BIOCYT Biología, Ciencia y Tecnología, 13: 909-917, 2020
ISSN: 2007-2082 DOI: http://dx.doi.org/10.22201/fesi.20072082.2020.13.72907
http://revistas.unam.mx/index.php/biocyt
Publicada en la Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México

ANÁLISIS CROMOSÓMICO DE *PEROMYSCUS GRATUS* (CRICETIDAE) DE TECAMACHALCO, PUEBLA, MÉXICO

CHROMOSOMAL ANALYSIS OF *PEROMYSCUS GRATUS* (CRICETIDAE) OF TECAMACHALCO, PUEBLA, MEXICO

Jesús Martínez-Vázquez[1]✉, María de los Ángeles Vela-Montero[2] y Rosa María González-Monroy[3]

[1]Laboratorio de Mastozoología, Facultad de Ciencias Biológicas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Edificio 1BIO1, Ciudad Universitaria, Col. Jardines de San Manuel, Puebla, Puebla, México. C.P. 72570.
[1]✉jesus.martinez@correo.buap.mx , [2]vela1003@live.com , [3]rosagonzalezm@hotmail.com

ABSTRACT

The description was made of the karyotype of *Peromyscus gratus* (Cricetidae) in the municipality of Tecamachalco, Puebla. Performing the technique of bone marrow extraction, in the obtention of chromosome, G bands was used Trypsin and for C bands a Barium Hydroxide solution was employed. *P. gratus* presents a diploid number of 2n = 48 and a fundamental number of NF = 54, the autosomes correspond to one metacentric, one submetacentric, two subtelocentric and 19 pairs telocentric from large to small. The sex chromosome X was subtelocentric and the Y was submetacentric unlike other populations of the species. The chromosomal banding pattern G was obtained. As for chromosome C banding, it was found that the constitutive heterochromatin was in the centromeric regions of the chromosomes.

Key words: C-G Banding, chromosomal number, cytogenetics, karyotype.

Manuscrito recibido el 29 de mayo de 2019, aceptado el 10 de noviembre de 2019.

RESUMEN
Se realizó la descripción del cariotipo de *Peromyscus gratus* (Cricetidae) del municipio de Tecamachalco, Puebla. Realizando la técnica de extracción de médula ósea, en la obtención de bandas cromosómicas G se empleó Tripsina y para bandas C se utilizó una solución de Hidróxido de Bario. *P. gratus* presenta un número diploide de 2n=48 y un número fundamental de NF=54, los autosomas corresponden a un metacéntrico, un submetacéntrico, dos subtelocéntricos y 19 pares telocéntricos de grandes a pequeños. El cromosoma sexual X fue subtelocéntrico y el Y fue submetacéntrico a diferencia de otras poblaciones de la especie. Se obtuvo el patrón de bandeo cromosómico G. En cuanto al bandeo cromosómico C se encontró que la heterocromatina constitutiva se situó en las regiones centroméricas de los cromosomas.
Palabras clave: Bandas C y G, cariotipo, citogenética, número cromosómico.

INTRODUCCIÓN
Con la ayuda de la citogenética se han obtenido análisis cromosómicos en los cuales se han observado variantes en los cromosomas de algunos géneros de roedores, este grupo de mamíferos se ha utilizado con mayor frecuencia en la investigación debido a su grado de evolución adaptativa y especiación, además de sus características biológicas (Santos y Hortelano, 1997).

El género *Peromyscus* (Cricetidae) se divide en grupos de especies, el grupo *P. truei* está conformado por seis especies entre los cuales se encuentra *Peromyscus gratus* (Durish et al., 2004).

Peromyscus gratus Merriam, 1898, es un roedor de tamaño pequeño, nativo de Estados Unidos y México, abunda en todo su intervalo de distribución y no enfrenta problemas de conservación (Ceballos y Oliva, 2005; Ceballos, 2014; Lacher et al., 2016).

Existen estudios previos para poblaciones de *P. gratus* de Coahuila en donde se reportó un número diploide de 2n=48 y un número fundamental de NF=54, con dos pares de autosomas bibraqueados de medianos a grandes, dos pares de autosomas bibraqueados pequeños y 19 pares de autosomas acrocéntricos; el cromosoma sexual X fue subtelocéntrico grande (Lee et al., 1972).

