



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Escuela Nacional de Estudios Profesionales  
" I Z T A C A L A "

## "VARIACION CROMOSOMICA DEL RATON METORITO Microtus mexicanus".

**T E S I S**

Que para obtener el Título de:

**B I O L O G O**

Presenta:

**ROSA MARIA GONZALEZ MONROY**



Tlalnepantla, Edo. de Méx.

1992.

Dedico esta tesis a mis padres la Sra María Monroy de González y el Sr. Herminio González Olvera.

A mis hermanos Irma, Germán, Juvenal y Oscar por su apoyo y cariño.

## AGRADECIMIENTOS

Deseo agradecer al Dr Fernando A. Cervantes Reza por su estímulo y constante colaboración brindada durante la elaboración de esta tesis.

Al Dr Oscar G. Ward por su amistad y ayuda en el laboratorio.

A la Dra Catalina Chávez Tapia por la revisión y comentarios al manuscrito.

Al M en C Diego Julio Arenas Aranda por sus consejos en la revisión de la tesis.

Al Biol. María Eugenia Heres Pulido por sus comentarios y sugerencias al manuscrito.

Al Biol. Irma Elena Dueñas García por los comentarios e ideas aportadas a la tesis.

A los M en C Consuelo Lorenzo Monterrubio, Yolanda Hortelano Moncada y Jesús Martínez Vázquez por su apoyo y sugerencias al manuscrito.

Al Biol. Julieta Vargas Cuenca por su valiosa amistad y ayuda en el trabajo de campo.

A los Biols. Francisco X. González y Alejandro Rivas por su ayuda en el trabajo de campo.

Al Sr. Demetrio Camarillo por su ayuda y facilidades brindadas en el uso del laboratorio de fotografía.

Al Sr. Raúl Martínez y familia por su ayuda en el trabajo de campo.

A mis compañeros del laboratorio de Mastozoología por su amistad y apoyo en el trabajo de campo y de laboratorio.

## I N D I C E

RESUMEN . . . . .	1
INTRODUCCION . . . . .	3
MATERIALES Y METODOS . . . . .	8
RESULTADOS . . . . .	16
DISCUSION . . . . .	19
CONCLUSIONES . . . . .	22
LITERATURA CITADA . . . . .	22
TABLAS	
FIGURAS	
APENDICE	

## RESUMEN

En el presente estudio se examinaron las bandas cromosómicas G y C de cuatro poblaciones aisladas del ratón metorito (Microtus mexicanus), con el fin de describir e interpretar su variación cromosómica la cual se hipotetiza como producto del aislamiento geográfico. Los ejemplares fueron colectados para su comparación de las poblaciones de El Ex-lago de Texcoco, México; Volcán La Malinche, Tlaxcala; Cofre de Perote, Veracruz y Pinal de Amoles, Querétaro. Los cromosomas fueron obtenidos a partir de la técnica convencional de médula ósea con un agente mitostático y un choque hipotónico; las bandas cromosómicas G y C fueron preparadas utilizando tripsina y una solución de Hidróxido de Bario, respectivamente.

El número cromosómico diploide (2n) y el número fundamental obtenido para las cuatro poblaciones no difiere entre si. Sin embargo, se identificó un rearrreglo cromosómico que hipotéticamente corresponde a una doble duplicación. En base a la posición del centrómero, debió haber existido este cambio, porque la posición del centrómero en el par número seis de la población de M. mexicanus phaeus de Querétaro es subtelocéntrico y no submetacéntrico, como en el par cromosómico cinco de las otras tres poblaciones de M. m. mexicanus de Texcoco, Malinche y Perote. Este rearrreglo se identificó gracias a la homologación de las bandas cromosómicas G. Otro de los rearrreglos cromosómicos hipotéticos encontrado fue una adición de eucromatina en el par cromosómico cinco de la población de Querétaro donde se puede observar que presenta solo tres bandas

cromosómicas en comparación con las otras tres poblaciones que presentan seis bandas cromosómicas de menor ancho por lo que se puede describir un rearrreglo cromosómico del tipo de adición de eucromatina.

En cuanto al patrón de bandas cromosómicas C no mostró diferencias lo cual no permitió detectar cambios en estas poblaciones. En base a los resultados obtenidos se rechaza la hipótesis nula de que las cuatro poblaciones son cromosómicamente iguales.

## INTRODUCCION

Los roedores se encuentran en pleno desarrollo evolutivo, por lo que los estudios cromosómicos en este grupo proveen bastante información acerca de sus mecanismos evolutivos en relación con modificaciones cromosómicas (Rodríguez, 1974). Asimismo, las investigaciones citogenéticas complementan estudios morfológicos, ecológicos y biogeográficos indispensables para establecer la ubicación taxonómica y sistemática de distintos taxa (Mettler y Gregg, 1972).

Es importante conocer el cariotipo de una especie con el propósito de interpretar los cambios evolutivos que ha sufrido el material genético, ya que la evolución es la modificación en estructura genética de las poblaciones (Mettler y Gregg, 1972; Uribe, 1977). Los cromosomas pueden sufrir alteraciones espontáneas por rompimientos, seguidos de nuevas uniones que suelen cambiar el orden de los genes pudiendo crear sistemas genéticos diferentes. Estas alteraciones en el cariotipo son factores determinantes relacionados con el proceso de la formación y evolución de las especies, así como también de las relaciones filogenéticas entre distintos grupos biológicos (Uribe, 1977). Estos factores pueden estimular el resurgimiento de estudios cariotípicos comparativos y una reconsideración de filogenias en muchos grupos de mamíferos (Burgos *et al.*, 1988).

La gran variedad de cariotipos encontrada en los mamíferos puede, entonces, ser considerada como arreglos diferentes de material genético semejante. Los taxa que han tenido una evolución más rápida, son los que asimismo contienen una mayor

gama de cariotipos, mientras que las especies cuyo paso evolutivo ha sido más reciente presentan pocas diferencias cariotípicas (Uribe, 1977).

Los cariotipos convencionales proveen de datos sobre el número y tamaño de los cromosomas (número diploide) así como observaciones generales sobre la posición del centromero. Sin embargo los métodos de tinción diferencial como las bandas cromosómicas G proveen de patrones de bandas cromosómicas únicas que son utilizadas para analizar segmentos homólogos entre individuos, poblaciones y especies (Uribe, 1977).

Un mecanismo importante en el proceso de especiación, son los rearrreglos en el complemento cromosómico tales como inversiones pericéntricas y paracéntricas, fusiones y fisiones céntricas que conducen a la disminución y aumento del número cromosómico. La fusión céntrica es el rearrreglo cromosómico que se presenta con mayor frecuencia dentro del grupo de los arvicólidos (Modi, 1987a).

La homologación de las bandas cromosómicas "G" y la observación de las bandas cromosómicas "C" en los roedores de la familia Arvicolidae, ha sido una herramienta útil para el conocimiento de las relaciones filogenéticas entre los miembros de esta familia. Por ejemplo, se propuso que existe una relación estrecha de parentesco filogenético entre Microtus montanus y M. canicaudus y que, al mismo tiempo, se encuentran menos relacionados a otros arvicólidos como Microtus oregoni (Modi, 1987a). Por lo tanto, el análisis cariotípico es una herramienta útil para conocer la sistemática del género Microtus (Tamarin, 1985).



En México encontramos distribuidas siete especies de arvicólidos del género Microtus de los cuales se desconoce su biología genética y sus relaciones de parentesco filogenético. Una de estas especies es el ratón metorito (Microtus mexicanus) cuya distribución se extiende desde Nuevo México y Arizona, y sur de Utah y Colorado hasta el centro de México, ocupando la Sierra Madre Oriental, Occidental y el Eje Neovolcánico (Fig. 1; Hall, 1981; Judd, 1980). Presenta una distribución aislada en el Norte y mas continua hacia el centro y sur. Estos animales son robustos con ojos pequeños y patas cortas, habitan en diversas condiciones ambientales como zonas áridas pastizales, bosques de pino y pino-encino (Wilhelm, 1982).

Los estudios cariotípicos realizados en M. mexicanus han sido pocos (Fig. 2). Lee y Elder (1977) encontraron un número cromosómico diploide de 48 para ejemplares de Jalisco y Durango, con un número fundamental de 57 o 58. Similarmente Uribe et al., (1977) describieron un número cromosómico diploide de 48 con número fundamental de 58 para individuos del sur del Valle de México, Distrito Federal. En cambio Matthey (1957) mencionó un número cromosómico diploide de 44 para especímenes del noreste de Nuevo México. Wilhelm (1982) también describió un número cromosómico diploide de 44 y número fundamental de 54 para organismos de Nuevo México (Tabla 1). Asimismo han sido aún menos los estudios cariotípicos a nivel de bandas cromosómicas G y C entre los que podemos mencionar a Judd (1980) para individuos de Nuevo México, a Modi (1987a; 1987b) para organismos de Jalisco y a Martínez (1991) para ejemplares de Oaxaca (Fig. 2). Sus resultados confirman que M. mexicanus se encuentra en un proceso

dinámico de evolución cromosómica, similar a otras especies de su género.

La diferencia de cuatro cromosomas entre poblaciones norteñas y sureñas en el continente americano del ratón metorito, se ha interpretado como consecuencia genética del aislamiento geográfico producto de las glaciaciones del Pleistoceno (Wilhelm, 1982); al disminuir las posibilidades de flujo genético entre las poblaciones, se puede promover diferenciación genética. Hoffmann y Koepl (1985) mencionaron que los últimos dos o tres periodos glaciales se caracterizaron por el desplazamiento de los bosques templados hacia el norte y sur de Norte América en función del movimiento de la gran capa de hielo. Esto trajo como consecuencia el aislamiento y evolución de varias líneas ancestrales del género Microtus. De ellas se diferenció M. mexicanus quien mantiene poblaciones aisladas en su actual patrón de distribución geográfica. Un caso de este tipo es la población de M. m. phaeus de Querétaro la cual ha sido propuesta como una nueva subespecie de acuerdo a criterios morfométricos (Alvarez y Hernández-Chávez, en prensa).

Debido a los antecedentes previos sobre aislamiento y polimorfismo cromosómico que existen entre poblaciones norteñas del metorito, se espera que por el aislamiento que hay entre otras poblaciones también exista polimorfismo cromosómico entre ellas. Por ejemplo en el Eje Neovolcánico transversal existen poblaciones del metorito con diversos grados de aislamiento entre las que podemos mencionar las que habitan los picos montañosos como el Nevado de Colima, Nevado de Toluca, el complejo Iztaccihuatl- Popocatepetl y el Pico de Orizaba. Asimismo si los

procesos cromosómicos de algunas de estas poblaciones se comportan como en las poblaciones norteañas, encontraríamos polimorfismo cromosómico entre ellas debido a su aislamiento geográfico.

Por lo tanto el presente trabajo tiene como objetivo detectar, describir e interpretar la variación cromosómica de cuatro poblaciones aisladas de M. mexicanus de la porción oriental del Eje Neovolcánico y corroborar o refutar la hipótesis nula de que los complementos cromosómicos de estas poblaciones son idénticos y no han sufrido cambios por efectos del aislamiento.

### MATERIALES Y METODOS.

Los ejemplares fueron colectados en cuatro localidades: Ex-Lago de Texcoco, 4 Km S, 12 Km W Texcoco; el Parque Nacional "La Malinche o Matlalcuéyatl", 4 Km S del centro vacacional IMSS Malintzi; El Cofre de Perote o "Volcán Naucantépetl", 10 Km SE (por terracería) Perote y Pinal de Amoles Querétaro, 4 Km SW de Pinal de Amoles. El Ex-Lago de Texcoco colinda con el límite NE de la ciudad de México. Su temperatura media anual es de 15.5°C, con pequeñas fluctuaciones diurnas y precipitación anual de 600.1 mm. La vegetación está formada por una comunidad de gramíneas halófitas, cuya especie dominante es Distichlis spicata (Cervantes, 1987; Chávez y Huerta, 1984).

El Parque Nacional "La Malinche" se localiza en la zona central oriente de México, formando parte del Eje Neovolcánico entre los estados de Tlaxcala y Puebla, a una altitud que comprende de 2400 a 4461 m. El tipo de clima corresponde a frío con temperatura media anual de 11°C, y precipitación media anual 160 mm. La vegetación está constituida por bosques de oyamel, pino, pino-encino, pastizales y zacatonales (SEDUE, 1985).

El Cofre de Perote se localiza al W de Xalapa, Veracruz y alcanza una altitud de 4300 m. El clima corresponde al tipo semifrío subhúmedo con lluvias en verano y temperatura media anual de 8.5°C y precipitación media anual 40 mm. La vegetación está constituida por bosques de coníferas, fragmentos de bosque caducifolio, zonas de matorral xerófito así como importantes extensiones de pastizales ganaderos y zonas dedicadas a distintos tipos de cultivos (Robles, 1982).

Pinal de Amoles se localiza al NE de Querétaro y tiene una

altitud de 3000 m. El tipo de clima corresponde al cálido húmedo con temperatura media anual de 23.6°C y precipitación media anual 845 mm. La vegetación esta constituida por bosques de pino como Pinus teocote y Pinus rudis (Soto y Coll, 1975).

Los ejemplares de Microtus fueron capturados vivos con trampas "Sherman" (23x7.5x9 cm) las cuales eran dispuestas cada 5 m en transectos en una zona de pastizal, en salidas de tres días para cada localidad. Los ejemplares fueron trasladados al laboratorio de Mastozoología del Instituto de Biología, UNAM y examinados posteriormente. Se procesaron 9 individuos para Texcoco, 9 para Malinche, 10 para Perote y 3 ejemplares para Querétaro, los cuales fueron preparados en forma convencional para estudio científico (Hall, 1981) y fueron depositados en la Colección Mastozoológica del Instituto de Biología, UNAM. La obtención de preparaciones cromosómicas se basó en la técnica propuesta por Baker et al., (1988), más algunas modificaciones. Veinticuatro horas antes de ser sacrificados los roedores se les aplicó una inyección subcutánea de levadura en el dorso, en una dosis de 0.1 ml por cada 10 g de peso (la preparación de las soluciones descritas en la técnica se detallan en el apéndice). Con esto, se incrementa el índice mitótico, y sólo se recomienda para individuos en cautiverio (Lee, 1980).

La solución de levadura se debe preparar momentos antes de ser usada, además de asegurarse que esté activa por la presencia de burbujas; la levadura debe estar bien disuelta para que la concentración sea la indicada. La jeringa debe ser llenada sin aguja para evitar absorber demasiadas burbujas de aire.

Cuarenta minutos antes de ser sacrificados los roedores se

les inyectó por vía intraperitoneal una solución de Colchicina (Microlab) al 0.004% en una proporción de 0.1 ml por cada 10 g de peso. Con esto, se inhibe la formación del huso acromático y se detiene la mitosis en metafase.

Para conocer la utilidad de aplicar levadura y Colchicina o solamente una de las dos soluciones, se efectuaron algunos ensayos previos con M. mexicanus. De acuerdo a los resultados, se recomienda usar a los organismos que se les inyectó levadura y colchicina para la obtención de bandas G y C, ya que la calidad de los cromosomas fue mejor porque se observaron más alargados y separados unos de otros. Sin embargo, no se descartó la posibilidad de usar los organismos a los que sólo se les aplicó levadura o Colchicina debido a que la calidad de los cromosomas fue buena para cariotipo convencional, porque los cromosomas presentaban cromátidas separadas y estaban separados unos de otros.

Se sacrificaron a los Microtus por asfixia para extraer los fémures y las tibias en un tiempo no mayor de 5 minutos. Fue necesario quitar el músculo a los huesos y se cortaron las epífisis en el extremo proximal con la ayuda de tijeras; se inyectó solución hipotónica de KCl 0.075 M a 37°C en la cavidad medular con jeringas de 1 ml y agujas de 25X16 mm, procurando sacar toda la médula para lo cual fue necesario inyectar ambos lados del hueso. Se colocó la médula en un tubo de centrifuga de 15 ml cónico transparente que contenía 7 ml de solución hipotónica a 37°C. Se resuspendió con jeringas de 1 ml y agujas del número 23.

Los tubos de centrifuga con tapón, se incubaron en baño

María a 37°C durante 40 min, se agitaron suavemente los tubos una vez que estuvieron en el baño María cada 10 min aproximadamente. La solución hipotónica permite la entrada de agua hacia las células provocando que éstas se hincharan.

