ácido acético en proporción 3:1) aplicándolo lentamente por las paredes del tubo con la ayuda de una pipeta Pasteur hasta llegar a un volumen de 5 ml para fijar las células.

La solución fijadora Carnoy se preparó 30 minutos antes de ser utilizada para evitar su hidratación. Después de realizar dicho procedimiento, los tubos de centrifuga se mantuvieron en refrigeración a 4°C.

Los organismos que fueron sacrificados se identificaron y se les realizó la taxidermia científica. Se registraron en la base de datos y fueron depositados en la Colección de mamíferos de la Facultad de Ciencias Biológicas de la BUAP.

### **7.3.3 Elaboración de laminillas**

Del material celular refrigerado anteriormente, se centrifugó a 800 rpm durante 8 minutos. Se eliminó el sobrenadante y se resuspendió suavemente el material celular con solución fijadora Carnoy con ayuda de una pipeta Pasteur en proporción al tamaño del botón celular, hasta que se obtuvo un color blanquecino.

Posteriormente, se lavaron portaobjetos y se colocaron en un frasco con alcohol al 96% previamente refrigerado. Para la elaboración de laminillas, se dejaron caer tres gotas del material celular con una pipeta Pasteur, desde una altura aproximada de tres metros, distribuyéndolas a lo largo del portaobjetos, recién sacado del alcohol de 96% previamente refrigerado, el cual se colocó inclinado a 45°.

Una vez terminado el procedimiento, se le aplicó inmediatamente calor con un encendedor, una vez distribuida la flama por todo el portaobjetos, se sacudió para apagar la flama, esto con la finalidad de expandir el material celular. A otros

portaobjetos se les aplicó inmediatamente aire comprimido, con la finalidad de que los cromosomas se expandieran, finalmente se dejaron secar a temperatura ambiente y una vez secos, se rotularon.

Previamente se preparó Giemsa para realizar la tinción convencional a las laminillas, la cual se elaboró con 47 ml de agua destilada, 1 ml de solución AB (amortiguador de fosfatos) y 2 ml de Giemsa, posteriormente se agitó la solución hasta darle una consistencia homogénea.

A continuación, a las laminillas se les realizó la tinción convencional con colorante Giemsa, durante 10 minutos. Después del tiempo establecido, se retiraron de la tinción y se enjuagaron inmediatamente con agua destilada con la que se retiró el exceso de colorante y se dejaron secar a temperatura ambiente.

#### **7.3.4 Elaboración del cariotipo e ideograma**

Después de que las laminillas se secaron a temperatura ambiente, fueron observadas al microscopio óptico Leica con los objetivos de 10X y 40X se localizaron campos mitóticos, los cuales se fueron registrando en una bitácora.

Se observaron las laminillas nuevamente, y se les agregó una gota de aceite de inmersión, esta vez con el objetivo de 100X en un microscopio electrónico conectado a una MacBook Air utilizando el programa GRYPHAX donde se identificaron y localizaron los mejores campos mitóticos en metafase, con los que se pudieron diferenciar la morfología de los cromosomas y que se encontraron separados.

De igual manera se utilizaron los filtros amarillo y verde para poder tener un mejor contraste. Los mejores campos mitóticos fueron fotografiados e impresos en papel fotográfico con el que se obtuvo el cariotipo convencional.

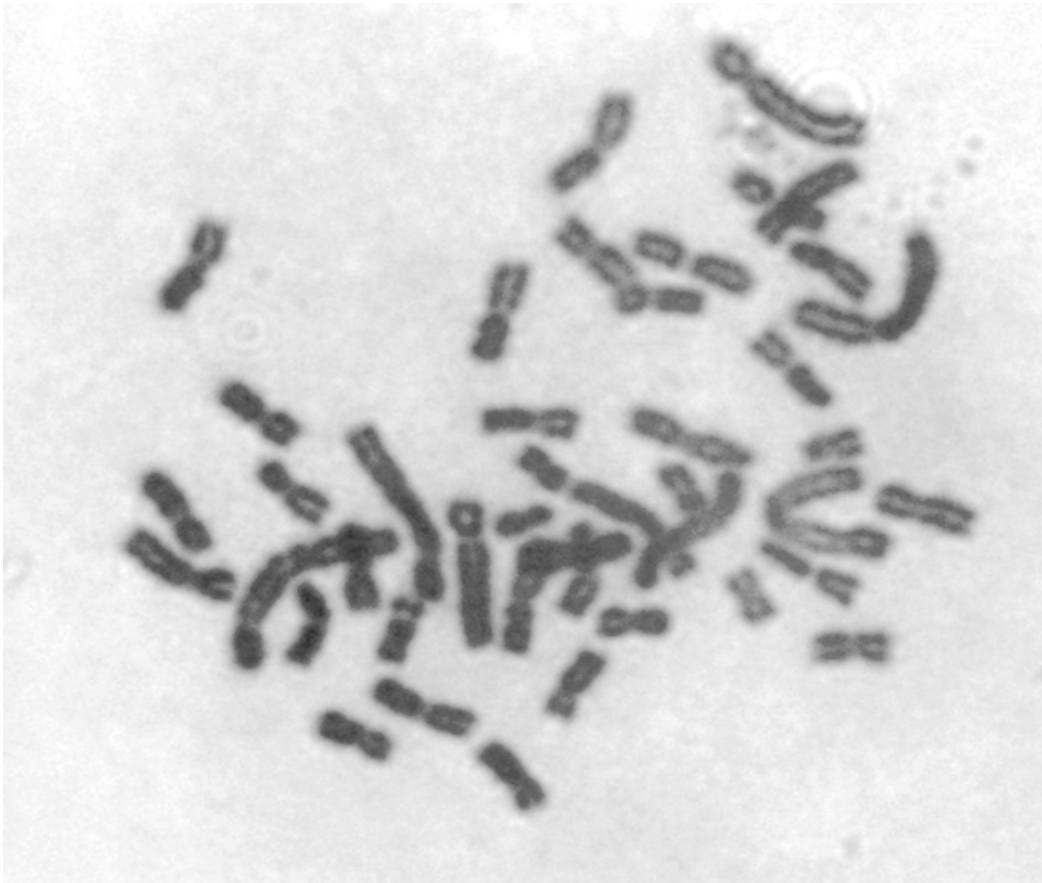
Solo los autosomas y los cromosomas sexuales de los campos mitóticos de cada una de las fotografías fueron recortados, pegados y acomodados en pares homólogos y en tamaño decreciente, luego este cariotipo se escaneo para medir cada cromosoma.

