



---

---

BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

ESCUELA DE BIOLOGÍA

ANÁLISIS CROMOSÓMICO DEL MURCIELAGO *Sturnira hondurensis* DE HUEHUETLÁN EL GRANDE, PUEBLA

TESIS QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
BIÓLOGA

PRESENTA  
VERENICE CRUZ PEREZ

DIRECTOR DE TESIS  
M. EN C. ROSA MARÍA GONZÁLEZ MONROY



JUNIO 2015

## **DEDICATORIA**

A dios por a verme dado la vida, la voluntad y la oportunidad de estudiar.

A mis padres Daniel Cruz Jiménez y Delfina Perez Zeferino por estar siempre a mi lado cuando más los necesito, en los buenos y malos momentos de mi corta vida, por mostrarme en cada momento su apoyo incondicional y el interés para que estudie y me desarrolle completamente en todos los aspectos de mi vida ya que son para mí la base fundamental de mi vida pues ellos me han sabido guiar, levantarme y sostenerme sin el camino importar y poniéndome antes de sus compromisos personales, gracias por mostrarme que todo lo que me proponga lo puedo lograr que con un poco de esfuerzo nada es imposible sin importar el tiempo y el espacio.

Dedico de manera especial a mi hermana Lucelvi Cruz Perez pues ella fue el principal cimiento para la construcción de mi vida profesional, sentó en mí las bases de responsabilidad y deseo de superación, en ella tengo el espejo en el cual me quiero reflejar pues sus virtudes infinitas y su gran corazón me llevan a admirarla cada día más.

A mis hermanas Daniela Cruz Perez y Cristian Cruz Perez por ser parte de mi vida por ayudarme a crecer y madurar junto con ellas.

A mis amigas que gracias al equipo que formamos logramos llegar al final del camino y que hasta el momento seguimos siendo amigas: Annya, Georgia, Paty, Zita, Gris.

## **AGRADECIMIENTOS**

Quiero agradecer a la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, a la Escuela de Biología agradezco sus conocimientos impartidos desde el inicio de mis estudios superiores y al Laboratorio de Mastozoología que me han dado la oportunidad de enriquecer conocimientos y principios imperecederos por brindarme la oportunidad de permitirme realizar la tesis en este laboratorio.

Primero y como más importante, me gustaría agradecer sinceramente a mi directora de Tesis, M. en C. Rosa María González Monroy, por la ayuda y guía brindada, por sus conocimientos, sus orientaciones, su manera de trabajar, su pertinencia, su paciencia y su motivación han sido fundamentales para mi formación.

Mis agradecimientos a los sinodales Dr. Jesús Martínez Vázquez y M. en C. Héctor Rafael Eliosa León por sus observaciones y oportunos conocimientos.

A las autoridades del Municipio de Huehuetlán El Grande por las facilidades brindadas.

Agradezco las facilidades otorgadas de la familia del señor Ángel durante el trabajo de campo de esta tesis.

A la Vicerrectoría de Investigación y Estudios de Posgrado de la BUAP (VIEP), por la beca otorgada a través del apoyo económico asignado al proyecto “Variación cromosómica de murciélagos de Santo Domingo Huehuetlán El Grande, Puebla” cuyo responsable del proyecto fue la M. en C. Rosa María González Monroy.

A la Dirección de la Escuela de Biología por el apoyo económico otorgado para la impresión de esta tesis.

# ÍNDICE

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTOS

RESUMEN.....	i
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. BIOLOGÍA DE LA ESPECIE.....	5
2.1 DESCRIPCIÓN MORFOLOGÍCA.....	5
2.2 CLASIFICACIÓN.....	5
2.3 HISTORIA NATURAL Y ECOLOGÍA.....	6
2.4 HABITAT E INTERVALO DE ALTITUDES.....	6
2.5 GENÉTICA.....	6
2.6 DISTRIBUCIÓN.....	6
2.7 ESTADO DE CONSERVACIÓN.....	6
3. ANTECEDENTES.....	7
4. JUSTIFICACIÓN.....	9
5. OBJETIVO GENERAL.....	10
5.1 OBEJETIVOS PARTICULARES.....	10
6. ÁREA DE ESTUDIO.....	11
6.1 UBICACIÓN.....	11
6.2 EXTENSIÓN.....	11

<b>6.3 OROGRAFÍA.</b> .....	<b>12</b>
<b>6.4 HIDROGRAFÍA.</b> .....	<b>12</b>
<b>6.5 CLIMA.</b> .....	<b>12</b>
<b>6.6 FAUNA.</b> .....	<b>13</b>
<b>6.7 FLORA.</b> .....	<b>13</b>
<b>7. METODOLOGÍA.</b> .....	<b>14</b>
<b>7.1 TRABAJO DE CAMPO.</b> .....	<b>14</b>
<b>7.2 TRABAJO DE LABORATORIO.</b> .....	<b>14</b>
<b>7.2.1 ELABORACIÓN DE LAMINILLAS.</b> .....	<b>15</b>
<b>7.2.2 OBTENCIÓN DEL CARIOTIPO.</b> .....	<b>16</b>
<b>7.2.3 BANDAS CROMOSÓMICAS G.</b> .....	<b>17</b>
<b>7.2.4 BANDAS CROMOSÓMICAS C.</b> .....	<b>18</b>
<b>8. RESULTADOS.</b> .....	<b>20</b>
<b>8.1 BANDAS CROMOSÓMICAS G.</b> .....	<b>27</b>
<b>8.2 BANDAS CROMOSÓMICAS C.</b> .....	<b>29</b>
<b>9. DISCUSIÓN.</b> .....	<b>31</b>
<b>10. CONCLUSIÓN.</b> .....	<b>35</b>
<b>11. PROPUESTAS.</b> .....	<b>36</b>
<b>12. LITERATURA CITADA.</b> .....	<b>37</b>
<b>APÉNDICE.</b> .....	<b>42</b>

## RESUMEN

La citogenética es la parte de la genética dedicada al estudio de los cromosomas, los procesos de mitosis, su participación en la herencia, la segregación cromosómica normal y sus anomalías. De manera general, los estudios citogenéticos han sido uno de los métodos más utilizados para investigar los cambios en los cromosomas a través de la evolución de diversos organismos. Las técnicas de bandeo cromosómico son estudios fundamentales en la citogenética, estas se aplican en la identificación de los pares cromosómicos y la determinación del origen de las anomalías, como aneuploidías o alteraciones de la estructura del cromosoma, traslocaciones, deleciones e inversiones pericéntricas o paracéntricas causados por agentes mutagénicos físicos o químicos. El objetivo del presente estudio fue realizar la descripción del cariotipo y bandeo cromosómico G y C de la especie *Sturnira hondurensis* del municipio de Huehuetlán El Grande del estado de Puebla, la metodología consistió en dos etapas: trabajo de campo (captura de organismos) y de laboratorio (obtención de cariotipo, y bandeo cromosómico G y C) se capturaron tres ejemplares (dos hembras, y un macho) de la especie *Sturnira hondurensis*, se realizaron nueve laminillas y se analizaron un total de 92 campos mitóticos, 48 para hembra y 44 para el macho, posteriormente fueron fotografiados los más definidos. *Sturnira hondurensis* presenta un número cromosómico diploide  $2n=30$  tanto para hembras como para machos y un  $NF=50$  la morfología cromosómica obtenida fueron 11 pares de autosomas metacéntricos y tres pares telocéntricos, el cromosoma sexual X fue metacéntrico y el Y fue submetacéntrico, el número diploide se mantiene constante este trabajo no concuerda con los trabajos obtenidos con otros autores, pero la morfología cromosómica difiere con el resultado obtenido. Con respecto a las bandas cromosómicas G se presentan en los autosomas grandes de 2 a 3 bandas en los brazos y las bandas cromosómicas C solo la heterocromatina constitutiva se presenta en posición centromérica. Se puede hipotetizar que esta especie está en proceso de evolución cromosómica.

## 1. INTRODUCCIÓN

Los estudios citogenéticos han permitido realizar valiosos aportes al conocimiento de los mecanismos de aislamiento reproductivo y modos de especiación en mamíferos (Gines, 2004; Reyes, 2002). En estos casos la citogenética, a través del análisis genómico, ha contribuido a la resolución del origen y evolución de distintos grupos taxonómicos. Mutaciones cromosómicas que alteran la morfología de los cromosomas jugarían un papel importante en la determinación de los mecanismos de aislamiento reproductivo y distintos modos de especiación (Solomon *et al.*, 2001). Aun sin alterar la morfología de los cromosomas, existen ejemplos en los que mutaciones génicas que afectan el apareamiento han sido determinantes en la evolución de distintos grupos. La citogenética brinda valiosos aportes para la resolución de problemas taxonómicos, evolutivos y aplicados. Esta disciplina tiene grandes ventajas pero también limitaciones y sus aportes deben ser complementados con estudios provenientes de otros campos. Además, se sabe que en cada ser vivo existe una sustancia que se denomina material genético.

El ADN es el material genético de todos los organismos celulares y algunos virus, las funciones del ADN incluyen el almacenamiento de información (genes), codificación de proteínas (transcripción y traducción) y replicación, todo esto con la finalidad de asegurar la transmisión de la información a las células hijas durante la división celular (Nelson y Cox, 2005; Pierce, 2009). Al respecto, existen dos procesos celulares que regulan la transmisión de cromosomas denominados como mitosis y meiosis (Lacadena, 1996).

Para la citogénica, son de suma importancia las denominadas constantes cromosómicas, como son el número de cromosomas ( $2n$ ) y el número de brazos de los autosomas (NF) presentes en cada célula, y el tamaño o largo relativo así como la morfología de cada uno de ellos (Figura 1).

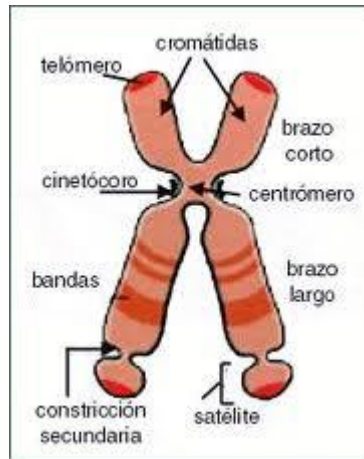


Figura 1. Regiones que forman a los cromosomas (Griffiths *et al.*, 1998; Vilee, 2000).

El centrómero divide al cromosoma en dos brazos de igual o distinta longitud: el brazo corto (p) que se ubica en la parte superior del cromosoma y el brazo largo (q) que se encuentra en la parte inferior del cromosoma. De acuerdo con la ubicación del centrómero, se puede diferenciar cuatro tipos de cromosomas (Jiménez y Merchant 2003; Lacadena, 1996; Levan *et al.*, 1964; Figura 2).

- Metacéntrico (M): El centrómero está localizado en la parte media los brazos son sensiblemente iguales.
- Submetacéntrico (SM): El centrómero está más cerca de uno de los extremos que del otro esclareciéndose así claramente el brazo corto (p) y el brazo largo (q).
- Subtelocéntrico (ST): El centrómero está situado muy próximo a uno de los extremos, siendo el brazo corto (p) muy reducido y el brazo largo (q) más grande.
- Telocéntrico o también llamados Acrocéntricos (T=A): Es un cromosoma en el cual el centrómero está localizado en un extremo del mismo. Solo presenta brazo q.



