

T
13
103

ESTUDIO DE LA VARIABILIDAD CROMOSOMICA EN
POBLACIONES NATURALES DE SIERRA NEVADA
DEL SALTAMONTES Omocestus bolivari.

por

M. ESTHER VISERAS ALARCON

DEPARTAMENTO DE GENETICA

FACULTAD DE CIENCIAS

UNIVERSIDAD DE GRANADA

1982

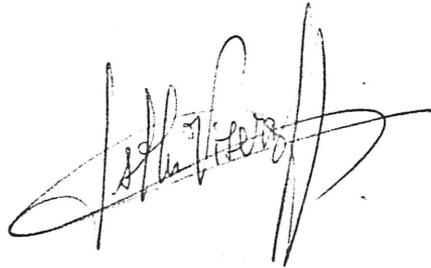
BIBLIOTECA UNIVERSITARIA
GRANADA
Nº Documento <u>619654935</u>
Nº Copia <u>121200920</u>

ESTUDIO DE LA VARIABILIDAD CROMOSOMICA
EN POBLACIONES NATURALES DE SIERRA
NEVADA DEL SALTAMONTES

Omocestus bolivari

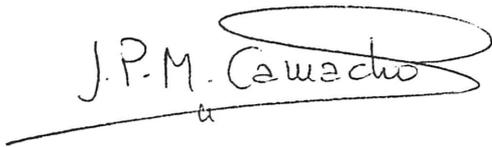
Memoria presentada para
aspirar al Grado de
Licenciada en Ciencias
Biológicas por:

M. Esther Viseras Alarcón



Dirigida por:

Dr. Juan Pedro Martínez
Camacho



Vº Bº de la directora del
Departamento de Genética:

Dra. Rosa Martínez Silvestre



Parte de los resultados de esta tesina han sido presentados en las XVIII Jornadas de Genética Luso-Españolas celebradas en Granada del 21 al 23 de Septiembre de 1982.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo de investigación ha sido dirigido por el Dr. Juan Pedro Martínez Camacho, profesor ayudante del Departamento de Genética, que me ha prestado en todo momento su apoyo, asesoramiento y estímulo, brindándome a la par, desde el principio, su imprescindible dirección y su inestimable amistad.

La licenciada en Ciencias Biológicas y profesora del Departamento de Genética, Josefa Cabrero, me ha ayudado en el estudio de parte del material y siempre he podido contar con su consejo, colaboración y ánimo.

Buenaventura Clares Rodríguez, analista del Centro de Informática de la Universidad de Granada, ha tenido la deferencia de elaborar los programas para los tratamientos estadísticos realizados mediante ordenador.

Todos los miembros del Departamento de Genética, tanto profesores como alumnos internos, se han interesado siempre por mi trabajo, sobre todo mis compañeros tesinandos, con los que he compartido muchas emociones y muchas horas de esfuerzo común.

Finalmente, mis padres, hermanos, familia próxima y amigos han mostrado siempre un cariñoso interés por mi labor.

A todos ellos, con mi profunda gratitud, dedico este trabajo.

INDICE

	<u>Págs.</u>
INTRODUCCION.....	1
OBJETIVOS.....	14
MATERIAL Y METODOS.....	15
- MATERIAL ANALIZADO.....	15
- METODOS.....	16
1. - Técnicas.....	16
1.1. - Técnica para el estudio de la meiosis.....	16
1.2. - Técnicas para el estudio de la mitosis.....	16
1.2.1. - Mitosis en hembras.....	16
1.2.2. - Mitosis en machos.....	17
1.3. - Técnica de bandas C.....	17
2. - Métodos estadísticos.....	18
RESULTADOS.....	19
1. - ESTRUCTURA DE LAS POBLACIONES ANALIZADAS	20
1.1. - Frecuencia del iso-B-cromosoma y de la polisomía en las poblaciones.....	20
1.2. - Frecuencia de la polisomía en los individuos.....	20
2. - COMPORTAMIENTO MEIOTICO DEL ISO-B-CROMOSOMA	20
2.1. - Asociación X-B.....	23
2.2. - Asociación entre los brazos del B.....	23
2.3. - Segregación X-B.....	23
2.4. - Formación de microespermátidas.....	29
- Relación entre la división ecuacional de los Bs y la formación de microespermá- tidas.....	34