Con la ayuda del programa ImageJ, se tomaron las medidas del brazo corto "p", del brazo largo "q" y de la longitud total de los autosomas y de los cromosomas sexuales para poder clasificarlos siguiendo la nomenclatura de Levan *et al.* (1964) y obtener las constantes cromosómicas ( $2n$  y NF) formando pares homólogos de acuerdo con la posición del centrómero obteniendo su índice centromérico.

## 8. RESULTADOS

### 8.1 Descripción cromosómica

Se colectaron dos ejemplares machos de *Reithrodontomys megalotis*, se elaboraron en total nueve laminillas, de las cuales se obtuvieron 72 campos mitóticos. Se seleccionaron los mejores campos mitóticos con los que se realizó el cariotipo y el ideograma (Figura 12).

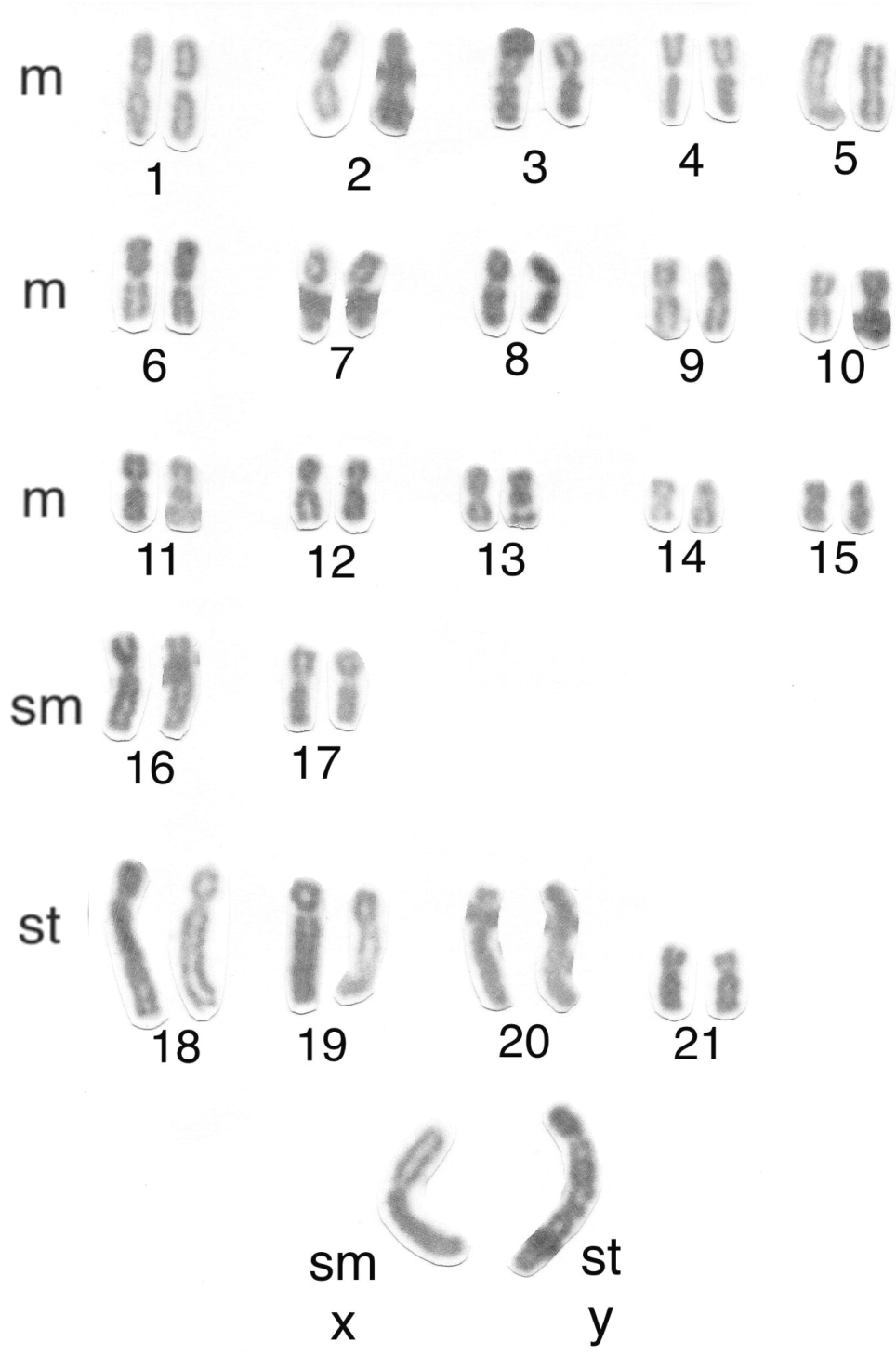


**Figura 12.** Campo mitótico de *Reithrodontomys megalotis* (macho) de San Diego Metepec, Tlaxcala

El cariotipo convencional obtenido para *Reithrodontomys megalotis* de San Diego Metepec, Tlaxcala está conformado por un  $2n=44$  y un  $NF=84$ . Presentando 21 pares de cromosomas birrámeos. Con una morfología de 15 pares metacéntricos (m), dos pares submetacéntricos (sm) y cuatro pares subtelocéntricos (st). El cromosoma sexual X fue submetacéntrico (sm) y el cromosoma sexual Y fue subtelocéntrico (st).