Se centrifugaron las muestras a 800 revoluciones por minuto (rpm) durante 8 minutos en una centrifuga International, se eliminó el sobrenadante y se resuspendió con un poco de líquido en proporción al tamaño del botón celular para después ser resuspendidas en 3 ml de solución fijadora (metanol-ácido acético en proporción 3:1), la cual se aplicó cuidadosamente resbalando por la pared del tubo procurando que no cayera directamente sobre las células; se resuspendió suavemente. Se usó una pipeta por cada tubo para evitar contaminación. A continuación se colocó en congelador durante 24 horas. El fijador debe ser preparado 30 minutos antes de ser utilizado y mantenido en el congelador a -20°C y solo debe ser usado dos o tres horas después de preparado.

Se centrifugaron las muestras a 800 rpm durante 8 min, se eliminó el sobrenadante y se resuspendió en una solución fijadora fresca. Se centrifugó como se hizo anteriormente y se resuspendió hasta que el botón celular fué blanquecino. Se agregó solamente un poco de fijador hasta que esté se tornó turbio y se resuspendió para homogeneizar las células.

Se colocaron los portaobjetos en un vaso Coplin con agua destilada, (al sacarlos se debe observar una capa homogénea de agua, si no es así, se debe usar acetona para limpiarlos) se dejaron caer dos gotas con pipeta pasteur del material celular en la laminilla inclinada 45° a una altura de 80 cm y se dejaron secar éstas a temperatura ambiente en posición inclinada. Se

observaron las laminillas sin teñir al microscopio de contraste de fase para asegurarse que había campos mitóticos (si la suspensión celular va a ser guardada en nitrógeno líquido, se debe hacer después de que se agrega el fijador por primera ocasión. Solo se puede guardar en éste una vez, ya descongelado puede ser mantenido en el congelador a  $-20^{\circ}\text{C}$  por tiempo indefinido tapado con Parafilm para evitar la evaporación del fijador y que se seque la suspensión celular). Se tiñeron las laminillas con una solución de Giemsa líquida (Microlab) a 1:50 durante 4 minutos, se lavó con agua destilada, se dejó secar y se observó al microscopio de campo claro donde se seleccionaron los mejores campos para fotografiarlos. Se recortaron los cromosomas y se elaboró un idiograma, basado en mediciones de longitud de los brazos cortos, brazos largos de cada par cromosómico.

Antes de continuar con la técnica para la obtención de bandas "G" (deGrouchy y Turleau, 1977, con algunas modificaciones), las laminillas con los cariotipos convencionales, pero sin teñir, se dejaron reposar durante 5 ó 6 días. Las preparaciones se colocaron en una estufa de cultivo a  $60^{\circ}\text{C}$  durante 16 horas para "endurecer" los cromosomas y lograr un mejor patrón de bandas. Se dejó enfriar a temperatura ambiente. Se colocaron las laminillas en un vaso Coplin que contenía Tripsina Difco 0.025% durante 150 ó 180 segundos ya que fueron los tiempos donde se obtuvo mejor patrón de bandas (la Tripsina disocia la heterocromatina). Se introdujeron y se sacaron las laminillas en dos vasos Coplin que contenían PBS, durante 10 veces, en cada uno para eliminar el exceso de Tripsina.



Se tiñó inmediatamente, sin dejar secar, en Buffer de Giemsa (se agitó vigorosamente hasta que produjo espuma) al 2%, preparada según Seabright (1971), durante tres minutos. Se enjuagó brevemente en agua destilada, se dejó secar a temperatura ambiente y se observó al microscopio de campo claro. Se puede usar el objetivo de 100X y aceite de inmersión sin cubreobjetos (el aceite de inmersión se eliminó volteando la laminilla sobre papel absorbente y dejándola en un vaso Coplin con Xilol durante 2 horas o de un día para otro).

Si los cromosomas tienen poco tratamiento con Tripsina se observan solamente puntos en la orilla del cromosoma sin que se observe una banda continua. Si tienen exceso de tratamiento se observa que la banda rebasa la orilla del cromosoma y se ven los cromosomas hinchados. El tipo de banda correcto es aquella que no sobresale del límite del cromosoma y éste no se ve hinchado. Para la obtención de Bandas "C" se utilizó la técnica de Summer et al., (1971) y Arrighi y Hsu (1971); las preparaciones de cariotipos convencionales sin teñir se dejaron reposar 5 ó 6 días. Se colocaron las preparaciones en un vaso Coplin con HCl 0.2 N durante 15 minutos para remover proteínas. El HCl se prepara cada vez que se va a utilizar con duración de un día para su uso. Se lavó tres veces en agua destilada y se dejó secar a temperatura ambiente.

Se colocaron las laminillas en un vaso Coplin conteniendo una solución saturada de Hidróxido de Bario a 45°C durante 90 o 120 segundos, ya que en estos tiempos se obtuvo el mejor resultado. El Hidróxido de Bario actuó en la disociación de eucromatina. Se pasaron las preparaciones a HCl 0.2 N para

detener la reacción del Hidróxido de Bario. Inmediatamente se lavó tres veces con agua destilada y se dejó secar a temperatura ambiente.

Se colocaron las laminillas en una cámara húmeda (caja de Petri conteniendo dos hojas de papel filtro, solución 2XSSC pH 7.0 y dos tapones de plástico como soporte), asegurándose que tenían bastante solución 2XSSC para que no se secaran.

Se colocaron 4 gotas de 2XSSC con pipeta pasteur a lo largo de la laminilla y se dejó caer encima un cubreobjetos (22 X 40 mm) en la parte central. Se incubó a 65°C durante toda la noche. Se sacudió la laminilla para que se cayerá el cubreobjetos y se lavó en agua destilada tres veces.

Se lavaron las laminillas en 2 vasos Coplin durante 5 minutos en cada uno conteniendo etanol al 70 y 95% respectivamente y se dejó secar a temperatura ambiente; esto evita la formación de cristales. Se enjuagó con agua destilada y se dejó secar a temperatura ambiente. Se tiñó con Buffer de Giemsa al 4% durante 8 minutos, se enjuagó brevemente en agua destilada y se dejó secar a temperatura ambiente.

Las preparaciones se observaron sin cubreobjetos al microscopio de campo claro. Pueden ser usados filtros de colores, de preferencia verdes, para observar mejor las bandas.

Para ambos tipos de bandas las preparaciones fueron observadas al microscopio seleccionando los mejores campos para fotografiarlos. Utilizando las fotografías, se procedió a recortar cada uno de los cromosomas de las impresiones y se acomodaron por pares homólogos (Levan *et al.*, 1964); así como

también se identificaron las bandas más constantes y notorias de cada par cromosómico. Se midieron las longitudes de las bandas y se obtuvo el promedio de ellas las cuales fueron incorporadas a el idiograma obtenido con las medidas de los cariotipos teñidos convencionalmente. Para la elaboración de los idiogramas se utilizó el paquete de computación Flow II. Todos los cálculos se realizaron en una microcomputadora Printaform utilizando el paquete estadístico Lotus 1-2-3.

## RESULTADOS

**Texcoco.**--Se utilizaron nueve ejemplares (cuatro machos y cinco hembras) para determinar el número cromosómico diploide ( $2n$ ) y el número fundamental (NF). Esta población de Microtus mexicanus mexicanus presenta un  $2n=48$  y un  $NF=58$ .

De los 23 pares de autosomas que constituyen su cariotipo 4 pares son metacéntricos, 2 pares son submetacéntricos y 17 pares son telocéntricos. El cromosoma X es telocéntrico grande; el Y es telocéntrico pequeño; el cariotipo muestra primero los pares metacéntricos enseguida los submetacéntricos luego los telocéntricos y por último los pares sexuales (Tabla 2; Fig. 3). Las bandas cromosómicas G presentan una distribución continua a lo largo de todos los cromosomas y hasta en los telocéntricos pequeños se observan 2 bandas (Figs. 4 y 5). Las bandas cromosómicas C se observan en la región pericentromérica para todos los autosomas y en los cromosomas sexuales se observa mayor cantidad de heterocromatina constitutiva (Figs. 6 y 7).

**Malinche.**--Para la determinación del número cromosómico diploide ( $2n=48$ ) y el número fundamental ( $NF=58$ ) se analizaron nueve ejemplares (cinco machos y cuatro hembras) de Microtus mexicanus mexicanus.

De los 23 pares de autosomas que forman su cariotipo se encontró que 4 pares son metacéntricos (birrameos), 2 pares submetacéntricos (birrameos) y 17 pares telocéntricos (monorrameos), siendo los cromosomas sexuales telocéntricos el X grande y el Y pequeño (Tabla 2; Fig. 8).

La distribución de eucromatina a lo largo del cromosoma es

constante y homogénea (Figs. 9 y 10). En las bandas cromosómicas C se encontró que se repite el mismo patrón que para los individuos de la población anterior (Figs. 11 y 12).

**Perote.**--Se emplearon diez ejemplares (seis machos y cuatro hembras) de Microtus mexicanus mexicanus para la obtención del número cromosómico diploide ( $2n=48$ ) y número fundamental ( $NF=58$ ; Tabla 2).

El cariotipo convencional se elaboró con base a la posición centromérica por lo que muestra el mismo arreglo que las dos poblaciones anteriores. En los cromosomas monorráneos (telocéntricos), la eucromatina se distribuye a lo largo de los cromosomas y en los telocéntricos pequeños podemos encontrar hasta dos bandas cromosómicas (Fig. 15).

Las bandas cromosómicas C muestran una distribución pericentromérica para todos cromosomas y para los cromosomas sexuales se encontró que se presenta en mayor cantidad. (Figs. 16 y 17).

**Querétaro.**--La determinación del número cromosómico diploide ( $2n=48$ ) y número fundamental ( $NF=58$ ) de Microtus mexicanus phaeus se llevó al cabo utilizando tres ejemplares (machos).

De los 23 pares de autosomas que forman su cariotipo 4 pares son metacéntricos, 1 par es submetacéntrico, 1 par subtelocéntrico y 17 pares telocéntricos. En el par cromosómico No. 6 se presenta un rearrreglo en la posición del centrómero que se puede describir como del tipo de doble duplicación.

Los cromosomas sexuales pertenecen al grupo de los

telocéntricos siendo el cromosoma X grande y el cromosoma Y pequeño (Tabla 2; Fig 18).

La eucromatina presenta un patrón de distribución homogéneo a lo largo de todos los cromosomas y en los pares telocéntricos pequeños se encontró que solo presentaban una banda cromosómica G, siendo un patrón característico para esta población. Los cromosomas metacéntricos pequeños presentan dos bandas cromosómicas (Figs. 19 y 20).

En cuanto a la distribución de las bandas cromosómicas C (heterocromatina constitutiva) se encontró que presentaba el mismo patrón de distribución que para las otras tres poblaciones de M. mexicanus (Figs. 21 y 22).

Los valores absolutos promedio de las longitudes de los brazos cromosómicos y la suma de ambos de las diferentes poblaciones en estudio se encuentran en la Tabla 3 y los valores relativos promedio de los brazos de cada par con los que se construyó el idiograma se presentan en la Tabla 4.

## DISCUSION

En los cariotipos con tinción convencional se encontró que el número cromosómico diploide ( $2n=48$ ) y el número fundamental ( $NF=58$ ) no presentan diferencias entre las poblaciones de la porción oriental del Eje Neovolcánico de Microtus mexicanus mexicanus y entre una población de M. m. phaeus al norte de la distribución anterior. Los resultados cariotípicos obtenidos en este estudio concuerdan con los trabajos realizados para una población de M. m. mexicanus localizada al sur del Valle de México (Uribe, 1977), y con los resultados obtenidos para ejemplares de Jalisco y Durango, donde se encuentra un  $2n=48$  y  $NF=57$  ó  $58$  (Lee y Elder, 1977). En comparación con las poblaciones aisladas, específicamente en Nuevo México donde M. m. mogollonensis y M. m. guadalupensis presentan un  $2n=44$  y  $NF=54$ .

Debido a que en las subespecies estudiadas existe un número elevado de cromosomas acrocéntricos, se puede afirmar que presentan características cariológicas primitivas con respecto a otras especies (Matthey, 1957), si se parte del conocimiento de que un número cromosómico primitivo es 56 o un número cercano a éste. Por lo anterior se deduce que la tendencia evolutiva en M. mexicanus ha sido a la reducción en el número cromosómico por medio de diversos cambios cromosómicos siendo los más frecuentes dentro del grupo de los Arvicólidos las fusiones céntricas y las inversiones pericéntricas (Modi, 1987a).

Una de las diferencias cromosómicas observada en las poblaciones estudiadas fué en M. mexicanus phaeus ya que su complemento cromosómico presenta un cromosoma subtelocéntrico en

el par 6 en lugar de un cromosoma submetacéntrico en el par 5 como lo presenta M. m. mexicanus. Debido a que las bandas cromosómicas G ayudan a identificar posibles rearrreglos cromosómicos de las poblaciones en estudio, es posible proponer hipotéticamente en M. m. phaeus una doble duplicación en el par cromosómico 6 con el fin de que concuerde la posición centromérica con M. m. mexicanus (Fig. 25). Otro de los cambios hipotéticos encontrado en las poblaciones en estudio fue una adición de eucromatina en el par 5 de M. m. phaeus de Querétaro donde se pueden observar tres bandas cromosómicas G y no seis como en el caso del par 6 de M. m. mexicanus de Texcoco, Malinche y Perote. Aunado a lo anterior estudios morfométricos en M. m. phaeus realizados por Alvarez y Hernández-Chávez (en prensa) confirman que M. m. phaeus presenta diferencias craneales y proponen a esta población como una nueva subespecie nombrándola M. m. ocotensis.

Otra de las diferencias importantes en esta población se encuentra en los autosomas telocéntricos pequeños de M. m. phaeus ya que éstos sólo presentan una banda cromosómica G en comparación con los ejemplares de Texcoco, Malinche y Perote que tienen dos bandas cromosómicas. En individuos provenientes de la Sierra de Juárez, Oaxaca, correspondientes a ejemplares de Microtus mexicanus fulviventris de distribución más al sur, se describe un número diploide y número fundamental similar al encontrado en este estudio para la subespecie de M. m. mexicanus del eje Neovolcánico (Martínez, 1991).

En cuanto al patrón de bandas cromosómicas C, se ha



mencionado que los cambios cromosómicos en arvicólidos que involucran regiones de heterocromatina son poco significantes evolutivamente, debido a la escasa variación encontrada a lo largo del complemento cromosómico (Modi, 1987a). Este autor propone que la comparación entre especies ayudaría a suponer dónde se encontraban distribuidas las bandas cromosómicas C en un cariotipo antecesor mediante la homologación de las bandas cromosómicas y permitiría examinar si han ocurrido cambios entre líneas derivadas. Se ha encontrado para algunas especies de los arvicólidos, por ejemplo M. oregoni, que no presentan heterocromatina constitutiva. En cambio, otras especies como Microtus ochrogaster presentan poca cantidad de heterocromatina constitutiva (Modi, 1987a). En las subespecies analizadas de M. m. mexicanus y M. m. phaeus se observa que presentan un patrón de distribución homogénea de heterocromatina pericentromérica similar al encontrado para M. ochrogaster y no revela ningún tipo de cambio o rearreglo para alguna de las poblaciones, ya que todas presentan el mismo patrón de distribución de heterocromatina a nivel pericentromérico. Por lo tanto con base en los resultados obtenidos se rechaza la hipótesis nula de que las cuatro poblaciones son cromosómicamente iguales.

Como se puede observar, los trabajos a nivel de bandas cromosómicas para las subespecies en estudio no se han realizado siendo este trabajo uno de los primeros en realizar bandas cromosómicas.

## CONCLUSIONES

Las cuatro poblaciones analizadas de Microtus mexicanus presentan un número cromosómico diploide de 48 y un número fundamental de 58 lo cual confirma lo anteriormente realizado para poblaciones del Valle de México, Jalisco y Durango, así como para ejemplares de Oaxaca (Lee y Elder, 1977; Uribe, 1977; Martínez, 1991). Por el contrario, se encontraron diferencias en cuanto a la posición del centromero para la subespecie Microtus mexicanus phaeus, donde el par cromosómico 6 se identificó como subtelo-céntrico y no submetacéntrico que es como se presenta en Microtus mexicanus mexicanus.

Los rearrreglos cromosómicos identificados para la subespecie M. m. phaeus de Querétaro fueron del tipo de doble duplicación y adición de eucromatina.

Con base en los resultados obtenidos y por lo expuesto en la literatura se encontró que M. m. phaeus presenta características cromosómicas diferentes a las que muestra M. m. mexicanus; así como características morfométricas diferentes por lo que otros autores la han propuesto como una nueva subespecie.

