



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

---

---

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

CITOGENÉTICA DE *Heteromys irroratus* DE SANTIAGO  
COLTZINGO, OCOYUCAN, PUEBLA

TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE LICENCIATURA EN  
BIOLOGÍA

PRESENTA

JOCELYN TONACATL MONTES

DIRECTORA DE TESIS

M. EN C. ROSA MARÍA GONZÁLEZ MONROY



PUEBLA

NOVIEMBRE, 2024

<b>ÍNDICE</b>	
<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	iii
<b>DEDICATORIA</b> .....	iv
<b>RESUMEN</b> .....	v
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	1
Cromosomas: estructura y función .....	1
Citogenética .....	2
Cariotipo.....	3
Reordenamientos cromosómicos .....	5
Biología de <i>Heteromys irroratus</i> .....	6
Clasificación taxonómica .....	7
Descripción morfológica .....	7
Distribución .....	10
Estado de conservación .....	13
Hábitat y ecología.....	13
<b>ANTECEDENTES</b> .....	15
<b>JUSTIFICACIÓN</b> .....	18
<b>OBJETIVOS</b> .....	19
Objetivo general .....	19
Objetivos particulares .....	19
<b>MATERIAL Y MÉTODOS</b> .....	20
<b>Área de estudio</b> .....	20
<b>Trabajo de campo</b> .....	22
<b>Trabajo de laboratorio</b> .....	23
Determinación específica.....	23
Extracción de médula ósea.....	23
Elaboración de laminillas .....	24
Tinción.....	25
Construcción de cariotipo.....	25
<b>Bandeo cromosómico G</b> .....	26
<b>Bandeo cromosómico C</b> .....	26
<b>RESULTADOS</b> .....	28
<b>Cariotipo de <i>Heteromys irroratus</i> de Santiago Coltzingo</b> .....	28
<b>Bandeo cromosómico G</b> .....	34
<b>Bandeo cromosómico C</b> .....	39
<b>DISCUSIÓN</b> .....	45
<b>CONCLUSIÓN</b> .....	48
<b>RECOMENDACIONES PARA TRABAJOS FUTUROS</b> .....	49
<b>LITERATURA CITADA</b> .....	50
<b>Apéndice</b> .....	57

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Mtra. Rosa María González Monroy, directora de esta tesis, por el apoyo, asesorando y siendo paciente conmigo, por el tiempo dedicado a la revisión de este proyecto ya que sus observaciones me permitieron mejorar el documento.

Agradezco al Dr. Jesús Martínez Vázquez por todo el apoyo en mi proyecto, el tiempo que me dedicó en la revisión de mi tesis, instruyéndome, aconsejándome y sobre todo la paciencia que me brindo.

A la Dra. Adriana Martínez Guevara por el tiempo tan dedicado que se tomó en que mi tesis fuera más robusta, por tenerme paciencia en la revisión de este proyecto.

A Judith Méndez Pacio por instruirme y enseñarme al realizar mis bandas cromosómicas, por quedarse conmigo hasta tarde.

A mis compañeros del laboratorio de Mastozoología que me apoyaron a mejorar, por la convivencia y por compartir sus conocimientos conmigo.

Agradezco al Juez de Paz por permitirme realizar mi investigación, así como por acompañarnos en el muestreo y recolecta.

## DEDICATORIA

En primer lugar, a mis padres Fausto Abel Tonacatl Tlahuel y Natalia Montes Quechol, quienes me apoyaron en todo momento durante mi estancia en la universidad, creyendo en mí y motivándome a luchar por mis sueños, como el de convertirme en una Bióloga, por ayudarme a recolectar los roedores de mi proyecto, por ser pacientes conmigo y compartir bellos momentos.

A mis hermanos que siempre estuvieron a mi lado, animándome a luchar por lo que quiero y siempre haciéndome feliz, por hacerme ver como una meta.

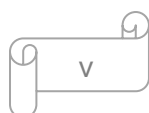
A mis amigas que me brindaron su amistad, siempre estuvieron ahí cuando más las necesitaba, por hacer más amena esta etapa de mi vida compartiendo bellos momentos, apoyándome y escuchándome, tomándome en cuenta siempre, y por creer en mí.

A mi pareja, por estar ahí apoyándome siempre en las buenas y en las malas, en mi carrera siempre animándome cuando creía que no podía más, fuiste quien me acompañó en mi proyecto de tesis y sin saber nada, me apoyaste.

## RESUMEN

La descripción de los cromosomas se basa en su morfología y número, dando lugar al cariotipo, el cual considera su ordenamiento de acuerdo con el índice centromérico que presenten. Los objetivos de este estudio fueron realizar el análisis cromosómico y elaborar el patrón de bandeo cromosómico G y C de *Heteromys irroratus* (Gray, 1868) de Santiago Colzingo, municipio de Ocoyucan, Puebla. En diciembre de 2022 y enero de 2023 se capturaron dos ejemplares de *Heteromys irroratus* (macho y hembra) con ayuda de la colocación de 30 trampas tipo Sherman. Los ejemplares fueron llevados al Laboratorio de Mastozoología de la Facultad de Ciencias Biológicas para su posterior análisis. Se revisaron un total de 500 campos mitóticos en metafase a partir de la elaboración de 24 laminillas. Los resultados indicaron que *H. irroratus* presentó un  $2n=60$  y un  $NF=62$ , los cuales corresponden a dos pares de autosomas birrámeos (un par metacéntrico y un par submetacéntricos). De los autosomas unirrámeos se obtuvieron 27 pares telocéntricos. De igual manera, se describieron los cromosomas sexuales, siendo el cromosoma X submetacéntrico grande y el cromosoma Y metacéntrico mediano. En el patrón de bandas cromosómicas G, los autosomas birrámeos presentaron cuatro y tres bandas, los autosomas telocéntricos más grandes cinco bandas y los más pequeños una banda. El cromosoma sexual X presentó cuatro bandas y el cromosoma Y tres bandas. El patrón de bandas cromosómicas C presentó heterocromatina constitutiva en la región centromérica de los cromosomas. La comparación de los resultados obtenidos con otros estudios realizados en México determinan que el número diploide de *H. irroratus* permanece constante, sin embargo, existe polimorfismo cromosómico en el número fundamental, siendo de 62, 64, 68 y 74. Los estudios citogenéticos que coinciden con el presente estudio corresponden a los estados de Chihuahua, Tamaulipas, Guanajuato, Guerrero y Puebla, particularmente en los municipios de Coxcatlán y San Pedro Cholula. Las diferencias morfológicas en los cromosomas se vieron como resultado de cambios en la estructura genética, dándose reordenamientos cromosómicos.

**Palabras clave:** Bandas G y C, cariotipo, cromosoma, ratón espinoso de abazones.



## INTRODUCCIÓN

### Cromosomas: estructura y función

Los cromosomas se encuentran conformados por complejos de ADN, proteínas histónicas y no histónicas que se encuentran en su máximo estado de compactación (Nikoloff *et al.*, 2021). Su estructura está determinada por la presencia de dos mitades idénticas o cromátidas hermanas, las cuales se producen por duplicación en el periodo replicativo del ADN durante una de las fases de división celular, la interfase (Nikoloff *et al.*, 2021). En cada cromosoma se puede identificar un brazo corto y otro largo, denominados p y q respectivamente, los cuales se encuentran separados por el centrómero, considerado el sitio de unión de las cromátidas (Nikoloff *et al.*, 2021).

Otra estructura del cromosoma son los telómeros, secuencias de nucleótidos localizados en su extremo, los cuales no se distinguen de manera visible de otras regiones, pero cumplen la función de conservar la integridad del cromosoma, ayudando a prevenir la proliferación ilimitada (Curtis *et al.*, 2008; Nikoloff *et al.*, 2021).

Por otra parte, el ciclo celular se divide en tres fases principales: interfase, mitosis y citocinesis (Curtis, 2008). En la fase de mitosis, los cromosomas forman estructuras más compactas que se unen al huso cromático, donde se puede identificar a cada par de éstos (Jiménez y Marchant, 2003). Dicho proceso celular este compuesto a su vez por cuatro fases: profase, metafase, anafase y telofase (Curtis, 2008). En estas etapas se pueden observar cromosomas, desde estados laxos o poco compactados, como en los núcleos de las células en interfase, hasta en estados altamente compactados, como sucede en la metafase mitótica, donde son denominados cromosomas metafásicos (Nikoloff *et al.*, 2021). Es en esta fase donde también se da una máxima condensación de los cromosomas, los cuales se encuentran ubicados en el plano ecuatorial de la célula, cada uno, en forma independiente de los demás, está unido por su centrómero a una fibra o microtúbulo del huso mitótico (Copelli, 2010).

Los cromosomas metafásicos se clasifican considerando la longitud de los brazos, así como la posición del centrómero (Bueno, 2011):

- 1. Metacéntricos:** donde los brazos corto y largo tienen aproximadamente la misma longitud y el centrómero se ubica en el punto medio.
- 2. Submetacéntricos:** los brazos corto y largo tienen diferentes longitudes, el centrómero está más próximo a uno de los extremos.
- 3. Subtelocéntricos:** el centrómero está muy cerca de uno de los extremos y el brazo corto es muy pequeño.
- 4. Telocéntricos:** estos se encuentran con centrómero terminal y sin brazo corto. Por convención, el brazo que se coloca en la parte superior (brazo p) siempre es el corto.

## Citogenética

La citogenética como ciencia está estrechamente relacionada con la genética, ya que se encarga del estudio de la estructura, número, morfología y comportamiento del ADN que se condensa durante la división celular, con participación de proteínas para formar los cromosomas (Copelli, 2010; Nikoloff *et al.*, 2021).

La citogenética surgió a comienzos del siglo XX para explicar las leyes de Mendel mediante el comportamiento cromosómico por fusión de dos disciplinas, la citología y la genética, heredando de la primera los aspectos cualitativos, físicos y descriptivos, y de la segunda los enfoques cuantitativos y fisiológicos (Nikoloff *et al.*, 2021).

Desde ese entonces, se ha podido observar un gran avance en cuanto al desarrollo de técnicas y metodologías que permiten la resolución de problemas diagnósticos, taxonómicos y evolutivos, entre tantos otros, de diversos grupos animales y vegetales (Nikoloff *et al.*, 2021).

Particularmente, la citogenética en animales ha permitido contribuir con el estudio evolutivo de las especies, esto al estudiar los cambios cromosómicos a través del tiempo, también ha servido para el estudio de cambios numéricos compatibles con la vida, los cuales involucran importantes aspectos para la reproducción animal (Ortega *et al.*, 2018). De igual manera, ha contribuido en el estudio de contaminantes y/o mutagénicos en animales expuestos a ciertas sustancias o radiaciones que afectan

el ADN, de tal manera que el grado de alteración puede observarse a nivel cromosómico debido a su fácil obtención, observación y análisis (Ortega *et al.*, 2018).

En el caso de los estudios citogenéticos hechos en mamíferos, estos han permitido realizar comparaciones entre especies e hipotetizar relaciones evolutivas con base en los reordenamientos cromosómicos (Aguilera *et al.*, 2010).

### **Cariotipo**

El cariotipo se puede entender como el estudio de las características morfológicas externas de los cromosomas (Nikoloff *et al.*, 2021), o bien como la representación fotográfica de un conjunto completo de cromosomas de una especie, los cuales se ordenan, clasifican y enumeran para su estudio (Curtis, 2008).

Los cromosomas que se muestran en un cariotipo son los cromosomas metafísicos, lo que permite determinar el número, tamaño y la forma de los cromosomas e identificar los pares homólogos presentes de una célula somática de un organismo determinado (Curtis, 2008).

Para interpretar un cariotipo se utiliza la clasificación propuesta por Levan *et al.* (1964), la cual considera la posición del centrómero mediante el índice centromérico (Cuadro 1), separándolos en: metacéntricos, submetacéntricos, subtelocéntricos y telocéntricos.

Cuadro 1. Clasificación de los cromosomas respecto al índice centromérico de acuerdo con la propuesta de *Levan et al.* (1964). Donde (d)= Cromosomas completos igual a 10, (r)= Relación de brazos e (i)= índice centromérico.

Nomenclatura	d	r	l
M	0.0	1.00	50.0
M	0.05	1.05	47.5
	1.0	1.22	45.0
	1.5	1.35	42.5
	2.0	1.50	40.0
Sm	2.5	1.67	37.5
	3.0	1.86	35.5
	3.5	2.08	32.5
	4.0	2.33	30.5
	4.5	2.64	27.5
St	5.0	3.00	25.0
	5.5	3.44	22.5
	6.0	4.00	20.5
	6.5	4.71	17.5
	7.0	5.67	15.0
T	7.5	7.00	12.5
	8.0	9.00	10.0
	8.5	12.33	7.5
	9.0	19.00	5.0
	9.5	39.00	2.5
T	10.0	∞	0.0

En 1970 los cromosomas se teñían de forma uniforme, por lo que se ordenaban por su tamaño y parecido morfológico (*Martínez et al.*, 2010). Sin embargo, un año después se desarrollaron técnicas que tiñen los cromosomas en bandas claras y oscuras (o fluorescentes y no fluorescentes), estas bandas seguían distintos patrones, los cuales eran similares solo en cada pareja de cromosomas paterno y materno (*Martínez et al.*, 2010).

En conjunto, se establecieron cinco tipos de análisis sobre los patrones de bandas citogenéticas (*sensu* *Martínez et al.*, 2010):

- a. Bandas cromosómicas C: tiñen la heterocromatina constitutiva, siendo secuencias de ADN altamente repetitivos como aquellas presentes en centrómeros y telómeros (Nikoloff *et al.*, 2021).
- b. Bandas cromosómicas G: llamadas así porque se tiñen con Giemsa en forma de bandas transversales claras y oscuras.
- c. Bandas cromosómicas Q: aparecen como bandas fluorescentes y brillantes en contraste con otras no fluorescentes. Estas bandas, aunque fáciles de obtener, presentan problemas metodológicos y de análisis (se ven solo con luz ultravioleta y la fluorescencia dura poco tiempo).
- d. Bandas cromosómicas R: constituyen la representación del patrón reverso de las bandas cromosómicas G.
- e. Bandas Ag-NOR: muestran las regiones organizadoras nucleolares de los cromosomas acrocéntricos.

### **Reordenamientos cromosómicos**

Las técnicas de bandeo cromosómico permitieron observar reordenamientos causantes de las mutaciones y polimorfismos cromosómicos (Méndez, 2014). Estas modificaciones cromosómicas de tipo estructural implican cambios en la secuencia genética sobre los cromosomas, provocando pérdida, ganancia o reordenamiento de secciones particulares de los mismos, como son las inversiones, en donde se producen dos puntos de ruptura y el segmento intermedio rota 180° y se reinserta en los puntos rotos (Méndez, 2014). Si el segmento invertido incluye el centrómero, es una inversión pericéntrica, si no la incluye es una inversión paracéntrica (Méndez, 2014).

Las deleciones se forman por la pérdida de un fragmento cromosómico, este segmento puede ser intersticial o terminal (Ortega *et al.*, 2018). Pequeñas deleciones han sido reportadas recientemente con el uso de técnicas citogenéticas de alta resolución (Ortega *et al.*, 2018).

## **Biología de *Heteromys irroratus***

El orden Rodentia contempla un grupo de mamíferos que se caracterizan por presentar un único par de incisivos frontales, tanto superiores como inferiores, estos dientes son de crecimiento continuo (2 a 5 mm por semana), tienen el borde cortante y en forma de cincel y están separados de los premolares y molares (en conjunto, molariformes; Asociación Paraguaya de Mastozoología y Secretaría del Ambiente, 2017). Externamente, la mayoría comparten un cuerpo cilíndrico, con extremidades cortas y cola ausente a muy larga, con el labio superior usualmente hendido, el rinario rudimentario y una coloración críptica, es decir gama de grises y marrones (Asociación Paraguaya de Mastozoología y Secretaría del Ambiente, 2017).

Los roedores que se encuentran en México se dividen en ocho grandes familias que representan el 45.6% de todos los mamíferos presentes en el país (León, 2014). Entre los roedores más grandes se considera el tepezcuintle (Cuniculidae), seretes o agutíes (Dasyproctidae) y los castores (Castoridae), mientras que entre los más pequeños destacan los roedores con pelos modificados en forma de espinas conocidos como puercoespines (Erethizontidae), las tuzas (Geomyidae), ardillas (Sciuridae), ratones y ratas de abazones (Heteromyidae) y los múridos (Muridae; León, 2014).