En especímenes de *P. truei* de Durango y Chihuahua se obtuvo un 2n=48, un NF=54, con dos pares de cromosomas bibraqueados de grandes a medianos, dos pares de autosomas bibraqueados pequeños y 19 pares fueron acrocéntricos (Zimmerman et al., 1975). En todas las poblaciones anteriormente descritas los autosomas fueron similares en morfología. Los cariotipos diferentes en la misma población cuestionaron su unidad como especie (Zimmerman et al., 1978), posteriormente se reconocieron como *P. gratus* (Modi y Lee, 1984).

En un estudio realizado en Nuevo México se reportó un cariotipo con morfología similar en los cromosomas para *P. gratus* un 2n=48, con un NF=54, con cuatro pares bibraqueados y 19 pares de autosomas acrocéntricos. El cromosoma sexual X fue submetacéntrico grande y el Y fue metacéntrico pequeño. En el patrón de bandas cromosómicas G se observa que los autosomas grandes presentaron de 10 a 13 bandas, en los medianos de tres a ocho bandas y en los autosomas pequeños de tres a cuatro bandas; el patrón de bandas G para el brazo corto de los cromosomas sexuales X y Y presentan tres bandas. En cuanto al patrón de bandas cromosómicas C, la heterocromatina se localizó en el centrómero de todos los autosomas (Hsu y Arrighi, 1968; Modi y Lee, 1984). El objetivo del presente estudio fue describir el número diploide (2n), el número fundamental (NF) y la morfología cromosómica del par sexual, así como el patrón de bandas cromosómicas G y C del roedor *P. gratus* de Tecamachalco, Puebla.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se capturaron cuatro ejemplares, dos machos y dos hembras en el municipio de Tecamachalco del estado de Puebla. Los organismos se trasladaron al laboratorio de Mastozoología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Se utilizó la técnica de extracción de médula ósea y se obtuvo el material celular (Lee, 1969; Baker y Qumsiyeh, 1988). Se elaboraron las laminillas extendiendo el material celular con ayuda de aire comprimido y de fuego (Baker et al., 2003; Arsham et al., 2017), después de observar e identificar los mejores campos cromosómicos. Se tomaron fotografías a 20 metafases mitóticas, utilizando un microscopio óptico de la marca Leica DM 1000 LED equipado con cámara digital de la marca Jenoptik y el software GRYPHAX. Para realizar el análisis cromosómico se midieron los brazos de los cromosomas de 20 metafases usando un vernier digital marca Mitutoyo con precisión de 0.01 mm. Las medidas realizadas permitieron conocer la morfología de los cromosomas.

Para la construcción del cariotipo los cromosomas se ordenaron siguiendo la nomenclatura propuesta por Levan et al., (1964). Se agruparon conforme a su morfología, ordenándose de acuerdo con su longitud decreciente describiendo de esta manera las constantes cromosómicas (2n y NF).

Para el bandeo cromosómico G las laminillas se dejaron envejecer cinco días, posteriormente se colocaron en una estufa a 65°C durante 14 horas, después de ello se les aplicó un tratamiento en solución Tripsina a 0.025% durante 70 segundos y se tiñeron en colorante Giemsa al 2% (Seabright, 1971; Sumner, 1990; Arsham et al., 2017).

El bandeo cromosómico C se realizó envejeciendo las laminillas durante cinco días, posteriormente se trataron de 60 a 80 segundos en Hidróxido de Bario a 45°C, inmediatamente se sumergieron en HCl 0.2N, se colocaron en cámaras húmedas y se incubaron a 65 °C durante 16 horas. Las preparaciones se tiñeron con Giemsa al 4% preparada en amortiguador de fosfato de sodio pH 7.0 (Sumner, 1972).

RESULTADOS

Para describir el cariotipo convencional de *P. gratus* del municipio de Tecamachalco, Puebla, se obtuvieron 55 laminillas analizándose un total de 414 campos mitóticos en metafase (Fig. 1).