Los antecedentes apoyan las propuestas de Uribe (1977) y Wilhelm (1982) de que la población ancestral de Nuevo México sufrió rearrreglos cromosómicos, los cuales pudieron haber consistido de dos fisiones o de dos fusiones Robertsonianas, mediante lo cual se argumenta que las poblaciones examinadas presentan cariotipos primitivos, como lo es un  $2n=48$  ya que la tendencia evolutiva es hacia la reducción en número cromosómico diploide. Por lo que con los resultados obtenidos se rechaza la

hipótesis nula de que las cuatro poblaciones aisladas de M. mexicanus de la porción oriental del Eje Neovolcánico presentan complementos cromosómicos idénticos.

Es necesario realizar estudios biogeográficos y cromosómicos adicionales de la distribución en México del género Microtus para examinar y comprender las relaciones de parentesco entre los metoritos de México y a su vez compararlos con los datos obtenidos para las poblaciones de Nuevo México, Estados Unidos de Norteamérica e igualmente conocer los cambios a nivel genético y bioquímico ocurridos a lo largo de su distribución.

## LITERATURA CITADA

- Alvarez, T. y J. J. Hernández-Chávez. Taxonomía del *Metorito* *Microtus mexicanus* en el centro de México con la descripción de una nueva subespecie. (En prensa).
- Arrighi, F. E. y T. C. Hsu. 1971. Localization of heterochromatin in human chromosomes. *Cytogenetics*, 10:81-86.
- Baker, R. J. y M. B. Qumsiyeh. 1988. Methods in chiropteran mitotic chromosomal studies. Pp. 425-434, in *Ecological and behavioral methods for the study of bats* (T. H. Kunz, ed.), Smithsonian Institution Press. Washington, D. C. London. 530 pp.
- Burgos, R. M. y Díaz de la G. R. 1988. Comparative study of G and C-banded chromosomes of five species of *Microtidae*: a chromosomal evolution analysis. *Genome* 30:540-545.
- Cervantes-R, F. A. 1987. Population and community responses of grassland small mammals to variation of vegetative cover in central Mexico. Tesis Doctoral. Univ., of Kansas, Lawrence, 90 pp.
- Chávez, C. M. y A. Huerta. 1984. Estudio ecológico de la comunidad de Anátidos migratorios invernantes en el Ex-lago de Texcoco y alternativas para su manejo. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias. U.N.A.M., México, 97 pp.
- Degrouchy, J. y C. Turleau. 1977. *Clinical Atlas of Human Chromosomes*. John Wiley & Sons, New York, 270-271 pp.
- Hall, E. R. 1981. *The Mammals of North America*. Second ed. John Wiley & Sons, New York, 2:601-1181+90.
- Hoffmann, R. S. y J. W. Koepl. 1985. Zoogeography. Pp. 84-115, in *Biology of new world Microtus* (R. H. Tamarin,

- ed.). Special Publ. No. 8 Amer. Soc. Mammalogist, 893 pp.
- Judd, S. R. 1980. Observations of the chromosome variation in Microtus mexicanus (Rodentia:Muridae). Mamm. Chromosome Newsl, 21(3):110-113.
- Lee, M. R. y F. F. B. Elder. 1977. Karyotypes of eight species of mexican rodents (Muridae). J. Mamm., 58:479-487.
- . 1980. Yeast stimulation of bone marrow mitosis for cytogenetic investigations. Cytogenet Cell Genet., 26:36-40.
- Levan, A., K. Fredga y A. Sandberg. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. Hereditas, 52:201-220.
- Martínez, V. J. 1991. Comparación cromosómica y morfométrica entre Microtus mexicanus fulviventer y Microtus oaxacensis. Tesis de Maestria, Facultad de Ciencias, UNAM., 56pp.
- Matthey, R. 1957. Cytologie comparee, systematique et phylogenie des Microtinae (Rodentia-Muridae). Revue Suisse Zoologie, 48:27-37.
- Mettler, L. E. y T. G. Gregg. 1972. Genética de las poblaciones y evolución. UTEHA, México, 220 pp.
- Modi, W. S. 1987a. C banding analyses and the evolution heterochromatin among arvicolid rodents. J. Mamm., 68(3):704-714.
- . 1987b. Phylogenetic analyses of chromosomal banding patterns among the Neartic arvicolidae (Mammalia: Rodentia). Syst. Zool., 36(2):109-136.
- Robles de B. M. 1982. Análisis del aprovechamiento de la madera de la región del Cofre de Perote, Veracruz. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias. U.N.A.M. México, 189 pp.

- Rodríguez, F. 1974. Estudios citogenéticos en Neotomodon alstoni perotensis Merriami 1898. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias. U.N.A.M., México, 70 pp.
- Seabright, M. 1971. A rapid banding for human chromosomes. *Lancet*, *ii*:971-972.
- S.E.D.U.E. 1985. Parque Nacional "Malinche o Matlalcoyatl" programa de manejo. S.E.D.U.E, 28 pp.
- Soto, M. C., Coll, H. A. 1975. La zona árida de Querétaro: su análisis y aprovechamiento. *Boletín del Instituto de Geografía, U.N.A.M.*, 6:117-152.
- Summer, A. T., H. J. Evans y R. Buckland. 1971. New technique for distinguishing between human chromosomes. *Nature new Biol*, 232:31-32.
- Tamarin, R. 1985. Biology of new world Microtus. *The American Society of Mammalogists*, 893 pp.
- Uribe, M. 1977. Estudios citogenéticos en algunas especies de roedores y lagomorfos de México. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias. U.N.A.M., México, 169 pp.
- Uribe-Alcocer, M., A. Laguarda-Figueras y F. Rodríguez-Romero. 1977. The chromosomes of a population of Microtus mexicanus (Muridae-Rodentia) of central Mexico. *An. Inst. Biol.*, México, 48:57-63.
- Wilhelm, D. E. Jr. 1982. Zoogeographic and evolutionary relationships of selected populations of Microtus mexicanus. *Occas. Papers Mus., Texas Tech Univ.*, 75:1-30.

Tabla 1.--Comparación cromosómica entre las subespecies de Microtus mexicanus.

	2n	NF	M	Sm	St	A	X	Y
<u>M. mexicanus</u> (Matthey, 1957)	44	54,56	2	4		15	Sm	A
<u>M. mexicanus</u> <u>mexicanus</u> (Uribe <u>et al.</u> , 1977).	48	58	4	2		17	A	A
<u>M. mexicanus</u> <u>mogollonensis</u> (Judd, 1980).	44	54	2	3	1	15	St	A
<u>M. mexicanus</u> <u>quadalupensis</u> (Judd, 1980; Wilhelm, 1982)	44	54	2	3	1	15	St	A
<u>M. mexicanus</u> <u>fulviventris</u> (Martinez, 1991).	48	58	4	2		17	T	T

2n = Número diploide.

X = Cromosoma sexual X

NF = Número Fundamental

Y = Cromosoma sexual Y

M = Metacéntrico.

Sm = Submetacéntrico.

St = Subtelocéntrico.

A = Acrocéntrico = T

Tabla 2.--Número diploide (2n), número fundamental (NF) y clasificación de los cromosomas para las subespecies de Microtus mexicanus examinadas en el presente estudio.

	2n	NF	M	Sm	St	A	X	Y
<u>M. mexicanus</u>								
<u>mexicanus</u>								
TEXCOCO	48	58	4	2		17	T	T
MALINCHE	48	58	4	2		17	T	T
PEROTE	48	58	4	2		17	T	T
<u>M. mexicanus</u>								
<u>phaeus</u>								
QUERETARO	48	58	4	1	1	17	T	T

2n = Número diploide.

X = Cromosoma sexual X

NF = Número Fundamental

Y = Cromosoma sexual Y

M = Metacéntrico.

Sm = Submetacéntrico.

St = Subtelocéntrico.

A = Acrocéntrico = T



Tabla 3.—Promedio de los valores absolutos de las longitudes de los brazos cromosómicos (largos= $\bar{q}$ , cortos= $\bar{p}$ ) y la suma de ambos ( $\bar{q+p}$ ) de los pares cromosómicos de *Microtus mexicanus mexicanus* de Texcoco, Malinche, Perote y *M. s. phaeus* de Querétaro  
n=número de campos mitóticos medido.

Par	Texcoco (n=30)					Malinche (n=24)					Perote (n=26)					Querétaro (n=24)					
	$\bar{q}$	$\bar{Sq}$	$\bar{p}$	$\bar{Sp}$	$\bar{Sp+q}$	$\bar{q}$	$\bar{Sq}$	$\bar{p}$	$\bar{Sp}$	$\bar{Sp+q}$	$\bar{q}$	$\bar{Sq}$	$\bar{p}$	$\bar{Sp}$	$\bar{Sp+q}$	$\bar{q}$	$\bar{Sq}$	$\bar{p}$	$\bar{Sp}$	$\bar{Sp+q}$	
1	10.23	1.00	6.10	0.89	1.89	10.86	1.17	6.44	1.13	2.30	6.91	1.96	4.59	1.28	3.24	15.05	1.00	4.96	0.20	1.20	
2	9.37	1.35	6.05	0.99	2.34	9.98	0.86	6.20	1.01	1.87	7.25	1.72	4.22	0.72	2.44	8.31	0.45	5.54	0.40	0.85	
3	6.56	1.01	5.76	0.75	1.76	5.73	0.76	6.40	0.77	1.53	5.05	1.23	3.88	0.80	2.03	5.43	0.45	4.40	0.42	0.87	
4	7.58	1.09	4.08	0.66	1.75	7.12	1.22	3.80	0.46	1.68	5.60	1.22	3.21	0.76	1.98	6.09	0.94	3.30	0.18	1.12	
5	2.30	0.49	2.12	0.42	0.91	2.50	0.27	1.95	0.14	0.41	1.59	0.28	1.50	0.29	0.57	1.90	0.09	1.70	0.10	0.19	
6	2.03	0.26	1.88	0.64	0.90	1.95	0.16	1.90	0.11	0.27	1.36	0.55	1.31	0.26	0.81	1.69	0.22	1.49	0.03	0.25	
7	14.81	2.83			2.83	17.90	2.38			2.38	10.28	3.07			3.07	14.81	0.68			0.68	
8	8.61	1.86			1.86	10.83	1.99			1.99	6.54	2.22			2.22	9.34	0.98			0.98	
9	8.25	0.89			0.89	9.34	0.54			0.54	5.92	1.50			1.50	7.92	0.78			0.78	
10	7.50	1.09			1.09	8.87	1.14			1.14	5.38	1.50			1.50	6.92	0.21			0.21	
11	6.43	0.73			0.73	7.66	0.91			0.91	4.68	1.15			1.15	5.88	0.48			0.48	
12	5.94	0.99			0.99	6.68	0.75			0.75	4.51	1.16			1.16	5.38	0.17			0.17	
13	5.73	0.80			0.80	6.40	0.49			0.49	4.41	1.09			1.09	5.35	0.48			0.48	
14	5.66	1.18			1.18	5.85	0.59			0.59	4.29	0.64			0.64	5.18	0.19			0.19	
15	5.25	0.68			0.68	6.00	0.55			0.55	4.15	0.65			0.65	5.00	0.80			0.80	
16	5.23	0.79			0.79	5.42	0.40			0.40	3.73	0.97			0.97	4.63	0.24			0.24	
17	5.18	0.70			0.70	5.29	0.53			0.53	3.65	0.78			0.78	4.42	0.33			0.33	
18	4.87	0.63			0.63	5.09	0.46			0.46	3.51	0.93			0.93	4.30	0.56			0.56	
19	4.82	0.59			0.59	5.08	0.55			0.55	3.39	0.59			0.59	4.10	0.09			0.09	
20	4.77	0.93			0.93	5.17	0.41			0.41	3.38	0.72			0.72	4.02	0.57			0.57	
21	4.69	0.40			0.40	4.80	0.60			0.60	3.19	0.81			0.81	3.87	0.31			0.31	
22	4.44	0.67			0.67	4.69	0.18			0.18	3.14	0.71			0.71	3.59	0.70			0.70	
23	3.88	0.38			0.38	4.55	0.41			0.41	3.04	0.70			0.70	2.41	0.44			0.44	
X	11.87	1.73			1.73	11.04	1.59			1.59	9.49	2.44			2.44	9.87	1.54			1.54	
Y	5.01	1.20			1.20	5.79	1.13			1.13	5.79	2.70	0.52			0.52	4.70	0.30			0.30

Tabla 4.--Promedio de los valores relativos de las longitudes de los brazos cromosómicos (largos= $\bar{q}$ , cortos= $\bar{p}$ ) y la suma de ambos ( $\bar{q}+\bar{p}$ ) de los pares cromosómicos de Microtus mexicanus mexicanus de Texcoco, Malinche, Perote y M. m. phaeus de Querétaro.

Par	Texcoco			Malinche			Perote			Querétaro		
	$\bar{q}$	$\bar{p}$	$\bar{q}+\bar{p}$	$\bar{q}$	$\bar{p}$	$\bar{q}+\bar{p}$	$\bar{q}$	$\bar{p}$	$\bar{q}+\bar{p}$	$\bar{q}$	$\bar{p}$	$\bar{q}+\bar{p}$
1	5.47	3.26	8.73	5.40	3.20	8.60	5.05	3.35	8.40	4.85	3.17	8.02
2	5.01	3.24	8.25	4.96	3.07	8.03	5.30	3.08	8.38	8.78	2.89	11.67
3	3.51	3.08	6.59	3.16	2.85	6.01	3.69	2.84	6.53	3.17	2.57	5.74
4	4.05	2.18	6.23	3.54	1.88	5.42	4.09	2.35	6.44	3.55	1.92	5.47
5	1.23	1.13	2.36	1.24	0.97	2.21	1.16	1.10	2.26	1.11	0.99	2.10
6	1.09	1.01	2.10	0.97	0.95	1.92	0.99	0.96	1.95	0.99	0.87	1.86
7	7.92		7.92	8.90		8.90	7.51		7.51	8.64		8.64
8	4.60		4.60	5.38		5.38	4.78		4.78	5.45		5.45
9	4.41		4.41	4.64		4.64	4.33		4.33	4.62		4.62
10	4.01		4.01	4.41		4.41	4.03		4.03	4.04		4.04
11	3.44		3.44	3.81		3.81	3.93		3.93	3.43		3.43
12	3.18		3.18	3.32		3.32	3.42		3.42	3.14		3.14
13	3.06		3.06	3.19		3.19	3.22		3.22	3.12		3.12
14	3.03		3.03	2.99		2.99	3.14		3.14	3.02		3.02
15	2.81		2.81	2.91		2.91	3.03		3.03	2.92		2.92
16	2.80		2.80	2.69		2.69	2.73		2.73	2.70		2.70
17	2.77		2.77	2.63		2.63	2.67		2.67	2.58		2.58
18	2.60		2.60	2.57		2.57	2.57		2.57	2.51		2.51
19	2.58		2.58	2.53		2.53	2.48		2.48	2.39		2.39
20	2.55		2.55	2.53		2.53	2.47		2.47	2.34		2.34
21	2.51		2.51	2.38		2.38	2.33		2.33	2.26		2.26
22	2.37		2.37	2.33		2.33	2.29		2.29	2.09		2.09
23	2.08		2.08	2.23		2.23	2.22		2.22	1.41		1.41
X	6.35		6.35	5.49		5.49	6.94		6.94	5.76		5.76
Y	2.68		2.68	2.88		2.88	1.97		1.97	2.74		2.74

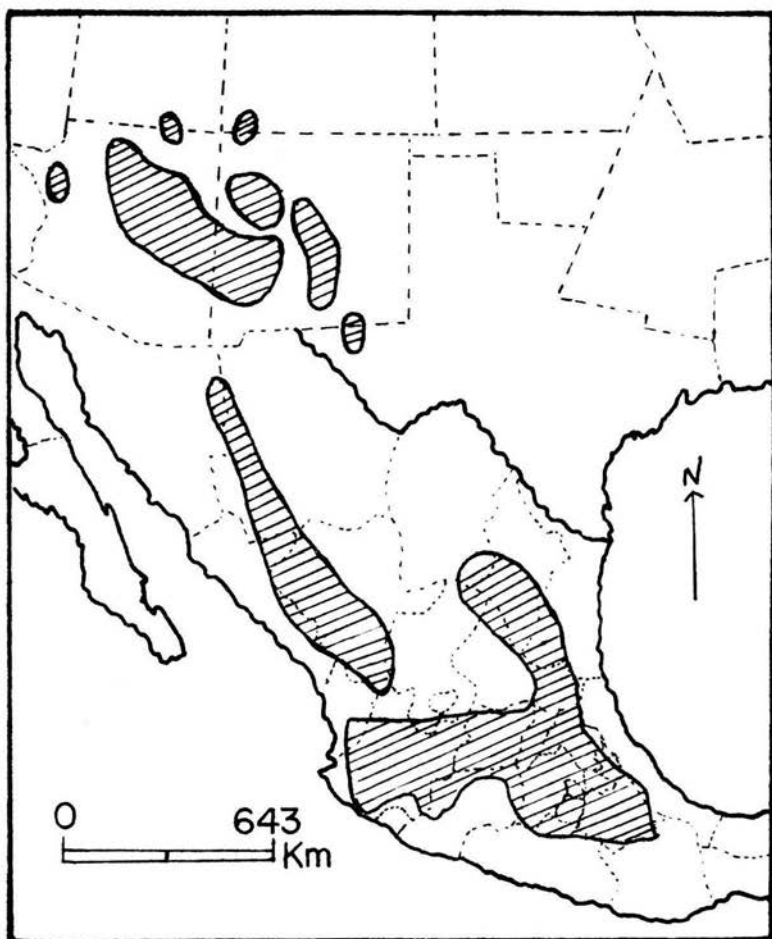


Fig 1.-Distribución geográfica del ratón meteorito *Microtus mexicanus* (Hall, 1981).