Se obtuvo el cariotipo convencional de los dos ejemplares machos de *Reithrodontomys megalotis*, ordenado conforme a la clasificación de Levan *et al.* (1964) mediante la aplicación del índice centromérico. Presentando el cromosoma sexual X una longitud de  $37.9 \mu m$  y el cromosoma sexual Y con una longitud de  $43 \mu m$  siendo los cromosomas más grandes del cariotipo (Figura 13).

Con la distinción de que los tres primeros pares subtelocéntricos (pares 18, 19 y 20) fueron extremadamente largos y el cuarto par subtelocéntrico (par 21) fue pequeño. Los últimos tres pares metacéntricos (pares 13, 14 y 15) fueron pequeños. Los pares cromosómicos metacéntricos (pares 6, 7 y 8). Siendo el primer par metacéntrico el más grande de los 15 pares metacéntricos.



**Figura 13.** Cariotipo convencional de *Reithrodontomys megalotis* macho de San Diego Metepec, Tlaxcala

## **8.2 Clasificación cromosómica**

En la tabla 2 se presentan los datos de la longitud del brazo corto (p) y del brazo largo (q), la longitud total y el índice centromérico de los autosomas de cada uno de los 21 pares cromosómicos homólogos y del par sexual, ordenándolos de forma ascendente de mayor a menor, siguiendo la nomenclatura de Levan *et al.* (1964).

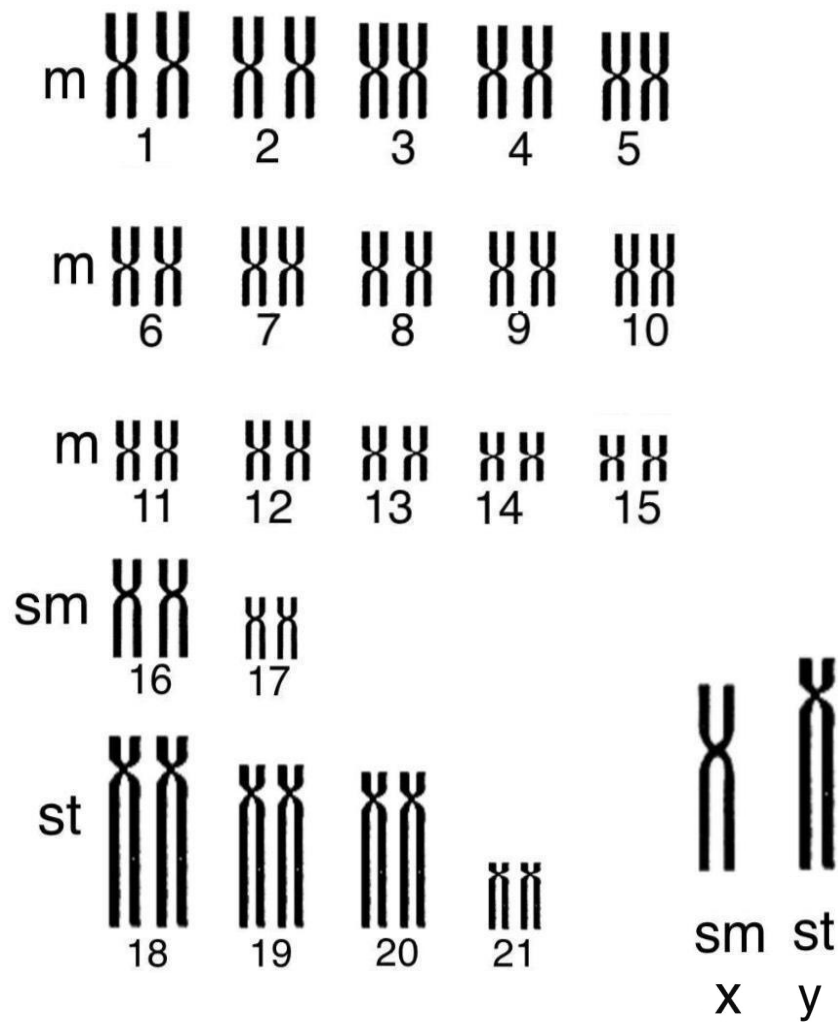
**Tabla 2.** Clasificación cromosómica de *Reithrodontomys megalotis* de San Diego Metepec Tlaxcala. IC= Índice centromérico p= longitud de brazo corto q= longitud de brazo largo  
m= metacéntrico sm= submetacéntrico st= subtelocéntrico t= telocéntrico

