

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESTUDIOS CITOGENETICOS EN Peromyscus truei
DEL PEDREGAL DE SAN ANGEL

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

B I O L O G O

P R E S E N T A

VIVIANE SOLIS WOLFOWITZ

MEXICO, D. F.

1972



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

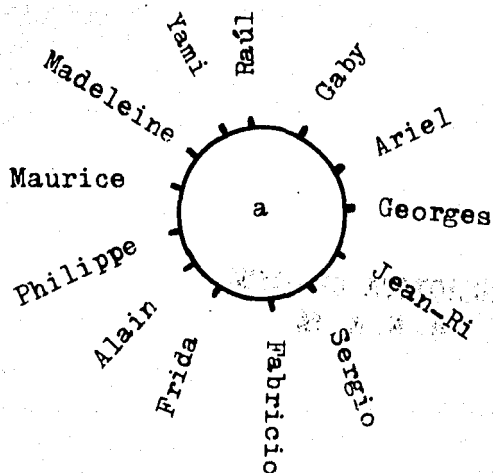
DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

A mis padres: Danielle y Alberto

a Granny



y a mis amigos

A mis recordados compañeros y amigos desaparecidos

JUAN ANTONIO CRUZ CORDERO

WILFREDO ISMAEL BOSCH SOSA

a **Benny**

AGRADECIMIENTOS

Quisiera expresar mis más sinceros agradecimientos

- al Dr. Alfredo Laguarda Figueras por la dirección de la tesis.
 - al Dr. Jorge Paulete Vanrell por el estímulo y ayuda que me brindó, especialmente al inicio de este trabajo.
 - a los profesores
 - M. en C. Rodolfo Félix Estrada
 - Dr. Teófilo Herrera Suárez
 - M. en C. José Ramírez Pulido
 - Dr. Benny Weiss Steider
- por su colaboración y consejos en la revisión de esta tesis.
- al Dr. Agustín Ayala Castañares, Director del Instituto de Biología de la U. N. A. M., por haberme permitido -- desarrollar este trabajo en el Laboratorio de Genética Animal de ese Instituto.
 - al personal del Laboratorio de Mastozoología, especialmente al Biólogo Cornelio Sánchez Hernández por su ayuda en la identificación del material biológico utilizado.
 - a la Sra. Ariel W. de Cojuc por su valiosa colaboración.
 - a Jorge Romero Jarero por su amistosa ayuda en la realización técnica de la tesis.

INDICE

INTRODUCCION	1
MATERIALES Y METODOS	7
RESULTADOS	23
DISCUSION	
A - Autosomas	27
B - Cromosomas Sexuales	38
Sobre la colocación taxo- nómica del grupo	45
CONCLUSIONES	48
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	52

INTRODUCCION

La citogenética es una rama de la biología relativamente reciente, híbrido histórico de la citología y de la genética, que habiéndose desarrollado por separado, se fusionaron a través de aquellos aspectos que ambas disciplinas comparten, en la teoría cromosómica de la herencia emitida por Sutton y Boveri en 1902-1903.

En México, la investigación citogenética de los mamíferos de la fauna mexicana ha sido, a la fecha, muy poco desarrollada; los estudios que se han llevado a cabo no se han hecho de manera sistemática, y los trabajos existentes sobre especies mexicanas han sido realizados, prácticamente en su totalidad, por investigadores o instituciones de otros países.

En lo que se refiere a roedores, los conocimientos y referencias que se podrían consultar son aún más escasos, ya que los estudios llevados a cabo en la República - - - Mexicana, se han hecho principalmente sobre especies o poblaciones cuya distribución empieza fuera de las fronteras de nuestro país específicamente en EE.UU. y se prolonga hacia el Sur dentro de nuestro territorio.

Como ejemplo de esto, tenemos los trabajos publicados desde hace varios años por Arakaki y Sparkes (1965), Shaw (1966), Ohno (1966), Kreizinger y Shaw (1970) y principalmente por Hsu y Arrighi (1966, 1967, 1968).

La importancia de tales estudios está íntimamente ligada con la evolución, ya que se analizan las características de poblaciones que por su amplia distribución geográfica -- permiten estudiar los diferentes procesos de aislamiento y especiación.

Las investigaciones citogenéticas ayudan a complementar los estudios de diversa índole --morfológicos, ecológicos, etc.-- que son indispensables para establecer la ubicación taxonómica de las especies, subespecies o poblaciones que las representan. El análisis de los complementos cromosómicos que caracterizan a las poblaciones que integran una especie, y las relaciones intraespecíficas entre éstas, ya sean poblaciones o subespecies alopátricas de áreas diversas, así como el estudio de dichos complementos en entidades interespecíficas, simpátricas o alopátricas, permite establecer, en ciertos casos, relaciones entre los complementos cromosómicos analizados y la posición tanto geográfica como de parentesco entre los taxa estudiados.

Lo anterior abre la posibilidad de interpretar los mecanismos involucrados en la variación de la estructura cromosómica de las poblaciones desde el punto de vista de la especiación y por lo tanto de la evolución.

Tales argumentos establecen dos hechos:

- 1) El complemento cromosómico puede variar dentro de las diversas poblaciones que componen una especie.

2) Dicho complemento puede ser el mismo en distintas especies.

No obstante, esto no invalida el hecho de que, en general, tanto el número como la morfología cromosómicos representan características constantes de las especies.

Las investigaciones realizadas al respecto muestran diversos ejemplos de polimorfismo cromosómico que se presentan entre especies diferentes que son afines, e incluso entre diversas poblaciones dentro de la misma especie.

De hecho, cualquier fenómeno que afecte los arreglos cromosómicos es importante (Ernst Mayr, 1969) y los fenómenos como el polimorfismo intraespecífico constituyen pasos evolutivos importantes, que en ocasiones conducen a las poblaciones hacia un aislamiento definitivo expresado posteriormente en el polimorfismo interespecífico, lo que se conoce y se ha definido como uno de los principales mecanismos de especiación.

Así, el estudio a nivel citogenético de las especies de roedores de México, en las diversas áreas en las que se encuentran distribuidos, permite establecer la relación entre sus complementos cromosómicos y sus respectivos grados de aislamiento y especiación.

La citogenética representa por lo tanto una indiscutible ayuda en la clasificación y colocación taxonómica adecuada de los organismos que, especialmente en los roedores,

tiende a hacerse únicamente en base a un criterio morfológico que no siempre es exacto.

Cross (1931-1938) fué el primero en hacer este tipo de investigaciones citogenéticas en el género Peromyscus y, -- desde entonces, han seguido apareciendo trabajos diversos -- que plantean problemas precisamente en este grupo. Se ha visto en poblaciones de Peromyscus de Estados Unidos (Hsu, 1968) que representantes de la misma especie, en áreas cercanas, aislados ecológicamente, presentan cariotipos muy diferentes entre sí, no sólo en el número de autosomas birrámeos es decir, metacéntricos, submetacéntricos o subtelocéntricos, sino en la configuración misma de los heterocromosomas, especialmente el cromosoma Y. De la misma manera se ha podido observar el fenómeno contrario, en que al analizar individuos de especies alopátricas y no muy relacionadas se pusieron de manifiesto grandes similitudes, especialmente con las técnicas citogenéticas.

Se sabe que los Rodentia están en plena evolución -- (Hsu, 1968), lo que las observaciones citogenéticas confirman, ya que especies de géneros bien establecidos y equilibrados como los antropoides por ejemplo, presentan muy poca variación cromosómica entre ellos (descartándose las variaciones anormales); en cambio, especies en plena evolución -- presentan una gran variabilidad cromosómica y es posible observar que individuos de la misma especie taxonómica muestran, a la luz de un examen citogenético, un panorama sor--

pendiente por la diferencia entre lo que se esperaba encontrar y lo que en realidad se observa.

El objeto del presente trabajo es el estudio citogenético, interpretación y análisis de ejemplares representantes de la población de Peromyscus truei (Cricetidae - - - - Rodentia) del Pedregal de San Angel; se emite un método de comparación basado en cálculos estadísticos para grupos muy similares y se comparan los resultados obtenidos con los -- que sobre esta especie se tienen en Estados Unidos con el fin de aportar un argumento más a los ya existentes referente a la revisión taxonómica del grupo.

Esta investigación se realizó en el Laboratorio de Genética Animal del Instituto de Biología de la U.N.A.M., como parte del programa que se está iniciando sobre el estudio citogenético de los roedores del Valle de México. Las razones que justificaron la elección de esta especie son varias:

- 1) Su estudio aporta nuevos hallazgos al vasto programa iniciado por Hsu y colaboradores en el estudio citogenético de las diferentes especies de roedores y constituye un eslabón de variabilidad que puede ser utilizado como base de comparación para estudios posteriores.

- 2) Se estimuló la investigación en este grupo al observarse fenómenos interesantes en meiosis.

3) El material de estudio estaba a la mano ya que el área de trapeo se encuentra incluida en terrenos de la -- Universidad Nacional Autónoma de México y era factible realizar trapeos en la época favorable.

De cualquier manera, se necesita obtener y analizar material procedente de toda la zona de distribución de esta -- especie, antes de poder aportar una solución adecuada a los problemas que plantea este grupo, a saber, especiación y -- clasificación. Sólo al tener resultados completos consti--tuidos por cariotipos comparables de individuos clasifica--dos en la misma especie y distribuidos desde el Noroeste de EE.UU. hasta la parte central de Oaxaca y mediante experi--mentos complementarios, se podrá decidir si las diferencias que encontremos entre los mismos se deben al proceso de es--peciación tan dinámico en este grupo, o bien si las observa--ciones morfológicas en las que se basa la clasificación de éstos no son suficientes para la correcta ubicación de los mismos; en tal caso será necesario cambiar de taxón a las -- poblaciones que así lo ameriten.

. o . o . o .

MATERIALES Y METODOS

El trabajo se divide en cinco diferentes etapas:

- 1) Trampeo para la obtención de los animales.
- 2) Procesamiento de los mismos y preparación del material de estudio.
- 3) Fotografía.
- 4) Cariotipos e idiograma.
- 5) Método de comparación estadística.

1) Se utilizaron aproximadamente treinta trampas de tipo Havahart que se colocaban en el Jardín Botánico exterior de la UNAM, situado en el Pedregal de San Angel, D. F.

Los trampeos se efectuaron durante 1971, lográndose capturar a diez animales de la especie en estudio (P.truei) cuatro hembras y seis machos que fueron posteriormente identificados en el Laboratorio de Mastozoología del Instituto de Biología. Los ejemplares se mantuvieron en la granja -- del Instituto para ser utilizados en los meses subsiguientes a la captura.

2) Para procesar a los animales, se les inyectó primero, por vía intramuscular, una solución en agua destilada de colchicina al 0.04% a razón de 1 ml. por cada 100 g. de peso corporal. El tiempo óptimo para la acción de la colchicina es de dos horas y media.

Después de ese lapso, se sacrifica al animal. En total, se procesaron cuatro hembras y cuatro machos, ya que dos de los machos murieron. Todos eran adultos y aparentemente en buena salud.

Muy a menudo, se hacen cultivos de tejidos, generalmente pulmonares para observar mitosis pero se dió preferencia al material fresco, constituido por células procedentes del bazo, testículo y de la médula ósea (fémures).