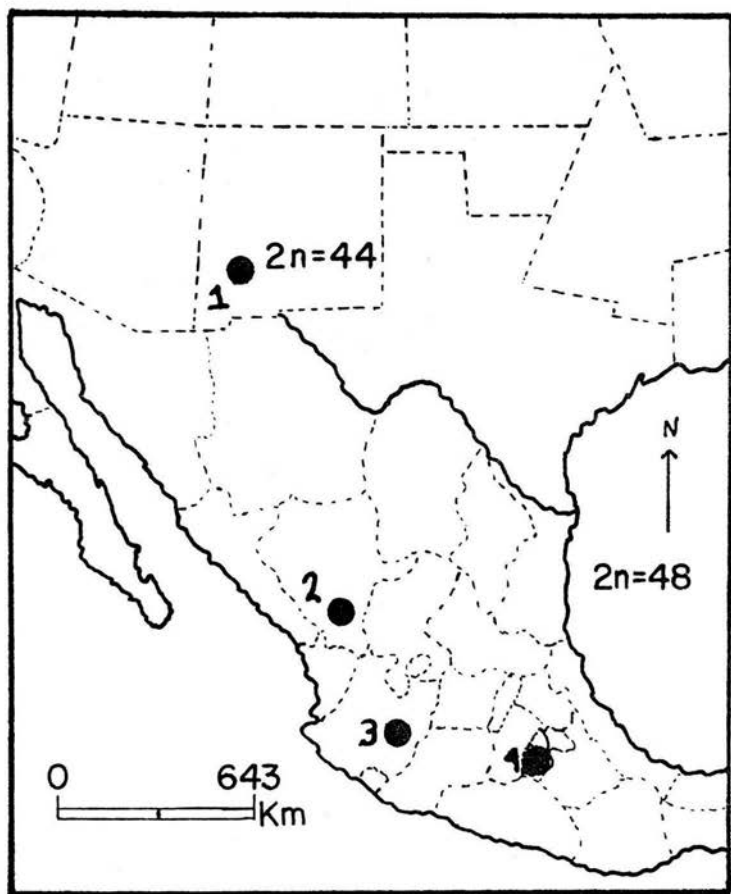


Fig. 2.-Localidades de procedencia de cariotipos examinados del ratón meteorito *Microtus mexicanus*: 1, Nuevo México; 2, Durango; 3, Jalisco y 4, Valle de México (Judd, 1980; Lee y Elder, 1977; Modi, 1987; Uribe et al., 1977; Wilhelm, 1982).

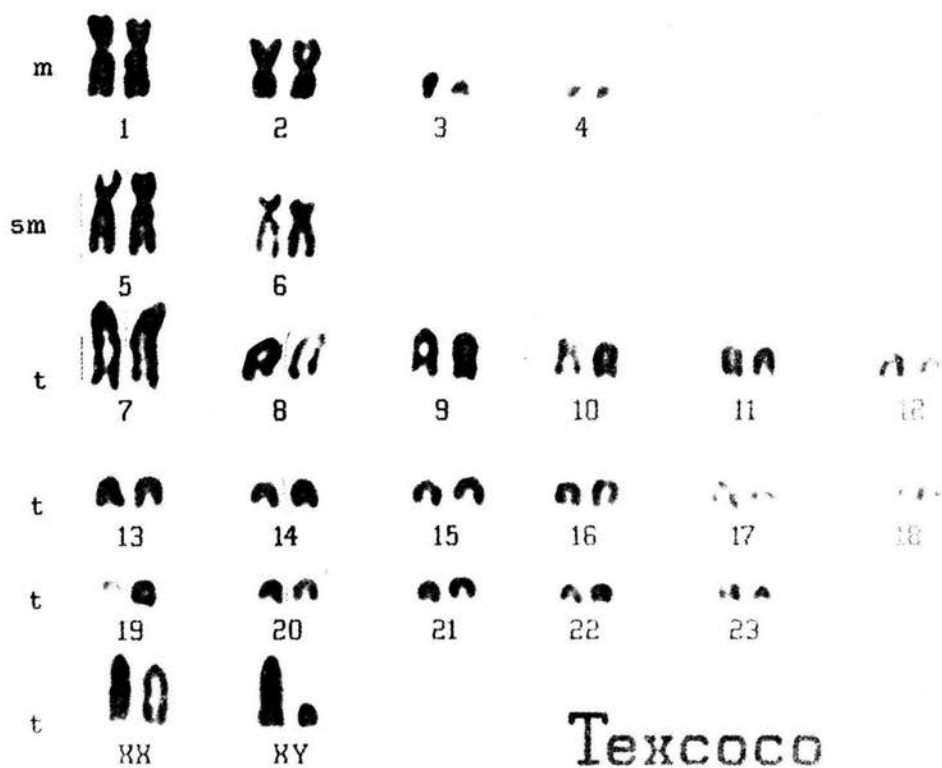


Fig. 3.-- Cariotipo de *Microtus mexicanus mexicanus* (IBUNAM 27395 hembra, IBUNAM 29006 macho) de 4 km S, 12 Km W de Texcoco, 2250m. m=metacéntrico, sm=submetacéntrico, t=telocéntrico.

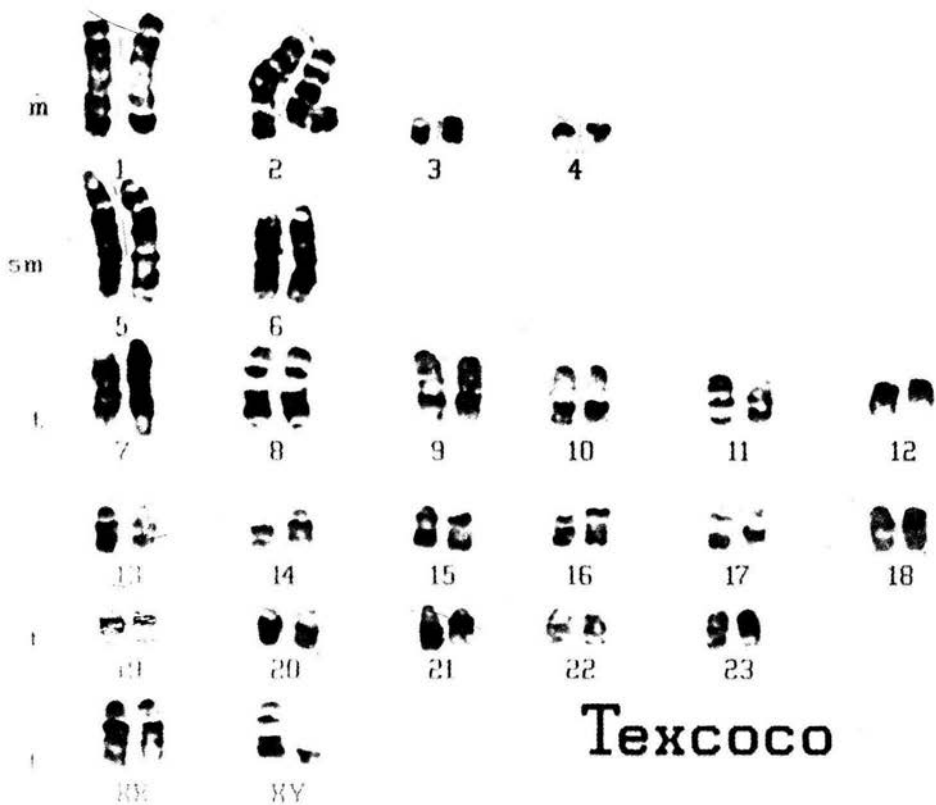


Fig. 4.—Bandas cromosómicas G de *Microtus mexicanus mexicanus* (IBUNAM 27395 hembra, IBUNAM 29004 macho) de 4 Km S, 12 Km W de Texcoco, 2250m. m=metacéntrico, sm=submetacéntrico, t=telocéntrico.

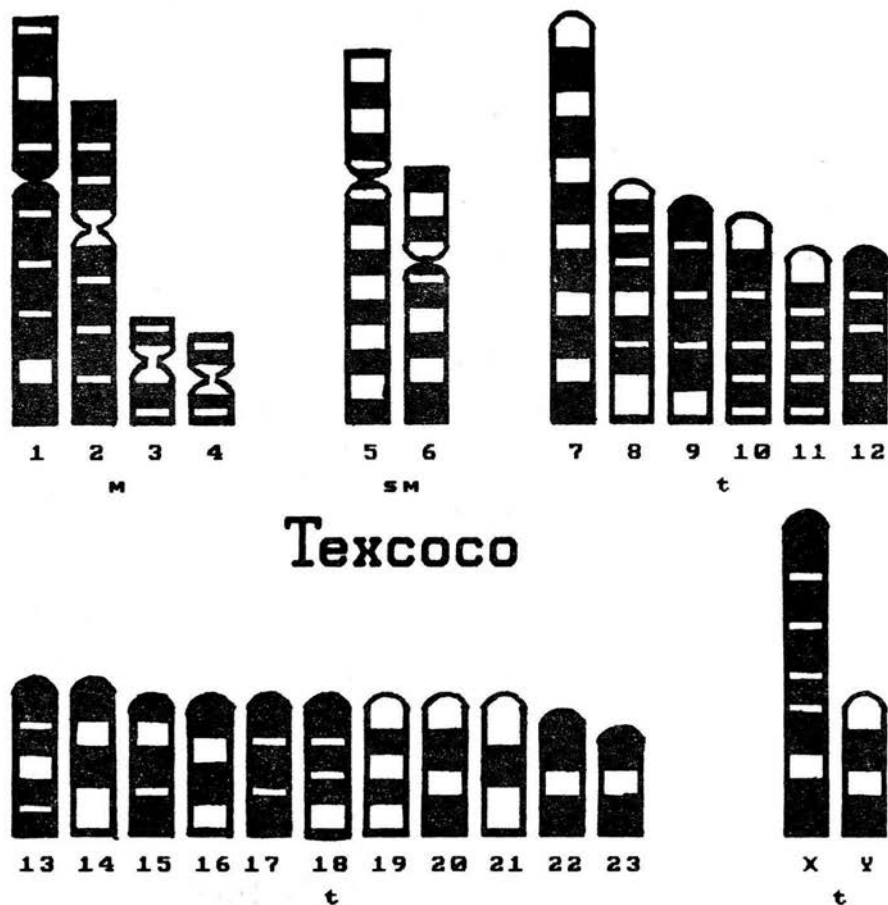


Fig. 5.-Idiograma del patrón de bandas cromosómicas G de *Microtus mexicanus mexicanus* (IBUNAM 29004 macho) de 4 Km S, 12 Km W de Texcoco, 2250m. m=metacéntrico, sm=submetacéntrico, t=telocéntrico.

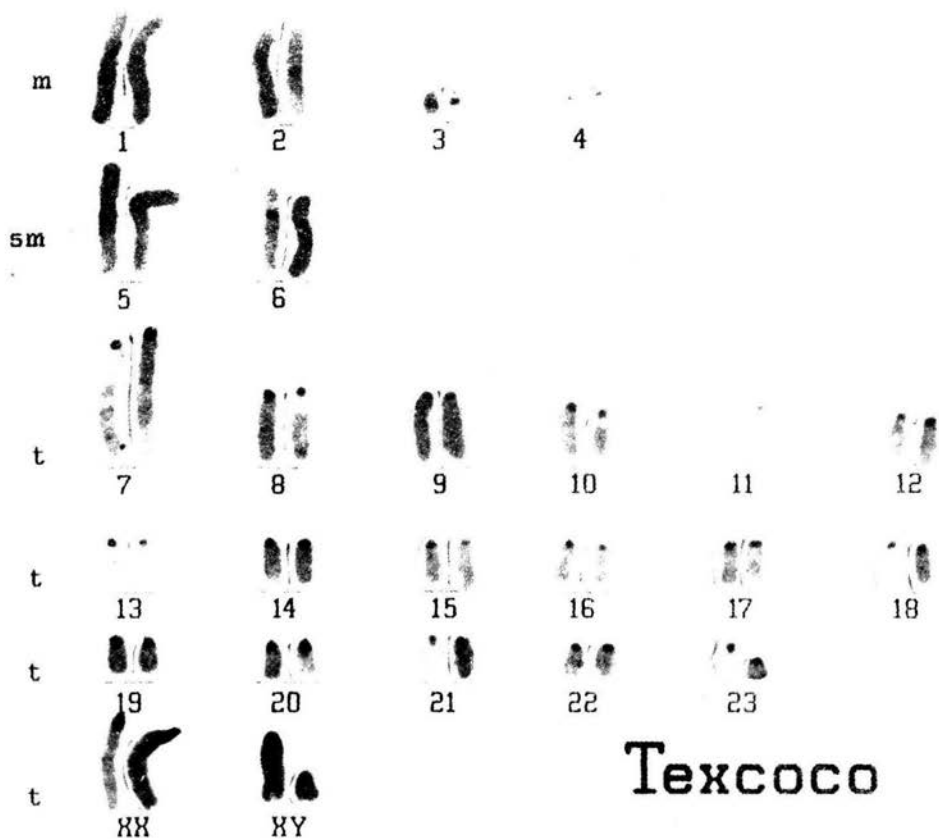
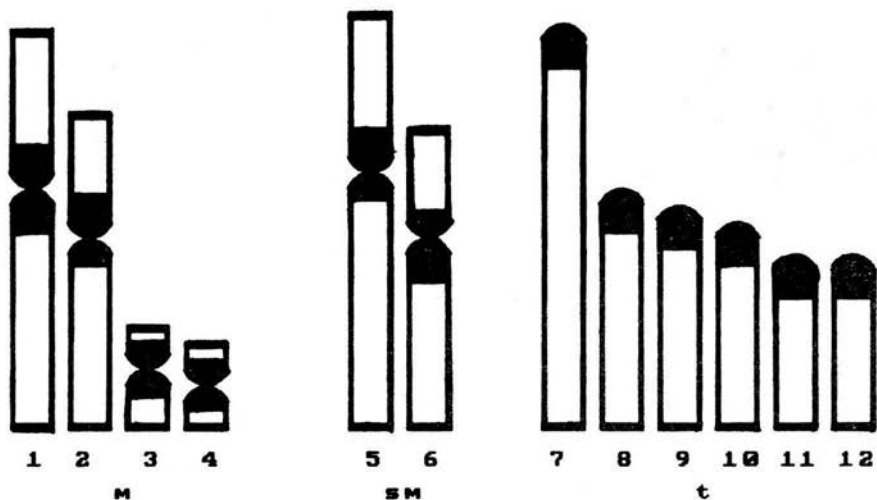


Fig. 6.--Bandas cromosómicas C de *Microtus mexicanus mexicanus* (IBUNAM 27396 hembra, IBUNAM 29005 macho) de 4 Km S, 12 Km W de Texcoco, 2250m. m=metacéntrico, sm=submetacéntrico, t=telocéntrico.





## Texcoco

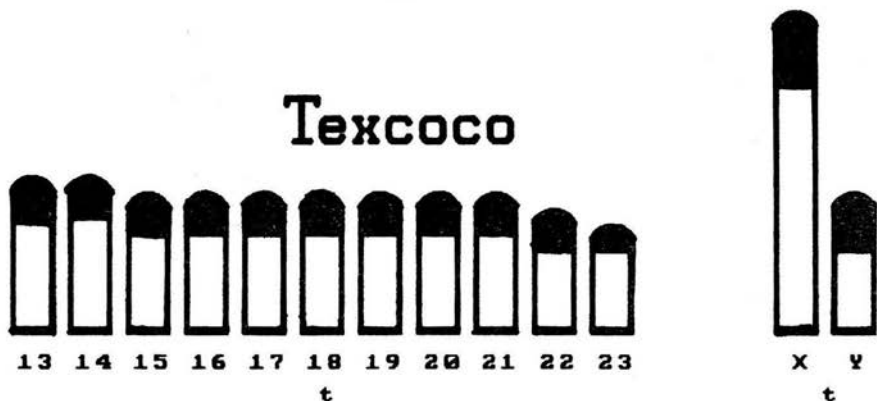


Fig. 7--Idiograma con patrón de bandas cromosómicas C de *Microtus mexicanus mexicanus* (IBUNAM 29005 macho) de 4 Km S, 12 Km W de Texcoco, 2250m. m=metacéntrico, sm=submetacéntrico, t=telocéntrico.