Par	Brazo p	Brazo q	longitud total	IC= p/p+qx100	Clasificación
1	11.2	11.7	22.9	48.9	m
2	9.5	10.2	19.7	48.2	m
3	7.9	9.2	17.1	46.1	m
4	7.6	9.1	16.7	45.5	m
5	7.6	9.1	16.7	45.5	m
6	7.4	9.2	16.6	45.5	m
7	7.5	9.1	16.6	45.1	m
8	7.5	9.1	16.6	45.1	m
9	7	8.3	15.5	45.1	m
10	6.8	8.3	15.1	45.0	m
11	6.7	8.2	14.9	44.9	m
12	6.2	7.7	13.9	44.6	m
13	6.0	7.5	13.5	44.4	m
14	4.5	5.7	10.2	44.1	m
15	4.4	5.6	10	44	m
16	8.2	13.8	22	37.2	sm
17	4.6	9.4	10.4	32.8	sm
18	8.1	29.7	37.8	21.3	st
19	6.9	26.2	33.1	20.8	st
20	5.7	25.5	31.2	18.2	st
21	3.5	15.9	19.4	18	st
X	14.2	23.7	37.9	37.4	sm
Y	9.3	33.7	43	21.6	st

### 8.3 Ideograma de *Reithrodontomys megalotis*

En el cariotipo convencional de *Reithrodontomys megalotis* de la localidad de San Diego Metepec, Tlaxcala, los pares cromosómicos subteloecéntricos son muy largos en comparación con los demás (Figura 14).

Los cromosomas sexuales X y Y presentan los brazos "q" muy largos. De los 15 pares cromosómicos metacéntricos, los 12 primeros pares presentaron una longitud parecida, y los últimos tres pares metacéntricos son muy pequeños en comparación con los demás.



**Figura 14.** Ideograma del cariotipo de *Reithrodontomys megalotis* macho de San Diego Metepec, Tlaxcala.

## 9. DISCUSIÓN

Al realizar una comparación del presente estudio, el cual presentó un  $2n=44$  y  $NF=84$ , se muestran variaciones con los cariotipos reportados por Urbina *et al.*, (2007), para *R. megalotis* en Cuahutlamingo (Tlatlauquitepec), Puebla, con un  $2n=42$  y  $NF=76$ , en El Rancho (Ahuazotepec), Puebla, con un  $2n=42$  y  $NF=78$ , en El Durazno (Nopalucan), Puebla, presenta un  $2n=42$  y  $NF=78$  y dos cariotipos reportados en Alhuaca (Vicente Guerrero), Puebla, el primer cariotipo con un  $2n=40$  y  $NF=76$  y el segundo cariotipo con un  $2n=42$  y  $NF=78$ . Presentando un distinto número de pares de cromosomas birrámeos con diferencias morfológicas. Según Sánchez (1993), poblaciones con variabilidad cariotípica, se les puede catalogar en un proceso de especiación de tipo alopátrica, ya que implica la separación geográfica de estas, bien sea por ríos, lagos, montañas, etc., desarrollándose bajo condiciones ambientales diferentes, causando y determinando cambios estructurales cromosómicos, donde estos cambios cariotípicos pueden ser transmitidos a generaciones siguientes.

Una característica de *Reithrodontomys megalotis* es que los pares cromosómicos subtelocéntricos y los cromosomas sexuales son extremadamente largos, y esta vez no fue la excepción, ya que en el presente estudio los cromosomas sexuales X y Y fueron extremadamente largos, se sugiere que pueden ser adiciones de heterocromatina constitutiva en los brazos de los cromosomas, esta adición juega un papel muy importante en la evolución cromosómica de las especies, aunque esta información no pudo ser comprobada en el presente estudio. La reducción del  $2n$ , según Matthey (1973) puede explicarse a rearrreglos cromosómicos ocurridos durante su diversificación, estos reordenamientos pueden ser ocasionados por fusiones céntricas, en el que dos cromosomas monorrámeos se unen por el centrómero para formar un birrámeo y los rearrreglos cromosómicos de tipo inversión pericéntrica pueden explicar la variación en su  $NF$ .