3. - COMPORTAMIENTO MEIOTICO DE LOS M_4 EXTRAS	36
3. 1. - Asociación X- M_4 extras.....	36
3. 2. - Asociación M_4 normal- M_4 extra (M_4n - M_4e).....	36
3. 3. - Asociación entre los M_4 extras.....	38
3. 4. - Formación de microespermátidas.....	38
4. - COMPORTAMIENTO MEIOTICO DE LOS ISO-Bs Y LOS M_4 EXTRAS EN INDIVI- DUOS PORTADORES DE AMBOS.....	40
4. 1. - Asociación X-B- M_4 extras en A.U. 25.....	40
4. 2. - Asociación entre los brazos del B.....	44
4. 3. - Segregación X-B- M_4 extras.....	44
4. 4. - Formación de microespermátidas.....	46
5. - EFECTOS DE LOS ELEMENTOS EXTRAS A NIVEL ENDOFENOTIPICO.....	47
5. 1. - Efectos a nivel intraindividual.....	47
5. 2. - Comparaciones entre individuos.....	48
6. - OTRAS VARIACIONES CROMOSOMICAS ESTRUCTURALES.....	60
6. 1. - Segmentos cromosómicos supernumerarios.....	60
6. 2. - Constricciones secundarias elásticas.....	60
DISCUSION.....	62
CONCLUSIONES.....	83
BIBLIOGRAFIA.....	85

INTRODUCCION

Cuanto mayor variabilidad presente una especie, mayores son sus posibilidades de supervivencia en el tiempo y en el espacio, porque aumenta su probabilidad de adaptación frente a cambios en cualquiera de estas dimensiones. De hecho, la existencia de la variación genética es una condición necesaria para la evolución.

La fuente primaria de la variabilidad genética es la mutación y sobre ella actúa la recombinación, que explota al máximo esa variabilidad, para ofrecer un mayor espectro de variación genética sobre el que puedan actuar los diversos mecanismos que subyacen en el proceso evolutivo, como la Selección, Migración, etc.

La variabilidad genética se estudió en un principio a nivel fenotípico o de caracteres morfológicos, desde el punto de vista de la Genética clásica. Los fenotipos eran observados directamente por el investigador, pero no los genotipos o genes. Sin embargo, en muchos casos se puede establecer una relación directa entre genotipos y fenotipos de manera que las frecuencias fenotípicas observadas pueden ser transformadas en frecuencias genotípicas y, consecuentemente, génicas. Durante mucho tiempo, una forma de analizar la variabilidad genética existente era mediante la obtención de individuos homocigotos que permitieran detectar la presencia de genes recesivos.

Recientemente, con el advenimiento de las técnicas electroforéticas, se ha hecho posible el análisis de la variación de las proteínas y así el estudio de la variabilidad desde el punto de vista génico. A partir del descubrimiento de las isoenzimas como formas o especies moleculares distintas de una misma enzima (HUNTER & MARKERT, 1951; MARKERT & MOLLER, 1959), y tras una primera aplicación inicial al estudio del polimorfismo bioquímico en poblaciones humanas (HARRIS, 1966) y de Drosophila pseudoobscura (HUBBY & LEWONTIN, 1966; LEWONTIN & HUBBY, 1966), vino la utilización masiva de las nuevas

técnicas en el estudio de la biología de las poblaciones, intentando medir la variación genética en las poblaciones naturales mediante el control de muestras de proteínas tomadas al azar.