La técnica utilizada es la siguiente:

El bazo se fragmenta, se le agrega medio TC 199 -- (Difco Labs., Detroit, Mich., U.S.A.) pipeteándose la mezcla hasta obtener una suspensión homogénea.

La médula se extrae cortando las epífisis de los fémures e inyectando medio TC 199 en la cavidad medular. El producto se suspende hasta lograr que quede homogéneo.

En los testículos, se retira la túnica albugínea y se trituran suavemente los túbulos. En este caso se agrega solución acuosa de citrato de sodio al 2.2% y se pipetea -- hasta obtener una suspensión homogénea.

Se centrifugan todas las suspensiones, a 800 RPM, -- durante 10 minutos, se retira el sobrenadante, se resuspende, se agrega agua bidestilada y después de 10 minutos de -- mantenerlas a 37°C, se centrifugan de nuevo a 600 RPM, durante un lapso de 10 minutos.

El objeto de la centrifugación es la separación de las células contenidas en el medio de suspensión con la finalidad de:

- a) hacerlas reventar al pasarlas a solución hipotónica dejando los núcleos libres.
- b) extraer el agua de esa solución antes de agregar el fijador.

Después de la segunda centrifugación, se añade una solución fijadora compuesta por tres partes de metanol por una parte de ácido acético dejándose en reposo durante 24 horas en el refrigerador.

Pasado este lapso, se hace un cambio de fijador, se centrifuga a 1000 RPM durante 10 minutos y se procede a elaborar las preparaciones, dejando caer varias gotas de la suspensión de células sobre las láminas muy frías que a continuación se flamean.

El siguiente paso consiste en hidrolizar la muestra para romper los puentes de hidrógeno que existen entre las bases púricas y pirimídicas de los ácidos nucleicos con lo que los cromosomas quedan aptos para que el colorante pueda actuar sobre ellos.

Se pasan las láminas a una solución de HCl, 1N y se dejan hidrolizar durante 5 minutos en baño maría, a una temperatura comprendida entre 56° y 60°C.

Después de lavar muy bien las láminas, se procede a teñirlas con solución Giemsa.

Finalmente, se montan las preparaciones con Diaphan.

La dificultad principal de la técnica estribó en la escasa cantidad de material disponible ya que los animales son en general de tamaño muy reducido.

Una vez listas las preparaciones, se revisaron y se marcaron los campos buenos con England Finder.

3) Los campos seleccionados fueron fotografiados con un Fotomicroscopio Carl Zeiss, utilizando un ocular de 10 X los objetivos Neofluar 100/1.30 y Optovar 1.25X. Se tomaron las fotografías con filtro de interferencia utilizando película Kodak High Contrast HC.135-136 Panchromatic 6.3 -- ASA, 9 DIN. La intensidad de luz se regula automáticamente. Se utilizó revelador D11 y fijador Kodak Fixer. Para impresión de los positivos se utilizó Dektol Kodak, fijador Rapid Fixer y papel Kodabromide F4 y F5.

4) De las fotografías amplificadas se seleccionaron -- las diez mejores, porque es en este caso el número óptimo -- en la relación trabajo-estadística, cinco procedentes de macho y cinco procedentes de hembra. Con éstas se montaron -- diez cariotipos, haciéndose las mediciones correspondientes: los cromosomas se midieron marcándolos con una rueda dentada Gestetner RPS5.

A partir de las mediciones, se obtuvo el promedio -- de las longitudes relativas de los brazos de los cromosomas en los diferentes cariotipos, construyéndose con esos datos el idiograma de la especie en estudio (P. truei gratus).

Los cromosomas recortados y medidos, dispuestos por parejas de homólogos, se clasificaron según su morfología y tamaño.

Se utilizó básicamente el sistema estándar de nomenclatura propuesto en la Conferencia de Denver en 1960.

La clasificación de los cromosomas se basa en tres parámetros:

a) la "longitud relativa" (LR) de cada cromosoma -- con respecto a la longitud total de un conjunto haploide normal que contenga un X, es decir en este caso, -- la suma de las longitudes de los 23 autosomas y del cromosoma X expresada en unidades por mil:

$$LR = \frac{P + Q}{23 \text{ autos.} + X} \times 1000$$

b) la longitud del brazo más largo (Q) relativamente al brazo más corto (P), comunmente llamada -- "Arm Ratio" (AR):

$$AR = \frac{Q}{P}$$

c) el "índice centromérico" (IC) expresado como la razón de la longitud del brazo más corto a la longitud total del cromosoma, por 100:

$$IC = \frac{P}{P + Q} \times 100 \quad \text{ó} \quad \frac{100}{1 + AR}$$

La variación existente en las medidas puede deberse a que los cromosomas están en diferentes fases de la mitosis, o bien durante diferentes etapas de la metafase; es decir, en la prometafase los cromosomas están en un estado de mayor alargamiento, mientras que al final de la metafase la contracción ya llega a su límite (John y Lewis, 1968). Además, hay que tomar en cuenta la reacción individual de los animales a la colchicina, que causa diversos grados de contracción. De cualquier manera, puesto que en cada cariotipo las medidas son relativas a la longitud total del conjunto, a pesar de las diferencias que puedan encontrarse en longitud real, en la longitud relativa las diferencias son poco notables.

El cálculo de la longitud total del complemento se hace midiendo todos los cromosomas y luego tomando el promedio de cada par de cromosomas homólogos como la medida de ese cromosoma particular.

Si dos pares de cromosomas tienen una longitud muy semejante, el que queda en la clasificación como mayor es el que tiene asimismo un índice centromérico mayor.

La forma antigua de cariotipar y hacer el idiograma se basa en la longitud total del cromosoma, pero más recientemente (Hsu, 1952; Tijó y Levan, 1956; Chu, 1960) se ha -- puesto mayor énfasis en la posición del centrómero para la caracterización de los cromosomas ya que éste es muy cons-- tante en su posición relativa en el cromosoma.

Así pues, se ha propuesto, según la posición del -- centrómero, la clasificación siguiente (según Levan, Fredga, Sandberg, 1964):

	IC	Arm Ratio
M centrómero en el punto medio	0.0	1.0 ⁻
m centrómero en la región media	0.0 - 2.5 ⁻	1.0-1.7 ⁻
sm centrómero en la región submedia	2.5 - 5.0 ⁻	1.7-3.0 ⁻
st centrómero en la región subterminal	5.0 - 7.5 ⁻	3.0-7.0 ⁻
t centrómero en la región terminal	7.5 - 10.0 ⁻	7.0-∞
T centrómero en el punto terminal	10.0	∞

(donde - representa que el intervalo de valores es abierto)

Los cromosomas se identifican según estas caracte-- rísticas, denominándose cromosomas con centrómeros medios, subterminales, terminales, o más fácilmente cromosomas M, - m, sm, st, t, T respectivamente, lo que corresponde también a la clasificación más popularizada, aunque no tan precisa - de los cromosomas en:

metacéntricos: con el centrómero en la región me-- dia o en el punto medio (White, 1954);

BIBLIOTECA CENTRAL

M. A. M.

submetacéntricos: con el centrómero en posición --
submedia;

subtelocéntricos: con el centrómero en posición --
subterminal;

acrocéntricos: con el centrómero en posición termi
nal, y

telocéntricos: con el centrómero en el punto termi
nal. Al respecto existe cierta controversia semántica cuan-
do se dice que el centrómero está en el punto terminal ya -
que según varios autores (Navashin, 1916; Lewitsky, 1931; -
Darlington, 1936; Rhoades, 1940; White, 1954) siempre está
presente el segundo brazo, aunque su tamaño sea menor al lí
mite de resolución del microscopio, de tal manera que en vez
de cromosomas telocéntricos sólo se considerarían cromoso-
mas acrocéntricos.

En el presente estudio, donde en un gran número de
pares no se puede apreciar el supuesto segundo brazo, se de
nomina a dichos cromosomas unirrameados "acrocéntricos".

Así como existe confusión en la nomenclatura de los
cromosomas T que se clasifican en este trabajo como acrocén-
tricos, también existen discusiones sobre los cromosomas M
y m. Se han propuesto diferentes nombres para los tipos de
configuración cromosómica mencionados, desde simétricos por
diferenciación con asimétricos, isobraquiales y heterobra-
quiales, mediocéntricos, en forma de V y de J, esto último
para los cromosomas en anafase, lo cual causa aún más confu

sión, ya que la mayoría de los citogenetistas estudian únicamente los cromosomas metafásicos y una descripción así no se presta con comodidad para todos los casos. El término más empleado es el de metacéntrico (White, 1954) y es el que se utilizará aquí para describir a los cromosomas M y m; igualmente se utilizará submetacéntrico para los cromosomas sm y subtelocéntrico para los cromosomas st.

Resumiendo:

M y m	metacéntrico	} atelocéntricos
sm	submetacéntrico	
st	subtelocéntrico	
t	acrocéntrico	
T	telocéntrico	

Levan et al. (1964) recomiendan que, especialmente en roedores, se simplifique esta división incluyendo a los grupos sm y st en un solo grupo smst.

Para la presentación de un cariotipo, se sugieren diferentes formas, pero la más adecuada, según parece, es la que consiste en arreglar a los cromosomas primero en -- grupos de "Arm Ratio" iguales y una vez clasificados en esta forma, ordenarlos en función de longitud decreciente -- (Al-Aish, 1969).

Idiograma: Se calculó la longitud relativa de cada par de cromosomas aplicando la fórmula mencionada en los párrafos anteriores. Luego se obtuvo el promedio de la lon

gitud relativa de cada par en los diez cariotipos y la medida así obtenida es la que se propone como medida de cada -- par de autosomas en el idiograma.

Para los cuatro pares de autosomas y los cromosomas sexuales que presentan dos brazos se calculó el "Arm Ratio" determinándose después el índice centromérico. Estas dos -- últimas medidas permitieron establecer, según la clasificación de Levan et al. antes mencionada, si se trataba de cromosomas st, sm ó m y colocar de manera adecuada en el idiograma el centrómero de cada cromosoma.