Los análisis indican que *P. gratus* presenta un número cromosómico diploide de 2n=48 y un número fundamental de NF=54, el complemento autosómico está constituido por cuatro pares de cromosomas bibraqueados, el primer par de autosomas fue metacéntrico pequeño, el segundo corresponde a submetacéntrico pequeño, el tercero y cuarto par de autosomas fueron subtelocéntricos grandes y 19 pares unibraqueados o telocéntricos de grandes a pequeños. El cromosoma sexual X fue subtelocéntrico y el Y fue submetacéntrico pequeño (Fig. 2).

El patrón de bandas cromosómicas G de *P. gratus* muestra que los cromosomas grandes presentan en total entre 7 a 12 bandas de eucromatina claras (con ADN rico en Guanina-Citocina) y oscuras (con ADN rico en Adenina-Timina), en los autosomas medianos tienen un intervalo de cuatro a seis bandas de eucromatina claras y oscuras, y los autosomas pequeños presentan en total entre una a tres bandas de eucromatina claras y oscuras (Fig. 3).

Respecto al patrón de bandas cromosómicas C se observó que la heterocromatina constitutiva se distribuye en las regiones centroméricas de los cromosomas (Fig. 4).

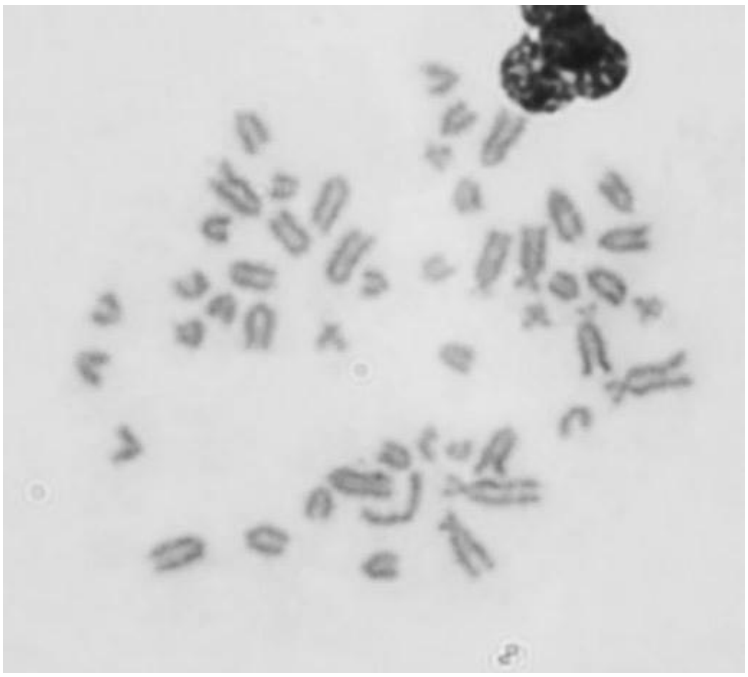

Fig. 1. Metafase mitótica (100X) del roedor *P. gratus* (hembra) 2n = 48 y NF=54 de Tecamachalco, Puebla.