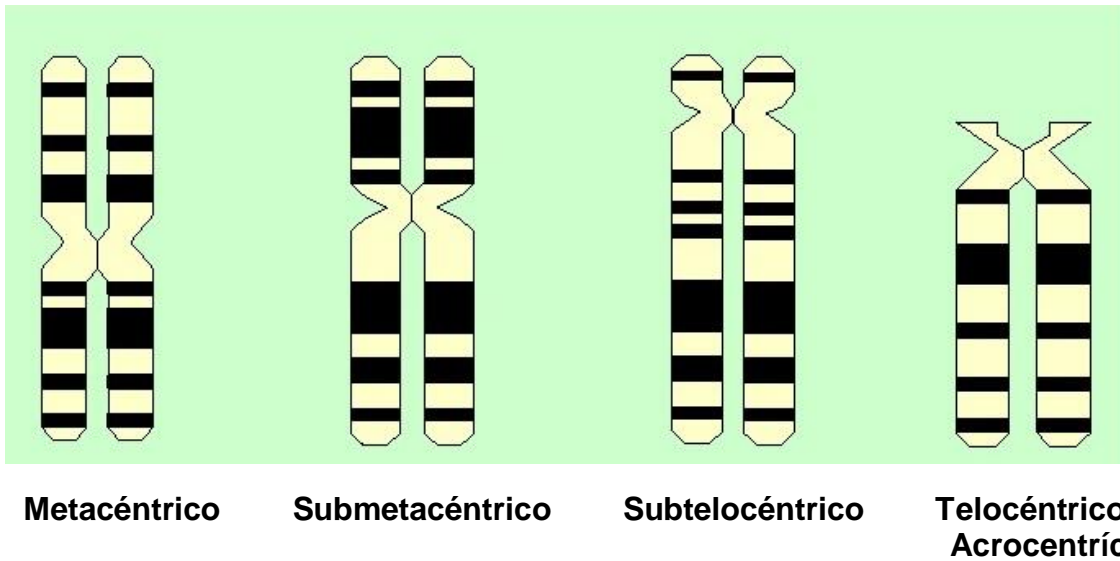


Figura 2. Clasificación de los cromosomas de acuerdo con la posición del centrómero (Jiménez y Merchant, 2003; Lacadena, 1996; Levan *et al.*, 1964).

Un análisis más preciso de la variación cariotípica puede obtenerse empleando técnicas de bandeo que revelan marcadores cromosómicos (secuencias de ADN altamente repetidas ricas en AT o GC, regiones organizadoras del nucléolo, etc.) (Jiménez y Merchant, 2003). Las técnicas de bandeo han tenido su aplicación más importante en la identificación, de los pares cromosómicos para la construcción de cariotipos, el número y la forma característica de los cromosomas, los patrones de bandeo han sido decisivos para que los genetistas puedan descifrar con exactitud situaciones aneuploides en el cariotipo, como trisomias y monosomías, así como el origen de reordenaciones tales como traslocaciones, deleciones, inversiones o duplicaciones observadas en los cromosomas (Jiménez y Merchant, 2003).

Cada cromosoma tiene un patrón de bandas característico por lo que existen varias técnicas de tinción con fines específicos entre las que encontramos las siguientes:

El bandeo cromosómico C es relativamente sencillo, consiste en tratar las preparaciones cromosómicas con una solución alcalina fuerte (hidróxido de bario) después de una breve exposición al ácido clorhídrico y, finalmente con una solución salina a 55-60 °C, tiñendo por último en solución Giemsa (Manero, 2002).

Las bandas cromosómicas G, R y Q se obtienen mediante técnicas basadas en tratamientos enzimáticos que ponen de manifiesto distintos patrones de bandas de la eurocromatina, a lo largo del cromosoma. El material se tiñe con colorante Giemsa (bandeo G y R) o colorantes fluorescentes, con la quinacrina (bandas Q; Madero, 2002).

El bandeo NOR (Región Organizadora Nucleolar) pone de manifiesto un tipo de heterocromatina constitutiva asociada a las regiones de los cromosomas, normalmente constricciones secundarias, en las cuales se organiza el nucléolo. En estas regiones se encuentran localizadas las secuencias de ADN necesarias para la síntesis del ARN ribosómico (Manero, 2002).

Por lo tanto, se concluye que los estudios citogenéticos han llegado a ser uno de los métodos utilizados por la genética para estudiar los cambios en los cromosomas a través de la evolución de diversos organismos. Además, la información contenida en los cromosomas de los organismos tiene la capacidad de modificarse evolutivamente haciendo frente a los cambios ambientales a los que están sujetos (Herrera, 2007; Lorenzo *et al.*, 2004; White, 1973).

## 2. BIOLOGÍA DE LA ESPECIE

### 2.1 DESCRIPCIÓN MORFOLÓGICA

*Sturnira hondurensis* estos organismos son de tamaño mediano a grande, presentan un pelaje color pardo-grisáceo bicoloreado claro-oscuro. El abdomen es un poco más claro. Membrana interfemorales ausente y sin cola. Se distinguen claramente por tener los incisivos superiores centrales proyectados y separados en la punta, los incisivos inferiores pueden ser bilobulados o tribulados en ocasiones (Álvarez y Polaco, 1980; Baker y Phillips, 1965).

### 2.2 CLASIFICACIÓN

**Infraclase** Eutheria

**Orden** Chiroptera

**Suborden** Microchiroptera

**Familia** Phyllostomidae

**Subfamilia** Phyllostominae

**Tribu** Stenodermatini

**Género** *Sturnira*

**Especie** *Sturnira hondurensis*

**Sinonimia:** *Sturnira ludovici*



Figura 3. Ejemplar de *Sturnira hondurensis*

### **2.3 HISTORIA NATURAL Y ECOLOGÍA**

Se localiza frecuentemente en ambientes muy húmedos. Generalmente se le ha colectado sobre arroyos o cuerpos de agua y en cañadas. Es muy frecuente encontrarlos en las márgenes del bosque tropical caducifolio y el bosque de pino-encino (Baker y Womochel, 1966; Webb *et al.*, 1981). Se cree que presenta segregación sexual (Ramírez-Pulido *et al.*, 1977). Se alimenta principalmente de frutas y su patrón reproductivo es de tipo bimodal poliestro; se han encontrado hembras preñadas en los meses de abril, julio, agosto y noviembre (Gardner, 1977; Jones y Phillips, 1964; Watkins *et al.*, 1972; Wilson, 1979).

### **2.4 HABITAT E INTERVALO DE ALTITUDES**

Habita en tipos de vegetación como bosque templado de pino, encino y mesófilos, bosques tropicales caducifolios, perennifolios y en cultivos de plátanos y café se le encuentra desde el nivel del mar hasta 2240 msnm. Sin embargo, se ha observado con frecuencia que es abundante en localidades entre 500 y 1200 msnm (Eisenberg, 1989; Ramírez-Pulido *et al.*, 1977).

### **2.5 GENÉTICA**

En América del Sur en Surinam se registró que *Sturnira hondurensis* presenta un número cromosómico diploide de 30 y su NF=56. El cromosoma sexual X es subtelocéntrico y el Y es submetacéntrico (Baker *et al.*, 1982).

### **2.6 DISTRIBUCIÓN**

Se distribuye por la vertiente del Atlántico desde el sur de Tamaulipas y por la vertiente del Pacífico desde el sur de Sinaloa, hasta Venezuela, Guyana y Ecuador (Eisenberg, 1989). Se ha registrado en los estados de Colorado, Guerrero, Jalisco, Michigan, México, Oaxaca, Sinaloa, Tamaulipas y Veracruz.

### **2.7 ESTADO DE CONSERVACIÓN**

Es una especie común, que no se encuentra en ninguna categoría de riesgo.

### 3. ANTECEDENTES

Dentro de la clase Mammalia, el segundo orden con mayor diversidad es el Chiroptera con 1,116 especies (Chávez y Ceballos, 2001). Ellos constituyen uno de los grupos más peculiares e interesantes debido a que son los únicos mamíferos capaces de volar, concentrando sus actividades en la noche o en las horas crepusculares. Esto último ha sido posible gracias al desarrollo de un sistema de ecolocalización que les permite orientarse incluso en la más completa oscuridad, habitan en ambos hemisferios (Constantine, 1970). El orden Chiroptera se divide en dos subórdenes: Megachiróptera y Microchiróptera, correspondiendo los primeros al viejo mundo y la mayor parte de los segundos al nuevo mundo (Glover, 1939).

Trabajos realizados por Baker (1979); Baker *et al.*, (1982) en Oaxtepec, Morelos demostraron que el cariotipo de *S. liliium* ( $2n = 30$ , FN = 56) es idéntico al de las otras especies (*S. bidens*, *S. erythomos*, *S. ludovici*, *S. magna*, *S. mordax*, *S. nana*, *S. thomasi*, y *S. tildaë*) hasta el momento examinadas, en otros trabajos realizados en Texas por Baker *et al.*, (1979) en los que reportaron una morfología cromosómica de siete pares metacéntricos y siete pares submetacéntricos. El cromosoma sexual X es subtlocéntrico y el cromosoma Y es submetacéntrico.

Baker *et al.*, (1967) reportaron un trabajo realizado con la especie *Sturnira ludovici* en Ojo de agua del río Atoyac, Veracruz recolectando un macho y una hembra, para el análisis cromosómico se encontró que presenta un  $2n=30$  y un  $NF=56$ , siete pares metacéntricos, tres pares submetacéntrico y cuatro pares acrocéntricos, el cromosoma sexual X es subtlocéntrico y el cromosoma sexual Y es submetacéntrico.

Otros estudios realizados en Michoacán por Baker *et al.*, (1967), reportaron que *Sturnira ludovici* presenta un  $2N=30$  y un  $NF=56$  presenta siete pares de autosomas metacéntricos y siete pares de autosomas submetacéntricos el cromosoma sexual X es subtlocéntrico y el Y es metacéntrico.

Baker *et al.*, (1970) encontraron para la especie *Sturnira ludovici* en Nayarit donde reportaron un número diploide de  $2N=30$  y un número fundamental de  $NF=50$ , la morfología cromosómica de siete pares metacéntricos y siete pares submetacéntricos, el cromosoma sexual X es subtelocéntrico y el cromosoma Y es submetacéntrico.

Kblisky (1969) reportó un trabajo realizado con la especie *Sturnira ludovici* en Venezuela, donde reportó un número diploide  $2n=30$  y un número fundamental  $NF= 56$ , presenta 10 pares de autosomas metacéntricos y submetacéntricos, cuatro pares de autosomas subtelocéntricos, el cromosoma sexual X es subtelocéntrico y el cromosoma Y es submetacéntrico.

En todos estos trabajos las características estructurales y cuantitativas de los cromosomas (cariotipo) son importantes en investigaciones básicas (taxonómicas y evolutivas) y aplicadas. Los taxónomos y evolucionistas están familiarizados con el hecho de que los cromosomas son parte de un sistema dinámico que está moldeando el proceso de evolución. Esta variación se expresa en características fácilmente analizables como el número, forma y tamaño de los cromosomas y no está relacionada con complejidad genética u organizativa.