La Familia Heteromyidae apareció por primera vez en el Oligoceno de Norteamérica (Vaughan, 1988). De acuerdo con Patton (2005), esta familia está conformada a su vez por tres subfamilias:

- Dipodomyinae, que incluye los géneros *Microdipodops* (ratones canguro cuadrúpedos) y *Dipodomys* (ratas canguro bípedas).
- Perognathinae conformada por los géneros *Perognathus* y *Chaetodipus* (ratones de bolsillo sedosos o escansoriales).
- Heteromyinae conformada por *Heteromys* y *Liomys*, considerados grupos parafiléticos (ratones espinosos).

Es dentro de esta última subfamilia en la que se ubica la especie de interés de este trabajo: *Heteromys irroratus* (Gray, 1868).

Recientemente, el trabajo realizado por Gutiérrez-Costa (2021) propone que se reconozca la validez taxonómica de las siguientes especies dentro del género *Heteromys*: *H. alleni*, *H. jaliscensis*, *H. texensis*, *H. pretiosus*, *H. irroratus*, *H. acutus* y *H. bulleri*.

### **Clasificación taxonómica**

Se sigue la propuesta sistemática de Hafner *et al.* (2007):

Reino: Animalia

Filo: Chordata

Subfilo: Vertebrata

Clase: Mammalia

Orden: Rodentia

Familia: Heteromyidae

Género: *Heteromys*

Especie: *H. irroratus* (Gray, 1868)

Nombre común: Ratón de abazones, ratón espinoso y ratón espinoso mexicano.

### **Descripción morfológica**

Los ratones pertenecientes al género *Heteromys* se caracterizan por la forma del cuerpo, el cual está adaptado para la locomoción tipo escansorial, son de hábitos nocturnos y solitarios y tienen orejas pequeñas (Genoways, 1973). Es un grupo que presenta mejillas con bolsas externas forradas de piel, similares a las que se observan en las tuzas (familia Geomyidae; Gutiérrez-Costa, 2021).

La especie *Heteromys irroratus*, conocida comúnmente como ratón espinoso mexicano, se caracteriza por presentar un cráneo robusto con dentición gruesa e interparietal ovoide (Ramírez y Sánchez, 1972), presenta ampollas mastoideas moderadamente infladas que nunca se proyectan al plano posterior-dorsal del occipucio (dorsal al meato auditivo externo), la pared del cráneo está compuesta enteramente por el escamoso, con el plano ventral de la ampolla timpánica más alto que el plano oclusal de los dientes de las mejillas (Williams *et al.*, 1993).

Particularmente, este grupo se distingue por poseer un báculo simple con base redondeada, cinco tubérculos plantares y un pelaje carmelita grisáceo con una línea lateral, usualmente presente de color rosa y vientre blanco (Genoways, 1973; Dowler y Genoways, 1978; Gutiérrez-Costa, 2021).

*Heteromys irroratus* muestra un pelaje grueso con abundante rigidez, pelos aplanados en forma de espinas en las superficies dorsales y laterales del cuerpo, de coloración pardo-grisácea en el dorso, con una franja lateral muy tenue de color amarillo y el vientre blanco (Williams *et al.*, 1993; Fig. 1).



Figura 1. *Heteromys irroratus*, imagen tomada de CONABIO (2022).

Las extremidades posteriores presentan solo cinco cojinetes plantares en la pata trasera, en lugar de seis como las demás especies del género *Heteromys* (Espinosa y Chávez, 2005). En general, poseen medidas externas y craneales de pequeño tamaño (Genoways, 1973), con una longitud total de 194-300 mm., longitud de la oreja 22-36 mm., longitud de la cola 95-169 mm y longitud de la pata 27.3-37 mm. (Ceballos, 2014).

Los grupos que se encuentran dentro de *Heteromys irroratus* varían en tamaño dependiendo su distribución geográfica, las que se encuentran en la porción Norte de México se observan de menor tamaño en las planicies costeras del Golfo y en las montañas bajas del Este de la Sierra Madre Oriental (longitud promedio de la pata

posterior = 28-30 mm.; longitud promedio del cráneo = 32 mm (Espinosa y Chávez, 2005). El tamaño incrementa desde la planicie superior de la Sierra Madre hasta la altiplanicie interior, donde la talla más grande es encontrada en la Sierra Madre del Oeste de Chihuahua (longitud promedio de la pata posterior = 34 mm. y longitud promedio del cráneo = 37mm.; Espinosa y Chávez, 2005).

Otras diferencias morfológicas que se consideran dentro de *Heteromys* son las características del margen nasal posterior y el hueso interparietal (*sensu* Genoways, 1973; Gutiérrez-Costa, 2021):

1. *H. irroratus* son de mayor tamaño, presentan el margen posterior de los huesos nasales redondeada, y la longitud de los huesos premaxilares es mayor que la longitud de los huesos nasales.
2. *H. alleni* también son de mayor tamaño, la forma del margen posterior nasal es truncado, presenta el hueso interparietal dividido en un mayor porcentaje en comparación con los individuos de *H. i. texensis* y la longitud de los huesos premaxilares es mayor que la de los huesos nasales.
3. *H. bulleri* presenta el ancho mastoideo relativamente estrecho, con huesos interparietales más reducidos en relación con el resto de las especies, la forma del margen posterior de los huesos nasales es emarginada y presentan la misma longitud entre los huesos nasales y los huesos premaxilares.
4. *H. texensis* presenta una tendencia de manera progresiva en la disminución de tamaño, son más pequeños que *H. alleni*, presenta la región del rostro más corta en relación con el resto de las especies del grupo, un amplio ancho zigomático y mastoideo, y amplios huesos interparietales. El margen posterior de los huesos nasales es truncado, y longitud de los huesos premaxilares es mayor que la longitud de los huesos nasales.
5. *H. jaliscensis* presenta el margen posterior de los huesos nasales redondeado, y la longitud de los huesos premaxilares es mayor que la de los huesos nasales, presentando el interparietal dividido.
6. *H. pretiosus* muestra la región del *rostrum* más corta en relación con el resto de las especies del grupo, se distingue por el margen posterior de los huesos nasales redondeado, y por presentar una longitud mayor de los huesos premaxilares que la longitud de los huesos nasales.

7. *H. acutus* es de un cráneo de gran tamaño en comparación con *H. alleni*, presenta huesos interparietales estrechos, el margen posterior de los huesos nasales emarginado, los huesos premaxilares y nasales son de la misma longitud.

En general, la taxonomía de los roedores y otros grupos de mamíferos, se han basado principalmente en la morfología y la distribución (Gutiérrez-Costa, 2021). Sin embargo, se han hecho estudios utilizando marcadores moleculares y mitocondriales (*Cyt b*) en la sistemática de estos grupos (e.g. Gutiérrez-Costa *et al.*, 2021). Rogers y Vance (2005) también utilizaron secuencias de citocromo b (*Cyt b*), revelando la existencia de dos linajes monofiléticos bien sustentados que están genéticamente diferenciados y pueden representar especies del género *Heteromys*.

Es así como los datos moleculares han confirmado la presencia de múltiples especies crípticas que se creían subespecies dentro de *Heteromys irroratus*, siendo un complejo compuesto por al menos siete especies que representan entidades naturales con un origen evolutivo en común, siendo linajes monofiléticos, excepto en el caso de *H. i. alleni* y *H. i. torridus* (Gutiérrez-Costa *et al.* 2021; Rogers y Vance, 2005).

### **Distribución**

La distribución de *Heteromys irroratus* abarca predominantemente el territorio mexicano, desplazándose hacia el sur a lo largo de la mayor parte del centro del país (Patton, 2005). En Estados Unidos de América solo se registra en una pequeña porción del sur de Texas (justo al norte del río Grande), por lo que se considera una especie prácticamente endémica de México (Gutiérrez-Costa, 2021).

Por su parte, Genoways (1973), Dowler y Genoways (1978) refieren que, en México, esta especie se encuentra en el Altiplano Mexicano y áreas circundantes, donde el sur de Chihuahua sería la parte más norteña de su distribución, hasta la región centro-sur de Oaxaca, considerándose la zona más sureña.

Williams *et al.* (1993) mencionan que los ratones de abazones espinosos *Heteromys irroratus*, se restringen principalmente a zonas áridas y semiáridas, Esta especie

puede ser principalmente encontrada en matorrales xerófilos y bosques espinosos, aunque también se puede observar en bosques caducifolios, de coníferas, encinos y otros hábitats tropicales y subtropicales semiáridos (Anderson *et al.*, 2006; Dowler y Genoways, 1978).

De manera general, el ratón de abazones espinosos se localiza desde el nivel del mar en las costas de Tamaulipas y Veracruz hasta más de 3,050 m de altura en Cerro San Felipe y Monte Zempoaltepec en Oaxaca (Espinosa y Chávez, 2005).

Si bien se menciona que *Heteromys irroratus* suele hacer contacto con el área de distribución geográfica de *H. pictus*, rara vez es simpátrica con otros congéneres (Dowler y Genoways, 1978). Aunque se ha registrado la preferencia de la especie por hábitats relativamente áridos, su mayor ocurrencia es en áreas de la meseta central-norte de México, la cual recibe menos de 500 mm de lluvia anualmente (Dowler y Genoways, 1978).

Existe una restringida distribución de los grupos dentro de *Heteromys* (*Sensu* Gutiérrez-Costa, 2021; Fig. 2):

1. *H. irroratus*, la cual es la especie nominal, fue descrita inicialmente como *Heteromys irroratus* (Gray, 1868), cuya distribución se restringe a la región central y sur-central de Oaxaca.
2. *H. alleni* presenta una amplia distribución geográfica en el Altiplano Mexicano al norte del Eje Neovolcánico Transversal, desde el sur de Chihuahua, hacia el sur llega a los estados de Puebla, Morelos, norte de Oaxaca y norte de Guerrero. Al oeste, la distribución llega hasta el noreste de Jalisco, norte de Michoacán, abarcando los estados de Hidalgo, Querétaro y Guanajuato; y al este de su distribución llega hasta San Luis Potosí, la Sierra Madre Oriental en Tamaulipas y Nuevo León.
3. *H. bulleri* se extiende hacia el suroeste de Jalisco, en la Reserva de la Biosfera Sierra de Manantlán.
4. *H. texensis* se encuentra en las costas de Texas en Estados Unidos y en los estados de Tamaulipas, Nuevo León, San Luis Potosí, Veracruz y Puebla.
5. *H. jaliscensis* se encuentran en la región sur, central y norte de Jalisco y al norte llegan hasta Zacatecas y Nayarit.

6. *H. pretiosus* se encuentra en las montañas en el extremo este de San Luis Potosí, norte de Querétaro, norte de Hidalgo, noreste de Puebla y norte de Veracruz, en México.

7. *H. acutus* es una especie cuya distribución se restringe a la región central de Michoacán, en los alrededores de Pátzcuaro.

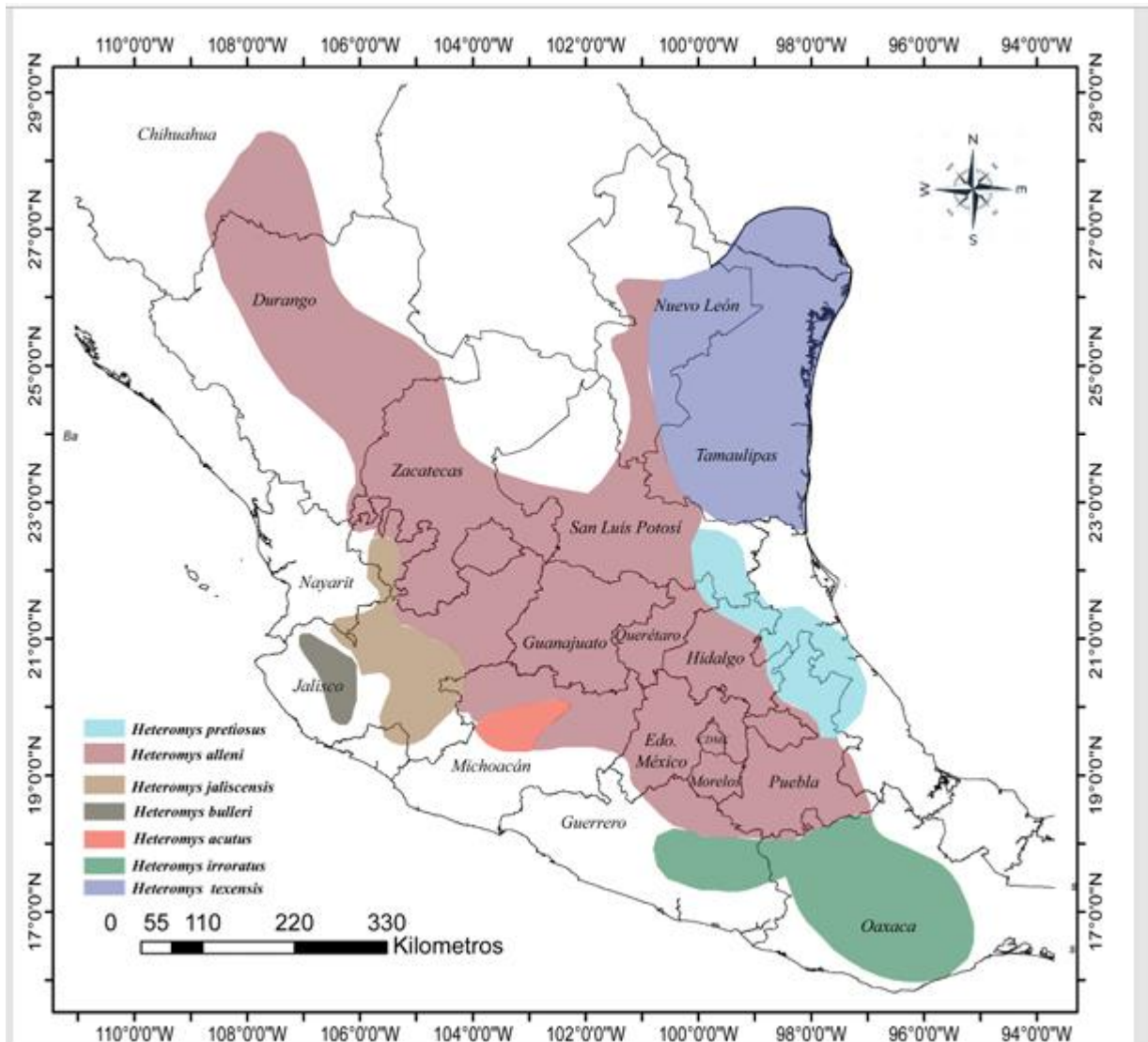


Figura 2. Distribución geográfica de las distintas especies reconocidas dentro del grupo *Heteromys irroratus*, tomada de Gutiérrez-Costa (2021).

## Estado de conservación

Las subespecies de *H. irroratus* son comunes pero limitadas, con tendencia de población estable y no se conocen amenazas importantes, por lo que este complejo en general está catalogado como de preocupación menor, en vista de su amplia distribución, y porque es poco probable que disminuya al ritmo requerido para calificar en la inclusión de una categoría como amenazada (CONABIO, 2022).

Por su parte, en la Norma Oficial NOM-059 SEMARNAT-2010 se cataloga a *Heteromys irroratus* como especie de preocupación menor y dentro de la Lista Roja de Especies Amenazadas de la UICN está catalogada como de Preocupación Menor (Castro *et al.*, 2016).

Es importante destacar que *Heteromys irroratus* presenta una distribución muy amplia pero restringida, es crucial prestar atención a los problemas de conservación que rodean a este taxon, ya que en la Sierra de Manantlán es una localidad nueva para *H. i. bulleri*, extendiéndose en un rango de aproximadamente 125 km al sureste de la localidad y 80 km al sur de Soyatlán del Oro (Gutiérrez-Costa *et al.*, 2021).

Al igual que se ha observado para otras especies de roedores y mamíferos, las principales amenazas para la conservación del grupo serían: el cambio en el uso de suelo, la destrucción del hábitat y la falta de conocimiento acerca de su distribución actual y sus tendencias poblacionales (Fernández *et al.*, 2014).

## Hábitat y ecología

Con respecto a sus hábitos alimentarios, en México *Heteromys irroratus* busca semillas y las almacena, ya que posee abazones externos en las mejillas (Santos y Santiago, 2012). Esta adaptación le permite la recolección eficiente y el transporte de alimentos en periodos cortos (Reichman, 1983; Santos y Santiago, 2012).