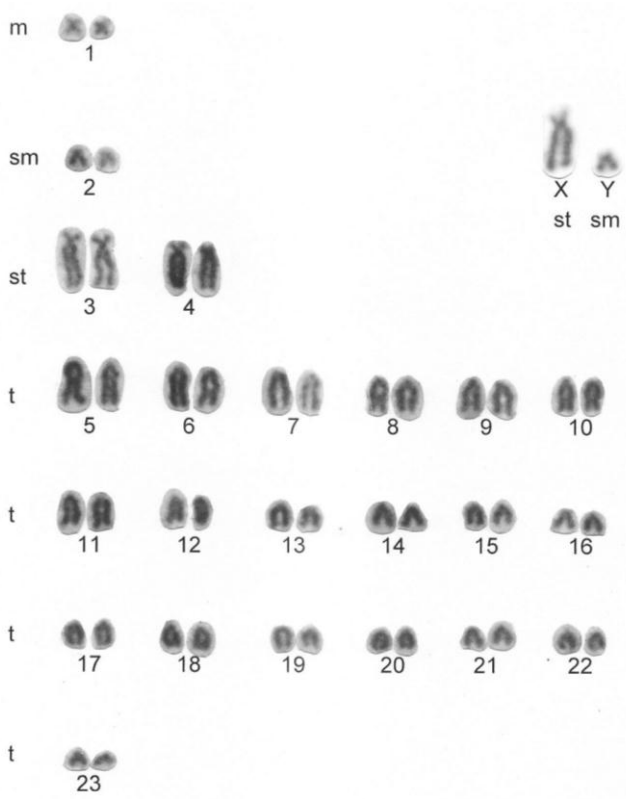

Fig. 2. Cariotipo de ejemplar macho de *P. gratus* 2n = 48 y NF= 54 de Tecamachalco, Puebla.

Fig. 3. Metafase mitótica (100X) con bandas cromosómicas G de *P. gratus* (hembra) de Tecamachalco, Puebla. Las flechas indican bandas oscuras de eucromatina.

Fig. 4. Metafase mitótica (100X) con bandas cromosómicas C de *P. gratus* (hembra) de Tecamachalco, Puebla. Las flechas indican heterocromatina constitutiva en la región centromérica.

Tabla 1. Comparación cariotípica entre las poblaciones de *P. gratus*. 2n=número diploide, NF=número fundamental, m=metacéntrico, sm=submetacéntrico, st=subtelocéntrico, t=telocéntrico, X=cromosoma sexual X, Y= cromosoma sexual Y.

Taxa	Lugar	2n	NF	Bibraqueados	m	sm	st	t	X	Y	Referencia
Peromyscus gratus	Nuevo México	48	54	4				19			Hsu y Arrighi (1968)
Peromyscus gratus	Coahuila	48	54	4				19	st		Lee et al. (1972)
Peromyscus gratus	Chihuahua, Durango	48	54	4				19			Zimmerman (1975)
Peromyscus gratus	Nuevo México	48	54	4				19	sm	m	Modi y Lee (1984)
Peromyscus gratus	Puebla	48	54	4	1	1	2	19	st	sm	Presente estudio

DISCUSIÓN

El cariotipo del ratón *P. gratus* del municipio de Tecamachalco, Puebla, tiene un número diploide de 2n=48 que se presenta de manera constante en las especies del género *Peromyscus* (Robbins y Baker, 1981). En el presente estudio se obtuvo un número fundamental de NF=54, que corresponden a cuatro pares de autosomas bibraqueados y 19 pares de autosomas unibraqueados (telocéntricos) los cuales son similares con lo reportado para las poblaciones de *P. gratus* de Coahuila (Lee et al., 1972), Chihuahua, Durango (Zimmerman et al., 1975) y Nuevo México (Hsu y Arrighi, 1968; Modi y Lee, 1984).

Aunque no se especifica la morfología de los autosomas bibraqueados en otros estudios, se menciona que dos pares son pequeños y dos pares van de grandes a medianos, similares a lo reportado en el presente estudio, lo cual indica que *P. gratus* no presenta variación cariotípica en el 2n y NF y en la morfología del complemento autosómico; esto puede deberse a que están conectados los individuos por migración entre poblaciones o que su diversificación haya sido relativamente recientemente (Avise et al., 1979), como ocurre con el grupo *Peromyscus boylii*, en el que se ha sugerido que su distribución en México es resultado de una invasión relativamente reciente (Plioceno), proveniente del norte (posiblemente de lo que hoy es Arizona o Utah), que resultó en la ocupación de lo que actualmente es la Mesa del Norte, Mesa Central y Planicie Costera del Pacífico (López-González, 2013). Asimismo, se menciona que hubo una radiación rápida o simultánea entre los grupos de especies de *P. aztecus*, *P. boylii* y *P. truei* (Álvarez-Castañeda y González-Ruiz, 2008).