#### 4. JUSTIFICACIÓN

Los murciélagos son uno de los grupos más importantes a nivel ecológico que actualmente se enfrentan a graves problemas, entre otras causas, por la falta de conocimiento sobre su diversidad y el importante papel que desempeñan en sus hábitats. Por lo cual es importante conocer sus aspectos biológicos y su genética para tener la información génica de *Sturnira hondurensis* debido a que es posible encontrar una variación cromosómica con respecto a otros organismos de la misma especie estudiados y saber que tendencia evolutiva tiene esta especie desde el punto de vista de la información genética.

## 5. OBJETIVO GENERAL

- Obtener el cariotipo y bandeo cromosómico G y C del murciélago *Sturnira hondurensis* de la localidad de Huehuetlán El Grande, Puebla.

### 5.1 OBJETIVOS PARTICULARES

- Describir el cariotipo del murciélago *Sturnira hondurensis* de la localidad Huehuetlán El Grande, Puebla.
- Obtener el patrón de bandas cromosómicas G y C de *Sturnira hondurensis*.
- Elaborar el ideograma de los cariotipos obtenidos.



## 6. ÁREA DE ESTUDIO

### 6.1 Ubicación

El Municipio de Huehuetlán El Grande está ubicado al sur del estado, dentro de la región económica No. 7 de Izúcar de Matamoros y colinda al norte con Puebla y Tzicatlacoyan, al sur con Huatlatlauca y al este con Teopantlán (Figura 4; INEGI, 2009).

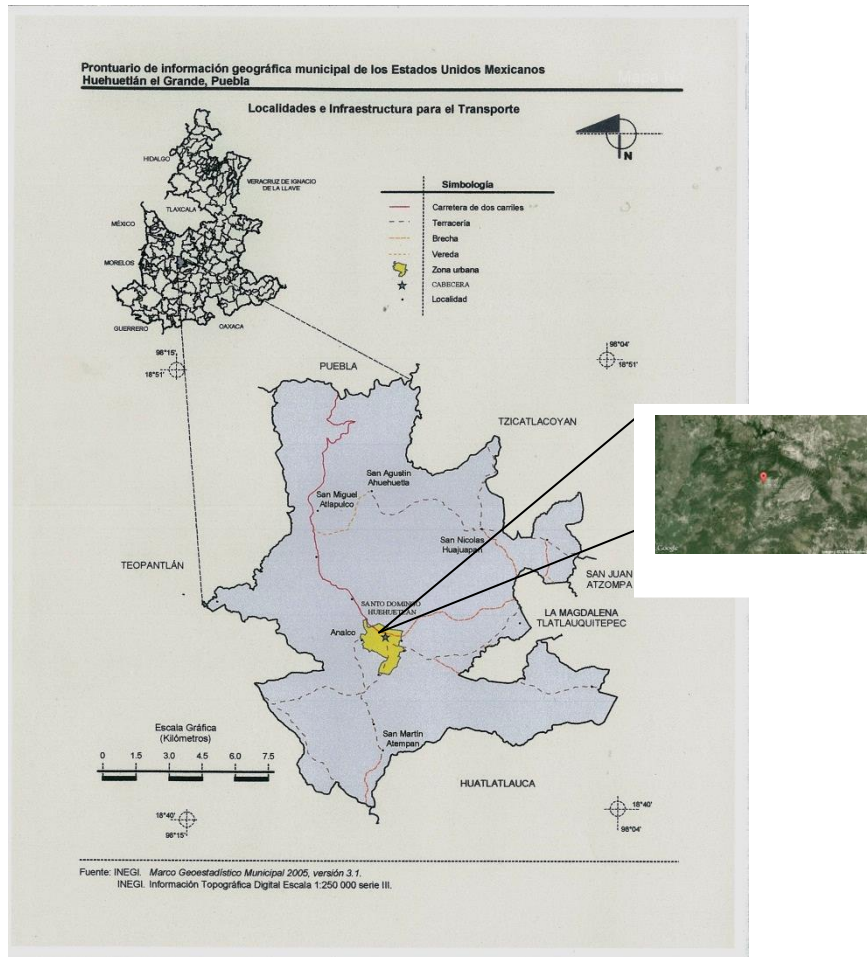


Figura 4. Ubicación de Huehuetlán El Grande (INEGI, 2005).

### 6.2 Extensión

El municipio cuenta con una superficie de 264.08 Km<sup>2</sup> se localiza a una elevación promedio de 1350 msnm en las siguientes coordenadas geográficas: meridiano 98° 04' 50'' longitud oeste, paralelo 18° 51' 20'' latitud norte, cuenta con 17 localidades y una población total de 6 291 habitantes (INEGI, 2009).

### **6.3 Orografía**

La zona está formada por sierras más o menos individuales paralelas, que forman medianas altiplanicies intermontañas que aparecen escalonadas hacia el sur. El área comprendida entre el río Huehuetlán y la cota 1300, hacia el sur, pertenece al valle de Matamoros. El resto del Municipio, constituye el extremo oriental del valle de Atlixco (INEGI, 2009).

### **6.4 Hidrografía**

Dentro del municipio de Huehuetlán El Grande, nacen varios manantiales, por una zona intermontañosa, en temporada de lluvias los escurrimientos aumentan considerablemente, el río nace en el paraje llamado Aclimeyaya, que son terrenos ejidales pertenecientes a Huehuetlán (INEGI, 2009).

El río pasa al oeste de la población de Santo Domingo Huehuetlán, dentro de la zona urbana y forma parte de la región No. 18 del Balsas, que comprende la localidad de Coatzingo.

Pertenece a la cuenca del río Atoyac; es bañada por numerosas corrientes intermitentes, originadas en la Sierra del Tentzo al norte; recorren el municipio libre de norte a sur, formando algunas barrancas importantes como la Barranca Tepeyole; terminan concentrándose en el río Huehuetlán. Cabe señalar que el interior de la comunidad esta bañado por sequías (canales de agua), que sirven para regar los huertos de hortalizas como rábanos, halaches, pápalo, cañas, jícama (INEGI, 2009).

### **6.5 Clima**

En la localidad de Santo Domingo Huehuetlán, se registra un clima cálido subhúmedo con lluvias predominantemente en los meses de julio, agosto y septiembre, con una precipitación pluvial del orden de 700-900 mm., la

temperatura promedio anual que se presenta en la comunidad es de entre 17°C y 23°C, siendo la mínima de 5°C y la máxima de 35°C (INEGI, 2009).

## **6.6 Fauna**

Al norte del Municipio que comprende parte de la Sierra del Tentzo, está cubierta por bosques de encinos asociados con arbustos, cactáceas y pastizales. La vegetación predominante es la selva baja caducifolia, asociada con arbustos, a la orilla del río Huehuetlán podemos apreciar una cuenca rica en árboles frutales (mango, guayaba, papaya, ananás, limones, naranja, zapote, aguacate, ciruela) además de encontrar árboles tales como el Ahuehuate (ciprés de la familia de las acietáceas). Además la población se dedica al cultivo de jícama, pápalo, rábano, pipicha, alfalfa, maíz, tomate; practicando la rotación de cultivos. También se dedican al cultivo de alguna variedad de flores como la de cempaxúchitl, y otros tipos diferentes (INEGI, 2009).

## **6.7 Flora**

Debido a la situación geográfica del Municipio de Huehuetlán El Grande, existe una gran variedad de fauna silvestre y animales domésticos. Dentro de los animales silvestres que podemos encontrar se encuentran armadillos, tejones, zorrillos, coyotes, venados, zopilotes, iguanas, alacranes, ofidios, muchas variedades de aves. Los animales domésticos que más se encuentran en este Municipio son perros, gatos, aves de corral, burros, vacas, chivos y cerdos (INEGI, 2009).

## 7. METODOLOGÍA

### 7.1 Trabajo de campo

El trabajo de campo consistió básicamente en la recolecta de los organismos vivos. Esta se llevó a cabo por las noches, se colocó una red de niebla de 12m de largo, justamente antes del anochecer cerca de donde pasa un arroyo de agua con coordenadas latitud 18° 44' 19" y longitud 98° 9' 50", ya que fue en este momento cuando los murciélagos empiezan su actividad. El lugar donde la red se colocó fue cerca de árboles frutales. Se realizaron 6 salidas de campo en cada muestreo la red se dejó aproximadamente siete horas, siendo revisada cada media hora. Cuando se encontraban los organismos de nuestro interés, se retiraban cuidadosamente utilizando guantes de carnaza colocándolos en sacos de manta para su traslado al laboratorio de Mastozoología en la Escuela de Biología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla en donde se identificaron los organismos y posteriormente se realizó la técnica de extracción de médula ósea.

### 7.2 Trabajo de laboratorio

La obtención del material celular se realizó mediante la técnica de médula ósea para la identificación de los cromosomas de tres ejemplares de la especie *Sturnira hondurensis* (Baker *et al.*, 1982; Baker y Qumsiyeh, 1988). El procedimiento se realizó de la siguiente manera: los ejemplares capturados fueron pesados y caracterizados sexualmente, posteriormente con la finalidad de inhibir el huso acromático y detener la mitosis en metafase se inyectó intraperitonealmente 0.1 ml de colchicina por cada 10gr. de peso del ejemplar y se dejó actuar durante 40 minutos.

Transcurrido este tiempo se sacrificó a cada ejemplar por dislocamiento, llevándose a cabo la toma de medidas de cada murciélago, tales como: longitud total, cola, pata, oreja y peso de *Sturnira hondurensis*. Después a cada espécimen se le cortaron los fémures y las tibias, retirando el musculo de los huesos, cortando las epífisis en el extremo proximal. Con ayuda de una jeringa se

extrajo la médula ósea y se introdujo en tubos de centrifuga de 15 ml, los cuales contenían 5 ml de solución hipotónica de KCl 0.075 M. Esta solución hipotónica provoca la entrada de agua en las células, debido a la alta concentración de sales que hay en el interior de las mismas, por lo tanto el citoplasma aumenta su volumen y los cromosomas permanecen flotando en su interior.

El material celular fue resuspendido con una jeringa y se incubó durante 45 minutos a 37°C. Posteriormente, el material celular se centrifugó a 800 rpm durante 8 minutos, eliminando el sobrenadante con una pipeta Pasteur. A cada tubo se le añadieron 5ml de solución fijadora Carnoy (metanol- ácido acético en proporción 3:1), aplicándose lentamente por las paredes del tubo. El fijador Carnoy se preparó 30 minutos antes de ser utilizado para evitar su hidratación. Los tubos se mantuvieron en refrigeración durante 24 horas.

### **7.2.1 Elaboración de laminillas**

Para la elaboración de laminillas se lavaron los portaobjetos y se colocaron en un frasco con alcohol al 96% previamente refrigerado. Cada tubo se centrifugó a 800 rpm durante 8 minutos, eliminando el sobrenadante y resuspendiéndose suavemente con solución fijadora Carnoy en proporción al tamaño del botón celular (Figura 5). Posteriormente, se elaboraron las laminillas dejando caer tres gotas de material celular con una pipeta Pasteur desde una altura aproximada de 3 metros distribuidas a lo largo del portaobjetos, inmediatamente se realizó un extendido del material con aire comprimido y se dejó secar a temperatura ambiente.