En el sur de Texas, su dieta incluye semillas de *Celtis australis* (almez), *Prosopis glanduloso* (mezquite miel) y otros arbustos, los cuales llevan a su almacenamiento en galerías construidas bajo troncos, rocas y arbustos (Espinosa y Chávez, 2005; Santos y Santiago, 2012).

Estos organismos son considerados depredadores/removedores importantes de semillas, lo cual influye en la estructuración de comunidades de plantas anuales en hábitat desérticos y posiblemente en otras selvas en las que este tipo de roedores se encuentran presentes (Santos y Santiago, 2012).

Con respecto a las características de sus madrigueras, la entrada suele estar cubierta con hojas u otro tipo de vegetación, o con un pequeño montículo de tierra (Espinosa y Chávez, 2005).

En cuanto a su reproducción, esta tiene lugar durante todo el año, con una mayor actividad entre los meses de agosto a noviembre, teniendo de dos a ocho crías, con un tamaño promedio de camada de cuatro (Wilson y Ruff, 1999).

## ANTECEDENTES

En México se han llevado a cabo análisis citogenéticos del género *Heteromys* con diversos propósitos, entre los que destacan el de Genoways (1973), quien realizó un estudio citogenético en Chihuahua, Guanajuato, Guerrero, Tamaulipas y Texas. Genoways presentó la descripción cromosómica de *H. pictus*, *H. spectabilis*, *H. salvini*, *H. adpersus* y de *H. irroratus*, utilizando la técnica de secado al fuego. Obtuvo la preparación de los cromosomas a partir de la médula ósea y los tiñó con Violeta de Genciana. El autor utilizó exclusivamente ejemplares machos. Los resultados en *H. irroratus* indicaron un número fundamental de  $2n=60$  y un  $NF=62$ , los autosomas fueron un par metacéntrico de tamaño mediano, un par submetacéntrico largo, y 27 pares telocéntricos. El cromosoma X fue submetacéntrico grande, el cromosoma sexual Y fue subtelocéntrico mediano.

Cervantes *et al.* (1999) realizaron la descripción cromosómica y patrón de bandas G y C de dos subespecies y una especie de *Heteromys* de la localidad de Jalisco: *H. i. jaliscensis*, *H. p. pictus* y la especie *H. spectabilis*. Los autores utilizaron machos y hembras. En el caso de *H. i. jaliscensis* de la localidad de Mazamitla, Jalisco, se presentó un  $2n=60$  y  $NF=68$ . De los 29 pares de autosomas, dos fueron metacéntricos (uno grande y el otro pequeño), se presentaron tres pares de autosomas subtelocéntricos pequeños y 24 pares de autosomas telocéntricos grandes y pequeños, el cromosoma X y el Y fueron grandes y submetacéntricos.

Por su parte, Mata (2002) analizó el cariotipo de cinco subespecies de *H. irroratus* (*H. i. alleni*, *H. i. guerrensis*, *H. i. irroratus*, *H. i. jaliscensis* y *H. i. torridus*) de las localidades de Michoacán, Tlaxcala, Hidalgo, Guerrero, Oaxaca y Jalisco. El autor utilizó machos y hembras. Se observó que comparten un cariotipo convencional único. Todos los grupos presentaron  $2n=60$  cromosomas y  $NF=68$ , cinco pares de cromosomas birrámeos y 24 monorrámeos. De los cromosomas birrámeos dos pares de autosomas fueron metacéntricos (un par grande y otro mediano), tres pares de autosomas subtelocéntricos (uno mediano y dos pequeños) y 24 pares de autosomas telocéntricos (grandes a pequeños). El cromosoma X fue un submetacéntrico grande y el cromosoma Y fue submetacéntrico mediano. El mayor número de bandas cromosómicas G en el grupo fue de cuatro bandas, mientras que la menor cantidad

fue de una banda observada en los cromosomas pequeños. El autor concluyó que no hay ningún tipo de reordenamiento cromosómico porque no se observaron diferencias importantes en el patrón de bandeo.

Morales (2005) realizó una descripción cromosómica de *Sigmodon hispidus* e *Heteromys irroratus* de la localidad de Chila de las Flores, Puebla. El autor utilizó machos y hembras. Los resultados de *H. irroratus* indicaron que presentó un  $2n=60$  y  $NF=74$ , dos pares autosómicos fueron metacéntricos (uno grande y el otro pequeño), seis pares submetacéntricos de mayor a menor tamaño y 21 pares telocéntricos de mayor a menor tamaño. Para los cromosomas sexuales se obtuvo un cromosoma X submetacéntrico grande y un cromosoma Y subtelocéntrico mediano. Con respecto al patrón de bandas C, estas se observaron en la región del centrómero en todos los autosomas y en mayor cantidad en los cromosomas sexuales.

Carrillo (2005) realizó un estudio citogenético de *H. irroratus* de Coxcatlán, Guadalupe Victoria, Puebla. Se analizaron siete hembras y un macho. Se obtuvo un  $2n=60$  y  $NF=62$ . El autor utilizó macho y hembra para su estudio. Los autosomas observados para este cariotipo fueron dos pares metacéntricos medianos y 27 pares telocéntricos, los cromosomas sexuales que registró para X fue metacéntrico y en el caso del cromosoma Y fue submetacéntrico. Con respecto al patrón de bandas C se encontró heterocromatina constitutiva en todos los cromosomas autosómicos y en el par sexual hubo una mayor tinción en los centrómeros y en los telómeros.

Reyes (2007) analizó la población de *H. irroratus* de Santo Domingo, Huehuetlán El Grande, Puebla con la finalidad de caracterizar esta población con base en el patrón de bandas cromosómicas. El autor utilizó dos machos y tres hembras, y obtuvo un  $2n=60$  y  $NF=64$ , los pares autosómicos fueron tres submetacéntricos y 26 telocéntricos. En cuanto a los pares sexuales, X fue submetacéntrico grande y el Y fue telocéntrico grande. Con respecto al patrón de bandas cromosómicas C se observó poca cantidad de heterocromatina constitutiva, viéndose en la región centromérica de los pares autosómicos 3, 13, 16 y 18. En los demás autosomas la presencia de heterocromatina no fue evidente y solo se apreció en los cromosomas sexuales, prevaleciendo de forma muy notoria en el cromosoma X. El patrón de bandas cromosómicas G se observó más en las muestras de la hembra, con bandas

claras y oscuras distribuidas en los autosomas de cinco a una banda, en el cromosoma sexual X se observaron cuatro bandas y en el cromosoma Y se presentaron cinco bandas.

Serrano (2010) realizó un análisis cromosómico de *H. irroratus* de la localidad de San Salvador Atoyatempan, Puebla. Se analizaron cinco machos y una hembra. Los resultados indicaron que presentó un  $2n=60$ ,  $NF=64$ . De los 29 pares autosómicos tres pares fueron submetacéntricos y 26 pares telocéntricos, el cromosoma X fue submetacéntrico grande y el Y telocéntrico grande. En el patrón de bandas C, la heterocromatina constitutiva se encontró en la región centromérica en todos los autosomas y los cromosomas sexuales presentaron heterocromatina constitutiva en la región centromérica.

De manera más reciente, Salazar (2021) analizó el cariotipo de *H. irroratus* de Santa María Acuexcomac en San Pedro Cholula, Puebla, tanto para el macho y la hembra, el cual presentó un  $2n=60$  y  $NF=62$ . Los cromosomas birrámeos obtenidos fueron dos pares, uno metacéntrico mediano y otro submetacéntrico grande. Los 27 pares de cromosomas monorrámeos fueron telocéntricos de grandes a pequeños. El par sexual se conformó de un cromosoma sexual X telocéntrico grande y el cromosoma Y fue metacéntrico pequeño.

Finalmente, se resalta que este es el primer análisis del cariotipo de *H. irroratus* que se realiza en Santiago Coltzingo, Ocoyucan, Puebla.

## JUSTIFICACIÓN

Con base en la información presentada anteriormente, se observa que existe una amplia línea de investigación sobre el cariotipo de *Heteromys irroratus* en el estado de Puebla. Sin embargo, en la localidad de Santiago Coltzingo, Ocoyucan no se ha realizado ningún estudio de este tipo, siendo este el primero en el área. Este estudio contribuye a obtener más información en la descripción cromosómica de *Heteromys irroratus*. En general, son escasos los estudios que han analizado el bandeo cromosómico G de la especie, por lo que este estudio permitirá a su vez observar y comparar las bandas cromosómicas, determinando así los posibles cambios estructurales en los cromosomas de la especie, en comparación con otros estudios realizados en México.

## OBJETIVOS

### Objetivo general

- Describir el cariotipo de *Heteromys irroratus* presente en Santiago Colzingo, Puebla.

### Objetivos particulares

- Obtener las constantes cromosómicas (número diploide y número fundamental) de *Heteromys irroratus* de Santiago Colzingo, Puebla.
- Obtener el bandeo cromosómico G y C de *Heteromys irroratus* de Santiago Colzingo, Puebla.
- Comparar los resultados *Heteromys irroratus* de Santiago Colzingo con otras poblaciones distribuidas en México y Puebla.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Área de estudio

Este estudio se llevó a cabo en la localidad de Santiago Coltzingo, situada en el Municipio de Ocoyucan en el Estado de Puebla (INEGI, 2010). El municipio de Ocoyucan se encuentra al sur-oeste del estado de Puebla, el cual colinda al norte con los municipios de Santa Isabel Cholula, San Gregorio Atzompa y San Andrés Cholula; al este con los municipios de San Andrés Cholula y Puebla Capital; al sur con los municipios de Puebla, Teopatlán y Atlixco; al oeste con los municipios de Atlixco y Santa Isabel Cholula (INEGI, 2010; Fig. 3).

Por su parte, la localidad de Santiago Coltzingo colinda al Norte con Francisco Sarabia, al oeste con Emilio portes Gil, al suroeste con Santa Lucia Cosamaloapan, al sur con San Felipe Xonacayuca, al este con San José Zetina y al noreste con Santa María Malacatepec (INEGI, 2010).

El sitio de muestreo se localiza en las coordenadas 18°55'04" de latitud norte y los meridianos 98°18'49" de longitud oeste, a una altitud de 2,670 metros sobre el nivel del mar, este sitio se considera como una colina con vegetación de bosque de encino que presenta una mayor densidad de *Opuntina ficus-indica* y *Thevetia peruviana* (INEGI, 2010; Fig. 4).

En el área se presenta un clima templado subhúmedo con lluvias en verano (INEGI, 2010). El uso del suelo representa una vegetación de bosque del 35.24% y 18.99% de pastizal, el uso de suelo en agricultura es del 35.90% y la zona urbana está conformada por el 9.87% del área (INEGI, 2010).

# SANTIAGO COTZINGO, PUEBLA.

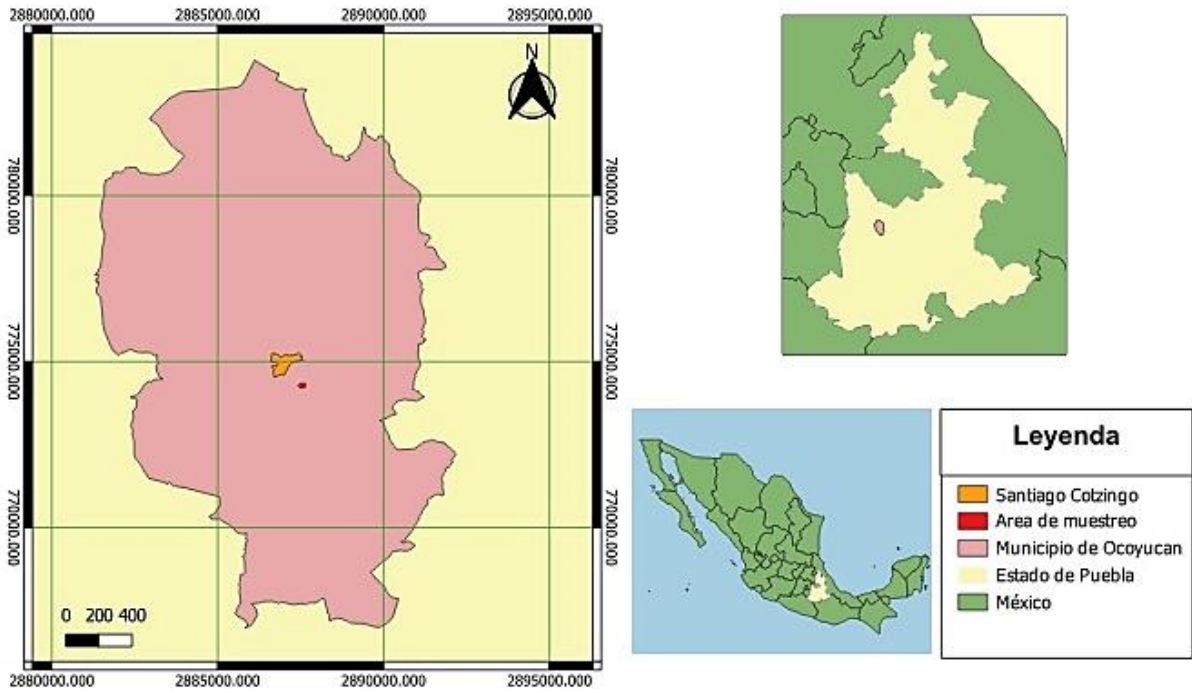


Figura 3. Ubicación de la localidad de Santiago Coltzingo, del Municipio de Ocoyucan, del Estado de Puebla. Elaborado utilizando el programa Qgis.

Coordenadas centrales: 18.923037442566454, -98.31008446141537



Figura 4. Ubicación de la localidad de Santiago Coltzingo. La estrella amarilla representa el sitio de muestreo y recolecta. Imagen tomada de INEGI (2024).

## Trabajo de campo

El trabajo de campo consistió en la realización de tres muestreos que se llevaron a cabo el 10 y 12 de diciembre de 2022 y el 12 de enero de 2023. En cada día de muestreo se estableció un transecto de 300 m. en donde fueron colocadas 30 trampas tipo Sherman, con un intervalo de 10 m entre cada una. Se colocó un cebo en las trampas, el cual consistía en una combinación de hojuelas de avena y esencia de vainilla (Martínez-Vázquez *et al.*, 2006)

Las trampas se colocaron desde las 5:00 pm. de cada día y se recogieron a las 7:00 am del día siguiente. Se tomaron las coordenadas geográficas de las trampas en donde fueron capturados los ejemplares de roedores, con ayuda de un GPS marca Garmin, modelo Etrex22X (Fig. 5).

Con este esfuerzo de muestreo se lograron capturar dos ejemplares de *H. irroratus*, que correspondían a un ejemplar macho y una hembra, los cuales fueron transportados al laboratorio de Mastozoología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP) para su posterior análisis.



Figura 5. Características físicas del sitio de colecta en Santiago Coltzingo del municipio de Ocoyucan, Puebla.

## Trabajo de laboratorio

### Determinación específica

Una vez que los ejemplares fueron trasladados al laboratorio, se determinó la especie observando las siguientes características morfológicas discriminantes:

1. Presencia de abazones externos en las mejillas, característica de la Familia Heteromyidae.
2. Pelaje hirsuto (grosso y rígido, en forma de espinas).
3. Cráneo robusto y ovoide.
4. A nivel de especie, fue importante considerar la coloración del pelaje y la presencia de los cinco cojines plantares que la distingue.

Una vez determinados a nivel especie, los ejemplares fueron resguardados para la posterior obtención de cromosomas por medio de la extracción de médula ósea.

### Extracción de médula ósea

Para la obtención de los cromosomas, se realizó la técnica de extracción de médula ósea propuesta por Baker *et al.* (1982), la cual consistió en lo siguiente: primero se procedió a pesar y determinar el sexo de cada ejemplar, posteriormente, se les inyectó colchicina intraperitoneal mente en proporción de 0.1 ml por cada 10 gr de peso, la cual se dejó actuar por 25 minutos para inhibir la formación del huso mitótico y permitir obtener los cromosomas en metafase.

Pasado este tiempo, se sacrificó al ejemplar por dislocación cervical, posteriormente, se tomaron medidas morfométricas del organismo (longitud total, longitud de la cola, longitud de la pata trasera y longitud de la oreja), con ayuda de una regla.