Con respecto a la morfología del par sexual de *P. gratus*, se obtuvo el cromosoma sexual X subtelocéntrico grande y el cromosoma sexual Y submetacéntrico pequeño, a diferencia de lo reportado para la población de Nuevo México donde se obtuvo el cromosoma sexual X submetacéntrico grande y el cromosoma Y metacéntrico pequeño (Tabla 1) (Hsu y Arrighi, 1968; Modi y Lee, 1984). Esto puede deberse a inversiones pericéntricas que se reconocen como polimorfismo en los cromosomas sexuales, debido a que las poblaciones se encuentran aisladas geográficamente. En algunas especies de primates y en roedores del género *Ctenomys* se han

observado numerosos cambios cromosómicos intraespecíficos que se conservan como polimorfismos y que parecen no tener consecuencias que provoquen aislamiento reproductivo (García et al., 1979; Ponsá et al., 1995; García et al., 2000), por tanto, esto puede estar ocurriendo con las poblaciones de *P. gratus*, ya que fue la única variación cariotípica observada, comparando poblaciones de Estados Unidos y México.

Respecto al patrón de bandas cromosómicas G, en *P. gratus* de Nuevo México se reportó de 10 a 13 bandas en cromosomas grandes, de tres a ocho bandas en cromosomas medianos y de tres a cuatro bandas en cromosomas pequeños, a diferencia de *P. gratus* de Tecamachalco en donde se obtuvo en cromosomas grandes de 7 a 12 bandas, en cromosomas medianos de cuatro a seis bandas y en cromosomas pequeños de una a tres bandas de eucromatina claras y oscuras. Esta variación puede ocurrir debido a la cantidad y distribución de eucromatina que contengan los cromosomas, así como a posibles re arreglos estructurales, sin embargo, hay diversos factores como barreras geográficas o gradientes de altitud, que pueden provocar variación en el patrón de bandeo G (Cortés, 1984).

En cuanto al patrón de bandas cromosómicas C, la heterocromatina constitutiva se localizó en la región centromérica de los cromosomas de *P. gratus* de Tecamachalco Puebla, así como para las demás poblaciones de la especie; de igual manera estos mismos resultados se han reportado para las demás especies que integran el grupo *P. truei*, lo que indica que es un rasgo conservado en la evolución del grupo.

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean manifestar su agradecimiento a las autoridades municipales del municipio de Tecamachalco, Puebla, por las facilidades brindadas para la captura de los ejemplares. A la Vicerrectoría de Investigación y Estudios de Posgrado de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla por el apoyo económico otorgado para la realización del proyecto. A dos revisores anónimos por las sugerencias realizadas al manuscrito.

REFERENCIAS

1. Arsham M.S., Barch M.J., y Lawce H.J., 2017. The AGT cytogenetics laboratory manual. United States of America, Wiley-Blackwell.

2. Álvarez-Castañeda S.T. y González-Ruiz N., 2008. Análisis preliminar de las relaciones filogenéticas entre los grupos de especies del género *Peromyscus*. En: Lorenzo C., Espinoza, E. y Ortega J. (Eds.), Avances en el estudio de los mamíferos de México. Publicaciones especiales vol. II. CIB, Asociación Mexicana de Mastozoología A.C. México.

3. Avise J.C., Smith M.H. y Selander R.K., 1979. Biochemical polymorphism and systematics in the genus *Peromyscus* VII. Geographic differentiation in members of the *truei* and *maniculatus* species groups. Journal of Mammalogy, 60: 177-192. DOI: 10.2307/1379769

4. Baker R. J. y Qumsiyeh M.B., 1988. Methods in chiropteran mitotic chromosomal studies. En: Kunz T.H. (Ed), Ecological and behavioral methods for the study of bats, pp. 425-435. Washington, D.C., Smithsonian Institution Press.

5. Baker R.J., Hamilton M. y Parish D.A., 2003. Preparations of mammalian karyotypes under field conditions. Occasional Papers, Museum of Texas Tech University, 228: 1-8.

6. Ceballos G., 2014. Mammals of Mexico. United States of America, Johns Hopkins University Press.

7. Ceballos G. y Oliva G., 2005. Los mamíferos silvestres de México. México, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Fondo de Cultura Económica.