5) A partir de las medidas obtenidas, se calculó el -- primer momento estadístico definido por $\bar{x} \equiv \frac{1}{n} \sum_{i=1}^h x_i f_i$ y el segundo momento estadístico definido por $\sigma \equiv \frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^h (x_i - \bar{x})^2 f_i$, donde:

$\bar{x}$ es el promedio de la medición

σ es la varianza

x_i es el valor de la i ésima medición

h es el número de mediciones

f_i es la probabilidad absoluta de cada medición

n es la suma de las probabilidades absolutas

En este estudio se le dió la misma probabilidad absoluta a cada una de las mediciones, lo que implica $f_i = 1$ y $h = n$, ya que $n = \sum_{i=1}^h f_i = \sum_{i=1}^n 1 = h$ quedando:

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i \quad . \quad \sigma = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2$$

La varianza (σ) da una idea de la variación de las medidas, con respecto al promedio ($\bar{x}$), pero en ocasiones, -- se desea expresar esta variación con las mismas unidades -- que las medidas (x_i) definiéndose para ello la desviación -- estándar de la media como

$$SEM = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}$$

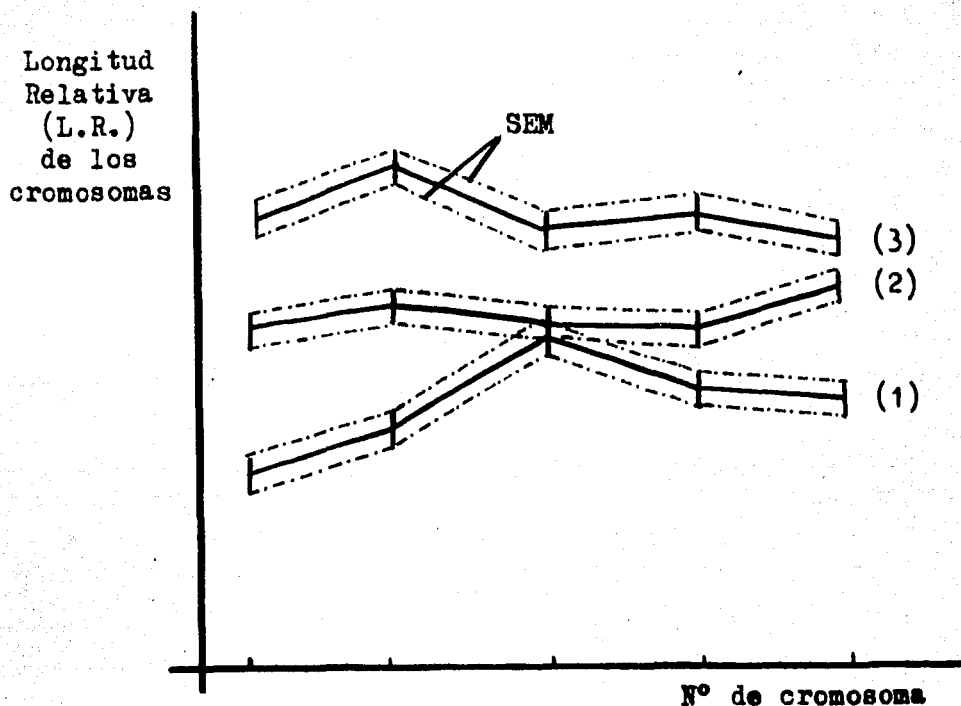
Los resultados del cálculo de SEM para los cromosomas birrámeos se encuentran en la Tabla N°1.

Para que los valores de SEM tengan algún significado práctico se tendrían que efectuar las mismas mediciones en grupos afines con el objeto de ver si las desviaciones -- estándar nos dan alguna información, por ejemplo de diferenciación de grupos por medio del estudio de cariotipos.

Una forma gráfica de representar la posibilidad de utilizar las medidas de SEM como índice de diferenciación -- entre individuos de la misma especie se encuentra ilustrado en la Gráfica N°1.

Supongamos que la curva N°1 represente a la especie ya estudiada (como en el caso de la Gráfica N°2), con los -- valores de SEM representados por las curvas punteadas. Sean las curvas 2 y 3 dos posibles representaciones de especies diferentes pero afines que se deseen comparar.

GRAFICA N° 1



La curva N°2 invalidaría este método de comparación ya que las curvas de SEM se cruzan, lo que significaría que el SEM es muy grande.

Sin embargo, la curva N°3 sería un ejemplo en el -- que el método de comparación expuesto tendría valor como un método más de diferenciación entre grupos cuyos cariotipos sean muy similares; en tal caso, las limitaciones de este método de comparación estarían dadas por la magnitud del SEM independientemente de cuan similares sean los ejemplares -- comparados.

TABLA N°1

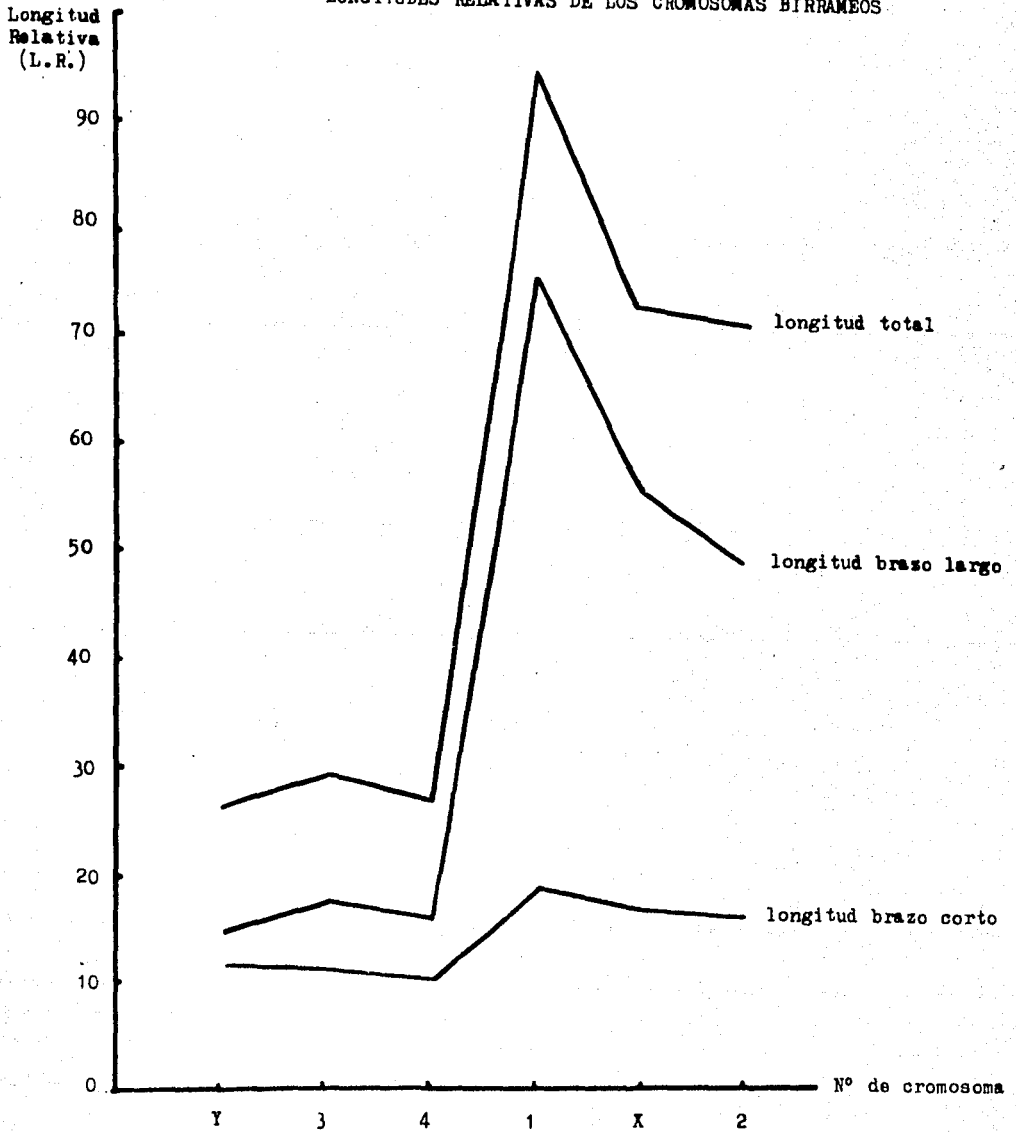
Valores de las mediciones sobre las cuales se basa el sistema estándar de nomenclatura de Denver.

<u>Número de Cromosoma</u>	<u>Long. Relat.</u>	<u>Arm Ratio</u>	<u>Indice Centromérico</u>	<u>S.E.M.*</u>	<u>Clasificación</u>
1.	94.52	3.97	20.2	0.27	st
2.	70.39	3.35	23.4	0.24	st
3.	29.11	1.54	39.8	0.04	m
4.	27.26	1.47	40.8	0.10	m
5.	65.21				
6.	60.53				
7.	56.10				
8.	50.23				
9.	46.12				
10.	43.31				
11.	40.31				
12.	38.06				
13.	35.52				
14.	33.15				
15.	31.54				
16.	30.18				
17.	29.11				
18.	27.97				
19.	26.80				
20.	25.78				
21.	24.24				
22.	22.40				
23.	19.40				
X.	72.75	3.36	23.0	0.16	st
Y.	26.39	1.23	44.4	0.07	m

★ SEM = error estándar de la media.