A continuación, y en un tiempo no mayor a cinco minutos, se extrajeron sus extremidades posteriores, para lo cual se les retiró todo el músculo, dejando los huesos para luego retirar las epífisis con ayuda de una tijera de disección. Una vez retirada la epífisis, con ayuda de una jeringa se tomó Cloruro de Potasio (KCl) como solución hipotónica a 37°C para retirar la médula ósea, la cual fue colocada en un tubo de centrífuga con tapón conteniendo la solución hipotónica, esto provocó la

entrada de agua a las células debido a la alta concentración de sales, de tal manera que se hincharon las células sin disgregar la mitosis (Baker *et al.*, 1987; Patton, 1967).

Posterior a esto, se resuspendió la solución con la médula ósea y se incubó a 37°C durante 40 minutos. Una vez transcurrido este tiempo, se centrifugó a 800 rpm durante ocho minutos, después con una pipeta Pasteur se extrajo el sobrenadante y se agregaron 5 ml de solución fijadora de Carnoy recién preparada y refrigerada, la cual consistía en metanol y ácido acético (en proporción 3:1). Finalmente, se dejó el material en refrigeración a una temperatura de -23°C.

Por otra parte, para conservar los órganos y tejidos (músculo, corazón, riñones e hígado) estos se colocaron en alcohol al 70%, haciéndoles cortes muy delgados para que entrará todo el alcohol al tejido. Finalmente, los ejemplares pasaron por un proceso de taxidermia, siguiendo la técnica propuesta por Martínez *et al.* (2008), los cuales se encuentran bajo resguardo en la colección de mamíferos de la Facultad de Ciencias Biológicas (BUAP).

#### Elaboración de laminillas

Para este proceso, primero se lavaron tres portaobjetos con jabón en polvo para quitar cualquier residuo que pudiera afectar el proceso, estos se colocaron en alcohol al 70% a -23°C, siguiendo el protocolo de Solari (2004). Posteriormente, se centrifugó el tubo con médula ósea a 800 rpm durante ocho minutos. Con una pipeta Pasteur se retiró el sobrenadante cuidando de no vaciar la muestra y se colocó por las paredes del tubo una solución fijadora de Carnoy. Se resuspendió y se tomó el material del tubo para que a una altura de tres metros aproximadamente, se dejara caer en el portaobjetos previamente colocado, provocando así que se dispersara el material genético con el impacto. Se aplicó la técnica de aire-fuego propuesta por Baker y Qumsiyeh (1988), en donde se le prendió fuego hasta que el alcohol recorriera todo el portaobjetos y se apagó agitando la laminilla. Inmediatamente después de esto se le colocó aire a presión con una bomba de aire y se dejaron secar sobre papel absorbente en un ángulo de 25° por cinco minutos.

## Tinción

Para este proceso, las laminillas se tiñeron con Giemsa al 5%, sumergiéndolas por 12 minutos. Posteriormente, se retiraron las laminillas de la tinción y se eliminó el excedente sumergiéndolas en un vaso de precipitado con agua destilada. Por último, las laminillas se dejaron secar a 25°C por cinco minutos.

Las tinciones generadas se revisaron con un microscopio óptico marca ZEISS con los objetivos 10X y 40X, donde se pudieron localizar los campos en metafase que estuvieran completos y lo más extendidos posibles para su posterior conteo.

Con ayuda de una laminilla con números y letras ubicados de forma horizontal y vertical, se pudieron identificar y anotar cuales eran los campos mitóticos que presentaban una mejor calidad. Una vez reconocidos estos campos mitóticos, fueron fotografiados con una cámara fotográfica PROGRES GRYPHAX montada sobre el microscopio Leica Microsystems DM1000 LED. Las fotografías se tomaron con el objetivo 100X y aceite de inmersión. Estas imágenes se editaron con el programa de fotografía digital *Adobe Lightroom* (Copyright© 2024) versión 9.5.0, en donde se modificó el contraste. Las fotografías editadas y revisadas se imprimieron en papel fotográfico tipo mate.

## Construcción de cariotipo

A partir de las impresiones de las tinciones, los cromosomas se recortaron y se organizaron con sus respectivos pares homólogos. Con ayuda de una regla y el programa ImageJ versión 1.54 (Rasband., 2018) se tomaron las medidas de los brazos largos y cortos de cada cromosoma, con la intención de obtener un promedio para cada. Posteriormente, se calculó el índice centromérico de cada par de cromosomas con la fórmula propuesta por Levan *et al.* (1964):

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

Dónde:

IC: índice centromérico

p: Longitud del brazo corto

q: Longitud del brazo largo

Este cálculo se generó con ayuda del programa Excel Office 365 MSO (versión 2407, compilación 16.0.17830.20056) de 64 bits.

### **Bandeo cromosómico G**

Para la obtención del patrón de bandeo cromosómico G se utilizó la técnica de Grouchy y Turleau (1977) y Patton y Baker (1978). Esto consistió en dejar envejecer las laminillas con las tinciones durante siete días para después colocarlas en la estufa a una temperatura de 65°C durante 16 horas. Esto permitió el endurecimiento de los cromosomas para que se pudieran observar las bandas. Posteriormente, se dejaron enfriar a temperatura ambiente y una vez frías se colocaron en tripsina al 0.025% por 120 segundos. La tripsina es un degradador enzimático. Pasado este tiempo, las laminillas se metieron en dos vasos Coplin con amortiguador de Fosfato salino (PBS), en cada vaso se hizo un enjuague metiendo y sacando las laminillas 10 veces, luego se sumergieron las laminillas en colorante Wright por cinco minutos y posteriormente se dejaron 10 minutos en la tinción con el colorante Giemsa al 2%. Por último, se enjuagó con agua destilada lavando cada laminilla solo una vez, con la finalidad de quitar el exceso de tinción, se dejó secar a temperatura ambiente durante cinco minutos para posteriormente observarlas en el microscopio óptico.

### **Bandeo cromosómico C**

Para realizar el bandeo cromosómico C se utilizó el método descrito por Summer *et al.* (1971) y Arrighi y Hsu (1971). Para esto se utilizaron nuevas laminillas con los campos mitóticos ubicados. Se dejaron envejecer durante siete días, pasado ese tiempo se colocaron en un vaso de precipitado que contenía HCl al 2% durante 15 minutos, se lavaron con agua destilada tres veces y se dejaron secar a temperatura ambiente durante cinco minutos. Las laminillas se sumergieron en un vaso Coplin el cual contenía una solución saturada de Hidróxido de Bario a 45°C, por un lapso de cuatro minutos. Posteriormente se volvieron a meter y sacar de manera simultánea en HCl tres veces, fueron enjuagadas con agua destilada y se dejaron secar a temperatura ambiente.

Después, las laminillas se colocaron en cámaras húmedas (cajas Petri con papel filtro como base, humedecidas con una solución salina 2XSSC, con un pH neutro de 7.0).

Se colocaron siete gotas de 2XSSC con una pipeta Pasteur a las laminillas de manera que quedaran totalmente cubiertas para posteriormente colocarle un cubreobjetos.

Enseguida, se metieron a incubar a 65°C durante 16 horas. Una vez transcurrido este lapso fue retirado el cubreobjetos, las laminillas se enjuagaron tres veces con agua destilada, se dejaron secar a temperatura ambiente, después se realizó el proceso de deshidratación, sumergiéndolas en alcohol al 70% durante cinco minutos y durante otros cinco minutos más en alcohol al 95%. Al final se dejaron secar a temperatura ambiente por cinco minutos. Las laminillas se tiñeron con Giemsa al 4%, esta tinción ya estaba preparada con un amortiguador salino de Fosfato de Sodio con un pH 7.0 durante 12 minutos, se enjuagaron las laminillas nuevamente con agua destilada para dejarlas secar a temperatura ambiente por cinco minutos. Por último, se tomaron fotografías para poder acomodar las imágenes por pares homólogos y contar las bandas presentes.

## RESULTADOS

A partir de los muestreos realizados en la zona de estudio de Santiago Colzingo, se capturaron dos ejemplares de *Heteromys irroratus*, que correspondían a un macho y una hembra.

El trabajo en laboratorio permitió la elaboración de 24 laminillas, con las cuales se analizaron 500 campos mitóticos en metafase.

Se generaron un total de 225 fotografías de los 78 campos mitóticos que presentaban una mejor calidad (Fig. 6).

### **Cariotipo de *Heteromys irroratus* de Santiago Colzingo**

El cariotipo de *Heteromys irroratus* de Santiago Colzingo, Ocoyucan, Puebla presentó un  $2n=60$  y un  $NF=62$  (Figs. 7 y 8).

Con respecto a los cromosomas, se obtuvieron dos pares birrámeos: uno metacéntrico mediano y otro submetacéntrico grande. De la misma manera, se obtuvieron 27 pares de cromosomas monorrámeos telocéntricos grandes y pequeños.

En cuanto a los cromosomas sexuales, se obtuvo un par compuesto por el cromosoma X submetacéntrico grande y el cromosoma Y metacéntrico mediano.

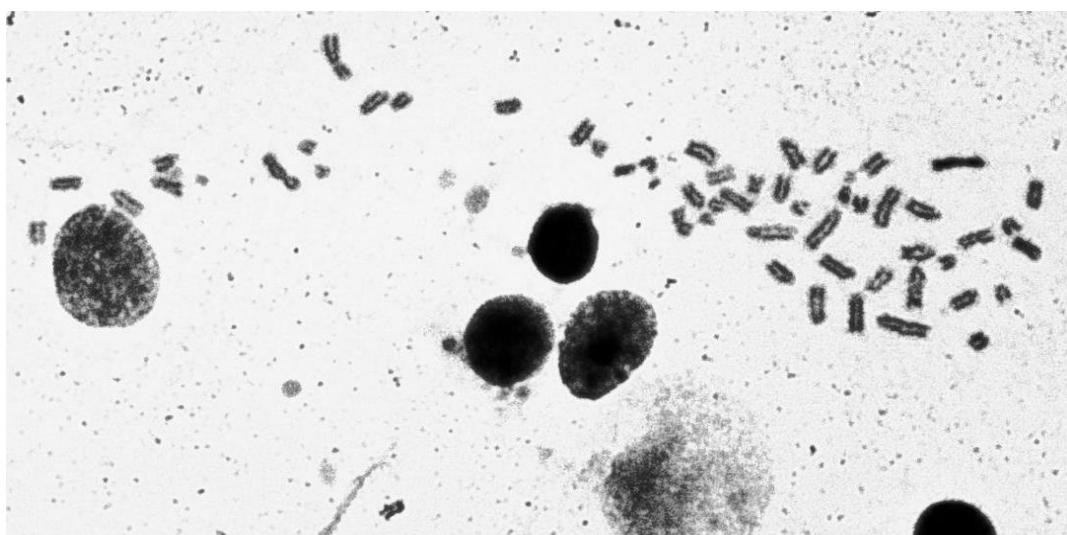


Figura 6. Imagen que muestra el campo mitótico del ejemplar macho de *Heteromys irroratus* de la localidad de Santiago Colzingo.

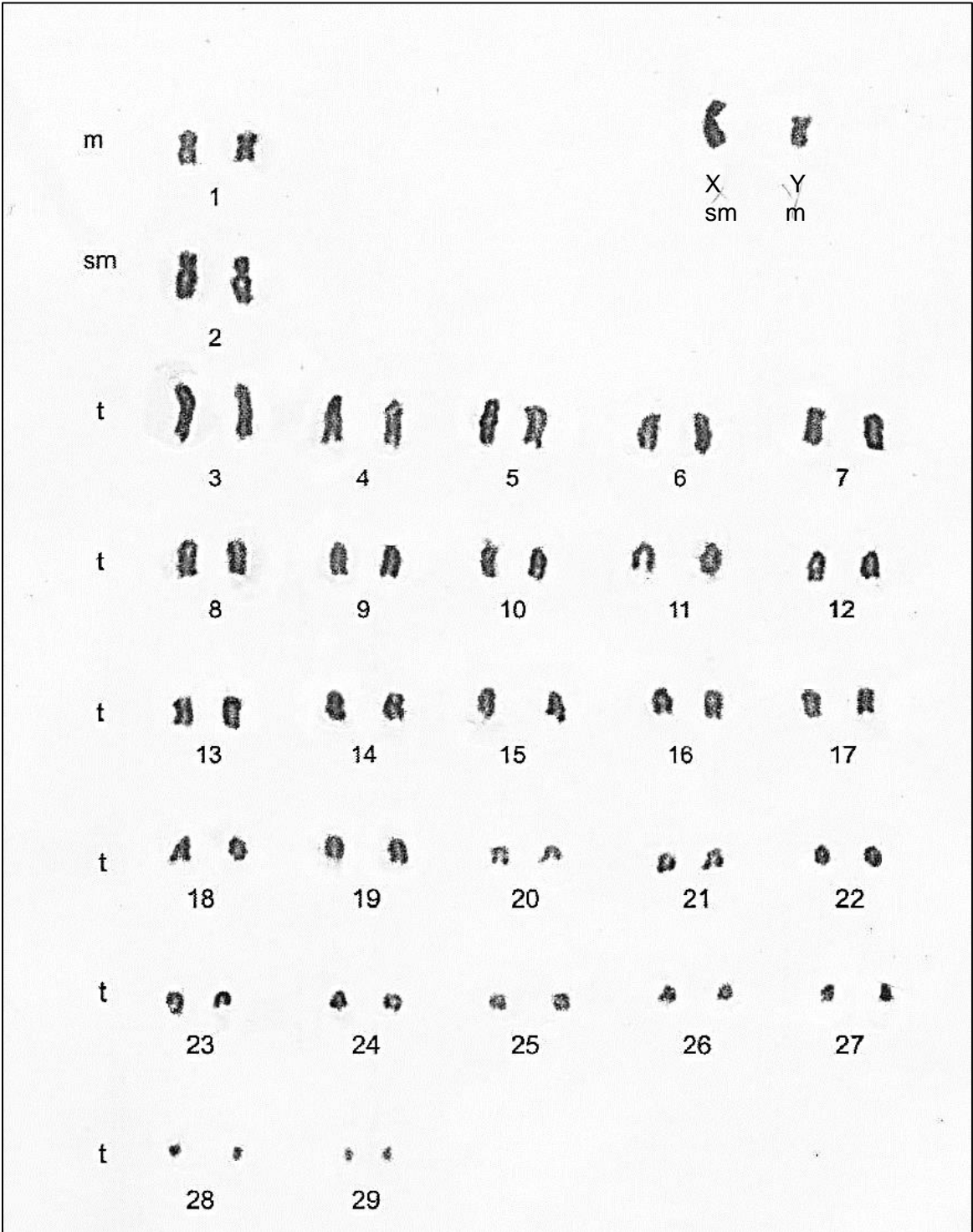


Figura 7. Cariotipo convencional de *Heteromys irroratus* macho de Santiago Coltzingo, Ocoyucan, Puebla. Donde m=metacéntrico, sm=submetacéntrico, t=telocéntrico, X=Cromosoma sexual "X" y Y=Cromosoma sexual "Y".