Cada laminilla se tiñó con Giemsa durante 6 minutos y medio (Figura 6; 47ml agua destilada, 2ml de buffer y 1ml de colorante Giemsa), enjuagándose posteriormente con agua destilada y se dejó secar. Más tarde se observaron con un microscopio óptico donde se localizaron los mejores campos mitóticos en metafase.

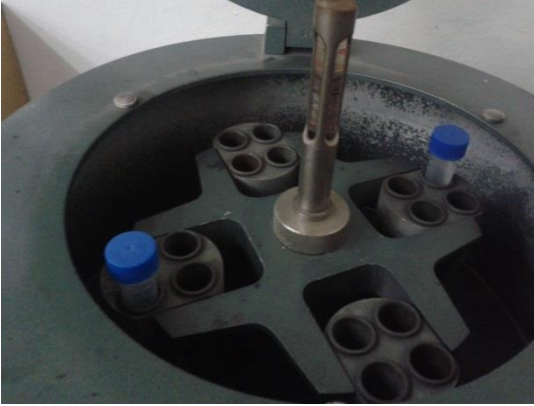


Figura 5. El material celular se centrifugó durante 8 minutos a 800rpm.



Figura 6. Giemsa convencional para la tinción de laminillas.

## 7.2.2 Elaboración del cariotipo

Para la obtención del cariotipo convencional se seleccionaron varias fotografías impresas de diferentes individuos. Los cromosomas de cada fotografía fueron recortados y medidos con un vernier digital, clasificándose estos de acuerdo a las medidas registradas, formando pares homólogos, de acuerdo a la posición del centrómero obteniendo el índice centromérico IC, tomando en cuenta la longitud total del cromosoma, así como la de su brazo corto denominado como “p” y el brazo largo denotado como “q” (Levan *et al.*, 1964).

El índice centromérico se obtuvo con la siguiente fórmula:

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

Dónde:

IC= índice centromérico

p= Brazo corto

q= Brazo largo

El número fundamental se determinó conforme al número de brazos presentes en los autosomas, con el resultado obtenido y de acuerdo a la posición del centrómero y tamaño de los cromosomas se clasificaron siguiendo la nomenclatura de Levan *et al.* (1964). Se agruparon conforme a su morfología ordenándose de acuerdo a su longitud decreciente, describiendo de esta manera el  $2n$  y NF.

### **7.2.3 BANDAS CROMOSÓMICAS G**

Para la obtención de bandas cromosómicas G se realizó la técnica de De Grouchy y Turleau (1977); Patton y Baker, (1978) por lo que se emplearon algunas laminillas previamente utilizadas para la construcción del cariotipo, las laminillas fueron desteñidas, y estas se colocaron en una estufa de cultivo a  $65^{\circ}\text{C}$  durante 16 horas para que se endurecieran los cromosomas y así conseguir un mejor patrón de bandeo.

Transcurrido el tiempo, las laminillas se sacaron de la estufa y se dejaron enfriar a temperatura ambiente, después se colocaron en un vaso Coplin con solución de Tripsina Difco 0.025% en un lapso de 150 a 180 segundos, esto con la finalidad de desnaturalizar las proteínas contenidas en los cromosomas, inmediatamente se sacaron del vaso y se sumergieron en dos vasos Coplin que contenían solución amortiguadora de Fosfato de Sodio (PBS) durante diez veces en cada uno, para eliminar el exceso de Tripsina. Posteriormente, fueron teñidas durante 6 minutos en Buffer de Giemsa al 2% en un vaso Coplin preparada según Seabright, (1971) donde se agito vigorosamente hasta producir espuma y así permitir una mejor tinción (Figura 7).

Una vez que las laminillas se tiñeron, se enjuagaron con agua destilada y se dejaron secar a temperatura ambiente, estas fueron observadas con un microscopio óptico, usando filtros fotográficos de color, amarillo y verde que se colocaron sobre el foco del microscopio con la finalidad de contrastar mejor las bandas y se fotografiaron los mejores campos con una cámara digital. Las fotografías fueron editadas con la aplicación Microsoft Office Picture Manager, posteriormente se imprimieron en papel fotográfico, el cariotipo de bandas

cromosómicas G se construyó con base en la formación de pares homólogos, ordenados de acuerdo a su morfología y longitud decreciente, donde cada par representa el mismo número de bandas en sus brazos.



Figura 7. Tratamiento y tinción para bandas cromosómicas G.

#### 7.2.4 BANDAS CROMOSÓMICAS C

Para la elaboración de bandas cromosómicas C se realizó la técnica descrita por Arrighi y Hsu (1971), Summer (1972) por lo que se utilizaron dos grupos de laminillas, el primer grupo son laminillas que solo han sido empleadas para la construcción del cariotipo; mientras que el segundo grupo son algunas de las laminillas usadas para el bandeado cromosómico G, todas las laminillas se destiñen. Estas fueron sumergidas en un vaso Coplin con solución HCl 0.2N durante 15 minutos, con el fin de remover proteínas.

Después se sumergieron en un vaso Coplin con solución saturada de Hidróxido de Bario a 45°C durante 120 segundos. El Hidróxido de Bario actuó en la disociación de Eucromatina. Las laminillas se colocaron en HCl 0.2N para detener la reacción del Hidróxido de Bario, en seguida se lavaron tres veces con agua destilada y se dejaron secar a temperatura ambiente.

Las preparaciones se colocaron en una cámara húmeda (Caja Petri con dos hojas de papel filtro, solución 2XSSC pH 7.0 y dos tapones de plástico como soporte) se verificó que tuvieran suficiente solución de 2XSSC para que no se secaran. Con una pipeta Pasteur se colocaron 4 gotas de 2XSSC a lo largo de las laminillas y se



dejó caer encima un portaobjetos en cada una de estas. Se incubaron a 65°C durante 12 horas.

Posteriormente, las laminillas se sacudieron para retirar los cubreobjetos, enjuagándolas en agua destilada tres veces dejándolas secar. Después se lavaron en dos vasos Coplin con alcohol al 70% y 95% durante cinco minutos en cada uno, dejando secar nuevamente a temperatura ambiente; esto evitó la formación de cristales, se tñieron con Buffer de Giemsa al 4% durante 8 minutos, enjuagando brevemente en agua destilada y dejando secar a temperatura ambiente (Figura 8).

Finalmente, las laminillas se observaron con un microscopio óptico, usando filtros fotográficos de color amarillo y verde que se colocaron sobre el foco del microscopio con la finalidad de contrastar mejor las bandas, se tomaron fotografías con una cámara digital editadas con la aplicación Microsoft Office Picture Manager, se imprimieron en un papel fotográfico. El cariotipo de bandas cromosómicas C se construyó con base en la presencia de heterocromatina constitutiva en los autosomas o en todos los cromosomas, se acomodan por pares homólogos, ordenados con base en su morfología y longitud decreciente.



Figura 8. Tratamiento y tinción para bandas cromosómicas C.

## 8. RESULTADOS

De los ejemplares colectados se obtuvieron laminillas para la búsqueda de los campos mitóticos, para las hembras se realizaron tres laminillas obteniendo 48 campos mitóticos, mientras tanto para el macho se hicieron seis laminillas, en las que se obtuvieron 44 campos mitóticos y se fotografiaron los mejores campos mitóticos de cada ejemplar.

El cariotipo convencional obtenido para *Sturnira hondurensis* del municipio de Huehuetlán El Grande, Puebla es  $2n=30$  y el NF=50 la morfología cromosómica obtenida fueron 11 pares de autosomas metacéntricos y tres pares telocéntricos el cromosoma sexual X es metacéntrico y el Y es submetacéntrico (Figura 9 y 10).

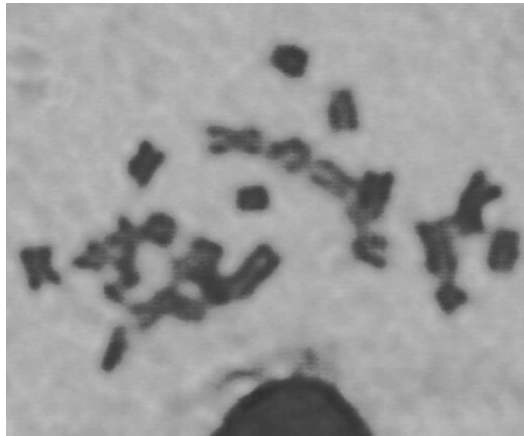


Figura 9. Cariotipo mitótico del murciélago *Sturnira hondurensis* (hembra) de la localidad de Huehuetlán El Grande.

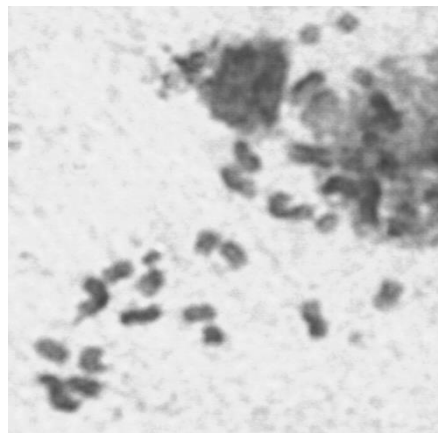


Figura 10. Cariotipo mitótico del murciélago *Sturnira hondurensis* (macho) de la localidad de Huehuetlán El Grande.

En las figuras 11 y 12 se muestra el cariotipo convencional macho y hembra de *Sturnira hondurensis* los cuales se ordenaron de acuerdo a su morfología cromosómica según la clasificación de Levan *et al.* (1964). Se puede apreciar que los cromosomas metacéntricos son más grandes a diferencia de los cromosomas telocéntricos que son pequeños, tanto para el cariotipo hembra y macho.