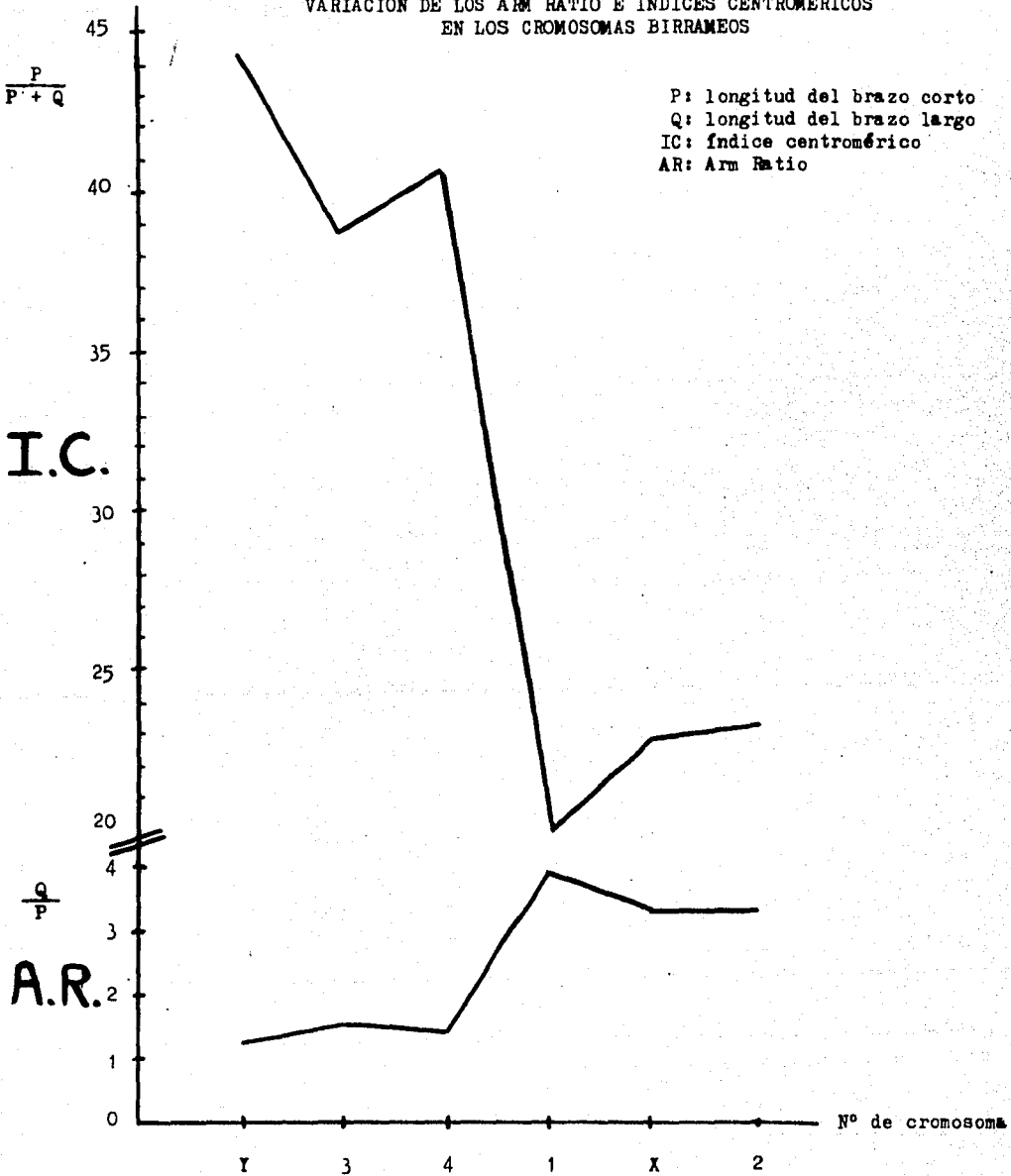
GRAFICA Nº2

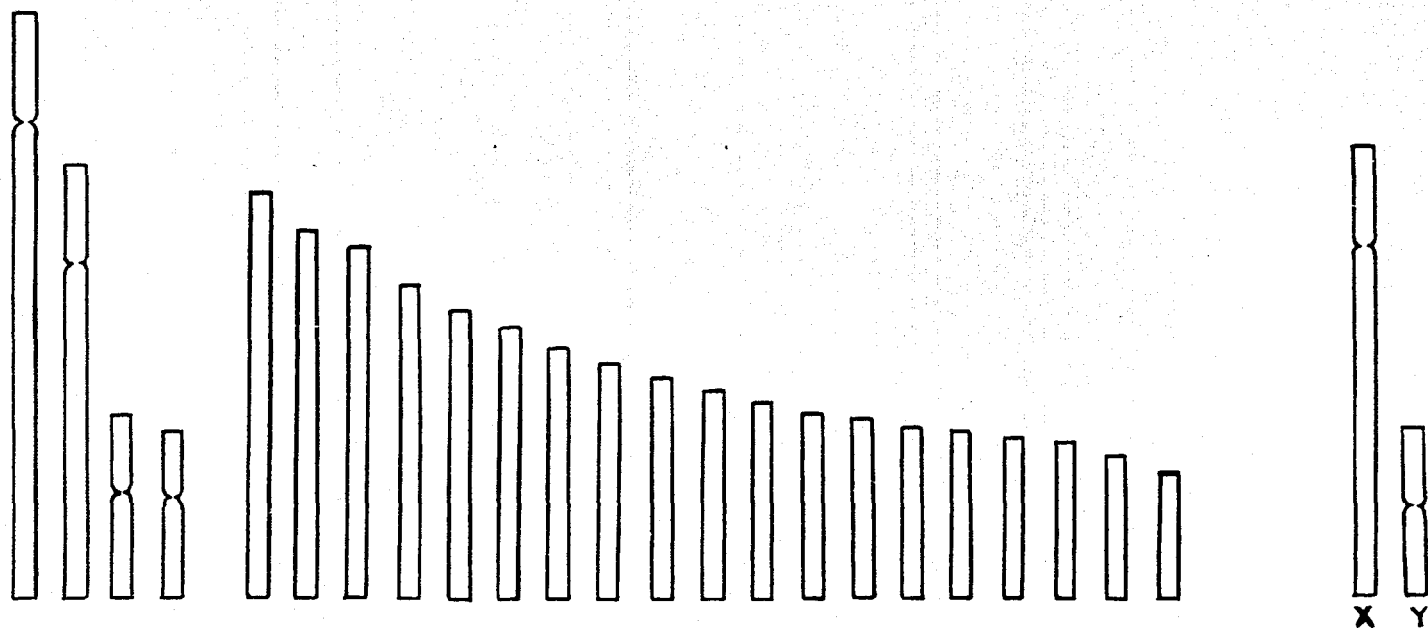
LONGITUDES RELATIVAS DE LOS CROMOSOMAS BIRRAEMEOS



GRAFICA N°3

VARIACION DE LOS ARM RATIO E INDICES CENTROMERICOS
EN LOS CROMOSOMAS BIRRAEMEOS





IDIOGRAMA de P. truei (gratus)

RESULTADOS

El número diplóide de cromosomas en la especie es de 48 que corresponde al número que invariablemente se ha encontrado en el género Peromyscus (Sparkes y Arakaki, 1966; Ohno et al., 1966; Hsu y Arrighi, 1966; Singh y McMillan, 1966; Patton y Hsu, 1967).

Ahora, en los campos microscópicos que se revisaron, el número de cromosomas no fué siempre 48, sino que éste fué el número encontrado en casi todos los casos.

Varias veces, sin embargo, se encontraron campos con más de 48 cromosomas, debido probablemente a cromosomas supernumerarios procedentes de otro núcleo mitótico cercano. En algunos casos, esta explicación no es válida, ya que no se encontraba cerca ningún otro núcleo.

Se desconoce la causa que da origen a estas células aneuploides en un organismo que, en otros núcleos de la misma preparación, presenta el número esperado, considerándose a las células con cromosomas supernumerarios como células a típicas.

En los casos en que el número de cromosomas contados fué menor de 48, se atribuyó el hecho a pérdidas de cromosomas durante el procesamiento del material.

El número fundamental en la especie es igual a 28, dependiendo la diferenciación sexual del patrón XX:hembra y XY:macho.



En el cariotipo determinado de Peromyscus truei, se encontraron 23 pares de autosomas entre los que están presentes dos pares de subtelocéntricos (st) y dos pares de metacéntricos (m). Los dos pares de cromosomas subtelocéntricos son los pares de mayor longitud de todo el cariotipo. Les siguen en tamaño 12 autosomas acrocéntricos; el décimotercer par de acrocéntricos tiene la misma longitud relativa en promedio que el primer par de metacéntricos. Después se tiene otro par de acrocéntricos y a continuación el segundo par de metacéntricos. Los otros pares de cromosomas que siguen a éste, en orden de tamaño, es decir, los cinco pares más pequeños, también son acrocéntricos.

Los cromosomas se numeraron de la siguiente manera: - Pares 1 y 2: subtelocéntricos; pares 3 y 4: metacéntricos; par 5: cromosomas sexuales; pares 6 al 24: acrocéntricos.

Los cromosomas sexuales son diferentes entre sí. Los cromosomas X son subtelocéntricos y muy largos ya que su tamaño es mayor que el del segundo par de autosomas subtelocéntricos, aunque bastante menor que el del primer par. Ocupan en promedio el 72.75% del complemento haploide, mientras que el par más largo de subtelocéntricos ocupa el 94.52% y el tercer par ocupa el 70.39%.

En cambio, el cromosoma Y es un metacéntrico muy pequeño, ya que ocupa el 26.39% del complemento haploide; su tamaño es, por consiguiente, comparable al del segundo par de

autosomas metacéntricos que tienen una longitud equivalente a 27.26% del genoma, lo que involucra ciertas dificultades en la diferenciación de estos últimos. Sólo por medición precisa fué posible identificar al cromosoma Y ya que su morfología y su tamaño son muy similares a los del segundo par de metacéntricos.

En el cariotipo es más difícil escoger al par XX de la hembra que al XY del macho, pues en este último el X es impar; en las hembras se diferenció por tamaño comparándolo con el que tiene en el macho. El X en el macho es el cromosoma intermedio en tamaño entre los dos subtelocéntricos de terminándose el par XX en la hembra con base en dicha comparación. El idiograma obtenido se encuentra gráficamente expresado en hojas subsiguientes así como los datos de LR, AR e IC (ver Tabla N°1) que sirvieron para construirlo.

El análisis de cariotipos basado en cromosomas somáticos en metafase es generalmente suficiente para establecer las variaciones numéricas y gruesas dentro de una especie - pero es difícil que se esclarezca así la naturaleza exacta de esos cambios. Con el estudio del comportamiento de los cromosomas en meiosis se pueden identificar cambios como inversiones, translocaciones u otros procesos característicos. En el presente trabajo se hicieron algunas observaciones solamente en las fases meióticas principales de la profase (en preparaciones de testículo ya que no se contaba con fetos - de hembras) pudiéndose comprobar que, durante el paquíteno, el material cromático (DNA) de los autosomas se dispone for

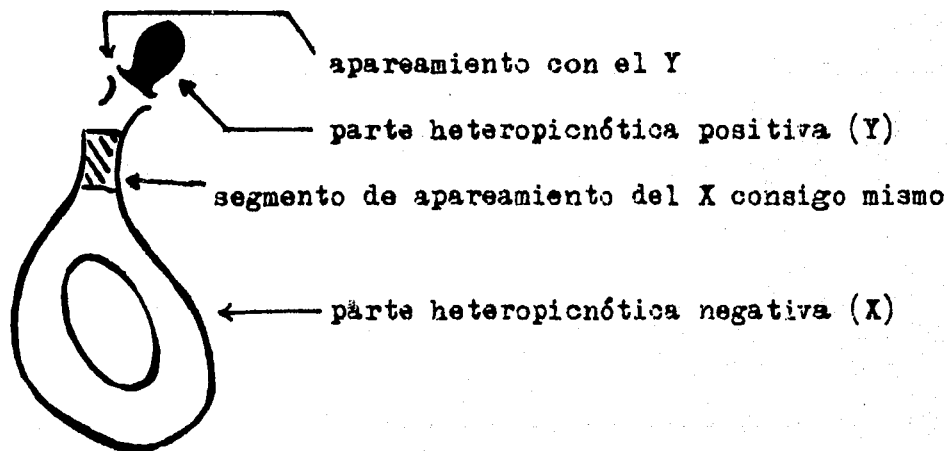
mando 23 grupos bivalentes en paralelo. Los heterocromosomas adquieren una disposición particular que fundamentalmente puede clasificarse en las siguientes variedades:

1) Sinápsis término-terminal dando un complejo XY en tándem, lo cual sugiere que los segmentos homólogos son cortos.

2) Presencia de un anillo, interpretada como cromosoma X dispuesto en anillo.

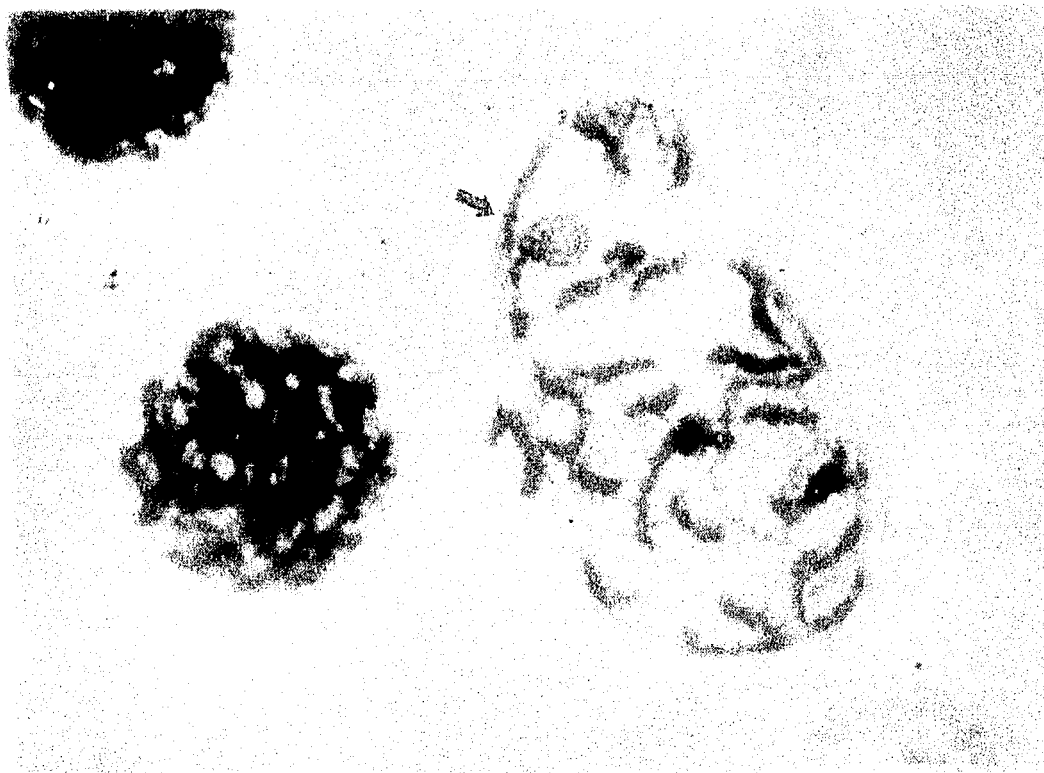
3) Presencia de una vesícula o cromosoma X dispuesto en vesícula.