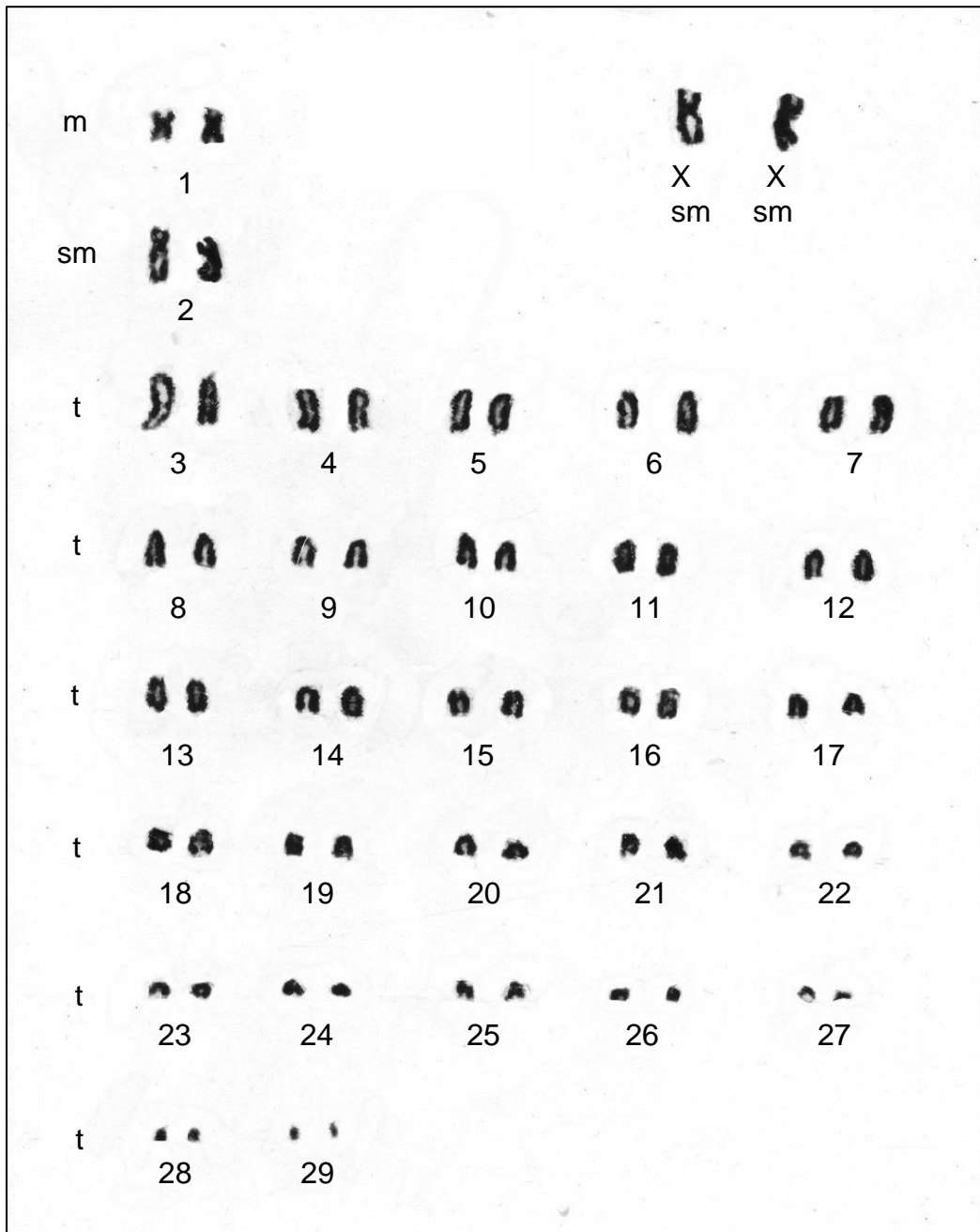


Figura 8. Cariotipo convencional de *Heteromys irroratus* hembra de Santiago Coltzingo, Puebla. Donde m=metacéntrico, sm=submetacéntrico, t=telocéntrico, X=Cromosoma sexual "X"

Se generó el ideograma de los dos sexos de *Heteromys irroratus*, en donde se observó que el par metacéntrico fue mediano, el par submetacéntrico grande y los pares telocéntricos estuvieron conformados por grandes, medianos y pequeños (Fig. 9).

De igual manera, se obtuvieron los valores promedios de las longitudes relativas de los pares cromosómicos de *H. irroratus*, como resultado de las mediciones de 10 cariotipos (cinco de hembra y cinco de macho; Cuadro 2). Del par uno al dos corresponde los autosomas birrámeos y del par tres al 27 corresponden los monorrámos, en donde se puede observar que solo está la longitud del brazo q.

El cromosoma más grande en longitud se presentó en el par tres como telocéntrico, posteriormente se encuentra el cromosoma sexual X, mientras que el valor más bajo en longitud fue para el par 29 (Cuadro 2).



Cuadro 2. Longitudes relativas de los pares cromosómicos de *Heteromys irroratus*. p=Promedio del brazo corto, q=promedio del brazo largo. DSp=Desviación estándar del brazo corto. DSq=Desviación estándar del brazo largo. DS p+q= Desviación estándar de la longitud total del cromosoma. IC= Índice centromérico. m=Metacéntrico. sm=submetacéntrico. st=subtelocéntrico. t=Telocéntrico.

Par	p	DS p	Q	DS q	p+q	DS p+q	IC	Clasificación Levan et al. (1964)
1	3.167	0.871	3.874	1.072	7.041	1.909	45.086	m
2	3.219	0.403	6.437	0.899	9.656	0.986	33.477	sm
3			11.469	2.307				t
4			10.087	1.701				t
5			8.979	1.631				t
6			8.370	1.509				t
7			7.847	1.243				t
8			7.554	1.279				t
9			7.220	1.364				t
10			6.953	1.374				t
11			6.706	1.239				t
12			6.519	1.218				t
13			6.349	1.182				t
14			6.068	1.068				t
15			5.762	8.584				t
16			5.528	8.004				t
17			5.288	7.459				t
18			5.029	7.517				t
19			4.825	7.649				t
20			4.579	7.994				t
21			4.287	6.745				t
22			3.978	6.004				t
23			3.805	6.266				t
24			3.589	6.292				t
25			3.464	6.098				t
26			3.274	5.338				t
27			2.941	4.846				t
28			2.519	6.420				t
29			2.149	4.553				t
X	3.508	0.878	7.778	1.137	11.286	1.817	30.828	sm
Y	2.652	5.137	3.974	8.552	6.626	1.316	40.247	m

### **Bandeo cromosómico G**

El ejemplar macho de *H. irroratus* presentó un patrón de bandeo cromosómico G conformado por tres bandas en los autosomas metacéntricos, cuatro bandas en los submetacéntricos, cinco bandas para los telocéntricos más grandes y de una a dos bandas en los telocéntricos más pequeños. Se observaron cuatro bandas en el cromosoma sexual X y tres bandas en el cromosoma sexual Y (Figs. 11 y 12).

De la misma manera, el ejemplar hembra mostró resultados similares, donde los autosomas metacéntricos mostraron tres bandas, los submetacéntricos cuatro bandas, los telocéntricos más grandes presentaron cuatro bandas y los más pequeños de una a dos bandas. Se observaron cuatro bandas en el cromosoma sexual X (Figs. 13 y 14).



Figura 10. Campo mitótico (100X) con bandas cromosómicas G de *Heteromys irroratus* macho de Santiago Colzingo, Ocoyucan, Puebla.

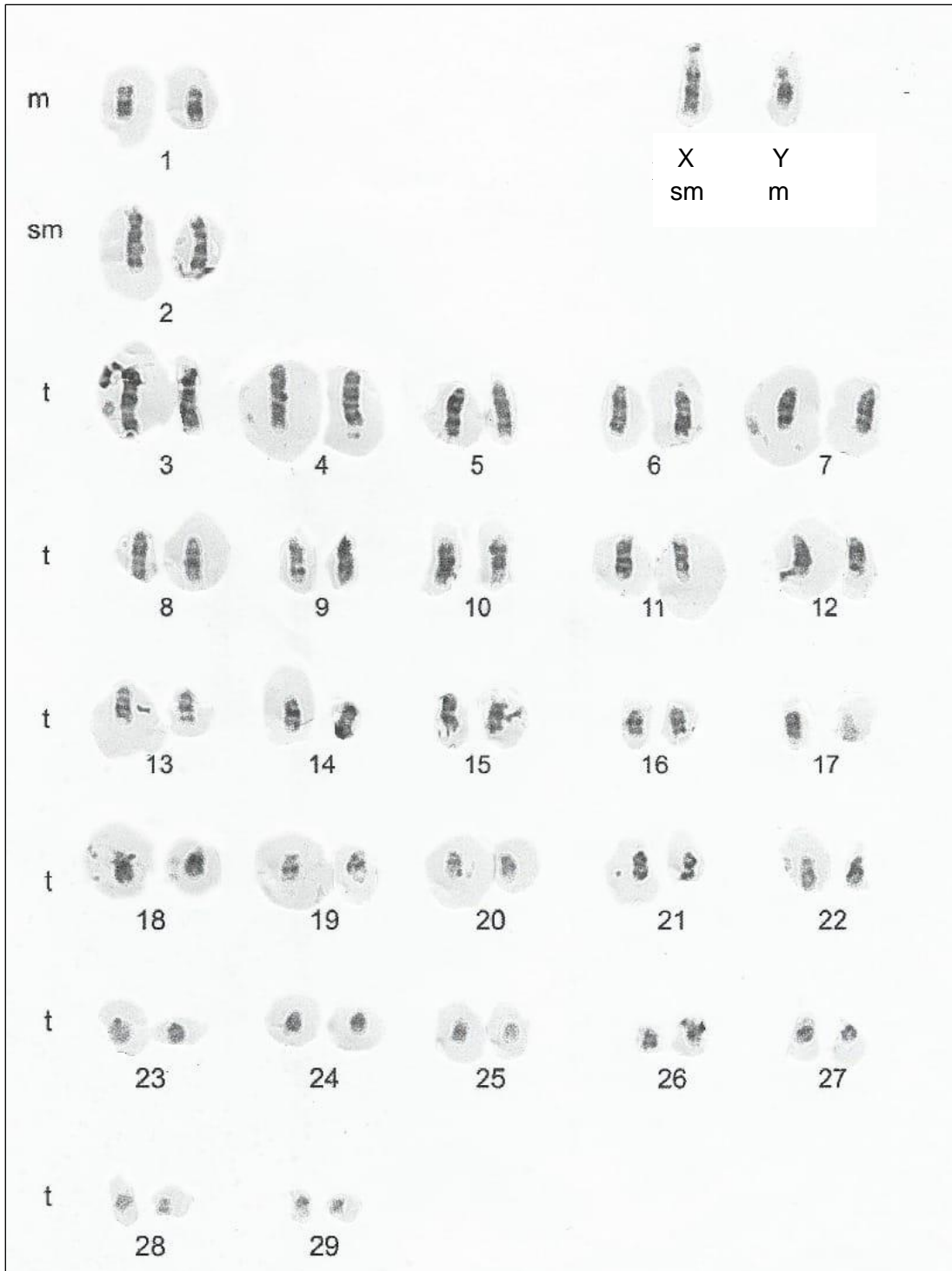


Figura 11. Cariotipo con bandas cromosómicas G de *Heteromys irroratus* macho de Santiago Coltzingo, Ocoyucan, Puebla. Donde m=metacéntrico, sm=submetacéntrico, t=telocéntrico, X=Cromosoma sexual "X" y Y=Cromosoma sexual "Y".

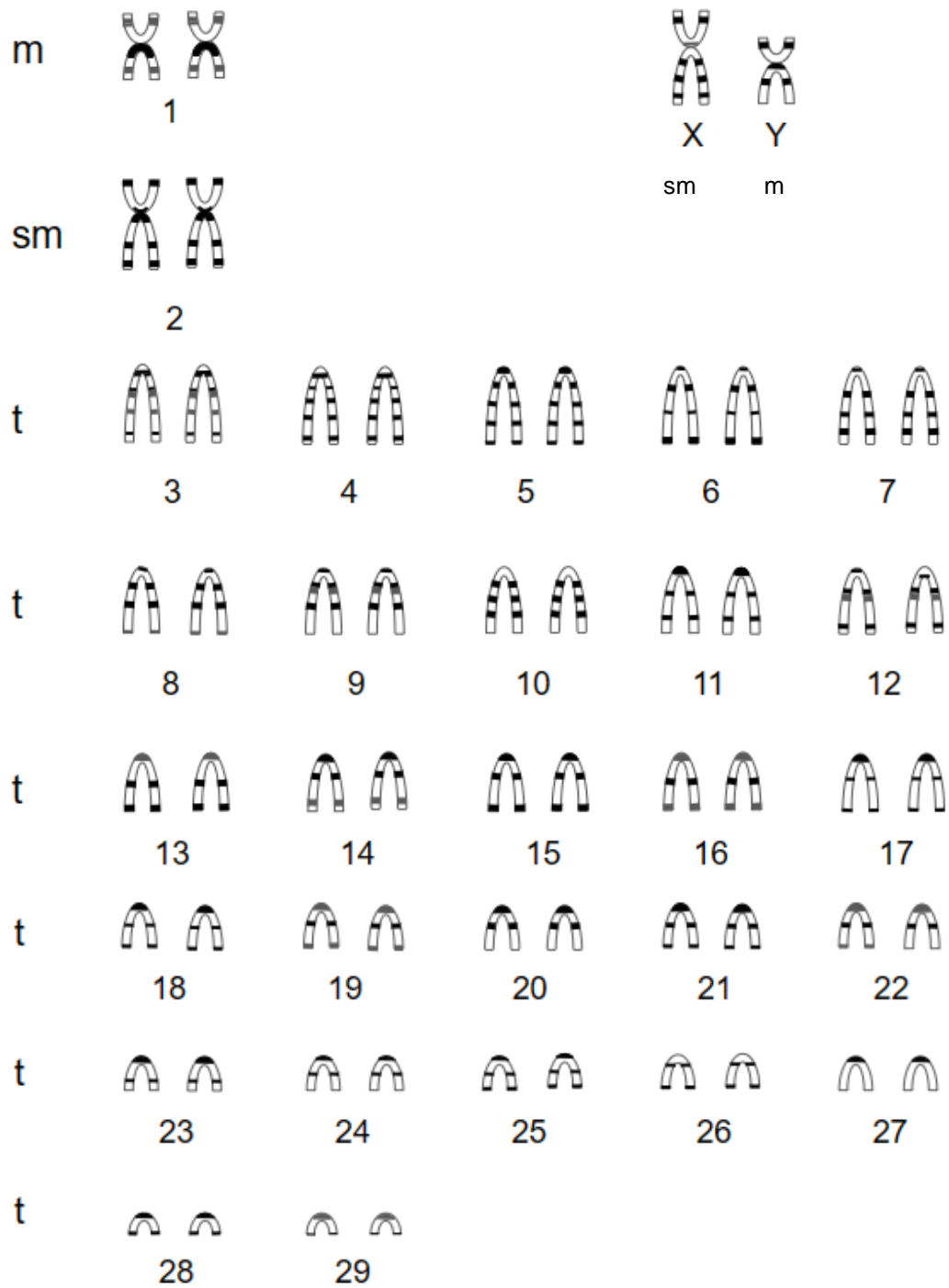


Figura 12. Ideograma del patrón de bandas cromosómicas G del cariotipo convencional de *Heteromys irroratus* macho. Donde m=metacéntrico, sm=submetacéntrico, t=telocéntrico, X=Cromosoma sexual "X" y Y=Cromosoma sexual "Y".