Por otra parte, ya desde principios de siglo, se vienen realizando numerosos estudios de la variabilidad genética a nivel cromosómico. Entre los mecanismos citogenéticos causantes de variabilidad cariotípica podemos distinguir, por una parte, las reordenaciones cromosómicas o variaciones cromosómicas estructurales y, por otra, el material cromosómico extra. Según LACADENA (1981), las variaciones cromosómicas estructurales, también llamadas mutaciones cromosómicas, consisten en un reordenamiento de la disposición lineal de los genes sobre los cromosomas, unas veces con pérdida, otras con ganancia y otras sin variación en el contenido total de información genética. Pueden afectar a un solo cromosoma, como ocurre en las deleciones, duplicaciones e inversiones (paracéntricas o pericéntricas) o pueden afectar simultáneamente a dos o más cromosomas, como sucede en las translocaciones.

En cuanto al material cromosómico extra, éste puede ser de dos tipos: (1) Material perteneciente al complemento cromosómico repetido, como es el caso de la aneuploidía y la poliploidía y (2) Material cromosómico accesorio no homólogo de ningún segmento o cromosoma existente en la dotación normal, como es el caso de los segmentos supernumerarios y los B-cromosomas.

Existen ciertos organismos en los que se ha observado una gran variabilidad cromosómica originada por uno o varios mecanismos de los citados. Así, en Drosophila melanogaster BRIDGES (1917) describió una deleción ligada al cromosoma X, que produce escotaduras en el borde del ala y es letal en los machos hemicigóticos. En ratón, por otra parte, se han detectado y analizado duplicaciones en tándem (POORMAN y col., 1981; MOSES & POORMAN, 1981). También en Drosophila, DOBZHANSKY & LEVENE (1948) demostraron el mayor valor adaptativo de los heterocigotos estructurales para inversiones, habiéndose descri-

to en este organismo gran número de casos que demuestran una alta variabilidad cromosómica.

A pesar de que la aneuploidía es mucho mejor tolerada en el Reino Vegetal y, por tanto, es en éste donde hay más estudios sobre el tema, entre las especies animales cabe señalar la ocurrencia esporádica de polisomía tanto en los cromosomas sexuales como en los autosomas. Por ejemplo, se han encontrado ratones con constitución XYX (CATTANACH & POLLARD, 1969; EVANS y col., 1969; RATHENBERG & MÜLLER, 1973), e igualmente en el ratón han sido descritas trisomías autosómicas por varios autores (CATTANACH, 1964; GROPP y col., 1975), así como otros casos de aneuploidía autosómica en perros, cerdos y ganado vacuno (revisión por Mc FEELY, 1969). Por lo que respecta a la poliploidía, ésta se da con poca frecuencia en el Reino Animal. Según WHITE (1951), los únicos casos absolutamente ciertos de razas y especies poliploides entre los animales superiores se encuentran en los insectos y crustáceos partenogenéticos. Series poliploides han sido estudiadas con todo detalle en Artemia salina (crustáceo), Trichiniscus elizabethae (crustáceo isópodo), Solenobia triquetrella (lepidóptero), Oetiorrhyncus sp. (coleóptero), etc., y en todas ellas hay una estrecha relación con la partenogénesis (ver revisiones por SUOMALAINEN, 1950; MATTHEY, 1954; BUGENBERG DE JONG, 1957; ASTAUROV, 1969; WHITE, 1973).

En lo que se refiere a los saltamontes, existen en la bibliografía gran número de citas de algunos de estos mecanismos causantes de variabilidad cromosómica. Así, por ejemplo, la incidencia de la duplicación en los Ortópteros fué apuntada por HEWITT & JOHN (1971), quienes en el saltamontes Chortoicetes terminifera postularon un origen por duplicación en tándem para los segmentos heterocromáticos que dan lugar a los brazos cortos de los autosomas S_9 y S_{11} .