En todos los casos observados, el cromosoma X presenta heteropiconosis negativa en tanto que el cromosoma Y posee un alto grado de heteropiconosis positiva.





2 y 3 : MEIOSIS MOSTRANDO LOS ANILLOS HETEROPICNOTICOS



DISCUSION

A - Autosomas

Con base en el cariotipo característico de la especie P.truei (gratus) del Pedragal de San Angel, obtenido en -- los resultados, se pudieron hacer ciertas comparaciones -- con individuos identificados también como P.truei en otras áreas de distribución, encontrándose como dato más sobresaliente un polimorfismo marcado dentro de la especie, lo -- cual concuerda con los resultados obtenidos por Hsu (1968). El polimorfismo tan notable que se encuentra en la especie puede atribuirse a varias causas.

Existen varias explicaciones con base en teorías diversas:

1) Después de que aparece una aberración cromosómica puede establecerse y expandirse en una población panmíctica al entrecruzarse individuos normales con individuos que poseen ese carácter heterocigoto. Posteriormente el entrecruzamiento entre heterocigotos puede producir un polimorfismo cromosómico y en este tipo de casos se pueden observar en la población tres características:

- a) individuos con el cariotipo homocigótico original.
- b) individuos heterocigóticos, con la aberración -- adquirida y la configuración original.

c) individuos homocigóticos para el carácter nuevo.

Como resultado de los entrecruzamientos pueden -- existir otros tipos de heterocigóticos ocasionados por diferencias en la segregación meiótica. (Ford e Hirschhorn, 1962).

En caso que este cambio de estructura cromosómica represente un valor adaptativo más alto para los individuos de la población, se transmitirá a través de las generaciones concediendo cierta ventaja a los que la posean y así se irá difundiendo en el área.

Este tipo de polimorfismo es el paso anterior a la evolución del cariotipo que acompaña la especiación, pero no hay que confundir este proceso con otro en que poblaciones alopátricas y cromosómicamente distintas aparecen en -- una misma especie y en que esa aparición posterior representa una etapa mucho más tardía de la especiación.

2) Otra teoría muy conocida, especialmente para la explicación evolutiva de polimorfismo en mamíferos, se define generalmente como proceso Robertsoniano (Robertson, -- 1916) y se refiere al cambio en la morfología y número de cromosomas sin que cambie el número fundamental, esto mediante la llamada "fusión céntrica" o fusión de dos cromosomas acrocéntricos para formar un metacéntrico. En todos los ejemplos estudiados que presentan este fenómeno, se ha observado que siempre se ven involucrados en el proceso --

cromosomas no homólogos y que no hay problema de desbalance somático. Si se presenta fusión céntrica entre homólogos en tejido gonadal, se daría lugar a complementos desbalanceados y se seleccionaría negativamente (Swanson, 1967). Así como se postula la fusión céntrica, también se puede encontrar fisión céntrica, es decir el fenómeno contrario, que consistiría en la fragmentación de un cromosoma birrameo para producir dos cromosomas unirrameados o acrocéntricos que funcionen independientemente.

Pero, así como en la fusión céntrica no necesariamente se pierde un centrómero como se ha propuesto a veces, puesto que muy bien puede haber rompimiento del diminuto segundo brazo y se pueden fusionar los dos centrómeros, hipótesis apoyada por observaciones de casos en los que el centrómero es mucho más largo (John y Hewitt, 1966), en la fisión, necesariamente el centrómero queda bastante reducido, en el mejor de los casos a la mitad. Como el centrómero es la porción localizada responsable del movimiento cromosómico hacia los polos en el momento de la división, si el rompimiento no produce dos porciones centroméricas exactamente iguales, es probable que el más pequeño no tenga ya la suficiente fuerza para arrastrar al cromosoma hacia el polo correspondiente, y esto causaría problema, especialmente en meiosis, al no poderse terminalizar los quiasmas intersticiales ya que los telocéntricos se moverían hacia los mismos polos que un homólogo normal durante la disyunción.

3) Otra hipótesis recientemente expuesta por Jackson (1971), explica la aparición de cariotipos con un número mayor o menor que el número diploide original y genéticamente balanceados si existen dos condiciones preliminares:

a) que la heterocromatina esté localizada en las regiones céntricas y en los telómeros de los cromosomas y que parte de ella pueda perderse, por su naturaleza repetitiva, sin acarrear consecuencias para el individuo.

b) que la ocurrencia de intercambios espontáneos en las regiones heterocromáticas sea frecuente.

Según este modelo, se generarán centrómeros enteros adicionales a medida que el número de grupos de encañamiento se incrementa en un genoma balanceado, mientras que en otro decrece. Según como actúe en estos nuevos individuos la selección natural, es como se conservarán o eliminarán los homocigotos obtenidos sobre todo si existen cruza.

4) En fin, el polimorfismo intraespecífico puede explicarse por diferentes aberraciones cromosómicas como

a) transposiciones, las cuales no cambian la secuencia génica y se pueden observar, cuando son transposiciones céntricas, en meiosis, porque la sinapsis no es normal durante el paquíteno.

b) translocaciones, cuyo resultado puede presentar

se en cromosomas de brazos iguales o muy desiguales dependiendo de cómo se efectuaron los rompimientos simultáneos en los dos cromosomas no pareados (homólogos o no).

Será fácil detectar una translocación por los métodos clásicos si los brazos resultan muy desiguales, pero muy difícil si éstos aparecen esencialmente iguales.

c) inversiones, que implican dos rompimientos en un cromosoma y una vuelta de 180° de esa porción por lo que la secuencia génica queda invertida. Este fenómeno puede no ser visible por los métodos usuales de estudio de cariotipos, sean las inversiones pericéntricas o paracéntricas. Sólo en el caso de inversiones pericéntricas con porciones diferentes de cada lado del centrómero, es como se pueden detectar puesto que el arm ratio se verá consecuentemente modificado.

Si se muestrea durante alguno de los procesos antes mencionados, lo más probable es que se recolecten individuos con diferentes características cromosómicas y -- que el polimorfismo expresado se pueda explicar así.

En P.truei, se ha visto cómo individuos de la misma especie y de áreas no muy alejadas presentan diferencias citológicas drásticas. Hsu y Arrighi, en un trabajo publicado en 1968, muestran los cariotipos de individuos P.truei recolectados en Nuevo México, Utah y California:

ninguno de ellos se parece al otro, los cromosomas birrámeos varían de cinco a diez pares y la morfología de los cromosomas sexuales es en cada caso diferente. Además, resulta que estos cariotipos presentan semejanzas marcadas con cariotipos de individuos de otras especies afines. -- Por ejemplo, el P.truei de Nuevo Mexico tiene un cariotipo indistinguible del P.californicus, excepto por el cromosoma Y que en este último es muy grande y metacéntrico; y el P.truei recolectado en California se asemeja considerablemente, desde el punto de vista citológico, al P.gossypinus.

Por otro lado, Hoffmeister (1951) con base en características morfológicas y anatómicas, encontró resultados similares a los que acabamos de citar.

Al intentarse otros medios de resolución del problema, se hicieron (Petersen, 1968) patrones electroforéticos en proteínas del suero de la sangre de 18 especies de Peromyscus que se asume deberían caracterizar a los individuos por especies, teóricamente ratificando la clasificación taxonómica de Osgood (1909) y se encontraron varias diferencias, por ejemplo, en el caso de P.truei, se vió que su patrón electroforético era parecido al de P.difficilis.

Ahora, al compararse el cariotipo de P.truei del Pedregal con otros cariotipos de Peromyscus, se encontró que presenta muchas semejanzas con el individuo de la misma especie recolectado en Nuevo México, tanto en la morfología de los autosomas como en la de los heterocromosomas.

El problema es que no existen datos de zonas intermedias entre el Distrito Federal y los Estados Unidos ya que de otra manera se podría saber cómo va variando genéticamente la especie según su distribución.

Para saber a ciencia cierta, se necesitan experimentos especialmente interespecíficos, o bien intraespecíficos en las zonas de transición, después de establecidas éstas. Esto nos podría dar además una idea de la evolución de la especie en el tiempo y en el espacio.

Desde luego, las deducciones de tipo evolutivo, considerando cariotipos, sólo se pueden realizar a nivel específico y entre especies relacionadas o afines, ya que los cambios a nivel genérico son demasiado grandes y generalmente no nos indican nada definitivo.

Generalmente, los citólogos analizan los cromosomas de animales y plantas para reconstruir el proceso evolutivo mediante los resultados de la evolución. Sin embargo, todo parece indicar que en este caso nos encontramos no ante el resultado, sino ante el proceso mismo de la evolución y especiación del género.

Las deficiencias, translocaciones, inversiones y todos los cambios o aberraciones cromosómicas que se pueden llegar a presentar y conservar en la historia de una especie, a menudo, pero no siempre, están relacionadas con cambios fenotípicos en el organismo (Nadler, 1968). En efecto, los cromosomas pueden no cambiar paralelamente con otros caracteres.

Si estas variaciones pueden detectarse, el genetista tiene a su alcance una herramienta valiosa para la identificación de los cromosomas individuales. Así se ha hecho con el hombre y sería interesante poderlo hacer con Peromyscus para posibilitar el mapeo, el análisis de relaciones interespecíficas, de las estructuras de población y la dinámica de las mismas para la interpretación evolutiva de los cambios que ocurren constantemente en este género - citológicamente tan complejo.

En los estudios que se han hecho a la fecha, se ha observado que en la evolución de la mayoría de los mamíferos, los procesos Robertsonianos predominan, pero en este género al contrario no se ha podido encontrar evidencia de evolución cromosómica de este tipo; por lo tanto se considera que aquí no se presenta. Esto constituye un fenómeno original en mamíferos ya que los cambios no Robertsonianos son casi exclusivos de este género. Las otras teorías antes expuestas podrían arrojar alguna luz sobre el problema y considerándolas en conjunto, parece ser que lo más probable es que la variación cromosómica se explique en este caso por inversiones pericéntricas y translocaciones recíprocas.