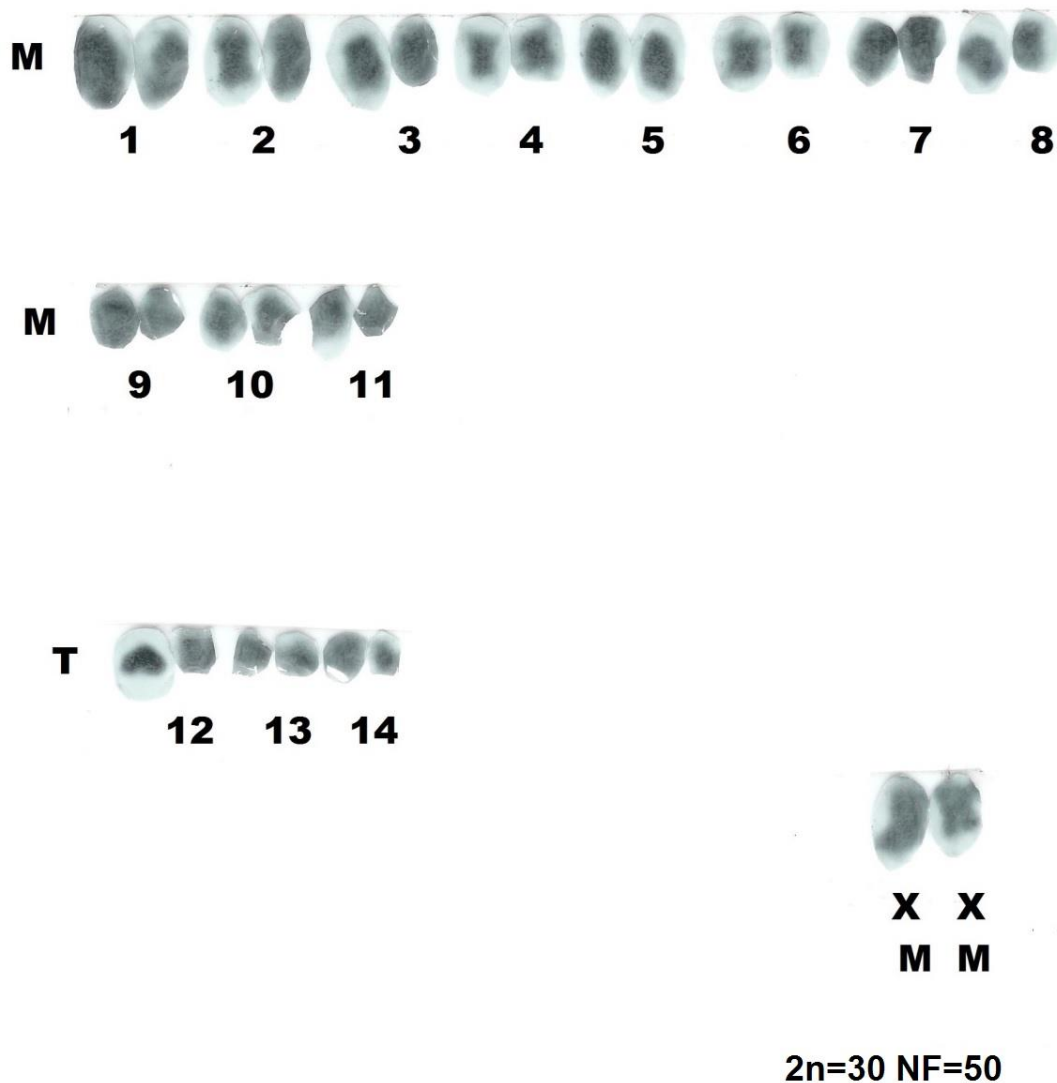


Figura 11. Cariotipo convencional de *Sturnira hondurensis* (hembra) del Municipio de Huehuetlán El Grande.

✚ M: Metacéntrico

✚ T: Telocéntrico

✚ X: Cromosoma sexual X

✚ 2n: Número diploide

✚ NF: Número Fundamental

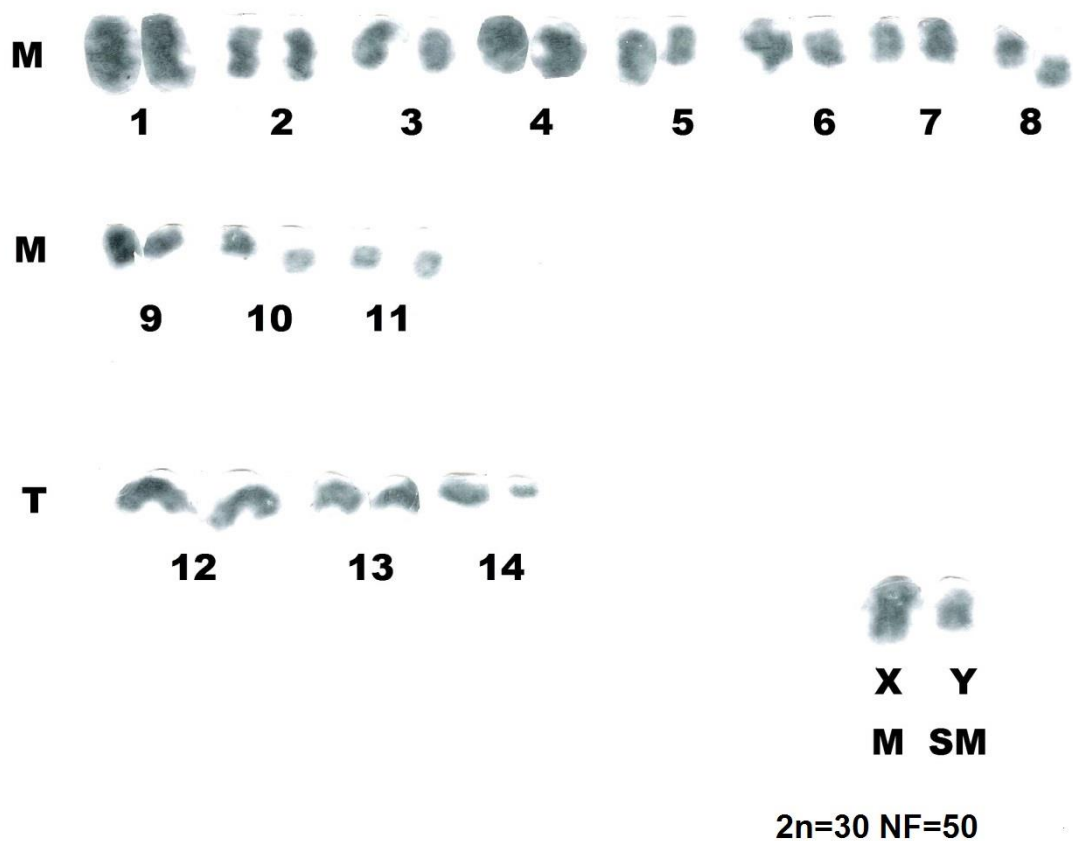


Figura 12. Cariotipo convencional de *Sturnira hondurensis* (macho) del Municipio de Huehuetlán El Grande.

- ✚ M: Metacéntrico
- ✚ SM: Submetacéntrico
- ✚ T: Telocéntrico
- ✚ X: Cromosoma sexual X
- ✚ Y: Cromosoma sexual Y
- ✚ 2n: Número diploide
- ✚ NF: Número Fundamental

En las figuras 13 y 14 se muestra la representación esquemática del cariotipo macho y hembra de *Sturnira hondurensis* del Municipio de Huehuetlán El Grande. Se puede apreciar que los cromosomas metacéntricos son más grandes a diferencia de los cromosomas telocéntricos que son pequeños, tanto para el cariotipo hembra y macho.

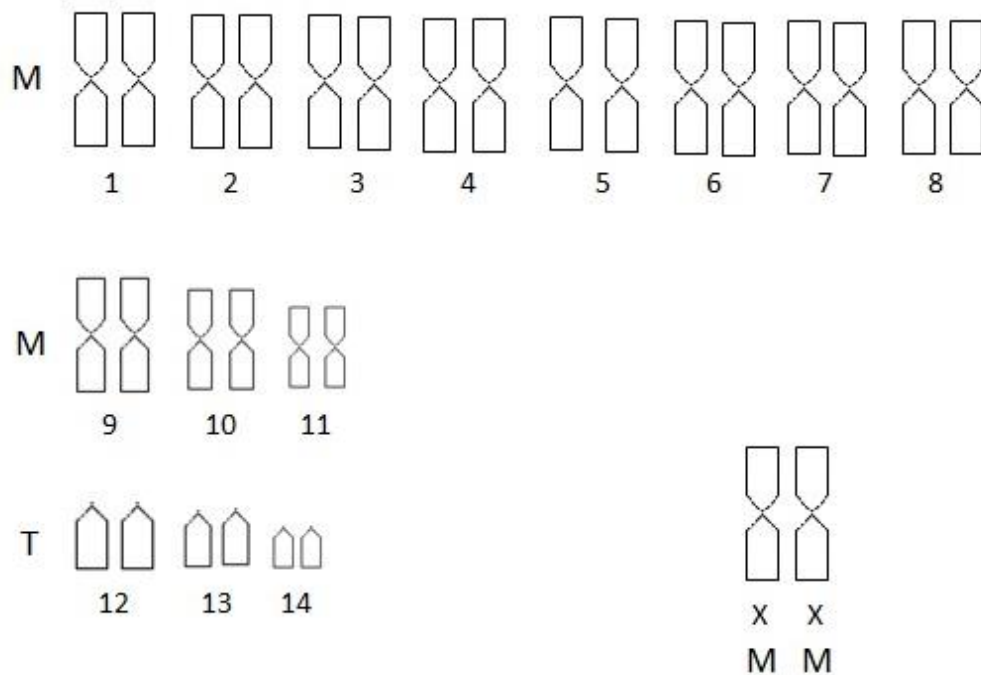





Figura 13. Ideograma del cariotipo del murciélago *Sturnira hondurensis* (hembra) del Municipio de Huehuetlán El Grande.

-  **M: Metacéntrico**
-  **T: Telocéntricos**
-  **X: Cromosoma sexual X**

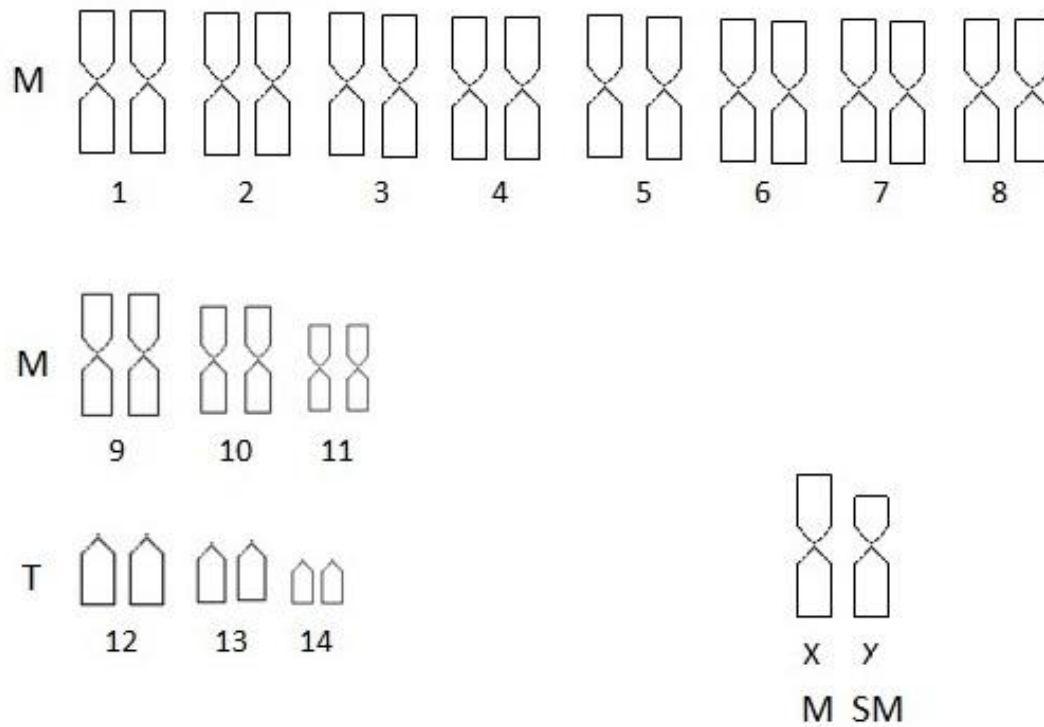


Figura 14. Ideograma del murciélago *Sturnira hondurensis* (macho) del Municipio de Huehuetlán El Grande.