8. Cortés F., 1984. Bandeo de cromosomas. Investigación y Ciencia, 97: 20-29.

9. Durish N.D., Halcomb K.E., Kilpatrick C.W. y Bradley R.D., 2004. Molecular systematics of the *Peromyscus truei* species group. Journal of Mammalogy, 85: 1160-1169. DOI: 10.1644/BER-115.1

10. García L., Ponsá M., Egozcue J. y García M., 2000. Comparative chromosomal analysis and phylogeny in four *Ctenomys* species (Rodentia, Octodontidae). Biological Journal of the Linnean Society, 69: 103-120. DOI: 10.1111/j.1095-8312.2000.tb01671.x

11. García M., Miró R., Ponsá M. y Egozcue J., 1979. Chromosomal polymorphism and somatic segregation in *Saimiri sciureus*. Folia Primatologica, 31: 312-323.
DOI: https://doi.org/10.1159/000155894

12. Hsu T.C. y Arrighi F.E., 1968. Chromosomes of *Peromyscus* (Rodentia, Cricetidae) 1. Evolutionary trends in 20 species. Cytogenetics, 7:417-466.

13. Lacher T., Timm R. y Álvarez-Castañeda S.T., 2016. *Peromyscus gratus*. (errata version published in 2017). The IUCN Red List of Threatened Species 2016: e.T16663A115136134. http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2016-3.RLTS .T16663A22360083.en. (accesado en junio 28, 2017).

14. Lee M.R., 1969. A widely applicable technic for direct processing of bone marrow for chromosomes of vertebrates. Stain Technology, 44(3): 155-8.

15. Lee M.R., Schmidly D.J. y Huheey C.C., 1972. Chromosomal variation in certain populations of *Peromyscus boylii* and its systematic implications. Journal of Mammalogy, 53: 697-707.
DOI: 10.2307/1379208

16. Levan A., Fredga K. y Sandberg A., 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. Hereditas, 52: 201-220. DOI: 10.1111/j.1601-5223.1964.tb01953.x

17. López-González C., 2013. Mamíferos de Chihuahua y Durango II: Diversidad del género *Peromyscus* (Rodentia). Informe proyecto SIP.CIIDIR Unidad Durango. https://www.repositoriodigital.ipn.mx/bitstream/123456789/14852/1/Proyecto%20SIP%2020122_1104_Anexo.pdf (accesado en junio 28, 2017).

18. Modi W.S. y Lee M.R., 1984. Systematic implications of chromosomal banding analyses of populations of *Peromyscus truei* (Rodentia: Muridae). Proceedings of the Biological Society of Washington, 97: 716-723.

19. Ponsá M., García M., Borell A., García F., Egozcue J., Gorostiaga M.A., Delprat A. y Mudry M., 1995. Heterochromatin and cytogenetic polymorphisms in *Cebus apella* (Cebidae, Platyrrhini). American Journal of Primatology, 37: 325-331. DOI: 10.1002/ajp.1350370407

20. Robbins L.W. y Baker R.J., 1981. An assessment of the nature of chromosomal rearrangements in 18 species of *Peromyscus* (Rodentia: Cricetidae). Cytogenetic and Genome Research, 31: 194-202. DOI: 10.1159/000131649

21. Santos M.J.A. y Hortelano Y., 1997. La variación en mamíferos: una revisión de los enfoques metodológicos actuales. Acta Zoológica Mexicana, Nueva Serie, 70: 13-34.

22. Seabright M.A., 1971. A rapid banding technique for human chromosomes. Lancet, 2:971-972. DOI: 10.1016/S0140-6736(71)90287-X

23. Sumner A.T., 1972. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. Experimental Cell Research, 75:304–306. Doi: 10.1016/0014-4827(72)90558-7

24. Sumner A.T., 1990. Chromosome banding. London, Unwin Hyman Ltd.

25. Zimmerman E.G., Hart B.J. y Kilpatrick C.W., 1975. Biochemical genetics of the *truei* and *boylii* groups of the genus *Peromyscus* (Rodentia). Comparative Biochemistry and Physiology, 52: 541-545. DOI: 10.1016/0305-0491(75)90234-5

26. Zimmerman E.G., Kilpatrick C.W. y Hart B.J., 1978. The genetics of speciation in the rodent genus *Peromyscus*. Evolution, 32: 565-579. DOI: 10.1111/j.1558-5646.1978.tb04599.x

BIOCYT Biología, Ciencia y Tecnología, se encuentra actualmente indexada en

alojada en los repositorios

y en bases electrónicas de bibliotecas