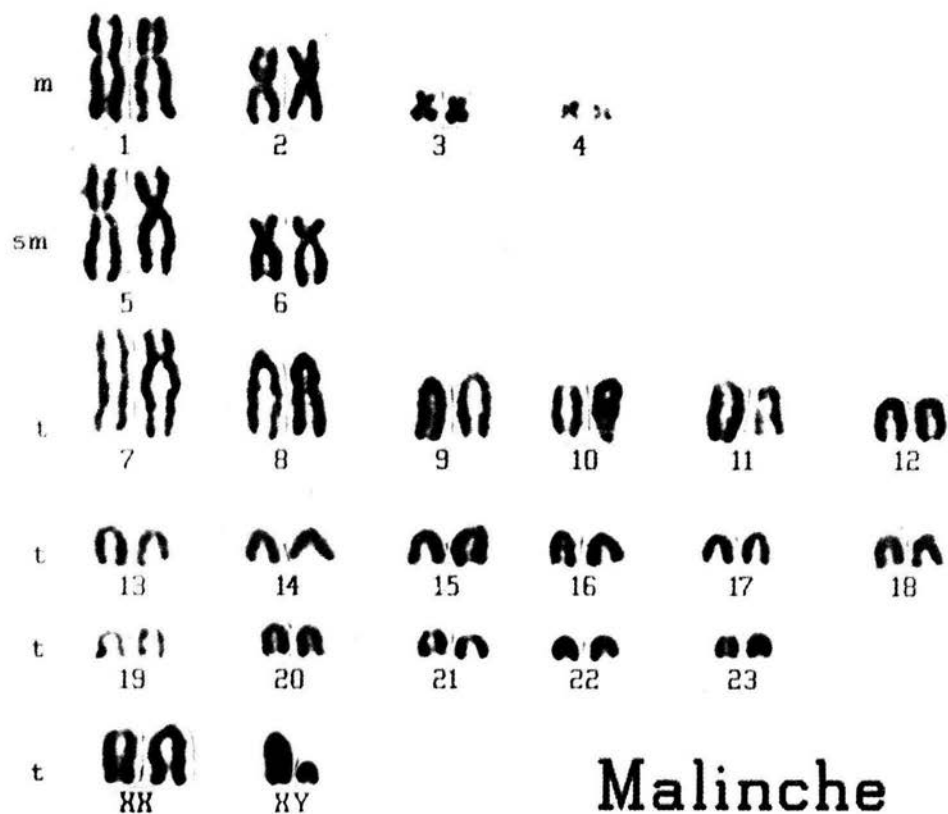


Fig. 8.--Cariotipo de *Microtus mexicanus mexicanus* (IBUNAM 27476 hembra, IBUNAM 29250 macho) de 4 Km S, Centro Vacacional IMSS Malintzi, Municipio Huamantla, Tlaxcala, 3320m. m=metacéntrico, sm=submetacéntrico, t=telocéntrico.

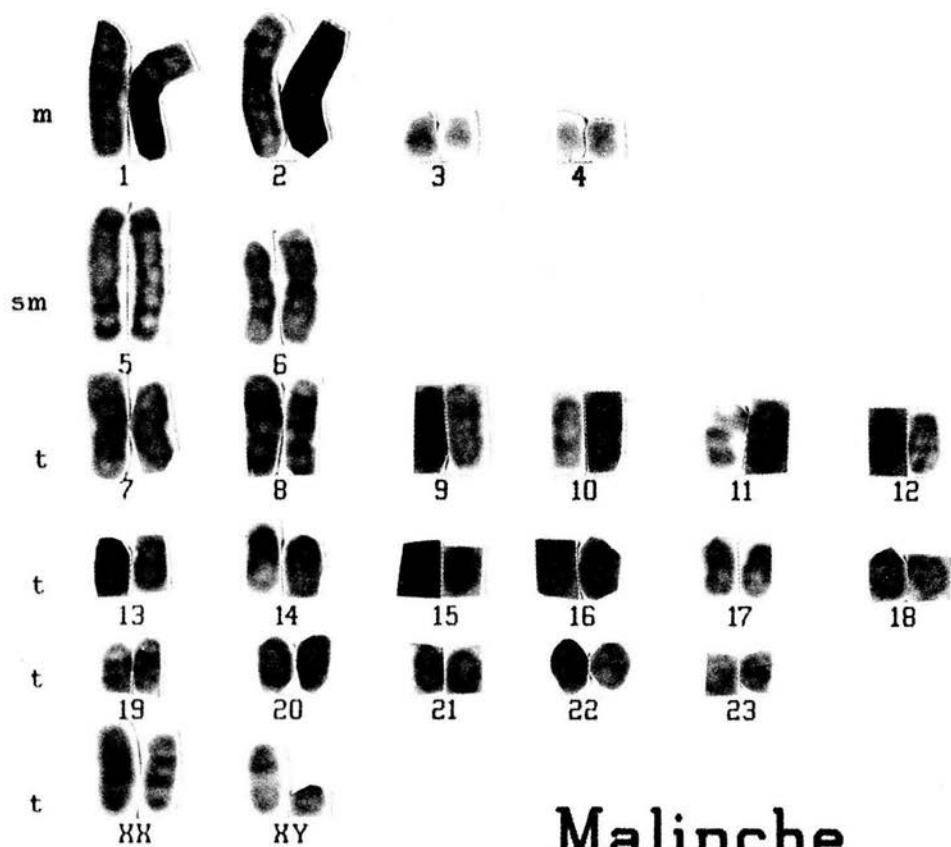
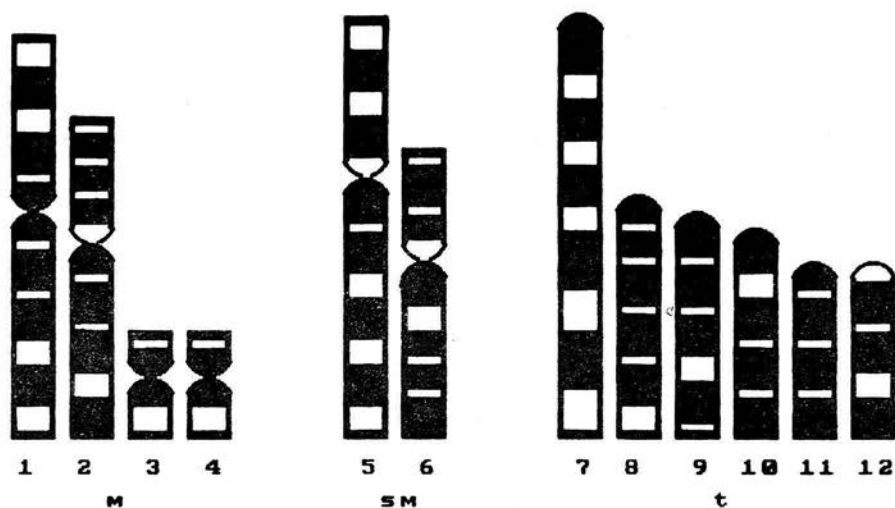


Fig. 9.--Bandas cromosómicas G de *Microtus mexicanus mexicanus*  
 (IBUNAM 27479 hembra, IBUNAM 29246 macho) de 4 Km S, Centro  
 Vacacional IMSS Malintzi, Municipio Huamantla, Tlaxcala, 3320m.  
 m=metacéntrico, sm=submetacéntrico, t=telocéntrico.



## Malinche

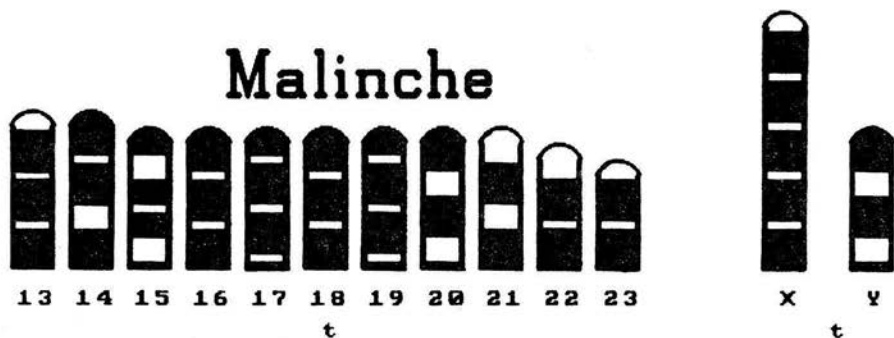


Fig. 10--Idiograma con patrón de bandas cromosómicas G de *Microtus mexicanus mexicanus* (IBUNAM 29246 macho) de 4 Km S, Centro Vacacional IMSS Malintzi, Municipio Huamantla, Tlaxcala, 3320m. m=metacéntrico, sm=submetacéntrico, t=telocéntrico.

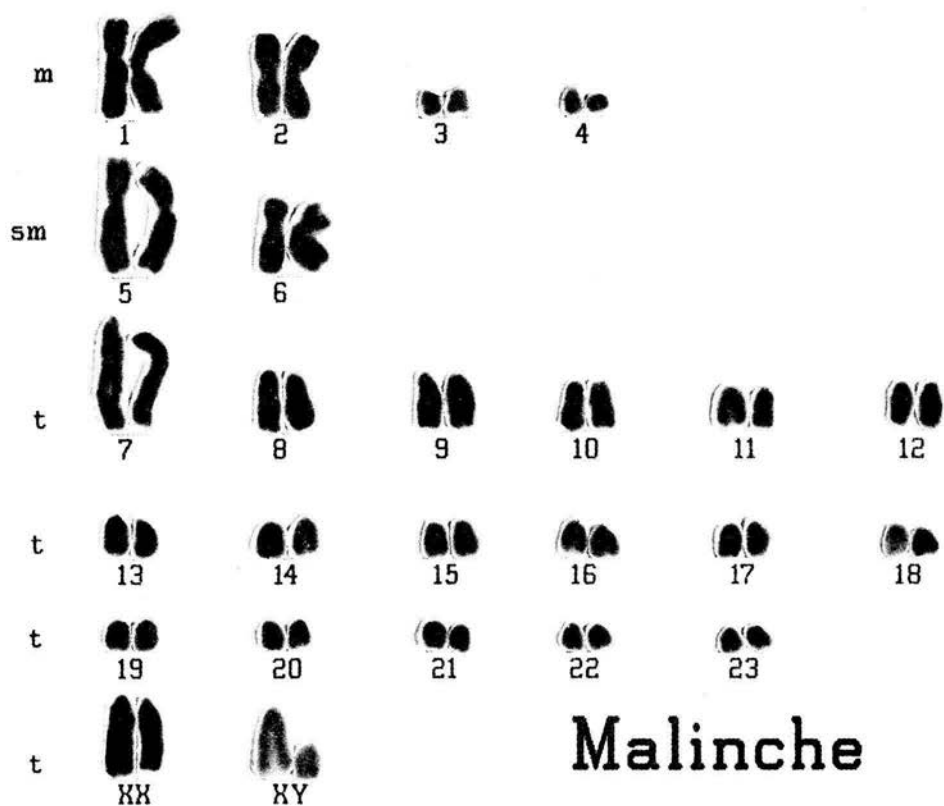
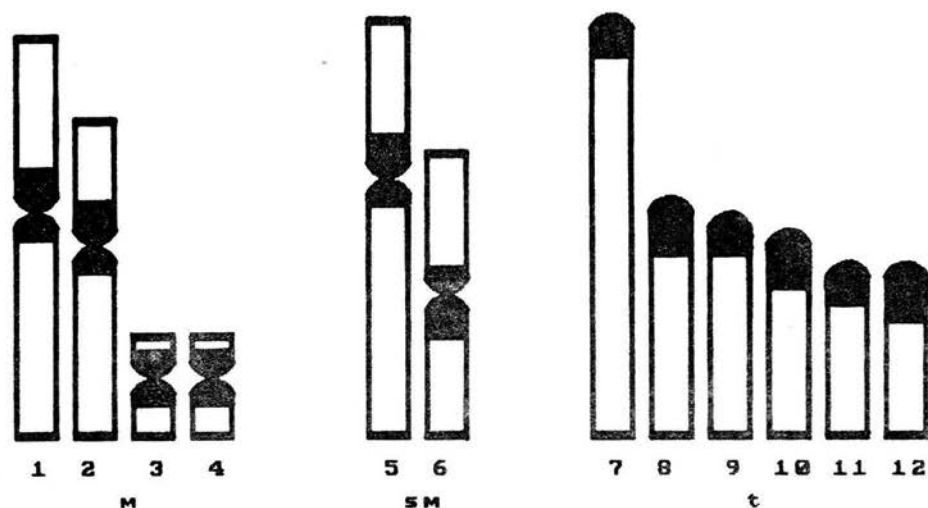


Fig. 11.--Bandas cromosómicas C de *Microtus mexicanus mexicanus* (IBUNAM 27479 hembra, IBUNAM 29246 macho) de 4 Km S Centro Vacacional IMSS Malintzi, Municipio Huamantla, Tlaxcala, 3320m. m=metacéntrico, sm=submetacéntrico, t=telocéntrico.



## Malinche

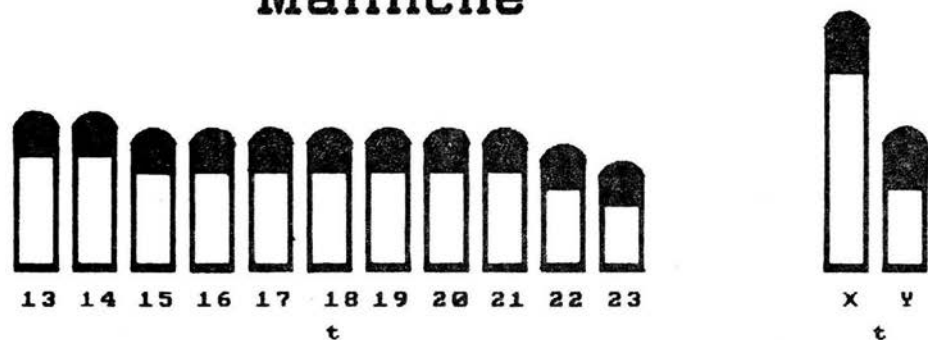


Fig. 12.--Idiograma con patrón de bandas cromosómicas C de *Microtus mexicanus mexicanus* (IBUNAM 29246 macho) de 4 Km S Centro Vacacional IMSS Malintzi, Municipio Huamantla, Tlaxcala, 3320m.  
m=metacéntrico, sm=submetacéntrico, t=telocéntrico.

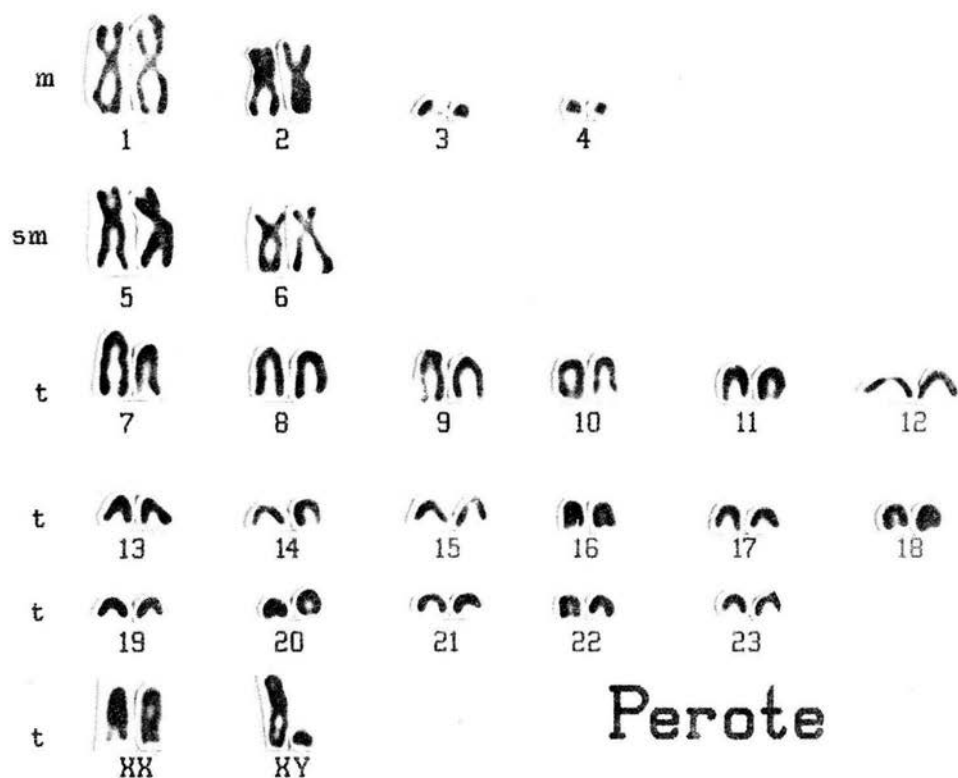


Fig. 13r--Cariotipo de *Microtus mexicanus mexicanus* (IBUNAM 27488 hembra, IBUNAM 27481 macho) de 10 Km SE Perote, Municipio Perote, 3000m. m=metacéntrico, sm=submetacéntrico, t=telocéntrico.