- ✚ **M: Metacéntrico**
- ✚ **SM: Submetacéntrico**
- ✚ **T: Telocéntrico**
- ✚ **X: Cromosoma sexual X**
- ✚ **Y: Cromosoma sexual Y**

En la Tabla 1. Se muestra la clasificación del índice centromérico de *Sturnira hondurensis* de la localidad de Huehuetlán El Grande, se muestra que el rango de 40-50 corresponde de acuerdo a la posición del centrómero que los cromosomas son metacéntricos y los que van de un rango de 0.5 a 0.10 corresponde a los cromosomas telocéntricos, así como también el rango de 27-30 corresponden a los submetacéntricos. Esto indica que los cromosomas más grandes son metacéntricos, los cromosomas medianos son submetacéntricos y los más pequeños telocéntricos.

Tabla 1. Clasificación del índice centromérico de *Sturnira hondurensis* de la localidad de Huehuetlán El Grande.

PAR	L TOTAL	BRAZO p	DS p	BRAZO q	DS q	IC	CLASIFICACION SEGÚN LEVAN <i>et al.</i> (1964)
1	0.150	0.075	0.013	0.075	0.008	49.91	M
2	0.245	0.121	0.019	0.124	0.015	49.28	M
3	0.190	0.092	0.005	0.098	0.0238	48.55	M
4	0.171	0.081	0.007	0.090	0.0147	47.23	M
5	0.172	0.078	0.017	0.093	0.029	45.71	M
6	0.286	0.13	0.011	0.156	0.011	45.41	M
7	0.153	0.069	0.021	0.084	0.019	45.11	M
8	0.194	0.087	0.023	0.107	0.013	44.73	M
9	0.163	0.073	0.016	0.090	0.019	44.58	M
10	0.151	0.067	0.005	0.083	0.006	44.53	M
11	0.162	0.071	0.005	0.090	0.008	44.13	M
12	0.091			0.091	0.019	0.09	T
13	0.075			0.075	0.008	0.07	T
14	0.065			0.065	0.013	0.06	T
X	0.224	0.098	0.016	0.125	0.013	43.97	M
Y	0.284	0.077	0.020	0.206	0.262	27.28	SM

- p= Brazo corto
- q =Brazo largo
- IC= Índice Centromérico
- DS p= Desviación Estándar brazo corto
- DS q= Desviación Estándar brazo largo
- M: Metacéntrico
- T: Telocéntrico
- SM: Submetacéntrico
- X: cromosoma sexual X
- Y: cromosoma sexual Y



## 8.1 Bandas cromosómicas G

El patrón de bandas cromosómicas G obtenido en *Sturnira hondurensis* se mostró que los pares cromosómicos tanto de hembra como de macho poseen de una a dos bandas oscuras de eurocromatina, se observa que en los pares cromosómicos del 1 al 8 en ambos brazos presenta dos bandas oscuras y el “q” 9 al 11 se presenta solo una banda oscura con respecto a ambos brazos, sin embargo en los pares cromosómicos del 12 al 14 sólo se presentó una banda oscura en el brazo “q” (Figura 15).

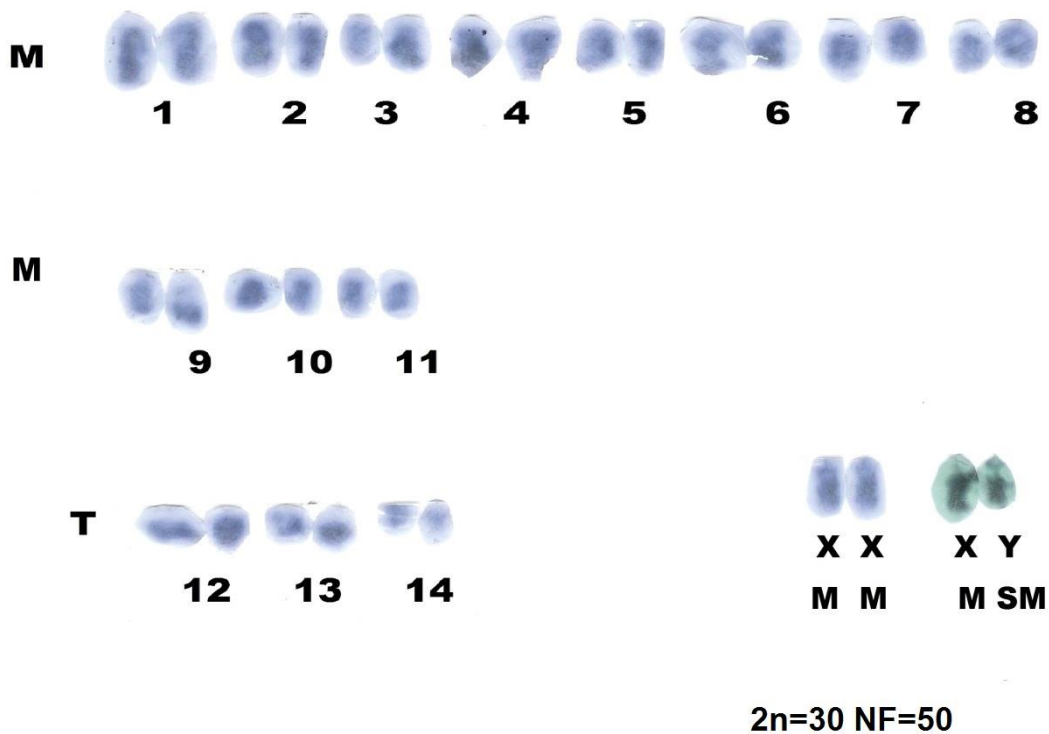


Figura 15. Cariotipo con tratamiento bandas cromosómicas G de *Sturnira hondurensis* (hembra y macho) del Municipio de Huehuetlán El Grande.

- ✚ M: Metacéntrico
- ✚ SM: Submetacéntrico
- ✚ T: Telocéntricos
- ✚ X: Cromosoma sexual X
- ✚ Y: Cromosoma sexual Y
- ✚ 2n: Número diploide
- ✚ NF: Número Fundamental

En la figura 16 se muestra la representación esquemática del bandeo cromosómico G del cariotipo macho y hembra de *Sturnira hondurensis* del Municipio de Huehuetlán El Grande.

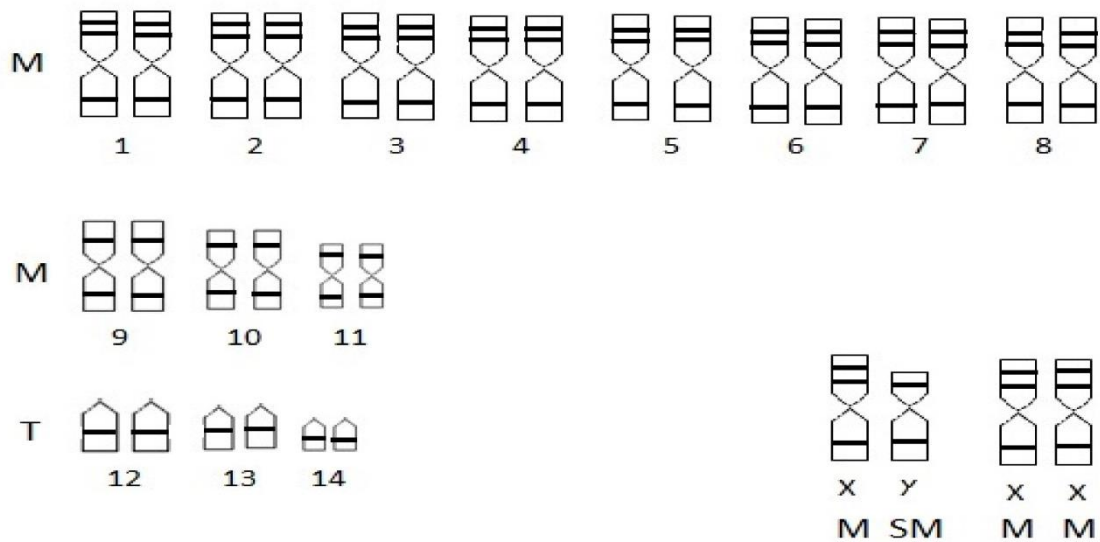


Figura 16. Ideograma con bandas cromosómicas G de *Sturnira hondurensis* (hembra y macho) del Municipio de Huehuetlán El Grande.

✚ **M: Metacéntrico**

✚ **X: Cromosoma sexual X**

✚ **SM: Submetacéntrico**

✚ **Y: Cromosoma sexual Y**

✚ **T: Telocéntrico**

## 8.2 Bandas cromosómicas C

Para el bandeo cromosómico C se encontró heterocromatina constitutiva básicamente en la región del centrómero de los autosomas. En lo que respecta a los cromosomas sexuales la heterocromatina constitutiva se situó en la región centromérica del cromosoma X y del cromosoma Y, prevaleciendo de forma muy notoria en todo el brazo (Figura 17).



Figura 17. Cariotipo de bandas cromosómicas C de *Sturnira hondurensis* (macho) del Municipio de Huehuetlán El Grande.

✚ 2n=30

✚ M: Metacéntrico

✚ SM: Submetacéntrico

✚ T: Telocéntricos

✚ X: Cromosoma sexual X

✚ Y: Cromosoma sexual Y

✚ 2n: Número diploide

✚ NF: Número Fundamental

En la figura 18 se muestra la representación esquemática del bandeo cromosómico C del cariotipo macho de *Sturnira hondurensis* del Municipio de Huehuetlán El Grande.