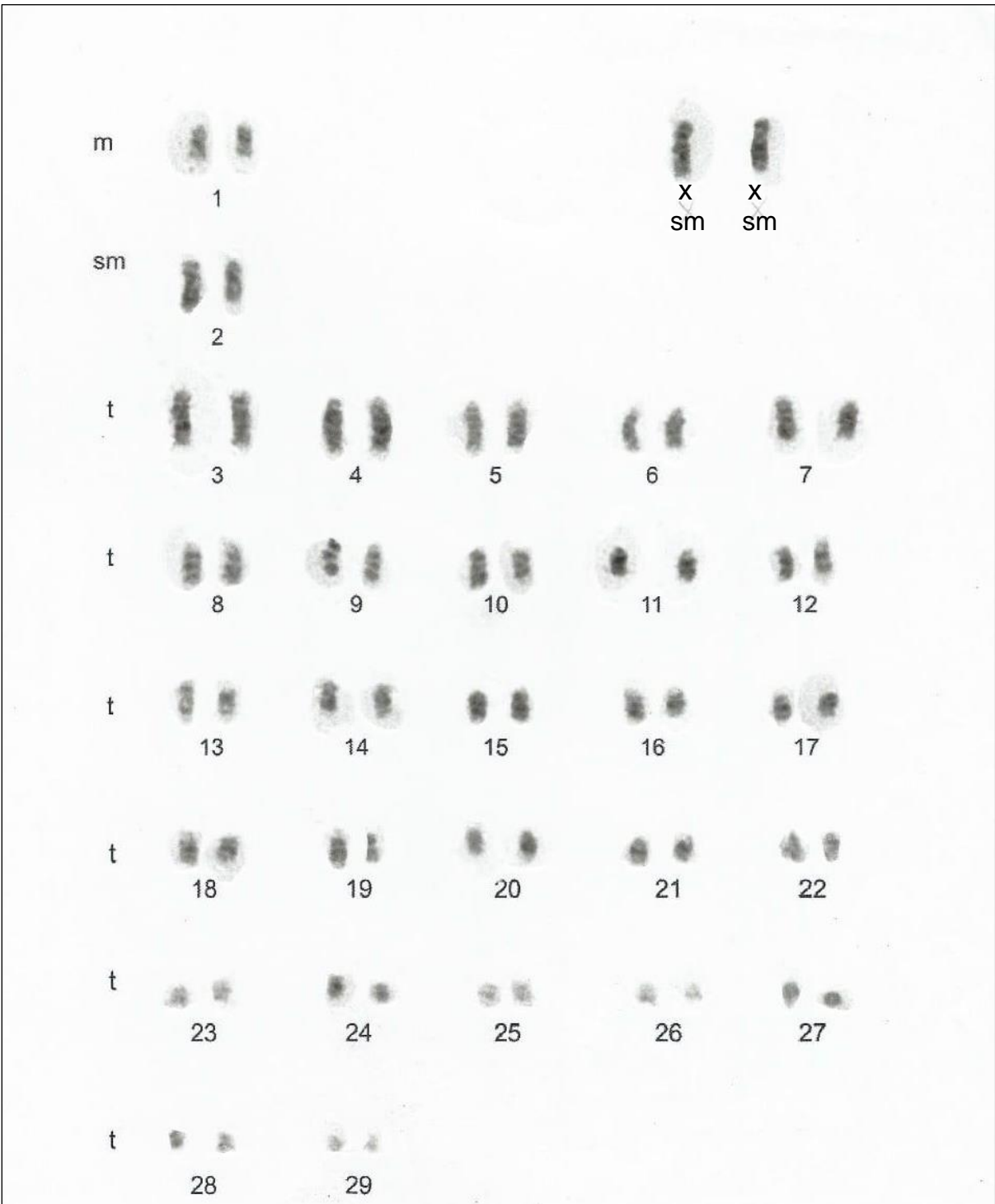


Figura 13. Cariotipo con bandas cromosómicas G de *Heteromys irroratus* hembra de la localidad de Santiago Coltzingo, Ocoyucan, Puebla. Donde m=metacéntrico, sm=submetacéntrico, t=telocéntrico, X=Cromosoma sexual "X"

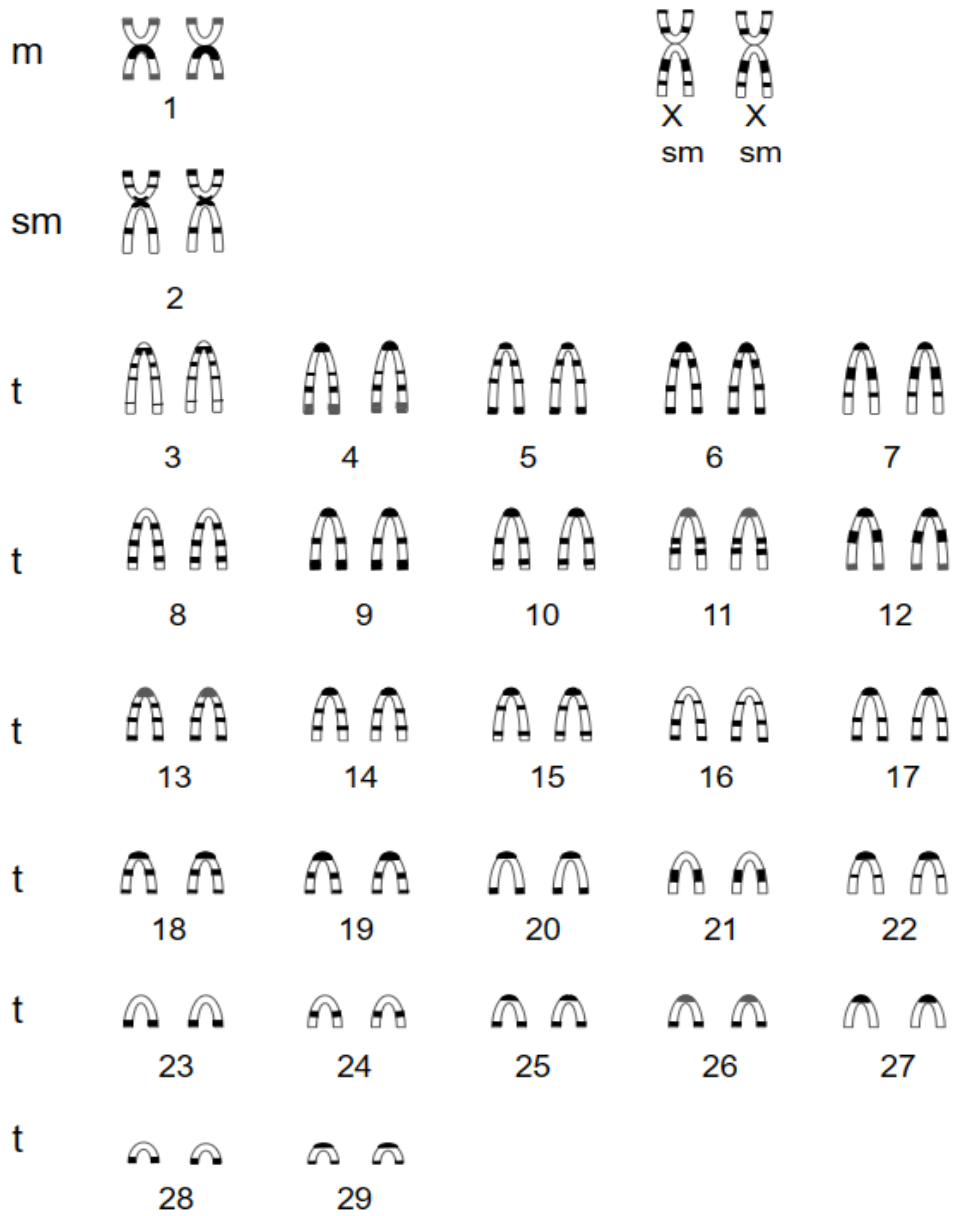


Figura 14. Ideograma del patrón de bandas G de *Heteromys irroratus* hembra.  
 Donde m=metacéntrico, sm=submetacéntrico, t=telocéntrico, X=Cromosoma sexual  
 "X"

### **Bandeo cromosómico C**

El cariotipo de *H. irroratus* con el patrón de bandeo C mostró como la heterocromatina constitutiva en el macho se encontraba en la región centromérica de los pares autosómicos y sexuales. Sin embargo, en los cromosomas más pequeños el patrón de bandeo C fue muy tenue (Figs. 15 y 16).

Para el ejemplar hembra fue menos visible la heterocromatina constitutiva, aunque ésta se presentó en todos los cromosomas. En el par sexual se observó heterocromatina en el centrómero en mayor cantidad. Sin embargo, en los cromosomas también se les presentaron bandas G (Fig. 17).

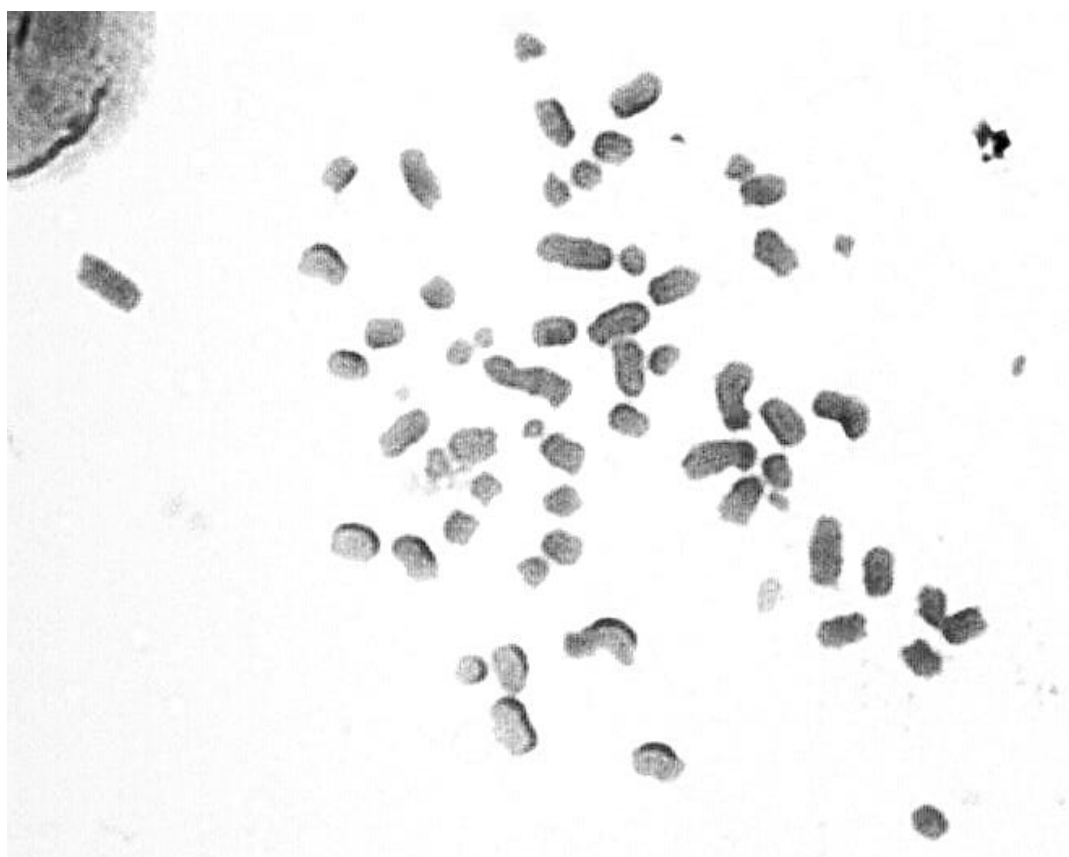


Figura 15. Campo mitótico (100X) con bandas cromosómicas C de *Heteromys irroratus* macho de Santiago Coltzingo, Ocoyucan, Puebla.

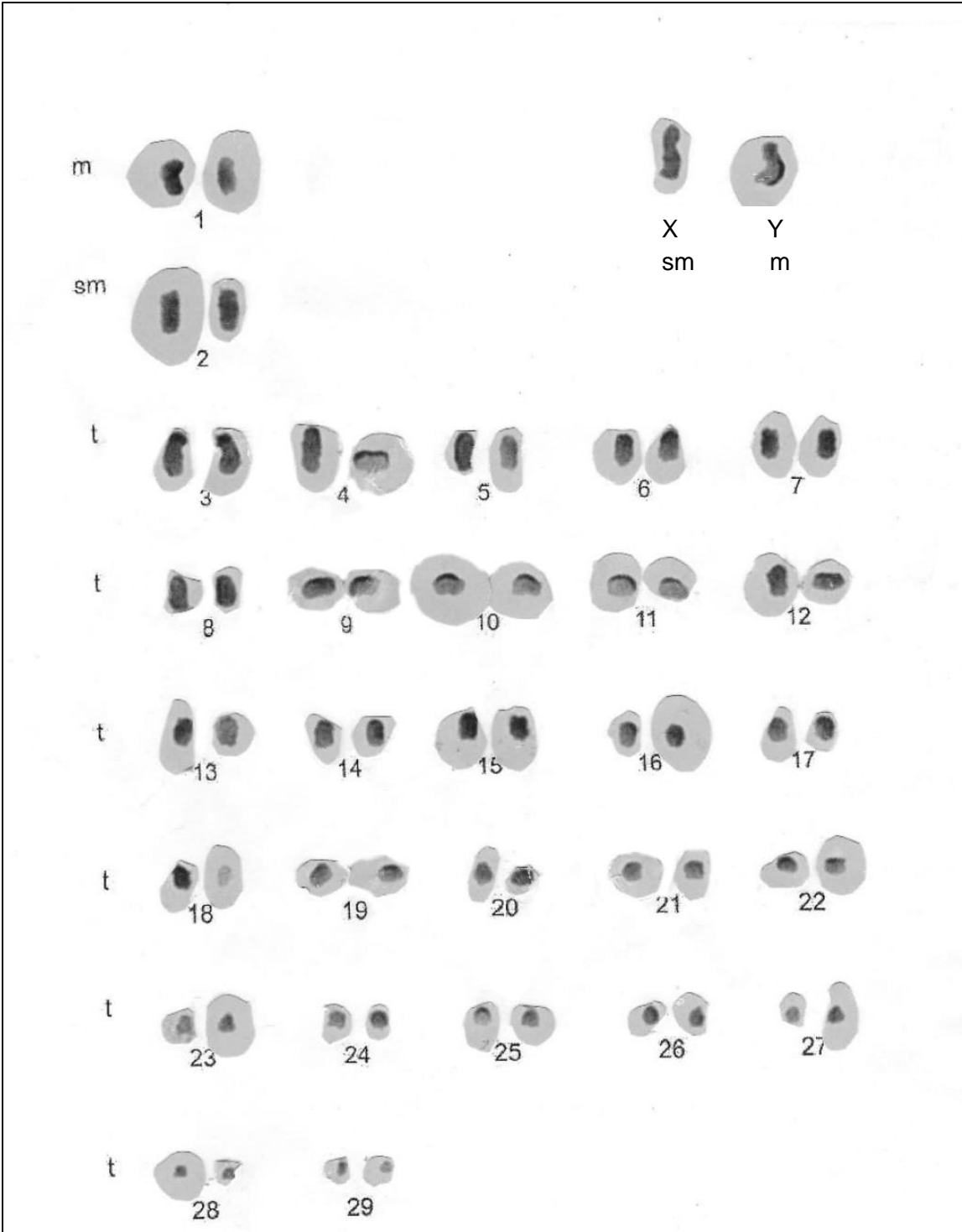


Figura 16. Cariotipo de bandas cromosómicas C de *Heteromys irroratus* macho de Santiago Coltzingo, Ocoyucan, Puebla. Donde m=metacéntrico, sm=submetacéntrico, t=telocéntrico, X=Cromosoma sexual "X" y Y=Cromosoma sexual "Y".

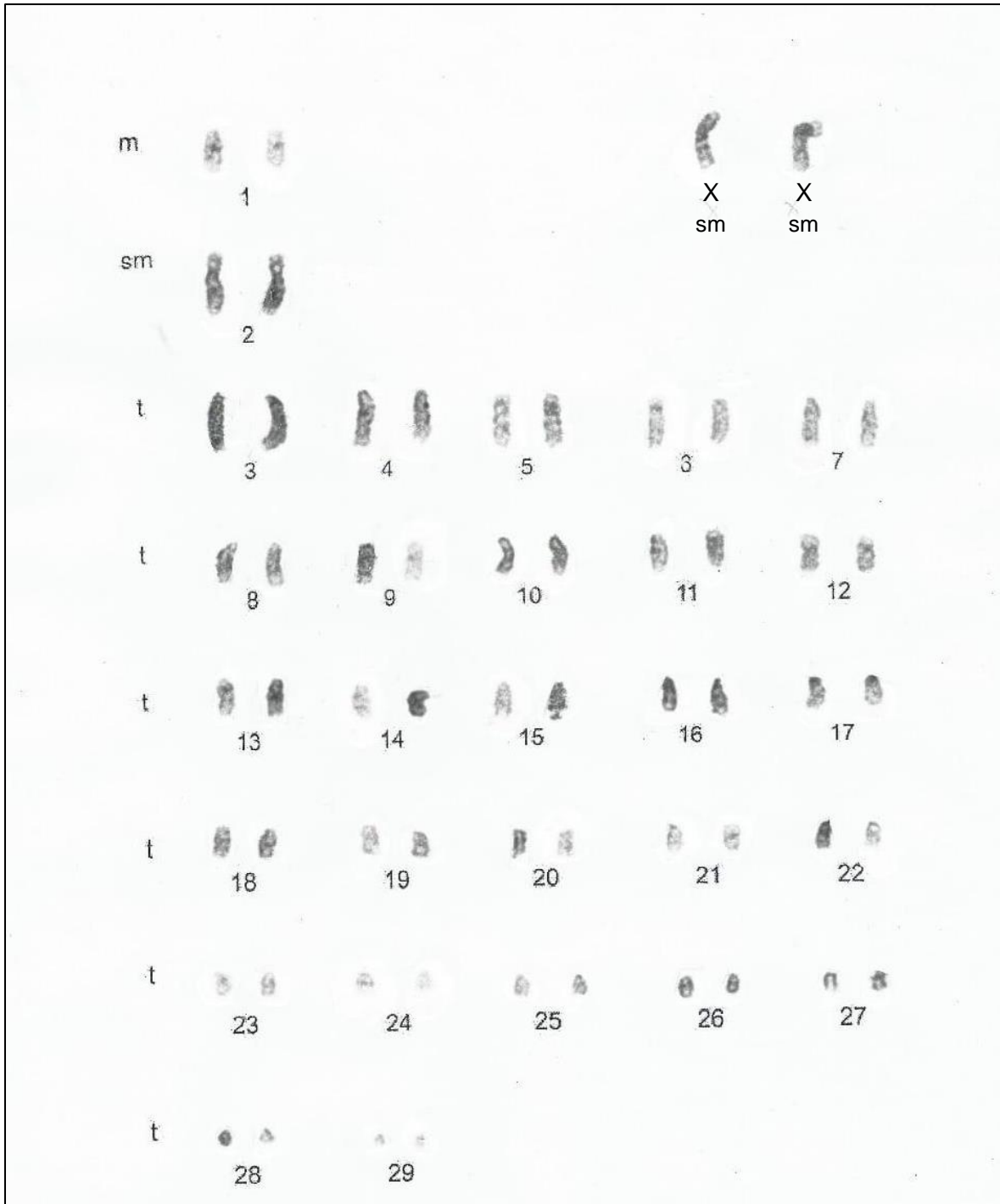


Figura 17. Cariotipo de bandas cromosómicas C de *Heteromys irroratus* hembra de Santiago Coltzingo, Ocoyucan, Puebla. Donde m=metacéntrico, sm=submetacéntrico, t=telocéntrico, X=Cromosoma sexual "X".