Comparando el cariotipo de *Reithrodontomys megalotis* de San Diego Metepec Tlaxcala, con trabajos realizados por autores como Robbins y Baker (1980) en Ellis,

Kansas, con un  $2n=42$  y un  $NF=80$  y Blanks y Shellhammer (1968) en Monterey, California, con un  $2n=42$  y un  $NF=80$ , difieren en el número de autosomas y en las constantes cromosómicas. Manteniéndose la morfología en los cromosomas sexuales, el cromosoma sexual X submetacéntrico y el cromosoma sexual Y fue subtelocéntrico.

A pesar de que en el Pleistoceno se aislaron reproductivamente y se diversificaron sin alguna barrera geográfica, se deduce hipotéticamente, que probablemente, a inicios del Holoceno, al migrar del medio oeste de E.U. al oeste y al centro de México se pudo haber ocasionado que las especies descendientes de las especies ancestrales sufrieron una fragmentación de distribución causado por barreras geológicas, de esta manera provocando que su desplazamiento hacia nuevas maneras de adaptación les pudo haber dado o no favorecimiento a las nuevas condiciones medioambientales a su nuevo hábitat, causando un aislamiento de las poblaciones, debido a barreras geográficas, como lo son montañas, ríos y lagos, dando lugar a variaciones genéticas (Espinoza *et al.*, 2006).

Al comparar el presente estudio con cariotipos realizados por Shellhammer (1967) en San Francisco, California y Matthey (1961) en San Francisco, California, concuerda con el  $2n=44$  y el  $NF=84$ , de igual forma presentando 21 pares birrámeos, manteniéndose el cromosoma sexual X como Submetacéntrico. Esto puede deberse a que estas poblaciones, aunque son geográficamente separadas, responden de una manera probablemente casi similar a las condiciones ambientales en las que habitan o que su diversificación haya sido recientemente.

En el cariotipo realizado en Cuahutlamingo (Tlatlauquitepec), Puebla, por Urbina *et al.*, (2007), se presenta un par telocéntrico y en San Francisco, California por Shellhammer (1967) y en San Francisco, California por Matthey (1961), presentan el cromosoma sexual Y telocéntrico. El que individuos conserven cromosomas telocéntricos, los lleva a presentar un cariotipo más primitivo (Hsu y Arrighi, 1968).

Al realizar la comparación cariotípica con otras poblaciones de *R. megalotis*, se aprueba la hipótesis, al existir variaciones en las constantes cromosómicas y en la morfología de los cromosomas. El proceso de especiación en *Reithrodontomys megalotis* pudo haber sido creado por reordenamientos cromosómicos que dan lugar a la variación cariotípica, como lo sugiere Carleton y Myers (1979).

Se sugiere que el cariotipo de *Reithrodontomys megalotis* ha dejado de ser primitivo, según con lo propuesto por Baker y Mascarello (1969), al no presentar ningún par cromosómico telocéntrico y al presentar en sus constantes cromosómicas un número diploide reducido.

## 10. CONCLUSIONES

*Reithrodontomys megalotis* de San Diego Metepec Tlaxcala, presentó un  $2n=44$  y un  $NF=84$ . El cromosoma sexual X fue submetacéntrico (sm) y el cromosoma sexual Y fue subtelocéntrico (st).

La morfología cromosómica fue de 21 pares de cromosomas birrámeos, que corresponden a 15 pares metacéntricos (m), dos pares submetacéntricos (sm) y cuatro pares subtelocéntricos (st).

El presente estudio difiere respecto al número diploide, número fundamental y a la morfología del par sexual de los cariotipos realizados por Urbina *et al.*, (2007) en localidades de Puebla, por Robbins y Baker (1980) en Ellis, Kansas y por Blanks y Shellhammer (1968) en Monterey, California.

Resultados obtenidos de cariotipos realizados por Shellhammer (1967) y Matthey (1961), concuerdan con el  $2n=44$  y el  $NF=84$ , también presentando 21 pares birrámeos y manteniéndose el cromosoma sexual X submetacéntrico.

Se aprueba la hipótesis en el presente estudio, al determinar su complemento cromosómico y compararlo con otras poblaciones, se identificaron variaciones en el número diploide y en el número fundamental, dando lugar a que el cariotipo de *R. megalotis* está pasando por diversos rearrreglos cromosómicos.

## 11. RECOMENDACIONES

Continuar con técnicas de bandeo cromosómico G y C para *Reithrodontomys megalotis* de San Diego Metepec Tlaxcala, para la detección e identificación de rearrreglos cromosómicos.

Realizar más estudios citogenéticos en *Reithrodontomys megalotis* en diferentes regiones de distribución para conocer más sobre su complemento cromosómico e identificar si existen variaciones cromosómicas.