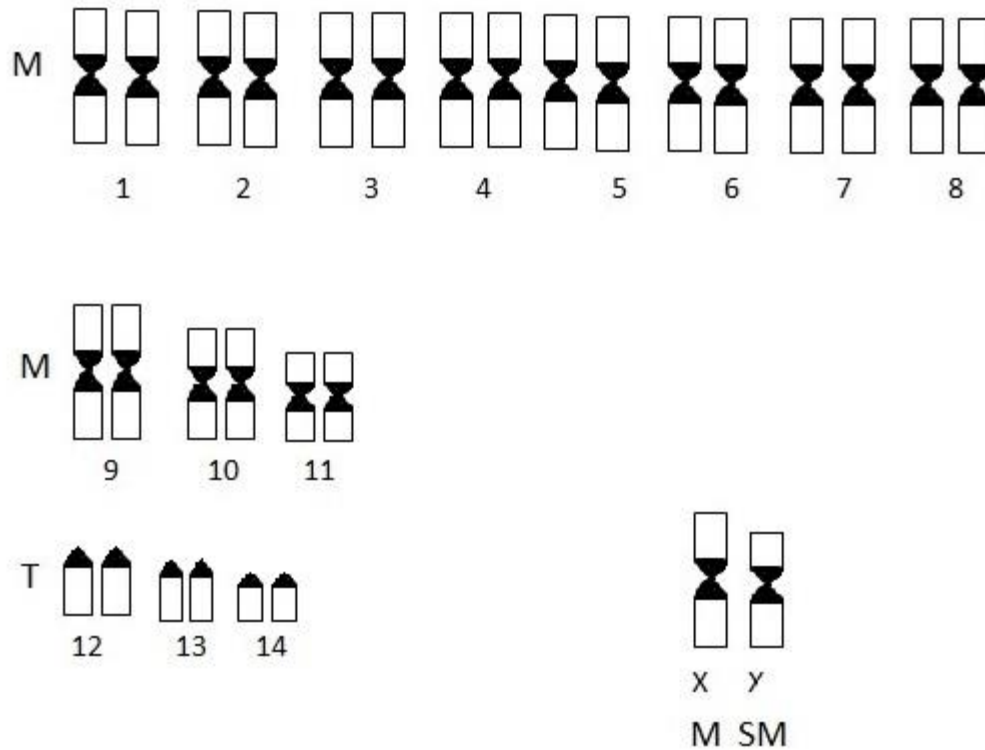


Figura 18. Ideograma con bandas cromosómicas C de *Sturnira hondurensis* (macho) del Municipio de Huehuetlán El Grande.

✚ **M: Metacéntrico**

✚ **T: Telocéntrico**

✚ **SM: Submetacéntrico**

✚ **X: Cromosoma sexual X**

## 9. DISCUSIÓN

El cariotipo de *Sturnira hondurensis* de Huehuetlán El Grande, se caracteriza por tener un número cromosómico ( $2n=30$ ) y número fundamental ( $NF=50$ ), las dos características concuerdan con las reportadas por Baker *et al.*, (1970), que reportaron que la especie *Sturnira ludovici* de la localidad de Nayarit tienen las mismas características de lo obtenido en el presente estudio, aunque para las otras localidades como: Oaxtepec, Morelos, Ojo de agua del río Atoyac, Veracruz, Michoacán, Nayarit, Texas y Venezuela difieren ya que presentan un ( $NF=56$ ), esto es prueba aparente de la normalidad en el conjunto cromosómico de *Sturnira hondurensis* o al menos de la población de donde fue muestreado el ejemplar. Por otra parte, los tipos de vegetación, el clima y las barreras geográficas son factores importantes que llegan a determinar los cambios estructurales cromosómicos de una especie.

Con respecto a la morfología cromosómica, algunas especies de *Sturnira* como *S. lillium*, *S. ludovici* y *S. aratathomasi* presentan 10 pares metacéntricos y cuatro pares subtelocéntricos (Baker, 1979; Muñoz, 1995; Kblisky, 1969) a comparación de los 11 pares metacéntricos, tres pares telocéntricos encontrados en el presente estudio del ejemplar de *Sturnira hondurensis* (Tabla 2). Esto se puede deber a las poblaciones que están sujetas a las condiciones que les prevé su medio ambiente por lo que la falta de alimento como es la vegetación puede alterar los ciclos de la vida de la especie, incluso modificar las densidades poblacionales, de esta manera se puede originar que las poblaciones fijen información genéticamente diferente y así presentarse cambios cariotípicos que serán transmitidos durante diversas generaciones. Finalmente, las barreras geográficas como son las montañas, lagos o ríos pueden originar el aislamiento de las poblaciones y provocar que cada una de estas transmita información genéticamente diferente a la otra debido a que cada población se desarrollará bajo condiciones diferentes (Davis, 1980).

La morfología cromosómica muestra que existe una diferencia cromosómica ya que estudios realizados de la especie *Sturnira ludovici* en las localidades de Venezuela, Oaxtepec, Morelos, Texas y Michoacán, se reporta que presentan una morfología cromosómica de siete pares metacéntricos y siete pares submetacéntricos (Kblisky, 1969; Baker, 1979; Baker *et al.*, 1982; Baker *et al.*, 1967; Baker *et al.*, 1970), así como Baker *et al.*, (1967), en la localidad de Ojo de agua del río Atoyac, Veracruz, presentan siete pares metacéntricos, tres pares submetacéntricos y cuatro pares telocéntricos, por lo que difiere en este estudio ya que se encontró en la localidad de Huehuetlán El Grande de la misma especie que presenta una morfología cromosómica de 11 pares metacéntricos y tres pares telocéntricos para *Sturnira hondurensis*. Los cambios en la morfología de los cromosomas en algunos casos pueden deberse a mutaciones cromosómicas que alteran la morfología de los cromosomas, deleciones o de replicación de genes. (Baker y Qumsiyeh, 1988). Para otras especies de murciélagos como algunas del género *Carollia* (Baker, 1967) las variaciones en la morfología cromosómica han sido descritas, pero se concluye que análisis más estrictos requieren del uso de bandas cromosómicas. Llama la atención que muchos de los reportes realizados para la descripción de cromosomas en ejemplares del género *Sturnira* fueron realizados hasta los años noventa (Baker, 1979), posteriormente los reportes han sido bajos o se trata de recopilaciones de información (Muñoz, 1995), lo cual ha dificultado hacer inferencias filogenéticas a partir de los datos cariológicos reportados hasta el momento.

Los cromosomas sexuales en las especies del género *Sturnira* (Tabla 2) muestran diferencias morfológicas en el cromosoma X ya que se encontró en todos los trabajos descritos un cromosoma submetelocéntrico, y *Sturnira hondurensis* descrita en este trabajo, el cromosoma X es metacéntrico; en la especie *Sturnira liliium* (Baker, 1979 y Baker *et al.*, 1982) de la localidad de Oaxtepec, Morelos se reporta un cromosoma sexual X submetelocéntrico, y la especie *Sturnira ludovici* en las localidades de Michoacán, Texas, Nayarit y Venezuela (Baker *et al.*, 1967, Baker *et al.*, 1967; Baker *et al.*, 1970; Kblisky, 1969) reportaron un cromosoma sexual X submetelocéntrico. Para el cromosoma sexual Y se mantiene constante para todas

las localidades ya que se reporta un cromosoma Y submetacéntrico para la especie *Sturnira hondurensis*. Este tipo de reordenamientos implican una fusión céntrica de dos cromosomas para formar un submetacéntrico (SM) o metacéntrico (M) conocidas como fusiones robertsonianas (Gibson, 1984) y fijadas tras largos procesos de evolución del cariotipo.

Las fusiones robertsonianas en murciélagos representan uno de los mecanismos de evolución cromosómica, relacionada estrechamente con cambios cromosómicos y cambios morfológicos. Dentro de la familia Phyllostomidae, el mecanismo robertsoniano ha generado cambios intraespecíficos e interespecíficos del conjunto cromosómico en géneros como: *Macrotus*, *Uroderma*, *Vampyressa* y *Micronycteris* (Bickham y Baker, 1979). El género *Sturnira* contiene al menos 15 especies descritas; 12 especies tienen datos cromosómicos, mientras que de tres especies del género (*S. koopmanhilli*, *S. sorianoi* y *S. mistratensis*) se desconocen algún tipo de caracteres cromosómicos, esto motiva al uso de técnicas citogenéticas que permitan aportar información adicional que pueda fortalecer las hipótesis filogenéticas planteadas para el género *Sturnira*.

Tabla 2. Comparación de análisis cromosómico de especies pertenecientes al género *Sturnira*.

ESPECIE	LOCALIDAD	2n	NF	M	SM	ST	T	X	Y	AUTOR
<i>Sturnira liliium</i>	Oaxtepec, Morelos	30	56	7	7			ST	SM	Baker, (1979; Baker <i>et al.</i> 1982)
<i>Sturnira ludovici</i>	Ojo de agua del río Atoyac, Veracruz	30	56	7	3		4	ST	SM	Baker <i>et al.</i> (1967)
<i>Sturnira ludovici</i>	Texas	30	56	7	7			ST	SM	Baker <i>et al.</i> (1979)
<i>Sturnira ludovici</i>	Michoacán	30	56	7	7			ST	SM	Baker <i>et al.</i> (1967)
<i>Sturnira ludovici</i>	Nayarit	30	50	7	7			ST	SM	Baker <i>et al.</i> (1970)
<i>Sturnira ludovici</i>	Venezuela	30	56	10	4			ST	SM	Kblisky, (1969)
<i>Sturnira hondurensis</i>	Huehuetlán El Grande	30	50	11			3	M	SM	Presente estudio (2015)



## 10. CONCLUSIÓN

El cariotipo convencional obtenido para *Sturnira hondurensis* del municipio de Huehuetlán El Grande, Puebla es un  $2n=30$  y un  $NF=50$ .

La morfología cromosómica obtenida fue 11 pares de autosomas metacéntricos y 3 pares telocéntricos, el cromosoma sexual X es metacéntrico y el Y es submetacéntrico.

La técnica de bandeo cromosómico G demuestra que los pares cromosómicos tanto de hembra como de macho poseen de una a dos bandas oscuras de eurocromatina localizadas en el brazo "p" que corresponde a cromosomas metacéntricos, y el brazo "q" una sola banda oscura de los autosomas principalmente en los cromosomas telocéntricos.

Mediante la técnica de bandeo cromosómico C se comprueba la presencia de heterocromatina constitutiva básicamente en la región del centrómero de los cromosomas.

## 11. PROPUESTAS

- Continuar estudios de esta especie *Sturnira hondurensis* en otras zonas de su distribución para el conocimiento citogenético de la misma.
- Hacer estudios morfométricos craneales.
- Electroforésis; Reacción de cadena polimerasa (PCR); entre otros para complementar la información obtenida en esta investigación.
- Técnicas moleculares como secuenciación de ADN consiste en la identificación de la secuencia de bases de un determinado fragmento de ADN. Se utiliza para corroborar mutaciones detectadas con otras técnicas.

## 12. LITERATURA CITADA

**Álvarez, T. y Polaco, O. 1980.** Nuevos registros de murciélagos para el Estado de Hidalgo, México. Anales de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, México, 23:135-141.

**Arrighi, F. E. y Hsu, T. C. 1971.** Localization of heterochromatin in human chromosomes. *Cytogenetics* 10:81-6.

**Baker, J. J. y Qumsiyeh, M. B. 1988.** Methods in chiropteran mitotic chromosomal studies. Ecological and Behavioral Methods for the Study of Bats. Smithsonian Inst. Press. 425 - 435.

**Baker, R. J. y Phillips, C. J. 1965.** Mammals from the Nevado de Colima, Mexico. Journal of Mammalogy. 46:691-693.

**Baker, R. J. y Womochel, D. 1966.** Mammals from southern Oaxaca. Southwestern Nat., 11:306.

**Baker, R. J. 1979.** Karyology. Pp. 107-155, in Biology of bats of the New World family Phyllostomatidae. Part III (R. J. Baker, J. K. Jones, Jr., and D.C. Carter, eds.). Spec. Publ. Mus., Texas Tech Univ., 16:1-441.

**Baker, R. J. y Hsu, T. C. 1970.** Further studies on the sex-chromosome system of the America leaf-nosed bats (Chiroptera, Phyllostomidae). *Cytogenetics*. 9:131-138.