La ubicación de la heterocromatina constitutiva en la región centromérica de los cromosomas de macho y hembra de *H. irroratus*, a pesar de haber sido tenue, se presentó en todos los cromosomas autosómicos y sexuales (Fig. 18).

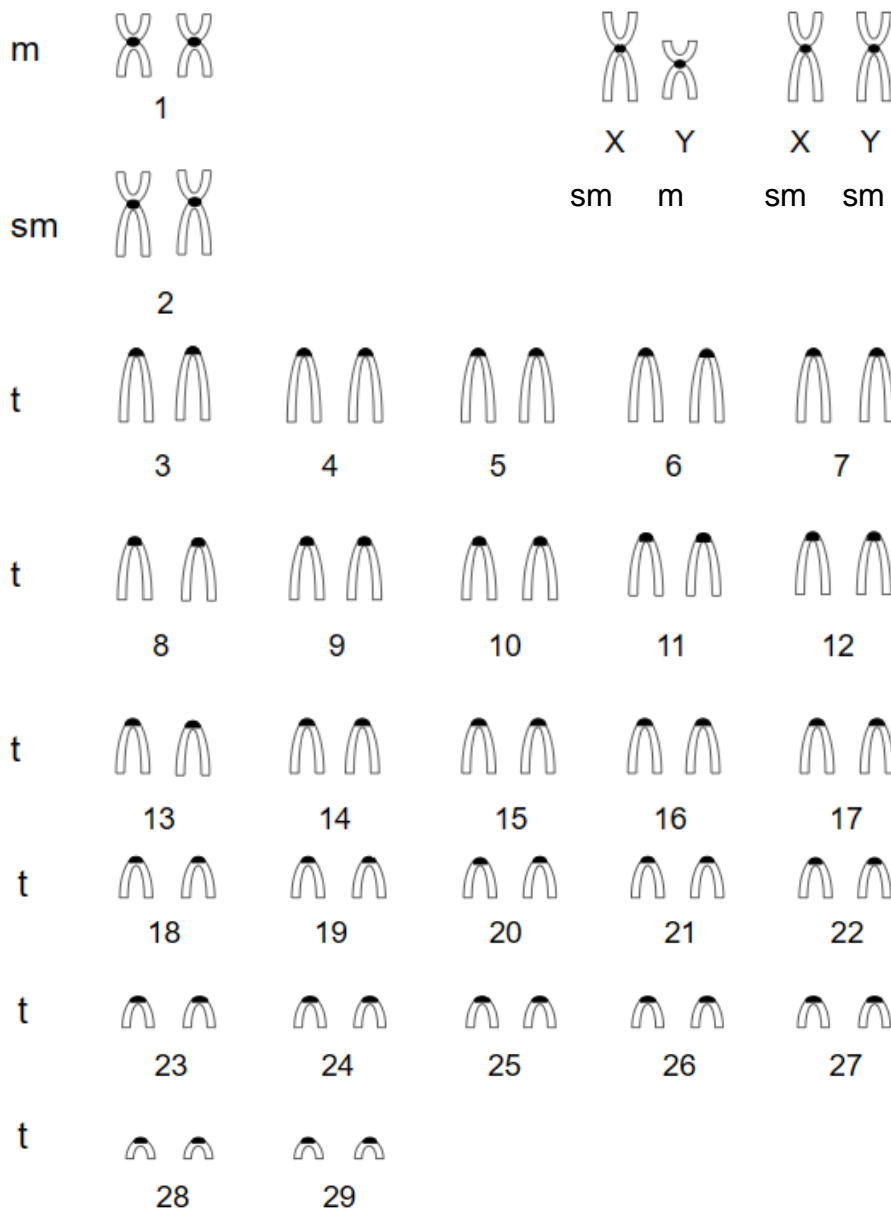


Figura 18. Ideograma del patrón de bandeo C de *Heteromys irroratus* macho y hembra de la localidad de Santiago Coltzingo, Ocoyucan, Puebla. Donde m=metacéntrico, sm=submetacéntrico, t=telocéntrico, X=Cromosoma sexual "X" y Y=Cromosoma sexual "Y".

De manera adicional y para facilitar la comparación de los resultados obtenidos en este trabajo con los de otros autores, se elaboró un cuadro en el que se estableció la descripción cromosómica de *Heteromys irroratus* y subespecies presentado por varios investigadores en territorio mexicano (Cuadro 3).

Cuadro 3. Comparación de las constantes cromosómicas de subespecies de *Heteromys irroratus* de México. 2n= número diploide, NF= número fundamental, morfología de los cromosomas: m= metacéntrico, sm= submetacéntrico, st= subtelocéntrico y t= telocéntrico, X Y= cromosomas sexuales.

<b>Especies y subespecies</b>	<b>2n</b>	<b>NF</b>	<b>m</b>	<b>sm</b>	<b>st</b>	<b>t</b>	<b>X</b>	<b>Y</b>	<b>Autor</b>	<b>Localidad</b>
<i>H. irroratus</i>	60	62	1	1		27	sm	st	Genoways (1973)	Chihuahua, Guanajuato, Guerrero y Tamaulipas
<i>H. i. jaliscensis</i>	60	68	2		3	24	sm	sm	Cervantes et al. (1999)	Mazamitla, Jalisco
<i>H. i. irroratus</i>	60	68	2		3	24	sm	sm	Mata (2002)	Tlacolula, Oaxaca
<i>H. i. alleni</i>	60	68	2		3	24	sm	sm	Mata (2002)	Michoacán, Tlaxcala e Hidalgo
<i>H. i. guerrerensis</i>	60	68	2		3	24	sm	sm	Mata (2002)	Chilpancingo, Guerrero
<i>H. i. jaliscensis</i>	60	68	2		3	24	sm	sm	Mata (2002)	Ameca, Jalisco
<i>H. i. torridus</i>	60	68	2		3	24	sm	sm	Mata (2002)	Teotitlán del camino, Oaxaca
<i>H. irroratus</i>	60	62	1	1		27	sm	m	Presente estudio	Santiago Coltzingo, Puebla

De igual manera, se elaboró un cuadro mostrando la comparación de los resultados con otros autores que han descrito el cariotipo de *Heteromys irroratus* en el estado de Puebla (Cuadro 4).

Cuadro 4. Comparación de las constantes cromosómicas de subespecies de *Heteromys irroratus* de Puebla. 2n= número diploide, NF= número fundamental, morfología de los cromosomas: m= metacéntrico, sm= submetacéntrico, st= subtelocéntrico y t= telocéntrico, X Y= cromosomas sexuales.

2n	NF	m	sm	st	t	X	Y	Autor	Localidad
60	62	2			27	m	sm	Carrillo (2005)	Coxcatlán, Guadalupe Victoria, Puebla
60	74	2	6		21	sm	st	Morales (2005)	Chila de las flores, Puebla
60	64		3		26	sm	t	Reyes (2007)	Santo Domingo, Huehuetlán el Grande, Puebla
60	64		3		26	sm	t	Serrano (2010)	San Salvador Atoyatempan, Puebla
60	62	1	1		27	t	m	Salazar (2021)	San Pedro Cholula, Puebla
60	62	1	1		27	sm	m	Presente estudio	Santiago Coltzingo, Puebla

## DISCUSIÓN

Este trabajo comprende el primer análisis del cariotipo de *H. irroratus* en la localidad de Santiago Colzingo Ocoyucan, Puebla.

Desde 1973 se han llevado a cabo trabajos en los cuales se describe el cariotipo de *Heteromys irroratus* a nivel nacional y estatal. De manera general, se observó que el  $2n$  ha sido constante en *Heteromys irroratus* en México (e.g. Genoways, 1973; Cervantes *et al.*, 1999; Mata, 2002; Carrillo, 2005; Morales, 2005; Reyes, 2007; Serrano, 2010; Salazar, 2021). Esta concordancia coincide al considerar el nivel taxonómico de especie, en comparación con otras como *H. pictus* y *H. spectabilis*, las cuales presentaron un  $2n=48$ , mientras que *H. salvini* y *H. adspersus* tuvieron un  $2n=56$  (*sensu* Genoways, 1973).

En cuanto al NF, este fue diferente, el cual ha ido variando de **62** (e.g. Genoways, 1973- Chihuahua, Guanajuato, Guerrero y Tamaulipas; Carrillo, 2005-Coxcatlan; Salazar, 2021-San Pedro Cholula y presente estudio), **64** (e.g. Reyes, 2007-Huehuetlán el Grande y Serrano, 2010-San Salvador Atoyatempan), **68** (e.g. Cervantes *et al.*, 1999-Jalisco y Mata, 2002-Michoacán, Tlaxcala, Hidalgo, Guerrero, Oaxaca y Jalisco) y **74** (e.g. Morales, 2005-Chila de las flores), por lo que se observa la existencia de un polimorfismo cromosómico en *H. irroratus*.

Este polimorfismo cromosómico en el cariotipo de *H. irroratus* pudiera ser el reflejo en cuanto a la inestabilidad taxonómica que existe a nivel subespecie. Los datos moleculares han podido confirmar la presencia de múltiples especies crípticas dentro del complejo *Heteromys irroratus* (Rogers y Vance, 2005; Gutiérrez-Costa *et al.*, 2021), por lo que se podría considerar también potenciales diferencias genéticas en el cariotipo a nivel subespecie, las cuales presentan marcadas diferencias tanto morfológicas como de distribución (*sensu* Gutiérrez-Costa, 2021).

Existía una probabilidad de que la subespecie analizada en el presente trabajo fuera en realidad *H. i. alleni*, la cual, de acuerdo con Gutiérrez-Costa (2021) se distribuye en la mayor porción del estado de Puebla. Sin embargo, los resultados no coinciden

con los de Mata (2002), quien analizó el cariotipo de *H. i. alleni* presente en Tlaxcala e Hidalgo, encontrado para esta subespecie cinco pares birrámeos y 24 pares monorrámeos, a diferencia de los dos pares birrámeos y 27 pares monorrámeos del presente estudio. Otra posibilidad sería considerar que el grupo analizado fuera *H. pretiosus* la cual se encuentra en el norte de Hidalgo, noreste de Puebla y norte de Veracruz (*sensu* Gutiérrez-Costa, 2021), pero se requieren de una mayor cantidad de análisis para confirmar o descartar esta propuesta. Por lo tanto, la especie del presente estudio no se consideraría en cuanto a su distribución como *Heteromys irroratus*.

En cuanto a la morfología cromosómica de los autosomas, el cariotipo analizado por Carrillo (2005) presentó dos pares metacéntricos, mientras que el presentado en este estudio considera un par metacéntrico y otro subtlocéntrico. Este cambio en la estructura cromosómica de los birrámeos pudiera deberse a que el género *Heteromys* en sí presenta variaciones cromosómicas como inversiones pericéntricas y translocaciones (Mascarello y Rogers, 1988), por lo tanto, es de esperar que también estas diferencias estructurales se observen a nivel específico.

La morfología cromosómica sexual, a nivel nacional, también ha mostrado diferencias. En el estudio de Genoways (1973) realizado en Chihuahua, Guanajuato, Guerrero y Tamaulipas, se encontró que el cromosoma Y, era subtlocéntrico, mientras que aquí se observó como metacéntrico.

A nivel estatal, se repite esta diferenciación, ya que Salazar (2021) en San Pedro Cholula, el cromosoma sexual X fue telocéntrico, mientras que en el presente estudio fue submetacéntrico.

Al respecto, Genoways (1973) menciona que las diferencias morfológicas de los cromosomas sexuales implican cambios en la estructura génica, estos cambios parecen ser resultado de un rearrreglo cromosómico a causa de la adaptación de la especie al producirse un ajuste funcional entre el organismo y su ambiente (Morrone, 2001). Al ser estos cambios un reflejo de la adaptabilidad de las poblaciones a los hábitats en los que se encuentran a causa de un aislamiento espacial (Mata *et al.*, 2015). Es de esperarse que en grupos en distintas zonas bajo la presencia de

barreras geográficas, se impida el flujo genético entre estos y cada especie o subespecie presente entonces diferencias estructurales en la morfología cromosómica.

En cuanto a las diferencias encontradas en el patrón de bandeo cromosómico G, Mata *et al.* (2002) reportaron para los pares metacéntricos tres y dos bandas, tres para el caso del presente estudio; y en los pares telocéntricos se observaron cuatro bandas como máximo, mientras que en el presente estudio fueron cinco. Esto pudiera deberse a la distribución de eucromatina o posibles rearrreglos como la adición o deleción de la eucromatina (Cervantes *et al.*, 1999), la cual se ha reportado tener una inversión pericéntrica en el par 7 y 21 de *H. irroratus*.

Hasta el momento, no se ha realizado una comparación del cariotipo de *Heteromys irroratus* que considere el patrón de bandeo cromosómico G de las subespecies a nivel nacional, con la intención de identificar los reordenamientos cromosómicos conforme su distribución, por lo que sería necesario generar mayor información al respecto.

En cuanto al patrón de bandeo cromosómico C, la heterocromatina constitutiva se ubicó en la región centromérica en todos los cromosomas de *Heteromys irroratus* de Santiago Coltzingo, Ocoyucan, Puebla, lo cual concordó con lo reportado por Genoways, (1973), Cervantes *et al.* (1999), Carrillo (2005), Serrano (2010) y Morales (2005), por lo que no se considera que haya diferencias a nivel nacional y estatal.

## CONCLUSIÓN

El cariotipo convencional de *Heteromys irroratus* macho y hembra del municipio de Santiago Colzingo Ocoyucan Puebla fue  $2n=60$  y  $NF=62$ .

Los autosomas estuvieron conformados por un par metacéntrico, un par submetacéntrico y 27 pares telocéntricos.

El cromosoma sexual X fue submetacéntrico grande y el cromosoma Y fue metacéntrico mediano.

En el patrón de bandeo cromosómico G, la eucromatina se presentó en bandas claras y oscuras presentándose en los autosomas metacéntricos tres bandas, submetacéntrico cuatro bandas, telocéntricos de cinco a una banda.

El cromosoma sexual X submetacéntrico presentó cuatro bandas y el cromosoma sexual Y metacéntrico tres bandas.

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

El número diploide permaneció constante, sin embargo, se observó polimorfismo cromosómico en el número fundamental de *Heteromys irroratus* a nivel nacional.

## RECOMENDACIONES PARA TRABAJOS FUTUROS

Dado que *H. irroratus* ha sido considerado como un taxon a nivel especie con siete subespecies, no se ha analizado el cariotipo a este nivel. Debido a esto, se sugiere se aplique una mayor cantidad de esfuerzo en resolver estas incógnitas, las cuales permitirán establecer si las diferencias en la morfología de los cromosomas se deben al alto grado de diferenciación en la distribución geográfica y si esta es un reflejo de la adaptabilidad de los grupos a los variados hábitats y climas en los que se desarrollan.