## 12. BIBLIOGRAFÍA

Actualización del programa parcial de desarrollo urbano Metepec. 2021. Periódico Oficial No. 26 Sexta Sección.

Aguilar, M. S. 2019. Biología molecular y citogenética (2da ed.). Síntesis, S. A. Vallehermoso, Madrid. pág. 51-60.

Alberts, B., D. Bray, K. Hopkin, A. Johnson, J. Lewis, R. Martin, K. Roberts, y P. Walter. 2014. Essential Cell Biology. Garland Science. (4ta ed.) pág. 187.

Angulo, A. A., A. R. Galindo, R. C. Avendaño, y C. Pérez. 2012. Biología Celular. Universidad Autónoma de Sinaloa. (1ra ed.). pág. 151-185.

Arellano, E., D. S. Rogers, y F. X. González. 2006. Sistemática molecular del género *Reithrodontomys* (Rodentia: Muridae). Genética y mamíferos mexicanos: presente y futuro. New Mexico Museum of Natural History and Science Bulletin No. 32. pág. 27-35.

Baird, S. F. 1858. Mammals. Reports of explorations and surveys from the Mississippi River to the Pacific Ocean. 8(1): xxi-xxvii + 1-757.

Baker, R. J., y M. B. Qumsiyeh. 1988. Methods in chiropteran mitotic chromosomal studies. In: Ecological and behavioral methods for the study of bats (T.H. Kunz, ed). Smithsonian Institution Press, Washington, D. C. 435 pp.

Baker, R. J., M. W. Haiduk, L. W. Robbins, A. Cadena, y B. F. Koop. 1982. Chromosomal studies of South American Bats and their systematic implications. Mammalian Biology in South America, pp. 303-327. M. A. Mares y H. H. Genoways (eds.). Pymatuning Laboratory of Ecology. Vol. IV. Pymatuning Pennsylvania, 539 pp.

Baker, R. J., R. K. Barnett, y I. F. Greenbaum. 1979. Chromosomal evolution in grasshopper mice (*Onychomys*, Cricetidae). *Journal of Mammalogy* 60:297-306.

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

Biocare Medical México. 2021. Fundamentos de Biocare: Mutaciones de delección.  
<https://www.biocaremexico.com/post/fundamentos-de-biocare-mutaciones-de-delecion>

Blanks, G. A., y H. S. Shellhammer. 1968. Chromosome Polymorphism in California Populations of Harvest Mice. *Journal of Mammalogy* 49: 726-731.

Carleton, M. D., y P. Myers. 1979. Karyotypes of some harvest mice, genus *Reithrodontomys*. *Journal of Mammalogy* 60: 307-313.

Caspersson, T., L. Zech, y C. Johansson. 1970. Differential binding of alkylating fluorochromes in human chromosomes. *Exp Cell Res* 60: 315-319.

Cervantes, F. A. 1987. Population and community responses of grassland small mammals to variation of vegetative cover in Central Mexico. Tesis Doctoral, University of Kansas, Lawrence. Kansas. pág. 90.

Earnshaw, W. C., y U. K. Leammli. 1983. Architecture of metaphase chromosome and chromosome scaffolds. *J. Cell Biol.*, 96: 84-93.

Espinoza, M. E., I., Sánchez, B. M., García, y M. C. Lorenzo. 2006. Análisis de la distribución de roedores de la familia Muridae en el sur de México. En *Genética y Mamíferos mexicanos: Presente y Futuro*. Boletín 32. (Vázquez, D. E. Hafner, D. ed.) New Mexico Museum of Natural History and Science.

Griffiths, A. J. F., W. M. Gelbart, J. H. Miller, y R. C. Lewontin. 1999. Chromosomal rearrangements. Modern genetic analysis. Nueva York, NY: W. H. Freeman.

Hall, E. R. 1981. The Mammals of North America (2da. ed.). John Wiley and Sons. New York, 2: 601-1118.

Hall, E. R. 1946. Mammals of Nevada. Univ. California Press Berkeley and Los Angeles, 710 pp.

Hibbard, C. W., y D. W. Taylor. 1960. Two late Pleistocene faunas from southwestern Kansas. Contributions from Museum of Paleontology, The University of Michigan 16:1-223.

Hooper, E. T. 1952. A systematic review of harvest mice (Genus *Reithrodontomys*) of Latin America. Miscellaneous Publications of the Museum of Zoology, University of Michigan, 77: 1-255.

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

INEGI. 2017. Anuario estadístico y geográfico de Tlaxcala, Tlax. [https://www.datatur.sectur.gob.mx/ITxEF\\_Docs/TLAX\\_ANUARIO\\_PDF.pdf](https://www.datatur.sectur.gob.mx/ITxEF_Docs/TLAX_ANUARIO_PDF.pdf)

International Union for Conservation of Nature (IUCN). 2016. The IUCN red list of threatened species. *Reithrodontomys megalotis*. <https://www.iucnredlist.org/species/19410/115151098>

International Union for Conservation of Nature (IUCN). 2021. Mapa de distribución de *Reithrodontomys megalotis*. LANDPKS LEARNING. pág. web <https://landpotential.org/habitat-hub/western-harvest-mouse/>

Jamilena, M., M. Garrido, M. Ruiz, C. Ruiz, y J. S. Parker. 1995. Characterisation of repeated sequences from microdissected B chromosomes of *Crepis capillaris*. Chromosome, 104: 113-120.