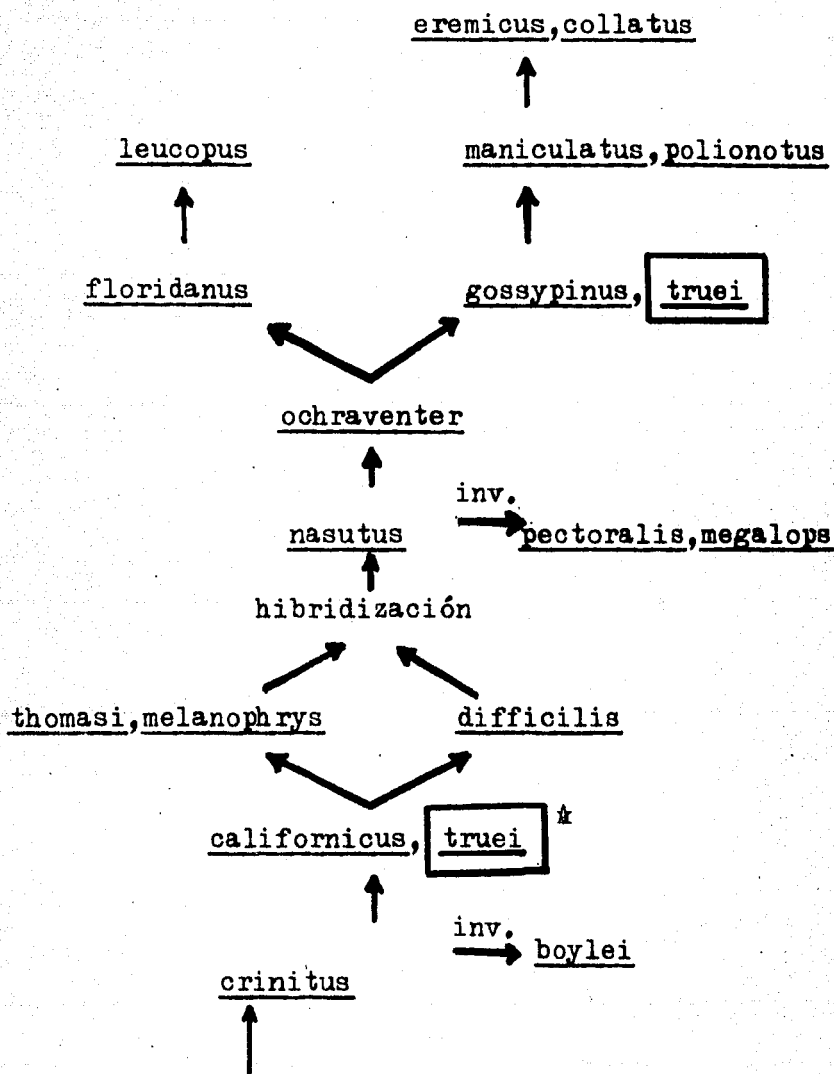
A pesar de la enorme variabilidad inter e intraespecífica no ha habido pérdida o ganancia en el número de centrómeros en las 19 especies analizadas a la fecha por Hsu y Arrighi.

Robertson (1916) no atribuyó personalmente mayor importancia al proceso de fusión que al de fisión al emitir su hipótesis. Sin embargo, la mayoría de los citólogos están de acuerdo en que es más probable que dos acrocéntricos se fusionen para integrar un cromosoma metacéntrico -- que el que se fisione un metacéntrico para formar dos acrocéntricos. Según este punto de vista se tendrá que considerar que los cariotipos con más acrocéntricos son más primitivos que los que tienen un número diploide reducido de cromosomas pero con mayor número de elementos birrámeos. Sin embargo, en el caso de Peromyscus donde, como ya se -- mencionó, no ha habido pérdida o ganancia de centrómeros, cualquiera de las dos formas podría considerarse como más primitiva; así que, a priori, y siguiendo a Hsu se considerará los cariotipos con mayor número de acrocéntricos como más primitivos.

En el esquema de la relaciones filogenéticas en las -- diferentes especies de Peromyscus, propuesto por Hsu y -- Arrighi, que a continuación se expone, se puede observar -- que la especie P.truei tiene dos colocaciones diferentes.

El esquema está fundamentado en las variaciones presentes en el número de metacéntricos los P.truei de las diferentes localidades. El P.truei de este estudio según -- los resultados ya expuestos, quedaría colocado junto con el P.californicus, es decir, entre los cariotipos más primitivos, y esto es lógico ya que posee tan solo cuatro pares -- de cromosomas birrámeos en un cariotipo de 23 pares.

ESQUEMA



★ Esta especie P.truei es la que por su cariotipo está --
 más cercana a P.truei gratus del Pedregal.

Hay que señalar que el que una especie posea un cariotipo más primitivo no significa obligatoriamente que la especie sea más primitiva ya que puede estar más avanzada en otras características. Antes de considerar a una especie más o menos evolucionada que otra, se necesita un análisis de la suma de las características que se juzgue conveniente considerar, sin prejuicios sobre los términos "primitivo" que se apliquen. Lo que es contradictorio aquí es cómo la misma especie se encuentra dos veces en el esquema filogenético, una vez en un estadio de cariotipo primitivo y otra en que ya se dieron cinco pasos evolutivos y hasta parece que hubo hibridización. Esto es incompatible puesto que es muy improbable que se hayan presentado dos secuencias idénticas de cambios o aberraciones cromosómicos, una, a través de especiación en varios pasos consecutivos, es decir, atravesando varias especies, y otra dentro de la especie misma, o sea evolución interespecífica e intraespecífica, que den el mismo resultado. Es más lógico pensar -- que los datos y características morfológicos en los que se basa la clasificación no fueron lo suficientemente distintivos y que la clasificación sistemática de P. truei comprende diferentes especies.

Con base en estas dudas y controversias parece muy adecuada la sugestión de varios autores, especialmente Hsu, que proponen que se revise la clasificación general del género. Cuando esto se haga es seguro que se cambiará de nombre a los P. truei.

Si se cambia de nombre al P.truei de cariotipo más -- primitivo, el P.truei del Pedregal cambiará también de nombre. Si se cambia de nombre a los ejemplares de cariotipo más evolucionado, el P.truei gratus del Pedregal se seguirá identificando en el mismo nombre. No importa, en realidad cual sea el nombre final bajo el cual quede la especie del Pedregal ya que su lugar en el esquema filogenético no varía pero sí habrá que mantenerse informado al respecto -- para cambiar los registros taxonómicos en caso necesario.

Para resolver adecuadamente el problema taxonómico se han propuesto experimentos de cruza y retrocruza, otros sistemas de clasificación basados en métodos distintos a -- los hasta ahora utilizados y recolección en vastas áreas -- de distribución de los animales para tener eslabones de variabilidad e índice de comparación.

B - Cromosomas Sexuales

El cromosoma X es aquí un cromosoma grande y subtelo--céntrico. Tal parece que en Peromyscus este cromosoma ha sido birrameado durante mucho tiempo puesto que en todas -- las especies hasta ahora estudiadas todos los cromosomas X son birrámeos. El origen de cromosomas X y Y grandes es -- obscuro. Wurster et al., 1968, sugieren que provengan de la translocación de heterocromatina autosomal o duplica---ción del tipo original, más frecuentemente encontradas en el cromosoma X.

El cromosoma Y, por el contrario, presenta una enorme variabilidad en tamaño y morfología no sólo a través del género sino de las especies alopátricas. Se sabe que el cromosoma Y en los mamíferos es el que lleva todos los genes necesarios para las características del macho. Sin embargo, en varias especies ya estudiadas como ciertas especies de la familia Sciuridae (Nadler, 1964, 1966) y algunas especies de muciélagos (Baker, 1967; Baker and Patton, 1967) e inclusive el hombre, se ha observado que el cromosoma Y es muy pequeño, lo cual nos hace suponer que las características necesarias para el macho se pueden concentrar en un espacio diminuto (Hsu y Arrighi, 1968). Si lo anterior es cierto y se aplica al género Peromyscus, esto implicaría que los cromosomas Y grandes adquirieron material genético extra por repetidas translocaciones y que este "exceso de material cromosómico" no es necesario para el desarrollo sexual o somático del animal, ni tampoco homólogo de los genes del cromosoma X. Como se sabe que el cromosoma Y está inactivado en células somáticas, esta cromatina extra también debe estar inactivada y esto muy bien puede representar uno de los tantos mecanismos, hasta ahora poco conocidos, por los que una especie adquiere y acumula material genético de reserva.

En casos de necesaria adaptación a nuevas condiciones, este material podría recuperar su actividad por retranslocación a los autosomas pero durante el tiempo que

no se necesita, estando en reserva, no corre el riesgo de ocasionar cambios, metabólicos u otros, indeseables en el organismo actualmente adaptado. Los genes inactivados por heterocromatización no son funcionales en el mantenimiento metabólico y por lo tanto son libres de efectuar cualquier tipo de mutación sin "gasto" para el organismo. De cualquier manera, es probable que la heterocromatización sea inducida genéticamente así que, por la misma razón, este fenómeno puede ser reversible y en el momento de la reversión las mutaciones acumuladas pueden permitir al organismo explorar nuevos métodos adaptativos.

Ahora bien, se puede suponer de la misma manera que el incremento en el tamaño del cromosoma Y no se deba a translocaciones por parte de los autosomas, sino a un aumento real en la cantidad de cromatina, que se podría comprobar con análisis autorradiográficos de la cantidad de DNA relativa en diferentes cromosomas Y.

En P. truei gratus analizado aquí se observó que el cromosoma Y es muy pequeño, así como sugieren las hipótesis antes mencionadas que fué el cromosoma Y original. Esto concuerda con el hecho de que el cariotipo de esta población esté considerado entre los cariotipos primitivos puesto que no hay cambios muy marcados.

En cuanto al cromosoma X, generalmente es grande aunque no el más grande del complemento. Sin embargo, al efectuar estudios para investigar el origen y comportamien-

to de los cromosomas sexuales siguiendo técnicas autorra--
diográficas (Wolf et al., 1965; Galton et al., 1965) se ob--
servó que en cada caso, de las especies que presentan un --
cromosoma X grande, todo el cromosoma excepto un segmento
equivalente al 5% del complemento haploide, es decir la --
porción supuestamente original, sufre replicación tardía.
Esto nos indicaría que la porción de acoplamiento y real--
mente portadora de las características sexuales primordia--
les se encuentra en un segmento del X bastante pequeño en
comparación con el tamaño de todo el cromosoma pero compa--
rable al tamaño del Y original. Esta porción del cromoso--
ma X es la que presumiblemente se une al homólogo Y duran--
te la meiosis y no así el resto del cromosoma, por lo que
se puede asumir que también en cierta medida existe dentro
del cromosoma X material quizás de reserva no directamente
relacionado con la determinación sexual. El cromosoma X --
de este estudio concuerda por su tamaño con todos los re--
sultados hasta ahora obtenidos en la especie.

El comportamiento de los heterocromosomas que forman
anillos o vesículas durante el paquíteno constituye un re--
sultado sorprendente en esta especie, ya que no se había --
descrito antes en este tipo de animales. Podría pensarse
que se tratara de un efecto secundario de la técnica o del
estado del animal, aunque es improbable, ya que se observó
este fenómeno en todos los casos estudiados; se ha visto a
demás que existen descripciones de vesículas sexuales simi

lares a las que se encontraron y en las mismas condiciones, en Macaca y otros monos en donde se les da el nombre de "vesícula sexual" (Egozcue, Chiarelli y Sarti-Chiarelli, 1968). Lo que se puede uno preguntar es porqué se presenta este fenómeno, qué es lo que induce a los cromosomas sexuales a comportarse en esa manera tan diferente de los autosomas.