## LITERATURA CITADA

Anderson, R., M. Weksler y D. Rogers. 2006. Phylogenetic analyzes of spiny pocket mice (Heteromyidae: Heteromyinae) based on allozymatic and morphological data. *Journal of Mammalogy*, 87(6):1218–1233. <https://doi.org/10.1644/06-MAMM-A-096R1.1>

Aguilera, M, M., A. Expósito y T. Caldera. 2010. Citogenética de mamíferos cinegéticos de Venezuela. (Cynogenetics of the hunting mammals of Venezuela). *En: Machado, A. A., O. Hernández., M. Aguilera., A.E. Seijas. y F. Rojas (Coordinadores). 2010. Simposio: Investigación y Manejo de Fauna Silvestre en Venezuela en Homenaje al “Dr. Juhani Ojasti”. 55 p. <https://acfiman.org/wp-content/uploads/2023/01/simposio-de-investigacion-y-manejo-de-fauna-silvestre.pdf>*

Arrighi, F. F. y T. C. Hsu. 1971. Localization of heterochromatin in human chromosomes. *Cytogenetics*, 10:81-86. <https://doi.org/10.1159/000130130>

Asociación Paraguaya de Mastozoología y Secretaría del Ambiente. 2017. *Libro Rojo de los Mamíferos del Paraguay Especies amenazadas de extinción*. Saldivar, S., V. Rojas. y D. Giménez. Pp 137. [https://www.academia.edu/37602434/Rodentia\\_los\\_roedores](https://www.academia.edu/37602434/Rodentia_los_roedores)

Baker, R. J. y M. B. Qumsiyeh. 1988. Methods in Chiropteran mitotic chromosomal studies. 425-435 pp. *En: Ecological and behavioral methods for study of bats*. (T.H Kunz, ed.) Smithsonian Institution Press, Washinton, D. C. U. S. A. 533 pp.

Baker, R.J., M.B. Qumsiyeh. y C.S. Hood. 1987. Role of chromosomal banding patterns in understanding mammalian evolution. *Current Mammalogy*. 1:67-96 pp. DOI:10.1007/978-1-4757-9909-5\_2

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. *En:*

*Mammalian biology in South America* (M.A. Mares and H.H. Genoways, eds.). Special Publication Series, Pymatuning Laboratory of Ecology VI. 303–327 pp.

Bueno, M. 2011. Chromosomes as vehicle in organization and transmission of characters. *Act. Biología. Colombiana*, 16(3):43-60.

<http://www.scielo.org.co/pdf/abc/v16n3/v16n3a3.pdf>

Carrillo, A. C. 2005. Descripción cromosómica de *Liomys irroratus* de la localidad de Guadalupe Victoria, en el municipio de Coxcatlán, Puebla en la Reserva de la Biósfera Tehuacán- Cuicatlán. Tesis de Licenciatura, Escuela de Biología, BUAP. 45 p.

Castro, I., R. Timm. y S. Álvarez. 2016. *Heteromys irroratus*. La Lista Roja de Especies Amenazadas de la UICN 2016: <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2016-3.RLTS.T12074A22225187>

Ceballos, G. 2014. Mammals of Mexico. *Journal of Mammalogy*, 96:1365-1366. <https://doi.org/10.1093/jmammal/gyv127>

Cervantes, F., C. Lorenzo y O. Ward. 1999. Chromosomal relationships among Spiny Pocket Mice, *Liomys* (Heteromyidae), from Mexico. *Journal of Mammalogy*, 80(3): 823-832. <https://doi.org/10.2307/1383251>

CONABIO. 2020. <https://www.naturalista.mx/taxa/520561-Heteromys-irroratus>  
Acceso 19 de noviembre de 2022.

Copelli, S. 2010. *Genética: desde la herencia a la manipulación de los genes*. 1ª ed. Buenos Aires. Fundación de Historia Natural Félix de Azara. 19-36 pp.

Curtis, H. 2008. *Biología general de Curtis*. Editorial Médica Panamericana. Madrid, España. 104 pp.

Curtis, H., N. Barnes, A. Schneck. y A. Massarini. 2008. *Curtis Biología*. Editorial Medica Panamericana. 7ª ed. Buenos Aires. 132-147 pp.

Diario Oficial de la Federación Mexicana. 2010. NOM-059-SEMARNAT-2010. Protección ambiental-Especies nativas de México de flora y fauna silvestres-Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-Lista de especies en riesgo. 35.-\_NORMA\_OFICIAL\_MEXICANA\_NOM-059-SEMARNAT-2010.pdf (www.gob.mx)

Dowler, R. C. y H. H. Genoways. 1978. *Liomys irroratus*. Mammalian Species, 82:1–6. <https://doi.org/10.2307/3503813>

Espinosa, L. A. y T. C. Chávez. 2005. *Liomys irroratus*. Ratón espinoso. En: G. Ceballos y G. Oliva. (eds). *Los mamíferos silvestres de México*. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad-Fondo de Cultura Económica. México, D. F. 628-629 pp.

Fernández, J. A., M. S. Hafner., D. J. Hafner y F. A. Cervantes. 2014. Conservation status of rodents of the families Geomyidae and Heteromyidae of Mexico. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 85(2), 576-588. <https://doi.org/10.7550/rmb.36710>

Genoways, H. H. 1973. Systematics and evolutionary relationships of Spiny Pocket Mice, Genus *Liomys*. Mammalogy Papers: University of Nebraska State Museum. 272. <https://digitalcommons.unl.edu/museummammalogy/272>

Grouchy, J. y C. Turleau. 1977. Clinical atlas of human chromosomes. John Wiley y Sons, New York, U.S.A. 27-271 pp.

Gutiérrez-Costa, M. A. (2021). Delimitación de especies del complejo *Heteromys irroratus* gray 1868 (Rodentia: Heteromyidae): un enfoque taxonómico integrativo empleando múltiples líneas de evidencia. Tesis de Doctorado en Ciencias Naturales. UAEM. 135 p.

Gutiérrez-Costa, M.A., F.X. González-Cózatl., M.M. Ramírez-Martínez., L.I. Iñiguez-Dávalos y D.S. Rogers. 2021. Molecular data suggest that *Heteromys irroratus bulleri* should be recognized as a species-level taxon. *Therya*, 12: 139-148.

Hafner, J.C., J.E. Light., D.J. Hafner., M.S. Hafner., E. Reddington., D.S. Rogers y B.R. Riddle. 2007. Basal clades and molecular systematics of Heteromyd rodents. *Journal of Mammalogy*, 88:1129-1145. <https://doi.org/10.1644/06-MAMM-A-413R1.1>

INEGI. 2010. Compendio de información geográfica municipal 2010, Ocoyucan, Puebla. Recuperado el 25 de julio de 2024 de [inegi.org.mx/contenidos/app/mexicocifras/datos\\_geograficos/21/21106.pdf](http://inegi.org.mx/contenidos/app/mexicocifras/datos_geograficos/21/21106.pdf)

INEGI. 2024. Espacio y datos de México. Acceso 15 de julio del 2024 de <https://mapserver.inegi.org.mx/mgn2k/>

Jiménez, L. F. y H. M. Larios (coordinadores). 2003. *Biología celular y molecular*. Pearson Educación de México, S.A. de C.V. 853 pp. <https://oncousd.files.wordpress.com/2015/06/biologia-celular-y-molecular.pdf>

León, T. M. A. 2014. Los roedores mórvidos de México: los pequeños mamíferos exitosos. CONABIO. *Biodiversitas*, 113:8-11 pp. <https://bioteca.biodiversidad.gob.mx/janium/Documentos/7725.pdf>

Levan, A., K. Fredga y A. A. Sandberg. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas*, 52(2):201-220. <https://doi.org/10.1111/j.1601-5223.1964.tb01953.x>, 2-s2.0-84979193387.

Martínez, J., R. González. y J. Dávila. 2008. Manual de métodos de recolecta de plantas y animales. Puebla, Puebla. Dirección General de Fomento Editorial, BUAP. 334 pp.

Martínez, M., M. Sánchez. y M. Martínez. 2010. Resumen de la evolución de las técnicas de citogenética y genética molecular para la identificación de las alteraciones genéticas del desarrollo embrionario. *Medicina de Familia. SEMERGEN*, 36(9): 520-525. <https://doi.org/10.1016/j.semerg.2010.09.002>

Martínez-Vázquez, J., R. M., González, y J. M., Dávila. 2006. Manual de métodos de recolecta de plantas y animales. Puebla, Puebla. Dirección General de Fomento Editorial, BUAP.

Mascarello, J. T. y D. S. Rogers. 1988. Banded chromosomes of *Liomys salvini*, *Heteromys oresterus* and *H. desmarestianus*. *Journal of Mammalogy*, 69:126-130. <https://doi.org/10.2307/1381756>

Mata, E. E. 2002. Diferenciación genética del ratón de abazones *Liomys irroratus* (Rodentia Heteromyidae). Tesis de Maestría, Facultad de Ciencias, UNAM. 93 pp.

Mata, M., C. Manríquez, N. Octavio, y G. Sánchez. 2015. El área de distribución de las especies: revisión del concepto. *Acta universitaria*, 25(2): 03-19 pp. <https://doi.org/10.15174/au.2015.690>

Méndez, L. A. 2014. Reordenamientos cromosómicos estructurales. *Cytogenetic and Genome Research*. 10.13140/RG.2.1.1477.3285

Morales, S. L. 2005. Descripción cromosómica de *Sigmodon hispidus* y *Liomys irroratus* de Chila de las Flores, Puebla. Tesis de Licenciatura, Escuela de Biología, BUAP. 42 p.

Morrone, J. 2001. Sistemática, biogeografía, evolución Los patrones de la biodiversidad en tiempo-espacio 1a Edición. Universidad Nacional Autónoma de México. <https://www.libros.unam.mx/digital/V9/35.pdf>

Nikoloff, N., D. A. C. Ruiz., C. I. Catanesi. y E. E. Villegas. 2021. *Introducción a la Citogenética*. 48-68 pp. <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/131498>

Ortega, M.J., J.C. Torres y J.A. Osorio. 2018. Fundamentos de citogenética humana y animal. UNAD. 34-80 pp.

Patton, J. L. 1967. Chromosome studies of certain pocket mice, genus *Perognathus* (Rodentia: Heteromyidae). *Journal of Mammalogy*, 48:27-37.

<https://doi.org/10.2307/1378167>

Patton, J. L. 2005. Family Heteromyidae. En: Wilson, D. y D. Reeder (Eds). *Mammal species of the world: a taxonomic and geographic reference*. 3rd ed. Vol. 2. Johns Hopkins University Press, Baltimore, Maryland. 844–858 pp.

Patton, J. C. y R. J. Baker. 1978. Chromosomal homology and evolution of Phyllostomatoid bats. *Systematic Zoology*, 27(4):449-462.

<https://doi.org/10.1093/sysbio/27.4.449>

Ramírez-Pulido, J. y C. Sánchez-Hernández. 1972. Regurgitaciones de lechuza procedentes de la cueva del cañón del zopilote, Guerrero, México. *Revista de la Sociedad Mexicana de Historia Natural* 33: 107-112.

Rasband, W. S. 2018. ImageJ (Versión 1.54). National Institutes of Health. USA.

Reichman, O. J. y M. V. Price. 1993. *Ecological aspects of heteromyid foraging*. En: Genoways, H.H. y J.H. Brown (eds.). *Biology of the Heteromyidae*. Special publication 10. American Society of Mammalogists. 539-574 pp.

Reyes, H. M. 2007. Descripción cromosómica de *Liomys irroratus* de Santo Domingo Huehuetlán El Grande, Puebla. Tesis de Licenciatura, Escuela de Biología, BUAP. 36 p.

Rogers, D. S. y V. L. Vance. 2005. Phylogenetics of spiny pocket mice (genus *Liomys*): analysis of cytochrome b based on multiple heuristic approaches. *Journal of Mammalogy* 86(6):1085–1094.

<https://doi.org/10.1644/04-MAMM-A-185R3.1>

Salazar, L. A. 2021. Descripción cromosómica de *Liomys irroratus* (Gray, 1868) (Rodentia: Heteromyidae) de San Pedro Cholula, Puebla. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Biológicas, BUAP. 28 p.

Santos-Moreno, A. y A. E. Santiago-Marcial. 2012. Área de actividad y movimientos de *Liomys irroratus* (Rodentia: Heteromyidae) en un bosque mediano de Tuxtepec, Oaxaca, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 83(2):496-502. <https://www.scielo.org.mx/pdf/rmbiodiv/v83n2/v83n2a21.pdf>

Serrano. F. J. P. 2010. Análisis cromosómico de *Liomys irroratus* de San Salvador Atoyatempan, Puebla. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Biológicas, BUAP. 22 p.

Solari, A. J. 2004. *Genética Humana: Fundamentos y Aplicaciones en Medicina*. 3ª Edición. Editorial Médica Panamericana. Argentina. 376 pp.

Summer, A. T., H. Evans y R. Buckland. 1971. New technique for distinguishing between human chromosomes. *Nature New Biology*, 232:31-32. <https://doi.org/10.1038/newbio232031a0>

Vaughan, T. A. 1988. *Mamíferos*. 3a. ed. Interamericana. 587 pp.

Williams, D., H. H. Genoways y J. Braun. 1993. Taxonomy. Pp 38-196. *En: Genoways, H. H. y J. H. Brown (eds.). Biology of the Heteromyidae. Special publication 10. American Society of Mammalogists. 38-196 pp.*

Wilson, D. y S. Ruff. 1999. *The Smithsonian Book of North American Mammals*. Smithsonian Institution Press, Washington, DC, USA. 622 pp.

## Apéndice

### SOLUCION HIPOTÓNICA (KCl 0.075 M)

Se pesan 0.56 g de Cloruro de Potasio (KCl) y se diluyen en 100 ml de agua destilada. Se puede utilizar máximo dos días si no está contaminada y se guarda en refrigeración.

### FIJADOR CARNOY

Proporción 3:1 (Metanol: Ácido acético) se utilizan 15 ml de Metanol y 5 ml de Ácido acético. Debe ser preparado 30 minutos antes de ser utilizado y mantenerlo en refrigeración y se puede utilizar dos o tres horas después de preparado.

### SOLUCIÓN AMORTIGUADORA PARA TINCIÓN CONVENCIONAL

#### Fosfato de Sodio Monosódico ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ 10 M)

Se pesa 1.38 g del reactivo y se diluye en 100 ml de agua destilada.

**Solución A.** Se utilizan 15 ml.

#### Fosfato de Sodio Dibásico ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ 10 M)

Se pesa 1.42 g de reactivo y se diluye en 100 ml de agua destilada.

**Solución B.** Se utilizan 10ml.

Esta solución se puede mantener a refrigeración ( $4^\circ\text{C}$ ) hasta que no se observe contaminada.

### COLORANTE GIEMSA PARA TINCIÓN CONVENCIONAL AL 4%

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

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

### SOLUCIÓN STOCK 10XSSC PARA BANDAS C

8.7675 g de Cloruro de sodio ( $\text{NaCl}$  1.5 M).

4.4117 g de Citrato de Sodio (0.15 M).

Los dos reactivos se diluyen en 100 ml de agua destilada, esta solución debe permanecer en refrigeración (4°C).

Tomar 10 ml de 10XSSC y 40 ml de agua destilada para obtener una solución 2XSSC. Esta solución solo se utiliza durante un día.

#### SOLUCIÓN SATURADA DE HIDRÓXIDO DE BARIO

5 g de Hidróxido de Bario

50 ml de agua destilada

Se diluyen en un vaso Coplin y 20 minutos antes de comenzar la técnica, se mete a la estufa para que se desintegren los cristales que forman al Hidróxido de Bario a una temperatura de 45°C, con un papel filtro se quita una costra que flota en la solución para así poder meter las laminillas sin dañarlas.

Debe prepararse uno o dos días antes de ser utilizado y mantenerlo a temperatura ambiente hasta por 2 semanas

#### GIEMSA 4% PREPARADA CON BUFFER DE FOSFATO DE SODIO PARA BANDAS C

0.01 M de  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$

Se pesan 0.1379 g de este reactivo y se diluyen en 100 ml de agua destilada.

0.01 M de  $\text{NaPO}_4$

Se pesan 0.1419 g de este reactivo y se diluyen en 100 ml de agua destilada.

Se toman 50 ml de  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  y 100 ml de  $\text{NaPO}_4$  de esta solución se toman 2 ml junto con 1 ml de Giemsa (Microlab) Y 48 ML de agua destilada.

#### SOLUCIÓN DE ÁCIDO CLORHÍDRICO (HCl 0.2 N)

Preparar solución Stock de HCl de 5N

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

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