Jones, R. N., y H. Rees. 1982. B chromosomes. Academic Press, N. Y., USA. pág. 1-4.

Karp, G. 2009. Biología celular y molecular (5ta edición). México: McGraw-Hill Educación. pág. 389-392.

Krebs, J. E., E. S. Goldstein, y S. T. Kilpatrick. 2014. Lewin's Genes XI. Jones & Bartlett Learning. Burlington MA. pág. 3-22.

Kornberg, R. D. 1974. Chromatin structure: a repeating unit of histone and DNA. Science, 184: 868-871.

Lacadena, J. R. 1995. Cytogenetics: yesterday, today and forever. A conceptual and historical view. Chromosomes Today, vol. 12 (eds. N. Henriques-Gil, J. Parker & M. J. Puertas), Chapman and Hill, London (in press). pág. 3-4.

Lacadena, J. R. 1996. Citogenética. 1a Edición. Editorial Complutense. España. pp 82, 150-151.

Lannuzzi, L. 2007. Cytogenetics in animal production. Italian Journal of Animal Science, 6:sup1, pág. 713-715.

Lee, M. R. 1969. A widely applicable technic for direct processing of bone marrow for chromosomes of vertebrates. Stain technology. 44(3): 155.

Levan, A., K. Fredga, y A. A. Sandberg. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. Hereditas, 52: 201-220.

Lohe, A. R., A. J. Hilliker, y P. A. Roberts. 1993. Mapping Simple Repeated DNA Sequences in Heterochromatin of *Drosophila Melanogaster*. *Genetics* 134 (4): 1149-1174.

Lomanto, D., C. Ortiz, P. Bretón, L. Gómez, y C. Mesa. 2003. El ciclo celular. *MedUNAB*, 6: 21-29.

Malumbres, M. 2011. Physiological relevance of cell cycle kinases. *Physiological Review*. 91: 973-1007.

Manero, D. 2002. Manual de Genética. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Córdoba. Tercera edición. Argentina. Museo de Zoología. pp. 76.

Martins, L. A. C. P. 1999. Did sutton and boveri propose the so-called sutton-boveri chromosome hypothesis? *Genetics and Molecular Biology*, 22(2): 261-271.

Martínez, J. P. 1997. Papel de los cromosomas B en la evolución de los genomas eucariotas. *Organización y evolución del genoma eucariota: marcadores moleculares*. pág. 189-208.

Martínez, V. 2016. Alteraciones cromosómicas y su implicación en la educación: Distrofia muscular de Duchenne. Facultad de Ciencias de la Educación, Universidad de Sevilla. pág. 17-21.

Matamoros, G. J., y F. A. Cervantes. 1992. Alimentos de los roedores *Microtus mexicanus*, *Reithrodontomys megalotis* y *Peromyscus maniculatus* del ex lago de Texcoco, México. *Anales del Instituto de Biología. Serie Zoología*. 63: 135-144.

Matthey, R. 1973. The chromosome formulae of eutherian mammals. Pp. 531-616, *in* Cytotaxonomy and vertebrate evolution (Chiareli A. B. and Capanna E., eds.), Academic Press, New York, XV+783 pp.

Matthey, R. 1961. Etudes de cytogenetique et de taxonomie chez les Muridae (Rodentia) *Reithrodontomys megalotis dychei* Allen, *Hypogeomys antimena* Grand., *Neofiber alleni* True. *Mammalia*, 25:145

Medline, P. 2021. Cómo entender la genética Variantes y la salud. ¿Pueden cambios en la estructura de los cromosomas afectar la salud y el desarrollo? Biblioteca Nacional de Medicina de EE. UU. Institutos Nacionales de la Salud Departamento de Salud y Servicios Humanos.

<https://medlineplus.gov/download/spanish/genetica/entender/variantesytrastornos.pdf>

Meserve, D. L. 1976. Food relationships of a rodent fauna in a California coastal sage scrub community. *Journal of Mammalogy* 57: 300-319.

Musser, G. G., y M. D. Carleton. 1993. Family Muridae. Pp. 501-755, in *Mammal Species of the World* (D. E. Wilson y D. M. Reeder, eds.). Smithsonian Institution Press, 1206 pp.

Ortega, M. J., J. A. Osorio, y J. C. Torres. 2018. Fundamentos de citogenética humana y animal. Universidad Nacional Abierta y a Distancia UNAD. Escuela de Ciencias Agrícolas, Pecuarias y del Medio Ambiente. pág. 51-59.