Los segmentos de cromosomas o cromosomas enteros que se desvían del euciclo o ciclo normal de contracción, se llaman alocíclicos. Estos pueden estar condensados en mayor o menor grado que los segmentos eucíclicos en un momento dado y su grado de condensación indica si se van a terminar poco (heteropiconosis negativa) o mucho (heteropiconosis positiva). A los segmentos alocíclicos se les llama más generalmente heterocromatina.

Brown (1966) distingue dos tipos de heterocromatina: constitutiva y facultativa. La constitutiva es aquella en la que los cromosomas homólogos, uno paterno y el otro materno, responden de la misma manera en el proceso de desarrollo. En cambio la facultativa es aquella en la que existe una diferencia en el comportamiento de los cromosomas homólogos durante el desarrollo así que uno se comporta parcial o totalmente heterocromático mientras que el otro permanece eucromático. La distribución de heterocromatina en el genoma varía con las especies y en los grupos filéticos se pueden reconocer distintas tendencias - - - (Kurabayashi, Lewis, Raven, 1962). La heterocromatización

implica inactivación genética y puede provocar varios fenómenos: por ejemplo la recolocación de genes de segmentos eucromáticos a una nueva posición adyacente a segmentos heterocromáticos afecta el funcionamiento normal de estos genes, y si genes normalmente localizados en heterocromatina se pasan a regiones eucromáticas, su función también se ve afectada (Baker, 1953; Hannah, 1951).

Es claro, por lo anteriormente expuesto, que la heteropiconosis que se observa aquí es facultativa puesto que se vió en los resultados que existe una diferencia en el comportamiento de los homólogos y que a eso se debe la replicación tardía de estos cromosomas o sea su alociclismo. Para intentar resolver el problema que plantea la aparición de este tipo de fenómeno aquí, se emite la hipótesis siguiente:

Aparte del ahorro de energía que supone la inactivación metabólica, puede tratarse de un proceso de preservación del material sexual. Los segmentos de apareamiento sufrirían entrecruzamiento, y no así el resto del cromosoma X que se enrollaría y compactaría para no perder material que no utiliza de momento. Quizás también pueda presentarse entrecruzamiento del X consigo mismo. Es decir, con replicación tardía y al quedar una vesícula o anillo compacto durante el paquíteno, el material específicamente sexual no corre el riesgo de mezclarse, de sufrir translocaciones con autosomas o de perder algo de su información genética.

En el cariotipo de esta especie el "exceso de material cromosómico" constituido por cromatina no funcional del cromosoma Y no es grande. En cambio en el X sí hay mucho material ya que su tamaño es tres veces mayor que el del Y y la cantidad de heterocromatina representada por los anillos y vesículas aloclíclicos observados es bastante grande. Con este sistema de preservación del material sexual, es claro que sí se conserva íntegra la cromatina ya integrada a los heterocromosomas. Sin embargo, ante tal "barrera" no sería nada fácil que aumentara esta cantidad.

Esto implicaría ventajas obvias en el presente de la especie, que está actualmente equilibrada y adaptada por lo que no necesita cambios para sobrevivir pero disminuiría sus posibilidades adaptativas para el futuro, ya que si recordamos lo dicho anteriormente, se pueden necesitar, en cierto momento, de translocaciones, ya sea de autosomas a heterocromosomas o al contrario.

Quizás ante necesidades de supervivencia, por cambios muy drásticos, se observe que esta configuración especial no aparezca, y se puedan efectuar los intercambios que hagan que la especie se adapte nuevamente. Esto constituiría una prueba en favor de la hipótesis emitida más arriba, -- que en este momento no está comprobada.

Al estudiar más de cerca la selección natural relacionada con lo anterior, es como se puede llegar a conclusiones válidas sobre el valor real adaptativo que ha signifi-

cado para este grupo el adoptar tales medidas de comportamiento cromosómico.

También se podría dilucidar con esto si el aumento -- del tamaño del Y observado en la evolución del género se -- debe a translocaciones o a un aumento de cromatina puesto que, si se forma una vesícula o anillo y no se puede inter cambiar material con los autosomas, es seguro que existe o tro mecanismo investigable.

Después de haber analizado los resultados obtenidos, se ha pensado que éstos constituyen un aporte más en favor de la revisión taxonómica del grupo ya propuesta por va---rios autores.

La meta última de la taxonomía no es la de idear un -- sistema de clasificación estática sino de interpretar la e volución en sus pasos consecutivos.

Hasta ahora, se habían ideado varias formas de clasificación del género Peromyscus:

- 1) por características externas, como pelaje y cola, y craneales (Osgood, 1909).
- 2) por características fállicas y musculatura (Hooper y Musser, 1964).
- 3) por cariotipos (Hsu et al., 1966).
- 4) por patrones electroforéticos del suero sanguíneo (Petersen, 1968).

La primera es la más comunmente utilizada y el más antiguo criterio de clasificación. Como se puede ver, esta clasificación es muy antigua aunque bastante atinada ya -- que en general las nuevas técnicas empleadas ratifican la colocación de Osgood de los organismos. Sin embargo se es tá tratando de mejorar y complementar este método para resolver sus limitaciones y deficiencias, pero los nuevos in tentos hasta ahora realizados con nuevas técnicas no son -- aún completamente satisfactorios y todavía hay que comprobar su validez además de utilizar criterios conjuntos de -- varios métodos. A grosso modo, las clasificaciones dadas por los métodos (2), (3) y (4) concuerdan con la clasifica ción de Osgood, excepto por unas cuantas divergencias an tes mencionadas. Especialmente en el caso de P.truei, se encuentran divergencias en los otros tres métodos. En ci togenética se trató de poner en evidencia en este estudio las diferencias fundamentales entre individuos de la misma especie y similitudes inesperadas con otras especies. Ade más, con base en el esquema evolutivo propuesto por Hsu, -- se observa que es difícil que la clasificación siga igual para esta especie. El comportamiento de los cromosomas se riales durante la meiosis es otro factor más que habría -- que señalar como de interés particular y con base en todos los resultados, cambiar la clasificación. Desde luego, se ría muy incompleto el tomar únicamente en cuenta estudios car iológicos de la misma manera que lo sería el utilizar ú nicamente datos morfológicos con el mismo fin. Un car ioti

po particular debe asociarse con un complejo de caracteres circunscribiendo familia, género y especie y cuando ciertas peculiaridades como tamaño de cromosomas y número fundamental se toman en cuenta, la correspondencia de éstas - con subdivisiones taxonómicas mayores no tiene implicaciones obvias como sería por ejemplo derivarse de formas inferiores: puede indicar únicamente una estabilidad filogenética mayor de esas peculiaridades. Así pues lo ideal es - tener la mayor cantidad de datos posible aplicando diferentes criterios para poder llegar a un acuerdo lógico y científico.

De cualquier manera, con frecuencia las características cromosómicas tienen un valor adaptativo bastante menor que muchas características anatómicas y morfológicas por - lo cual resultan especialmente útiles en estudios de este tipo.

El esclarecimiento final del status taxonómico y origen de poblaciones cromosómicamente diferentes hasta ahora clasificadas bajo otro concepto como subespecie, depende - de la investigación de ejemplares en zonas de supuesta intergradación. El estudio de las zonas de contacto también deberá caracterizar el tipo de polimorfismo, heterótico u otro, teniendo en cuenta que si bien la gran similitud morfológica de taxa asociada con grandes diferencias en los cariotipos básicos sugieren que las diferencias se originan a nivel citológico por aberraciones espontáneas, la correspondencia parcial de morfología y cariotipo sólo indica cambios paralelos en la evolución.

CONCLUSIONES

Existe en los individuos de todas las especies una -- parte que los hace seres únicos y originales, ensayos más o menos exitosos nunca repetidos de la naturaleza y otra -- que los identifica con sus semejantes, cierto contenido -- que no varía en largo tiempo, cierta cantidad de informa-- ción que los asemeja a otros seres de la misma especie u o -- tros taxa mayores, y que transmitida de una generación a -- la siguiente asegura la conservación y expansión de la es-- pecie como tal.

Se considera generalmente que el número de cromosomas y la configuración de éstos en metafase, que es lo que --- constituye estructuralmente un cariotipo, es precisamente la parte que caracteriza normalmente a las especies como -- grupo. Las diferencias que hacen de cada individuo un ser único, si bien resultan rasgos más visibles fenotípicamen-- te hablando, son diferencias mucho más sutiles de observar a nivel citológico y difíciles de analizar; son las que -- conviene saber eliminar al agrupar a los individuos en ta-- xa pues constituyen un rango de variabilidad molecular que no se puede cuantiar. Precisamente la estrategia fundamen-- tal de la ciencia en el análisis de los fenómenos, consis-- te en el descubrimiento no de las variables sino de las in-- variables ya que es imposible analizar fenómeno alguno co-- mo no sea con base en las invariables conservadas en el fe-- nómeno mismo. Y puesto que es infinita la diversidad de --

los fenómenos singulares, no se puede más que tratar de encontrar las invariables, cosa extremadamente difícil cuando se trabaja con sistemas biológicos en los cuales hay -- tantas variables incuantiabiles e incontrolables. Hasta ahora, a nivel específico, se ha podido ver que las características que presentan mayor grado de invariabilidad son, precisamente, los genotipos y es por eso que constituyen una herramienta tan valiosa en el estudio de la evolución. Los mecanismos conservativos constituyen una característi--ca fundamental de los seres vivos pero su evolución depende de las imperfecciones mismas de estos mecanismos, de su flexibilidad a los cambios y capacidad de explorar nuevos campos, todo esto con variaciones que no reducen la cohe--rencia de su mecanismo de supervivencia original sino más bien que lo refuerzan en la orientación ya adoptada o bien, pero esto es más raro, que lo enriquecen con nuevas posibi--lidades de orientación. La selección actúa pues, al azar, sobre los productos de las imperfecciones de los mecanis--mos de invariabilidad pero su acción obedece a reglas rigu--rosas de las que se excluye el azar.

La estabilidad de las especies y la invariabilidad de la base química fundamental en los seres vivos se explican pues por la coherencia de los mecanismos conservativos que actuaron como guía y freno en la evolución, guardando, amplificando e integrando únicamente una fracción ínfima de las posibilidades infinitas que ofrecía la naturaleza. Si bien las mutaciones puntuales, cambios unitarios del códi--

go genético, son reversibles, toda evolución sensible como la diferenciación de dos especies afines es estadísticamente irreversible porque supone un número elevado de mutaciones independientes acumuladas en la especie y recombinadas por el flujo genético favorecido por la sexualidad.