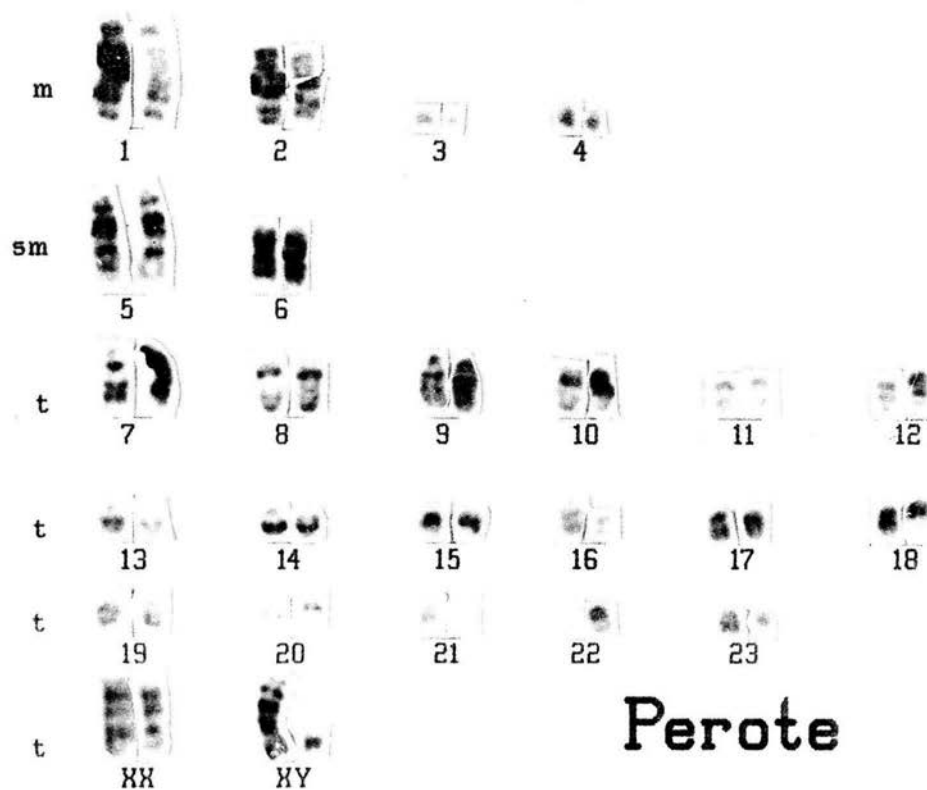
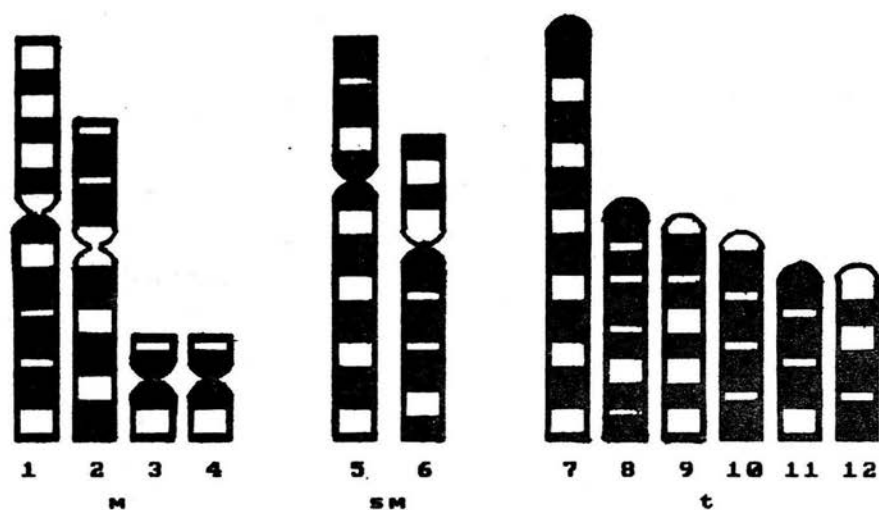


Fig. 14.--Bandas cromosómicas G de *Microtus mexicanus mexicanus*  
 (IBUNAM 27483 hembra, IBUNAM 27481 macho) de 10 Km SE Perote,  
 Municipio Perote, 3000m. m=metacéntrico, sm=submetacéntrico,  
 t=telocéntrico.





## Perote

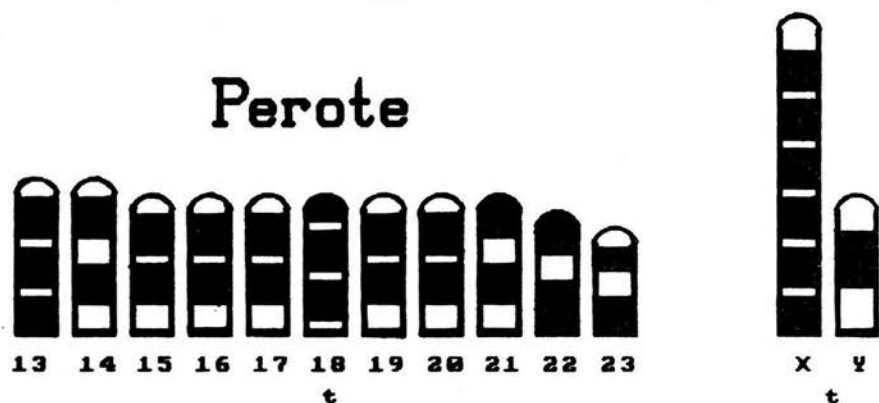


Fig. 15.-Idiograma del patrón de bandas cromosómicas G de *Microtus mexicanus mexicanus* (IBUNAM 27481 macho) de 10 Km SE Perote, Municipio Perote, 3000m. m=metacéntrico, sm=submetacéntrico t=telocéntrico.

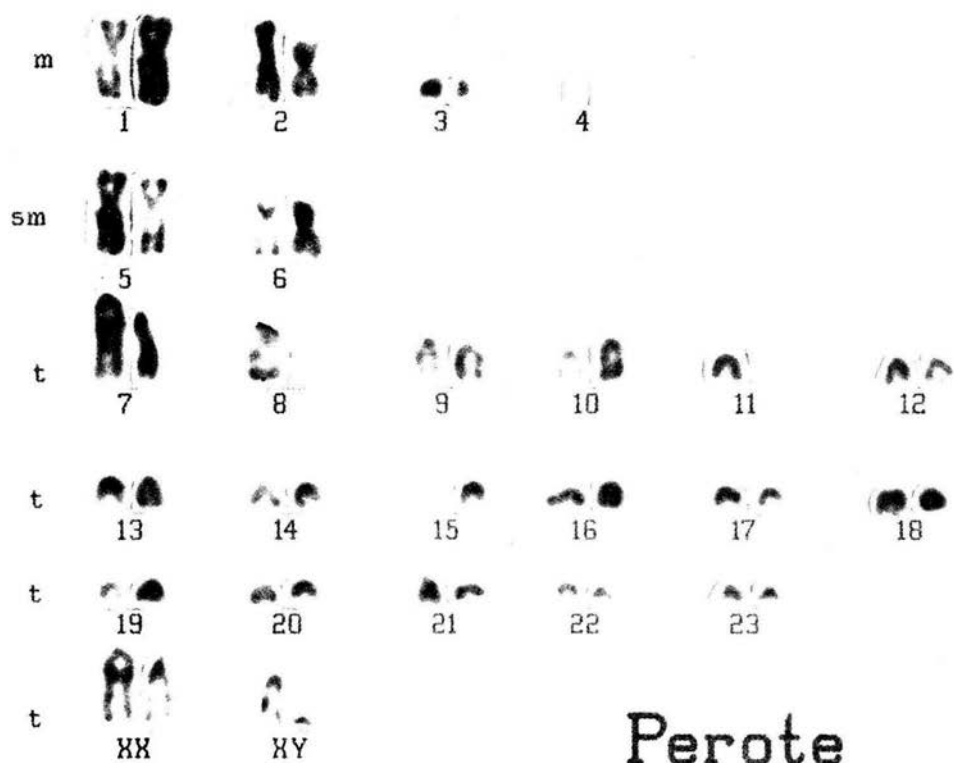


Fig. 16.--Bandas cromosómicas C de *Microtus mexicanus mexicanus* (IBUNAM 27488 hembra, IBUNAM 27481 macho) de 10 Km SE Perote, Municipio Perote, 3000m. m=metacéntrico, sm=submetacéntrico, t=telocéntrico.

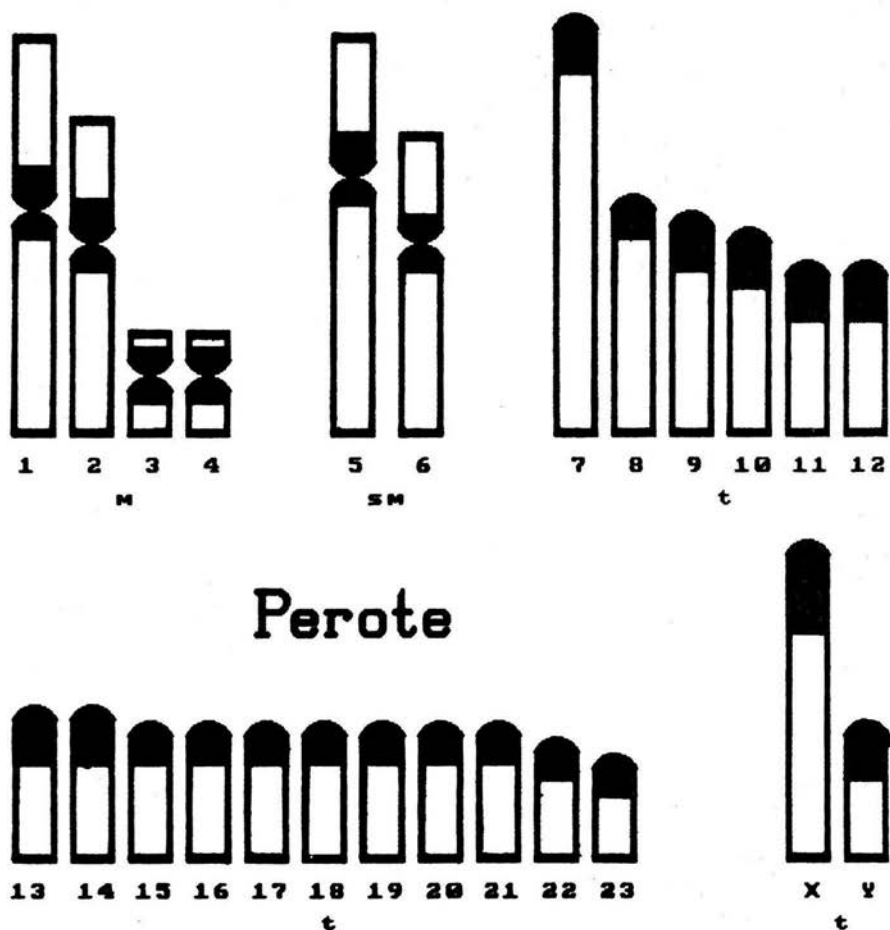


Fig. 17--Idiograma con patrón de bandas cromosómicas C de *Microtus mexicanus mexicanus* (IBUNAM 27481 macho) de 10 Km SE Perote, Municipio Perote, 3000m. m=metacéntrico, sm=submetacéntrico, t=telocéntrico.

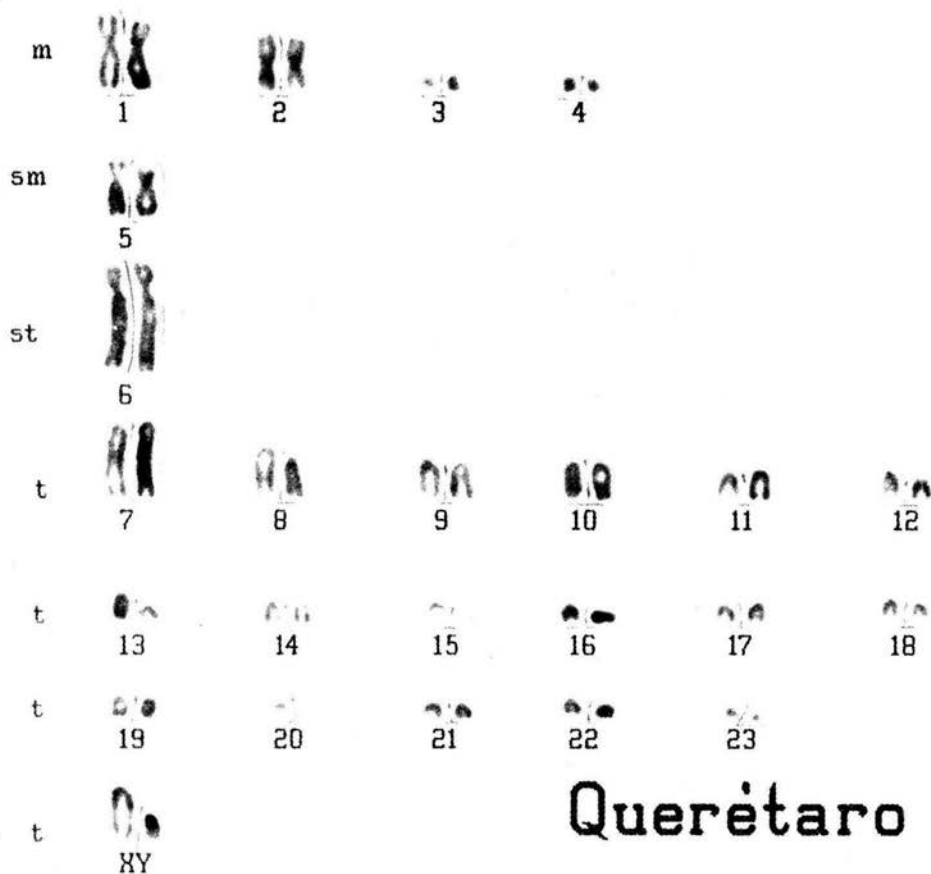


Fig. 18.--Cariotipo de *Microtus mexicanus phaeus* (IBUNAM 29251 macho) de 4 Km SW Pinal de Amoles, Querétaro, 2250m. m=metacéntrico, sm=submetacéntrico, st=subtelocéntrico, t=telocéntrico.