**Baker, R. J. y Patton, J. L. 1967.** Karyotypes and karyotypic variation of North American Vespertilionid bats. *Mamm.* 48: 270-286.

**Baker, R. J., Haiduk, M. W., Robbins, L. M., Cadena, A. y Koop, B. F. 1982.** Estudios cromosómicos de murciélagos de América del Sur y sus ampliaciones. Pp. 307-327, in Sistemática, en la biología de los mamíferos de América del Sur (Mares y Genoways, eds.). Spec. Publ. Ser., Pymatuning Lab. Ecol., Univ. Pittsburgh. 6: 1-539.

**Bickham, J. y Baker, R. J. 1979.** Canalization model of chromosomal evolution. *Models and Methodologies in Evolutionary Theory* (editado por Schwartz H. y Rollins H. B.), pp.70-84. *Bulletin of the Carnegie Museum of Natural History* 13.

**Chávez, C. y Ceballos, G. 2001.** Diversidad y abundancia de murciélagos en selvas secas de estacionalidad contraste en el oeste de México. *Revista Mexicana de Mastozoología*. 5:27- 44.

**Constantine, D. G. 1970.** Bats in relation to the health, welfare and economy of man. Academic Press. U.S.A. pp. 319-449.

**Cortés, F. 1984.** Bando de Cromosomas. *Investigación y Ciencia*. 97:20-29.

**Davis, W. B. 1980.** New *Sturnira* (Chiroptera: Phyllostomidae) from Central and South America, with key to currently recognized species. *Occasional Papers, Museum of Texas Tech University* 70. 2-6.

**De Grouchy, J. y Turleau, C. 1977.** *Clinical Atlas of Human Chromosomes*. John Wiley and Sons, 75. Estados Unidos. pp. 292-29.

**Eisenberg, J. F. 1989.** *Mammals of the Neotropics: The Northern Neotropics*. Panama, Colombia, Venezuela, Suriname, French Guiana. Vol 1. The University of Chicago Press, Chicago, Illinois. pp. 295.

**Gardner, A. L. 1977.** Feeding habits. Pp. 293-350, in *Biology of bats of the new world Family Phyllostomatidae*. Part II. (R. J. Baker, J. K. Jones, Jr. y D. C. Carter, eds). *Special Publications of the Museum, Texas Tech University*, 13:1-364.

**Gardner, E. J. 1990.** *Principios de Genética*. Editorial Limusa, Wiley. México. D. F. 649. pp.

**Gibson, J. 1984.** Chromosomal change in mammalian speciation: A literatura review. *Origenes* 11 (2): 67-89.

**Gines, B. R. 2004.** *La citogenética en la valoración dismórfica*. Unidad de Genética. Editorial Limusa, Wiley, Cuarta Edición, México, D. F. 55 pp.

**Glover, M. A. 1939.** Bats. Dover Publications Ins. New York. U.S.A. 54. pp.

**Griffiths, P. E. y Knight, R. D. 1998.** What is the Developmentalist Challenge  
Philosophy of Science 65 (June):253-258.

**Herrera, J. C. 2007.** La citogenética molecular y su aplicación en el estudio de los  
genomas vegetales. Agronomía Colombiana 25(1):26-35.

**INEGI. Marco Geoestadístico Municipal 2009.**

**Jackson, R. C. 1971.** El cariotipo en sistemática. Ann. Rev. Syst. Ecol. 327-361.

**Jiménez, L. F. y Merchant, H. 2003.** Biología Celular y Molecular. Pearson  
Educación. Primera edición. México pp. 81- 92.

**Jones, J. y Phillips, L. 1964.** Estatus y conservación de los murciélagos en  
Portugal En: Benzal, J., y Paz, O. (Eds.). Monografías del ICONA, Colección  
Técnica. pp. 163-179.

**Jones, J. K., Jr. 1964.** A new subspecies of harvest moust *Reithrodontomys  
gracilius*, from isla del Carmen, Campeche. Proceedings of the Biological Society  
of Washington, 77:123-124.

**Kblisky, P. 1969.** Chromosome patterns of 7 species of leaf-nosed bats of  
Venezuela (Chiroptera- Phyllostomidae). Experientia, 25: 1203-1204.

**Klug, W. S. y Cummings, M. R. 1999.** Conceptos de genética. Editorial Prentice  
Hall, Quinta Edición, Madrid. pp.19.

**Lacadena, J. R. 1996.** Citogenética. Editorial Complutense. Primera Edición.  
España. 931 pp.

**Levan, A., Fredge, K. y Sandberg, A. 1964.** Nomenclature for centromeric  
position in chromosomes. Hereditas., 52:201-220.

**Lorenzo, C., García, M. y Espinoza, E. 2004.** La Sistemática en la conservación de especies. Laboratorio de Genética de ECOSUR. pp. 38-40.

**Manero, D. 2002.** Manual de Genética. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Córdoba. Tercera edición. Argentina. Mus. Zool., Univ. pp. 76.

**Muñoz, J. 1995.** Clave de murciélagos vivientes en Colombia. Editorial Universidad de Antioquia. Medellín Colombia, pp 95-97.

**Nelson, D. L. y Cox, M. M. 2005.** Principios de Bioquímica. Omega. España. pp. 205-216.

**Patton, J. C. y Baker, R. J. 1978.** Chromosomal homology and evolution of phyllostomatoids bats. Zoology systematics, 27:449-462.

**Pierce, B. 2009.** Genética: Un enfoque conceptual. Editorial Médica Panamericana. Tercera Edición. España. 240 pp.

**Ramírez-Pulido, J., Martínez, A. y Urbano, G. 1977.** Mamíferos de la Costa Grande de Guerrero, México. Anales del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. Serie Zoología., 48:243-292.

**Reyes, M. J. 2002.** Diccionario de Biología. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Dirección General de Fomento Editorial. 35 pp.

**Salamanca, F. 1990.** Citogenética humana. Editorial Médica Panamericana. Primera edición, 400 pp.

**Seabright, M. 1971.** A rapid banding technique for human chromosomes. Lancet 2:971-972.

**Solomon, E. P., Berg, L. P. y Martin, D. W. 2001.** Biología. McGraw Hill Interamericana, 5ta. Edición, México, D.F. 214 pp.

**Summer, A. T. 1972.** A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. *Experimental Cell Research*. 75:304-306.

**Turleau, C. 1977.** Trisomy 18qter and trisomy mapping of chromosome 18. *Clinical Genetics*, 12: 361–371.

**Ville, C. A. 2000.** *Biología*. Edit. McGraw Hill Interamericana, eighth Edición. pp. 50, 51, 52.

**Watkins, L. C., Jones, J. K. Jr. y Genoways, H. H. 1972.** Bats of Jalisco, México. *Special Publications of the Museum of Texas Tech University*, 1:1-44.

**Webb, R. G., Martínez, A. y Baker, R. H. 1981.** Algunos anfibios, reptiles y mamíferos Del Mineral Del Tigre, Nayarit. *Anales del Instituto de Biología, Universidad Nacional de México. Zoology Serie*. 51:699-702.

**White, M. J. D. 1973.** *Animal cytology and evolution*. 3th Ed. Cambridge University Press. London. 784 pp.

**Wilson, D. E. 1979.** Reproductive patterns. Pp. 317-378, en: *Biology of Bats of the New World Family Phyllostomatidae. Part III*. (R. J. Baker, J. K. Jones, Jr., D. C. Carter, eds). *Special Publications of the Museum, Texas Tech University*, 16:1-441.

## APÉNDICE

### Solución hipotónica

- ❖ 0.075 M KCl

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

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

### Fijador Carnoy

Proporción 3:1

- ❖ 3: Metanol.
- ❖ 1: Ácido acético.

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

### Giemsa para tinción convencional

- ❖ Solución amortiguadora:

- 10M  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$

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

Solución A. se utilizan 15ml.

- 10 M  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$

Se pesan 0.71gr del reactivo y se diluyen en 50ml. De agua destilada. Solución B.

Se utilizan 10ml.



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

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

Esta preparación se puede usar durante un día conservándola a temperatura ambiente.

### **Buffer Giemsa 2% para bandas G**

- ❖ 1ml. 0.14ml de buffer de fosfato de sodio.

Se pesan 3.752 de  $\text{Na}_2\text{H PO}_4$  y se diluyen en 100ml de agua destilada con pH 9.0 se puede conservar en temperatura ambiente, mientras no esté contaminado.

- ❖ 1ml de Giemsa (Microlab)
- ❖ 48ml de agua destilada

Esta solución para 10 u 11 laminillas y se debe preparar cuando se va a usar. Debe agitarse hasta que salga espuma antes de usarse y puede mantener a temperatura ambiente.

### **Solución stock de Tripsina**

- ❖ 0.05gr de Tripsina Difco (1:250)
- ❖ 50ml de buffer de fosfato salino (PBS)

Se pesan 4gr de NaCl, 0.1gr KCl, 0.575gr de  $\text{Na}_2\text{P HO}_4$ , 0.1gr de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  y se diluyen en 500ml de agua destilada. El buffer de fosfato salino debe mantenerse en refrigeración 4°C.

La solución Stock de Tripsina debe permanecer en el congelador y puede ser usada mientras no se observe la aparición de hongos y bacterias.

Diluir una parte de solución Stock de Tripsina con 3 partes de PBS para obtener una concentración final de 0.25%, solo debe usarse un día.

### **Solución Stock 10XSSC para bandas C**

❖ NaCl 1.5 M.

Se pesan 4.384gr de este reactivo.

❖ Citrato de sodio 0.15 M.

Se pesan 2.206gr de este reactivo.

Los dos reactivos se diluyen en 50ml. De agua destilada, esta solución debe permanecer en refrigeración a 4°C.

Tomar 10ml. De 10XSSC y 40ml. de agua destilada para obtener una solución 2XSSC. Esta solución debe permanecer en refrigeración a 4°C, y solo se utiliza un día.

### **Giemsa 4% Preparada con Buffer de Fosfato de Sodio para Bandas C.**

❖ 0.01M de  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$

Se pesan 0.069gr de este reactivo y se diluyen en 50ml. de agua destilada.

❖ 0.01M de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$

Se pesan 0.071gr de este reactivo y se diluyen en 50ml. de agua destilada.

Combinar en proporción de 34ml. del primero y 50ml. del segundo.

Tomar 2ml. de Giemsa (Microlab) y 48ml. de este buffer para teñir. Este buffer se puede utilizar un día a temperatura ambiente.

### **Solución de Ácido Clorhídrico**

- ❖ Solución Stock de HCl de 5N.

Tomar 2ml. de HCl 5N y 48ml. de agua destilada para obtener 0.2N

La solución Stock se mantiene a temperatura ambiente hasta que no se observe contaminación y la solución 0.2N se puede conservar durante un día a temperatura ambiente.

### **Solución saturada de Hidróxido de Bario**

- ❖ 5gr de Hidróxido de Bario.
- ❖ 50ml de agua destilada.

Debe prepararse uno o dos días antes de ser utilizada y se mantiene a temperatura ambiente hasta por 2 semanas.