El presente trabajo es una aportación más a los datos ya existentes sobre Peromyscus truei y, como se mencionó antes, un índice de comparación para estudios posteriores. Se presentó el cariotipo de este roedor común del Valle de México, encontrándosele gran similitud con el P. truei de Nuevo México, y se pudo observar no sólo cómo difería citogenéticamente de individuos de la misma especie recolectados en otras áreas de distribución, sino también ciertas peculiaridades relativas al comportamiento de los cromosomas sexuales en meiosis, los cuales, además de presentar heteropicnosis relacionada con allociclismo, adoptan una configuración particular cuya explicación no se comprende bien todavía; todo lo anterior pone de manifiesto no sólo la dinámica tan activa del grupo y su polimorfismo, sino también el problema de la clasificación taxonómica dentro del mismo. Se utilizó un método de comparación estadístico que permitiría teóricamente diferenciar cariotipos muy similares, lo que constituye una herramienta más para diferenciación de poblaciones. Algunos autores consideran que el estudio de la evolución a nivel cromosómico del género Peromyscus, una vez completado, podría ser un ejemplo clá-

sico y servir de modelo o guía para estudiar a otros grupos que presenten este tipo de fenómenos. Sin embargo, -- falta aún mucho por hacer: además del estudio citogenético exhaustivo de la especie a lo largo de toda el área de distribución y de la búsqueda y análisis de los híbridos y el conocimiento de la tasa diferencial de reproducción, para saber cómo actúa la selección en ellos y su balance genético, se sugieren experimentos de cruce y retrocruce de los animales recolectados en las áreas de supuesta intergradación y extensos estudios en meiosis con el fin de comprender bien el mecanismo de los cambios involucrados. Además, se considera muy importante el estudio de esta especie aplicando diferentes criterios, por ejemplo el estudio electroforético de proteínas sanguíneas así como la determinación de porcentajes de bases púricas y pirimídicas mediante técnicas autorradiográficas u otras y, en fin, la utilización de las técnicas más avanzadas en el estudio de cariotipos como la técnica muy reciente de desnaturalización, también llamada de bandeo cromosómico.

Todo esto permitirá completar un estudio del que este trabajo no es más que un eslabón y dar un sentido más amplio a los problemas de selección y evolución particulares planteados, los cuales una vez comprendidos e integrados -- serán una importante aportación en el vasto campo del estudio de la Evolución que por sí sola constituye uno de los temas más apasionantes y más discutidos de la Biología.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- AL-AISH, M.A., 1969. Human chromosome morphology. I-Studies on normal chromosome characterization, classification and karyotyping. *Can.J.Genet.Cytol.*, 11:370-381.
- ARAKAKI, D.T. y R.S. SPARKES, 1965. Cytogenetics of Peromyscus maniculatus: Chromosome polymorphism in interbred animals and P.m.rubidus. *Mamm.Chrom. Newsletter*, 18:150-151.
- BAKER, R.J., 1967. Karyotypes of bats of the family Phyllostomidae and their taxonomic implication. *Southwestern Nat.*, 12:407-428.
- BAKER, R.J. y J.L. PATTON, 1967. Karyotypes and karyotypic variation of North American Vespertilionid bats. *J.Mammal.*, 48:270-286.
- BEÇAK, W. y J. PAULETE, 1970. Técnicas de Citología e Histología. 1a. edición. Livraria Nobel, S. A. Sao Paulo, Brasil.
- BENDER, M.A. y M.A. KASTENBAUM, 1969. Statistical analysis of the normal human karyotype. *Amer.J.Human Genet.*, 21:322-351.

- BERNIRSCHKE, K., 1969. Comparative Mammalian Cytogenetics.
(An international conference at Dartmouth Medical
School in Hanover, New-Hampshire). Springer- - --
Verlag., New York, Inc.
- BROWN, S.W., 1966. Heterochromatin. Science, 151:417-425.
- CROSS, J.C., 1938. Chromosomes of the genus Peromyscus.
Cytologia, 8:408-419.
- CHIARELLI, B. y J. EGOZCUE, 1967. Observations on the - -
Nuclear Morphology of the Spermatogenic Cells of -
Macaca. Fertility and Sterility, 18 (6):812-818.
- CHIARELLI, B. y J. EGOZCUE, 1967. The meiotic chromosomes
of two Macaca. Caryologia, 20 (4):339-346.
- CHU, E.H.Y. y V. MONESI, 1960. Analysis on X-ray induced
chromosome aberrations in mouse somatic cells in -
vitro. Genetics, 45:981.
- DARLINGTON, C.D., 1936. Crossing over and its mechanical
relationships in Chorthippus and Staurederus. J.
Genet., 33:465-500.
- DENVER STUDY GROUP, 1960. A proposed Standard System of -
nomenclature of human mitotic chromosomes. Denver,
Colorado - Addendum I. Acta Genet., 10:322-328.

- EGOZCUE, J.; B. CHIARELLI y M. SARTI-CHIARELLI, 1968. The somatic and meiotic chromosomes of Cebueella - - - pygmaea with special reference to the behavior of the sex chromosomes during spermatogenesis. Folia Primat., 8:50-57.
- EGOZCUE, J., 1969. Meiosis in five Macaca species. Folia Primat., 11:1-16.
- FORD, C.E., 1969. Meiosis in Mammals in Comparative Mammalian Cytogenetics. (An international conference at Dartmouth Medical School in Hanover, New- - - Hampshire). Springer-Verlag., New York, Inc.
- FREDGA, K., 1964. Heterochromatic regions in mitotic and meiotic chromosomes of Bennett's Wallaby. - - - - (Protemnodon rufogrisea, Desmarest). Exp.Cell.Research, 36:696-699.
- GARDNER, E.J., 1960. Principles of Genetics. Wiley & Sons Co., New York - 366 pp.
- HALL, E.R. y K.R. KELSON, 1959. The mammals of North - - America. Vol.II. The Ronald Press Co., New York p.641.
- HANNAH, A., 1951. Localization and function of hetero- - chromatin in Drosophila melanogaster. Advan.Genet. 4:87-125.
- HOEL, P.G., 1966. Introduction to Mathematical Statistics. 3a. edición. Wiley Intd. Ed. U.S.A., pp.64-85.

- HOOPER, E.T., 1958. The male phallus in mice of the genus Peromyscus. Misc.Publ.Univ.Michigan Univ.Zool. -- 105:1-40.
- HOOPER, E.T. y G.G. MUSSER, 1964. Notes on classification of the rodent genus Peromyscus. Occ.Papers Univ. Michigan Mus.Zool., 635:1-13.
- HSU, T.C. y F.E. ARRIGHI, 1966. Chromosomal Evolution in the Genus Peromyscus (Cricetidae,Rodentia). Cyto-genetics, 5:355-359.
- HSU, T.C. y F.E. ARRIGHI, 1968. Chromosomes of Peromyscus (Cricetidae,Rodentia) I-Evolutionary trends in 20 species. Cytogenetics, 7:417-446.
- HSU, T.C. y R.A. MEAD, 1969. Mechanisms of chromosomal -- changes in mammalian speciation, in Comparative -- Mammalian Cytogenetics. (An international conference at Dartmouth Medical School in Hanover, New-Hampshire). Springer-Verlag., New York, Inc.
- JACKSON, R.C., 1971. The Karyotype in Systematics. Ann. Review Ecol.Syst., 2:327-368.
- JOHN, B. y G.M. HEWITT, 1966. Karyotype stability and DNA variation in the Acrididae. Chromosome,20:155-172.
- JOHN, B. y K.R. LEWIS, 1968. The Chromosome complement. - Protoplasmatologica, 6:1-206.

- JOHNSON, M.L. y M.J. WICKS, 1959. Serum proteins electrophoresis in Mammals - Taxonomic implications. - -- Syst.Zool., 8:88-95.
- JOHNSON, M.L.; M.J. WICKS y J. BRENNEMAN, 1959. Serum - - proteins electrophoresis of some boreal Mammals. Murrelet, 39:32-36.
- KREIZINGER, J.D. y M.W. SHAW, 1970. Chromosomes of - - -- Peromyscus (Cricetidae, Rodentia) II-The Y chromosome of Peromyscus maniculatus. Cytogenetics, 9:52-70.
- KURABAYASHI, M.; H. LEWIS y P.H. RAVEN, 1962. A comparative study of mitosis in the Onagraceae. Am.J.Bot., 49:1003-1026.
- LEVAN A.; K. FREDGA y A. SANDBERG, 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. Hereditas, - 52:201-220.
- LEVIN, R.P., 1964. Genética. Ed. CECSA. México 239 pp.
- LEWITSKY, G.A., 1931. The morphology of chromosomes. - - Bull.Appl.Bot.PP-Breed, 27:19-174.
- MAYR, E., 1969. Species, speciation and Chromosomes in -- Comparative Mammalian Cytogenetics. (An international conference at Dartmouth Medical School in -- Hanover, New-Hampshire). Springer-Verlag., New -- York, Inc.

- MONOD, J., 1970. Le hasard et la nécessité. Ed. du Seuil, Paris VIe 197 pp.
- NADLER, C.F., 1969. Chromosomal evolution in Rodents in Comparative Mammalian Cytogenetics. (An international conference at Dartmouth Medical School in -- Hanover, New-Hampshire). Springer-Verlag., New -- York, Inc.
- NAVASHIN, S.C., 1916. On some signs of the internal organization of chromosomes. Sborn K.A. timiriazev -- p.185-214.
- OHNO, S.; C. WEILER; J. POOLE; L. CHRISTIAN y C. STENIUS, 1966. Autosomal polymorphism due to pericentric - inversions on the deer mouse (P.maniculatus) and - some evidence of somatic segregation. Chromosoma, 18:177-187.
- PATTON, J.L. y T.C. HSU, 1967. Chromosomes of the golden mouse, Peromyscus (Ochtromys) nuttalli (Harlan). J.Mammal., 48:637-639.
- PAVAN, C.; C. CHAGES; O. FROTA PESSOA y L.P. CALDAS, 1962. Mammalian Cytogenetics and related problems in -- Radiobiology. Proceedings of a symposium held at Sao Paulo and Rio de Janeiro, Brasil, Oct. 1962. McMillan Co., New York.

- PETERSEN, M.K., 1968. Electrophoretic Blood-serum patterns in selected species of Peromyscus. Am.Midland - - Nat., 79 (1):p.131-147.
- PREVOST, C. y C. PETIT, 1970. Genética y Evolución. Ed. Omega, S. A. Barcelona, España. 389 pp.
- RHOADES, M.M., 1940. Studies of a telocentric chromosome in maize with reference to the stability of his -- centromeres. Genetics, 25:483-520.
- ROBERTIS, G.D.P. de, W.W. NOWINSKI y F.A. SAEZ, 1965. Cell Biology. W.B. Saunders Co., Philadelphia & London. 457 pp.
- ROBERTSON, W.R.B., 1916. Chromosome studies. I-Taxonomic relationships shown in the chromosomes of - - - - Tettigidae and Acrididae: V shaped chromosomes -- and their significance in Acrididae, Locustidae -- and Grillidae: Chromosomes and variation. J. - - Morphology, 27:179.
- SHAW, M.W.; E. BARTO y J. LIPPETT, 1966. Chromosomal polymorphism in Peromyscus maniculatus. Mamm.Chrom. - Newsletter, 19:34.
- SINGH, R.P. y D.B. MacMILLAN, 1966. Karyotypes of three - species of Peromyscus. J.Mammal., 47:261-266.

SINNOT, E.W.; L.C. DUNN y T. DOBZHANSKY, 1961. Principles of Genetics. 5a. edición. Mac Graw Hill Book Co. New York. 459 pp.

SPARKES, R.S. y D.T. ARAKAKI, 1966. Intrasubspecific and intersubspecific chromosomal polymorphism in - - - Peromyscus maniculatus. Cytogenetics, 5:411-418.

SRB, A.M. y R.D. OWEN, 1965. General Genetics. 2nd ed. - W.H. Freeman & Co. 557 pp.

SWANSON, C.P.; T. MERZ y W. YOUNG, 1967. Cytogenetics. - Prentice Hall, Inc. New Jersey. 194 pp.

WHITE, M.J.D., 1954. Animal Cytology and Evolution. 2nd ed. Cambridge Univ. Press, London, p.188.

. o . o . o .