Pérez, G., J. M. Reina, J. Navlet, O. De Paz, y E. J. López. 2006. Citogenética de quirópteros en la península ibérica. En *Los murciélagos de España y Portugal*. (Benzal, J. y De Paz, O. Colección técnica. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, Instituto Nacional para la Conservación de la Naturaleza, Madrid, pp 305-330.

Puerto, S. 2001. Relación entre heterogeneidad intragenómica y formación de aberraciones cromosómicas. Tesis Doctoral. Universidad Autónoma de Barcelona. España. pág. 10.

Rieger, R., A. Michaelis, y M. M. Green. 1976. Glossary of genetics. Classical and Molecular (Fourth completely revised edition). Springer-Verlag, Berlin, 647 pp.

Robbins, L. W. y R. J. Baker. 1980. G- and C-Band Studies on the Primitive Karyotype for *Reithrodontomys*. Journal of Mammalogy 61:708-714.

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

Roth, E. L. 1972. Late Pleistocene mammals from Klein Cave, Kerr County, Texas. Journal of Science 241: 75-84.

Saavedra, A. S. 2020. II Unidad: Genética. Guía número 17: Cromosomas. Colegio Santa María, Florida. Departamento de Ciencias.

Sánchez, D. J., y N. I. Trejo. 2006. Biología celular y molecular. Editorial Alfil (1a ed.). pág. 119-154.

Sánchez, O. 1993. Análisis de algunas tendencias ecogeográficas del género *Reithrodontomys* (Rodentia: Muridae) en México. En: Medellín, R. A. y Ceballos, G. (Eds.). Avances en el estudio de los mamíferos de México, Publicaciones especiales, Vol. 1, Asociación Mexicana de Mastozoología, A.C., México, D.F. pp. 25-44.

Sánz, J., M. Fenollar, E. Molina, y R. Oancea. 2015. Biología molecular y citogenética. Araan Ediciones, S. L. (1a ed.). Madrid, España. pág. 152-155.

SEMARNAT. 2010. Lista de especies en riesgo de la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010. *Reithrodontomys megalotis*.

[https://www.profepa.gob.mx/innovaportal/file/435/1/NOM\\_059\\_SEMARNAT\\_2010.pdf](https://www.profepa.gob.mx/innovaportal/file/435/1/NOM_059_SEMARNAT_2010.pdf)

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

Shellhammer, H. S. 1967. Cytotaxonomic Studies of the Harvest Mice of the San Francisco Bay Region. Journal of Mammalogy 48: 549-556.

Silva, E., Crane, C., Bermudez, A. J., Bueno, M. L., Pedraza, X., y A. Giraldo. 1991. Citogenética Humana. Manual de Procedimientos. Grupo de Genética. Instituto Nacional de Salud. Red Nacional de Laboratorios. Pág. 14-15.

Solari, A. J. 2011. Genética Humana: fundamentos y aplicaciones en Medicina. Buenos Aires, Argentina: Panamericana. Pág. 174.

Stuart, J. N. 2011. Western Harvest Mouse (*Reithrodontomys megalotis*). Broad Canyon Ranch, near Radium Springs, Nuevo México.

Swanson, C. P. 1960. Citología y Citogenética (2da ed.) Macmillan y Co Ltd., Londres.

Urbina, I., J. G. Cruz, y M. A. Aguilar-Santamaria. 2007. Circunscripción de las especies *Reithrodontomys megalotis* y *Reithrodontomys sumichrasti* inferida a partir de datos cromosómicos. Memorias II SLACE. Colombia. pág. 218-223.

Villa, R. B., y F. A. Cervantes. 2003. Los mamíferos de México. Editorial Iberoamérica. México, D. F. pág. 391-393.

Waldeyer, W. 1888. Cytogenetics and Cell Genetics. S. Karger A. G. Basel. Introductions of the term "chromosome". Medical and Scientific. 48: 66-67.

Webster, W. D., y J. K. Jones. 1982. *Reithrodontomys megalotis*. Mammalian species. No. 167, pp. 1-5.

White, M. J. D. 1954. Animal cytology and evolution. Cambridge Univ. Press, 2nd. ed., 454 pp.

## APÉNDICE

- **Colchicina**

0.1 ml de colchicina a una concentración de 0.004% por cada 10 gr de peso por cada ejemplar.

- **Solución Hipotónica**

KCl 0.075 M a 37°C.

En 100 ml de agua destilada se diluyen 0.56 gr de KCl.

Se almacena en refrigeración.

- **Fijador Carnoy**

Proporción 3:1

Se diluyen 10 ml de ácido acético en 30 ml de metanol.

Se prepara 30 minutos antes de ser utilizado y se coloca inmediatamente en refrigeración.

- **Giemsa para tinción convencional**

47 ml de agua destilada

1 ml de solución A + B

2 ml de Giemsa

- **Solución amortiguadora**

- Solución A

Se pesan 0.69 gr de  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  y se diluye en 50 ml de agua destilada.

Se utilizan 15ml.

- Solución B

Se pesan 0.71gr de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  y se diluye en 50 ml de agua destilada.

Se utilizan 10 ml.

Se queda en refrigeración a 4°C sin que se observe contaminada.