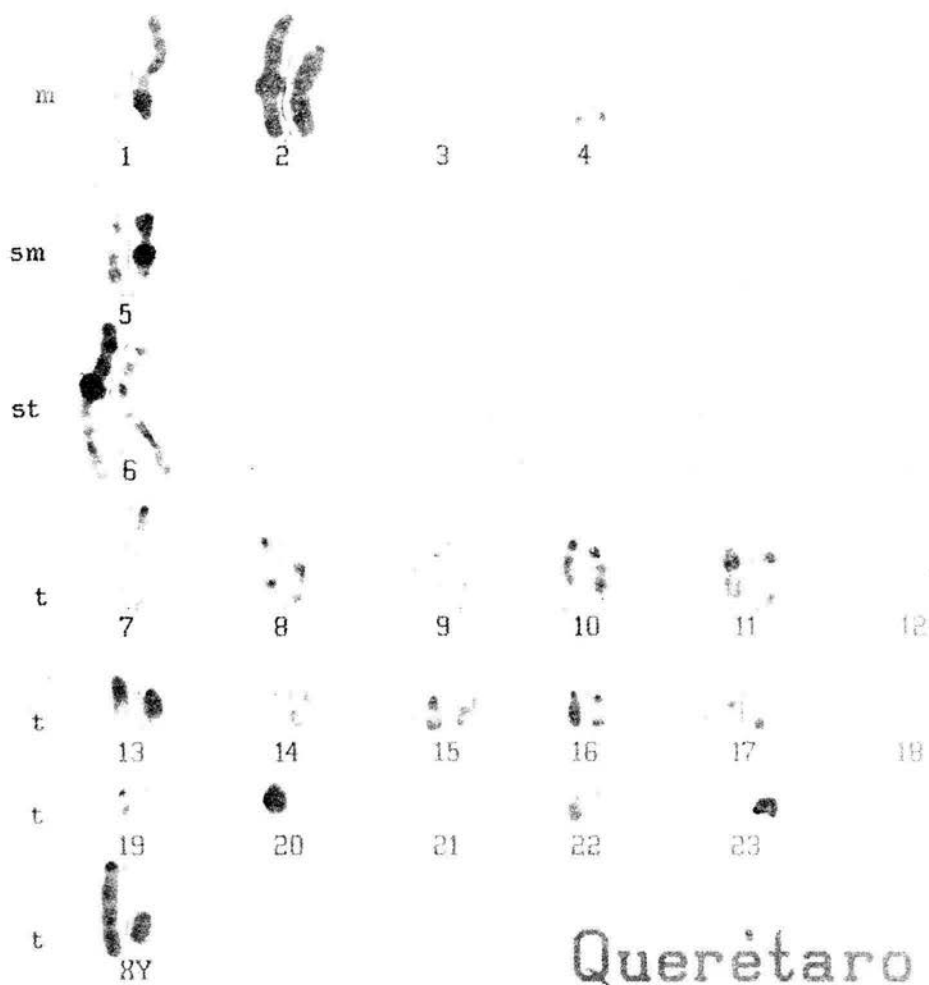


Fig. 19.—Bandas cromosómicas G de *Microtus mexicanus phaena* (IBUNAM 29251 macho) de 4 Km SW Pinal de Amoles, Municipio Pinal de Amoles, Querétaro, 2250m. m=metacéntrica, sm=submetacéntrica, st=subtelocéntrica, t=telocéntrica.



## Querétaro



Fig. 20.--Idiograma con patrón de bandas cromosómicas G de *Microtus mexicanus phaeus* (IBUNAM 29251 macho) de 4 Km SW Pinal de Amoles, Municipio Pinal de Amoles, Querétaro, 2250m. m=metacéntrico, sm=submetacéntrico, st=subtelocéntrico, t=telocéntrico.

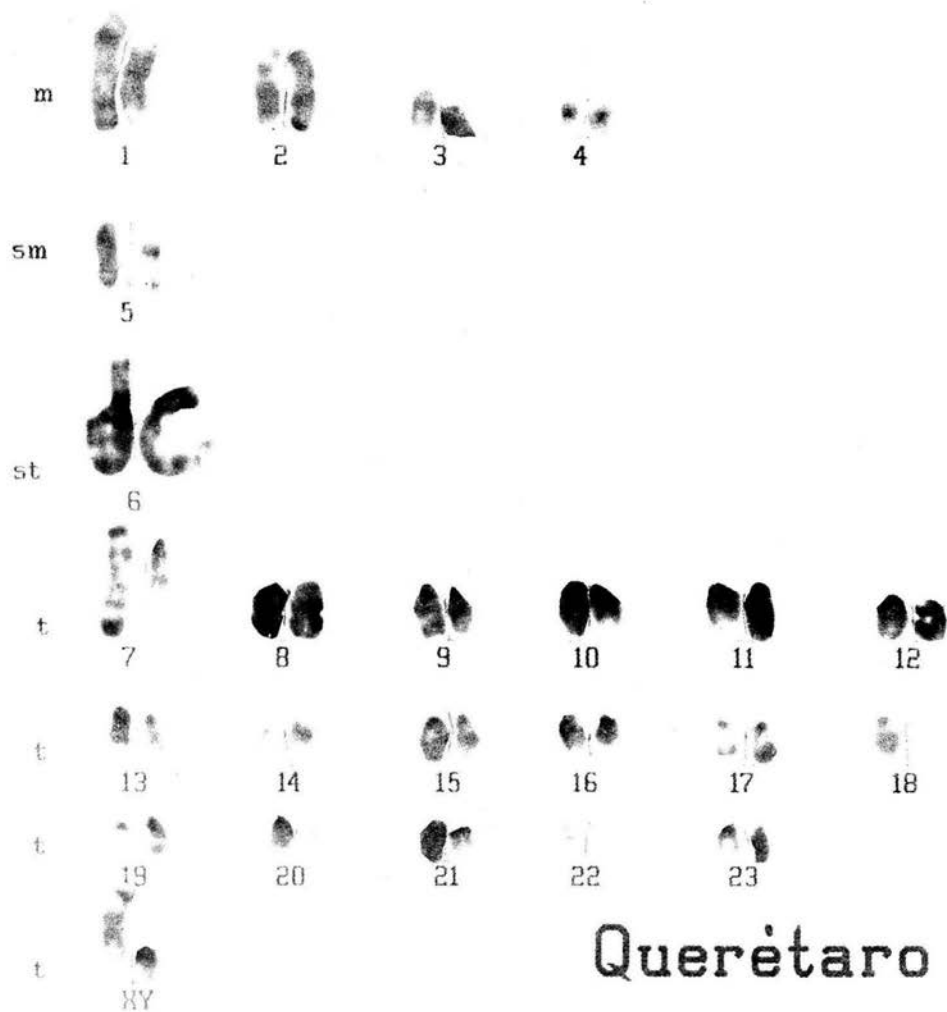
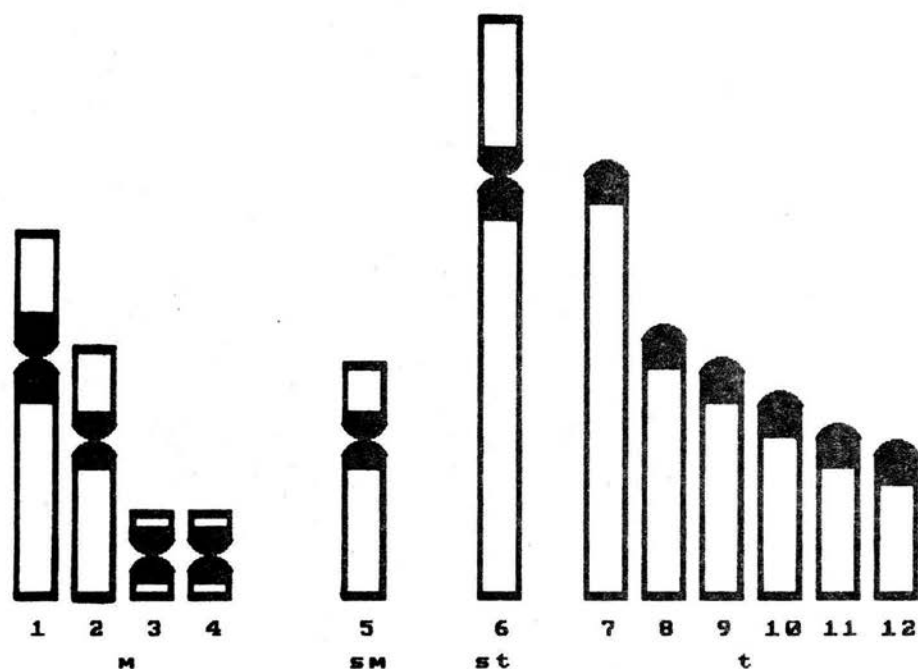


Fig. 21.-Bandas cromosómicas C de *Microtus mexicanus phaeus* (IBUNAM 29252 macho) de 4 Km SW Pinal de Amoles, Municipio Pinal de Amoles, Querétaro, 2250m. m=metacéntrico, sm=submetacéntrico, st=subtelocéntrico, t=telocéntrico.



## Querétaro



Fig. 22.--Idiograma con patrón de bandas cromosómicas C de *Microtus mexicanus phaeus* (IBUNAM 29252 macho) de 4 Km SW Pinal de Amoles, Municipio Pinal de Amoles, Querétaro, 2250m. m=metacéntrico sm=submetacéntrico, st=subtelocéntrico, t=telocéntrico.



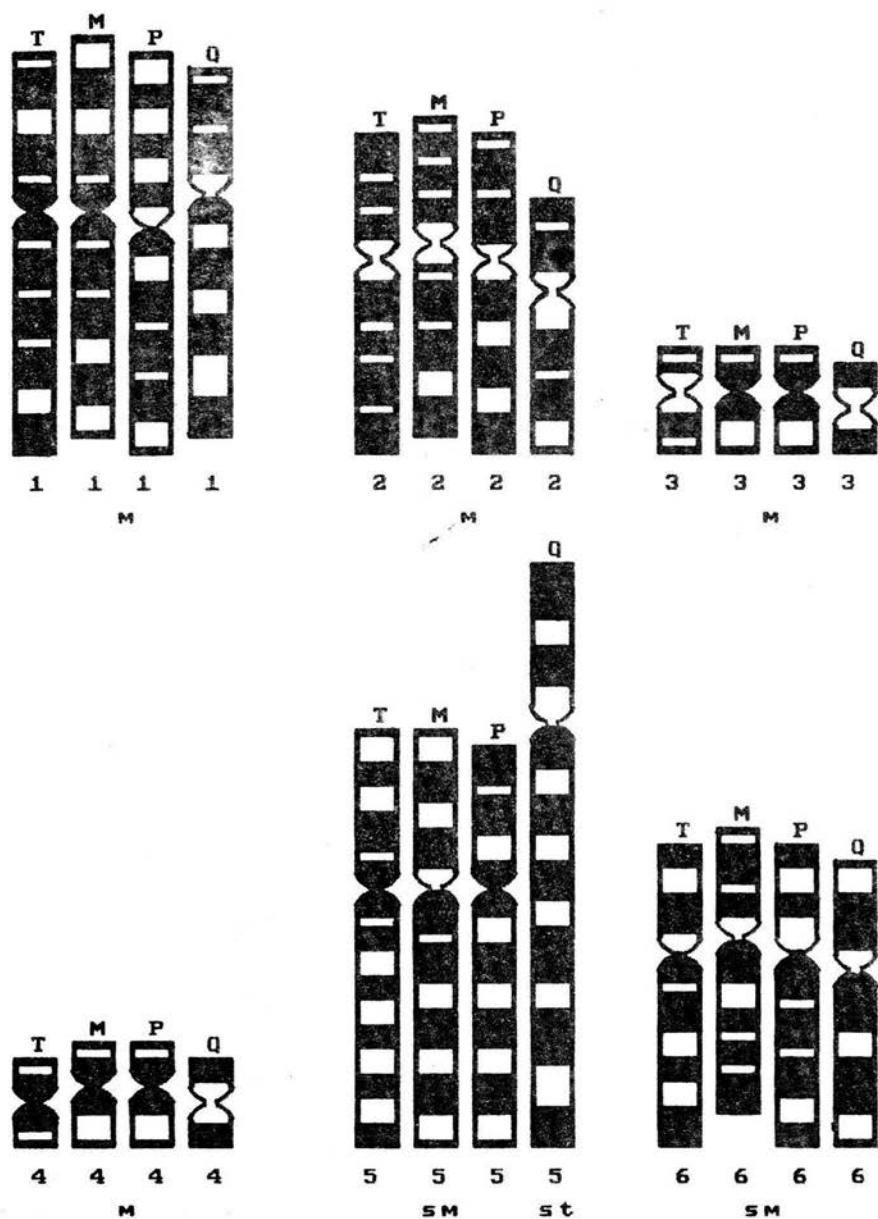


Fig. 23.--Comparación de las bandas cromosómicas G entre 4 poblaciones aisladas de *Microtus mexicanus*. Texcoco (T), Malintzi (M) Perote (P), Querétaro (Q). m=metacéntrico, sm=submetacéntrico, st=subtelocéntrico, t=telocéntrico.

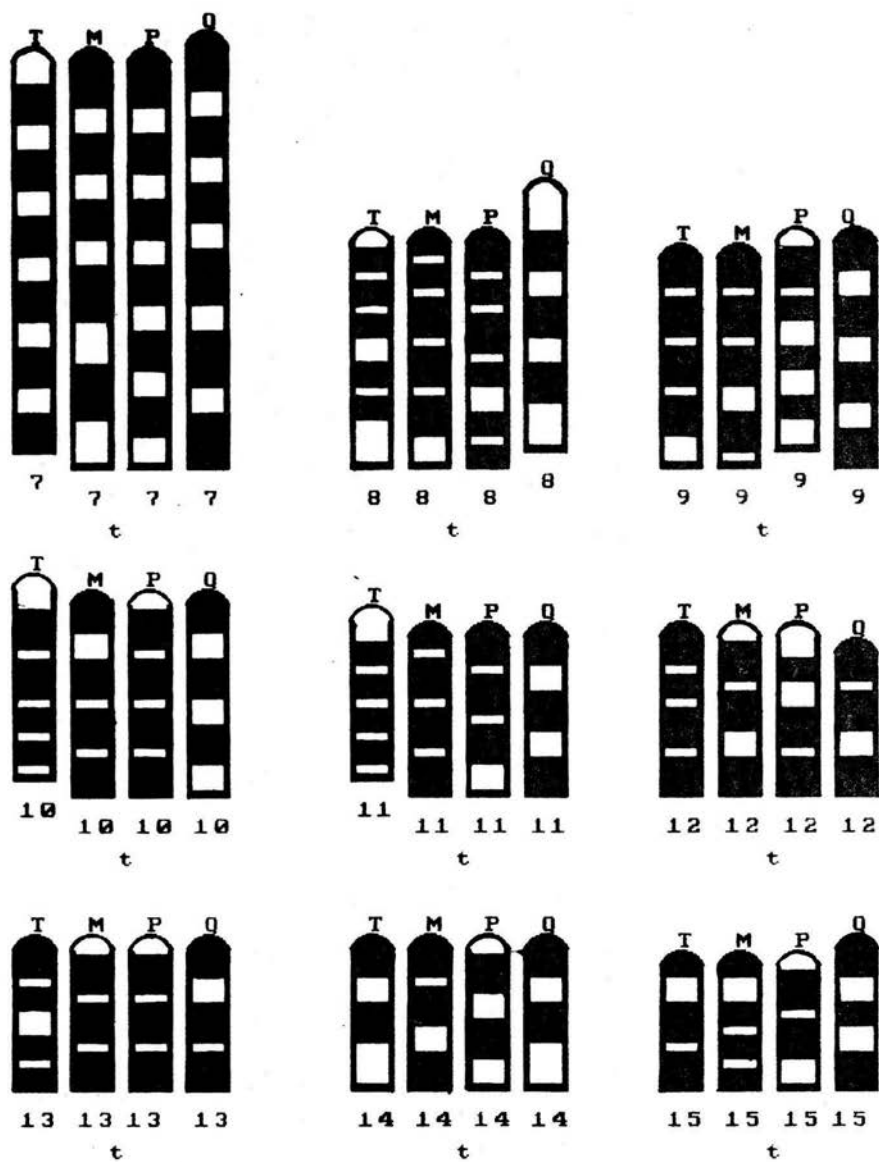


Fig. 23--Continuaci3n.

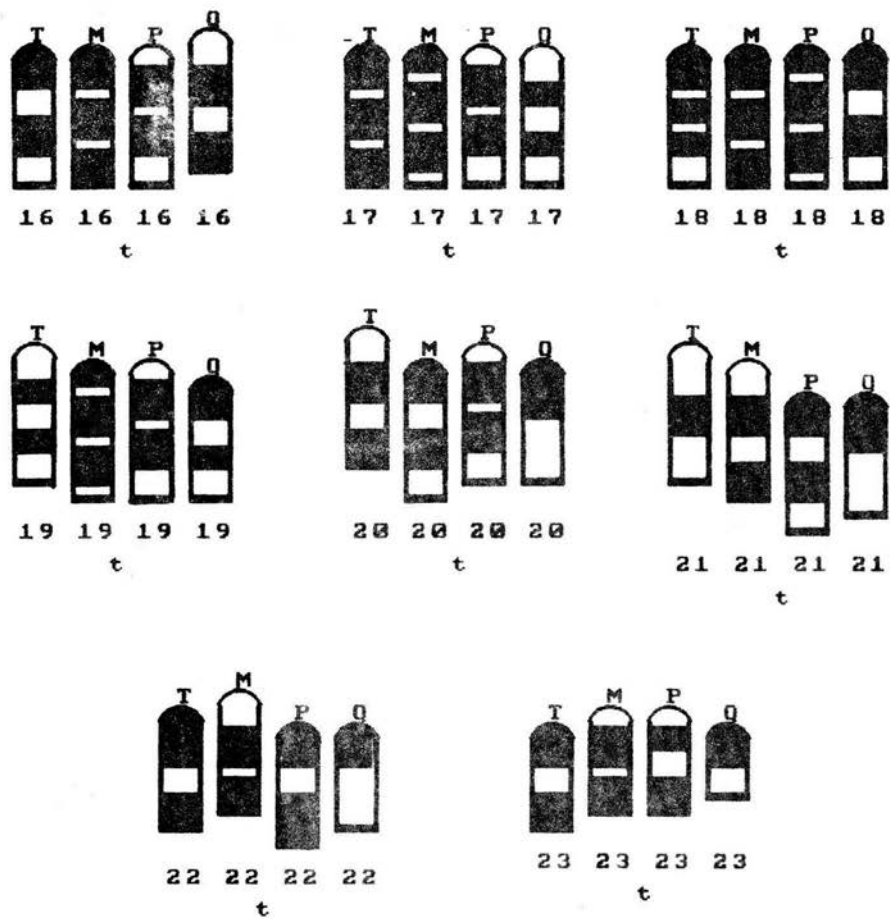


Fig. 23--Continuaci3n.

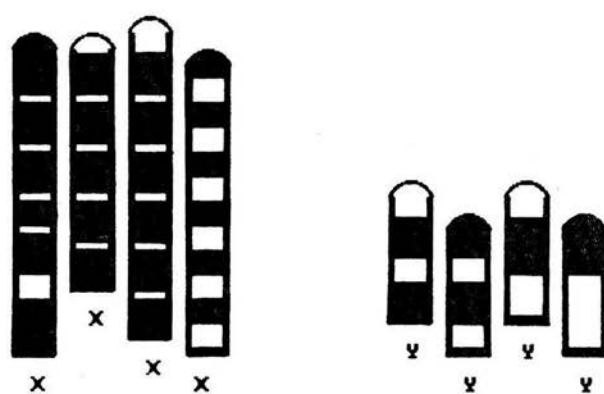


Fig. 23--Continuaci3n.

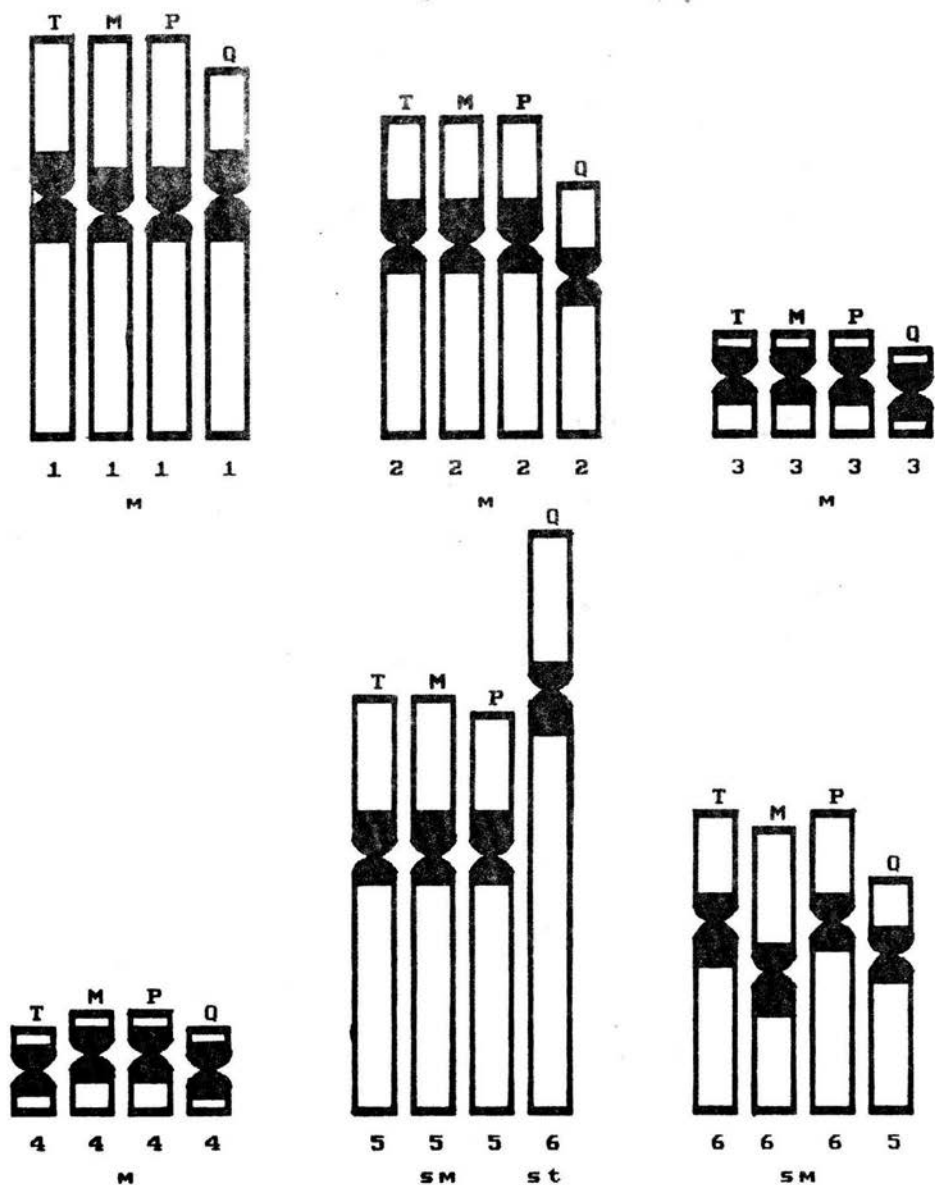


Fig. 24.--Comparación de las bandas cromosómicas C entre 4 poblaciones aisladas de *Microtus mexicanus*. Texcoco (T), Malintzi (M), Perote (P), Querétaro (Q). m=metacéntrico, sm=submetacéntrico, st=subtelocéntrico, t=telocéntrico.

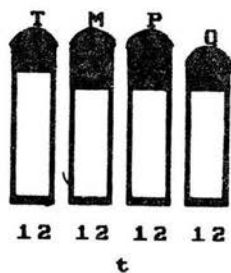
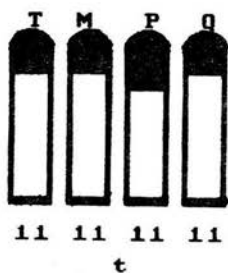
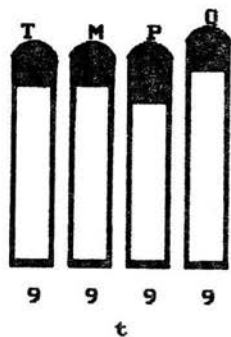
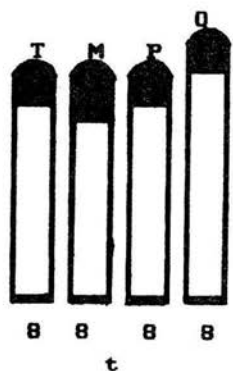
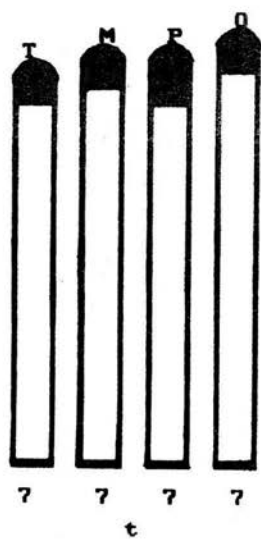


Fig. 24.--Continuaci3n.

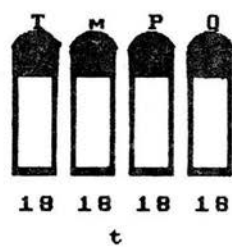
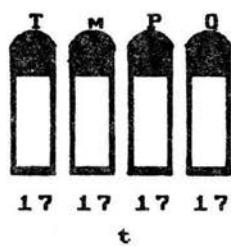
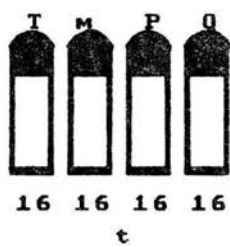
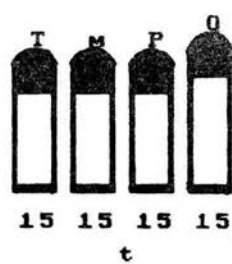
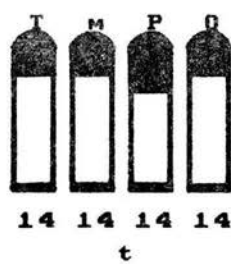
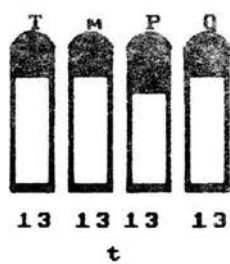


Fig. 24r--Continuaci3n.

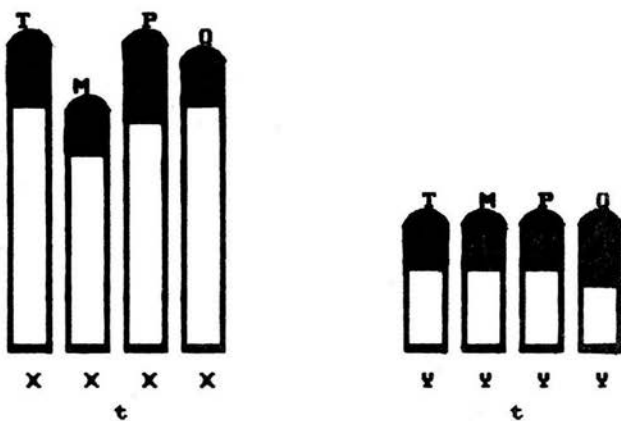
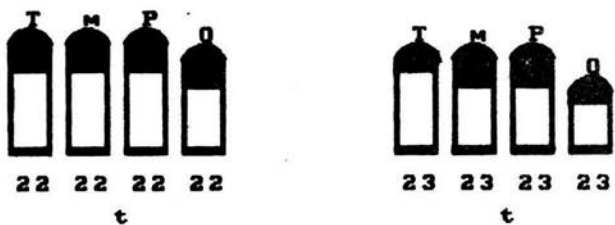
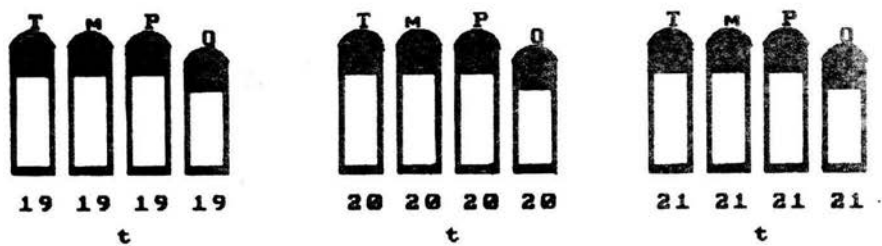


Fig. 24r--Continuaci3n.



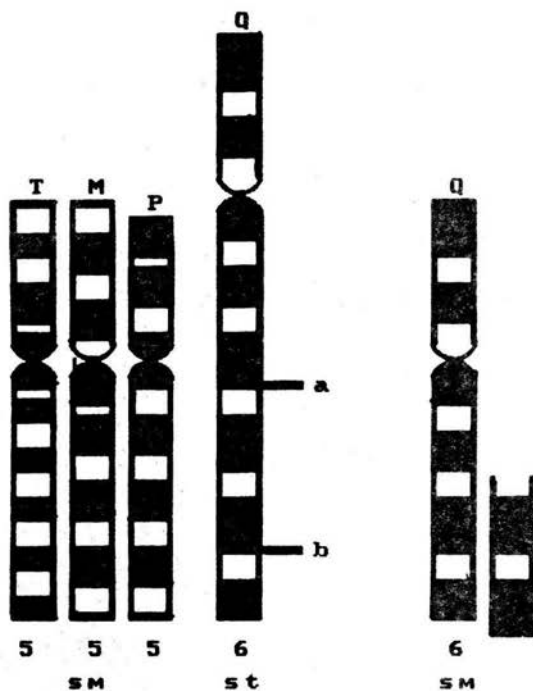


Fig. 25r--Rearreglo cromosómico hipotético que muestra una duplicación de cromatina que se presentó en el par 6 de *Microtus mexicanus phaeus* de Querétaro. (T) Texcoco, (M) Malinche, (P) Perote, (Q) Querétaro. m=submetacéntrico, st=subtelocéntrico. a y b lugar duplicado.

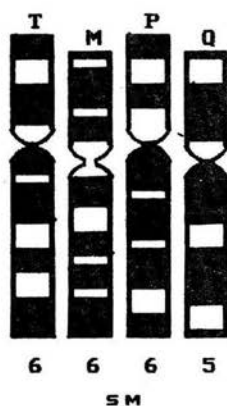


Fig. 26.--Rearreglo cromosómico hipotético que muestra una adición de eucromatina presente en el par 5 de *Microtus mexicanus phaeus* de Querétaro. Texcoco (T), Malintzi (M), Perote (P), Querétaro (Q), sm= submetacéntrico.

### Apéndice.

#### SOLUCION DE LEVADURA.

3 gr de levadura en polvo (Flesh mann's Yeast "Active Dry")  
refrigerada.

2 gr de Dextrosa.

12 ml de agua destilada.

Esta solución se usa fresca

#### SOLUCION HIPOTONICA.

0.075 M KCl

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

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

#### FIJADOR.

Proporción 3 : Metanol

1 : Acido acético

Debe ser preparado 30 min antes de ser utilizado,  
manteniéndolo en el congelador ( $-20^{\circ}\text{C}$ ) usándose 2 o 3 horas  
después de preparado.

#### COLORANTE GIEMSA PARA TINCION CONVENCIONAL.

- Solución amortiguadora.

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

Se pesa 1.38 gr del reactivo y se afora a 100 ml de agua  
destilada. Solución A. Se utilizan 15 ml.

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

Se pesa 1.42 gr del reactivo y se afora a 100 ml de agua destilada. Solución B. Se utilizan 10 ml.

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

- Solución concentrada de Giemsa (Microlab) 1 ml

Se puede mantener a temperatura ambiente indefinidamente.

- Solución amortiguadora (pH 6.5-6.8) 2 ml

- Agua destilada 47 ml.

Se puede usar durante 1 día conservándola a temperatura ambiente.

#### BUFFER GIEMSA 2% PARA BANDAS G.

1 ml 0.14 M de buffer de fosfatos de sodio.

Se pesan 3.752 gr de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  y se afora a 100 ml de agua destilada. La solución final debe tener un pH 9.0.

Se puede conservar a temperatura ambiente

1 ml de Giemsa (Microlab).

48 ml de agua destilada.

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

#### SOLUCION STOCK DE TRIPSINA.

0.05 gr de tripsina Difco (1:250).

50 ml de buffer de fosfato salino (PBS).

Se pesa 4 gr de  $\text{NaCl}$ , 0.1 gr de  $\text{KCl}$ , 0.575 gr de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$

0.1 gr de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  y se afora a 500 ml de agua destilada.

Este buffer debe mantenerse en refrigeración ( $4^\circ\text{C}$ ).

La solución stock de tripsina debe permanecer en el congelador ( $-20^\circ\text{C}$ ) y puede ser usada mientras no se observe la aparición de hongos o bacterias.

Diluir una parte de la solución stock de tripsina con tres partes de PBS para obtener una concentración final de 0.025%. Solamente debe usarse el día que se prepara.

SOLUCION STOCK 10XSSC PARA BANDAS C.

NaCl 1.5 M

Se pesan 8.7675 gr de este reactivo.

Citrato de Sodio 0.15 M

Se pesan 4.4117 gr de este reactivo.

Las dos sales se diluyen en 100 ml de agua destilada.

Esta solución debe permanecer en refrigerador ( $4^\circ\text{C}$ ).

Tomar 10 ml de 10XSSC y 40 ml de agua destilada para obtener una solución 2XSSC. Esta solución sólo se utiliza durante 1 día.

GIEMSA 4% PREPARADA CON BUFFER DE FOSFATOS DE SODIO PARA BANDAS C

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

Se pesan 0.1379 gr de este reactivo y se aforan a 100 ml de agua destilada.

0.01 M de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$

Se pesan 0.1419 gr de este reactivo y se diluyen en 100 ml

de agua destilada.

Combinar en proporción: 68 ml del primero y 100 ml del segundo.

Tomar 2 ml de Giemsa (Microlab) y 48 ml de este buffer para teñir.

Este buffer se puede utilizar durante un día a temperatura ambiente.

#### SOLUCION DE ACIDO CLORHIDRICO 0.2N

Preparar solución stock de HCl 5N

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

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

#### SOLUCION SATURADA DE HIDROXIDO DE BARIO.

5 gr de hidróxido de Bario.

50 ml de agua destilada.

Se mantiene a temperatura ambiente durante 2 semanas.