En cuanto a las inversiones, las paracéntricas sólo se han podido demostrar en dos o tres ocasiones (NUR, 1976; WHITE, 1973;

HAINES y col., 1978; SHAW y col, 1976). Por el contrario, las inversiones pericéntricas han tenido mucha mayor incidencia en los Ortópteros, siendo los Trimerotropii de Norteamérica y los Morabinae de Australia los principales grupos de saltamontes donde los polimorfismos para inversiones pericéntricas son relativamente frecuentes (WHITE, 1973). Muy interesante, también, es el caso de Caledia captiva, que presenta un complejo sistema de polimorfismo para inversiones pericéntricas que ha conducido a SHAW (1976) a la diferenciación de cuatro razas cromosómicamente distintas.

En los Ortópteros, las translocaciones han intervenido tanto en la evolución de los sistemas de determinismo cromosómico del sexo, como en la evolución de los cariotipos. En el primer caso, lo han hecho originando sistemas neo-XY, como en Merminia intertexta (KING, 1950), Tropinotus laevipes (SAEZ, 1956), y varias especies del género Dichroplus (SAEZ, 1956; CARDOSO & DUTRA, 1979). En ocasiones, a partir de los sistemas neo-XY se han originado sistemas X_1X_2Y merced a una posterior translocación, como en la especie P43/46 del grupo "cultrata" de saltamontes Morabinos (WHITE & CHENEY, 1966). En cuanto a la evolución de los cariotipos, las translocaciones (cuando han alcanzado la fijación) pueden llegar a establecer diferencias sustanciales entre los cariotipos de especies emparentadas, como es el caso de los Eumastacidae (MESA & FERREIRA, 1978) o de los Acrididos.

CAMACHO (1980), en su trabajo prospectivo sobre variabilidad cromosómica de Ortópteros en el Sur de la Península Ibérica, observó inversiones pericéntricas en las especies de Oedipodinos Aiolopus strepens y Sphingonotus coeruleans corsicus; una translocación recíproca desigual espontánea en Locusta migratoria; segmentos cromosómicos extra en las especies Oedipoda fuscocincta coerulea, Omocestus raymondi, Chorthippus ariasi, Eyprepocnemis plorans plorans, Calliptamus barbarus y Oedipoda fuscocincta coerulea; cromo-

somas supernumerarios en Locusta migratoria, Eyprepocnemis plorans plorans y Omocestus bolivari; y polisomfa para el cromosoma M_4 de esta última especie. Precisamente este estudio dió pie al inicio de este trabajo de Tesina en Omocestus bolivari, dado lo interesante de los dos fenómenos que se acaban de citar, la polisomfa para un autosoma y la presencia de un iso-B-cromosoma.

Los cromosomas supernumerarios, también llamados B-cromosomas, son cromosomas adicionales, no homólogos de ningún otro elemento del cariotipo normal y que están presentes en unos pocos individuos de algunas poblaciones de determinadas especies. Se han citado en muchos animales y plantas y en Ortópteros, en concreto, HEWITT (1979) ofrece una relación de 130 especies poseyendo Bs de muy distintos tipos y comportamientos.

Los B-cromosomas pueden ser mitóticamente estables, si todas las células de un individuo poseen el mismo número de Bs, o mitóticamente inestables, cuando su número varfa entre las células de un individuo. La inestabilidad mitótica puede ser un mecanismo de acumulación, como ocurre en Camnula pellucida (NUR, 1969), Calliptamus palaestinensis (NUR, 1963), Melanoplus femur-rubrum (STEPHENS & BREGMAN, 1972) y Locusta migratoria (KAYANO, 1971). Otro sistema de acumulación de los B-cromosomas de saltamontes es la transmisión preferencial a través de la oogénesis, lo cual fué deducido al observar que en la descendencia de cruces experimentales $\sigma^1B \times \phi^1B$ la frecuencia de individuos con B-cromosomas era significativamente superior al 50%. Esto ha sido demostrado en Melanoplus femur-rubrum (LUCOV & NUR, 1973) y en Myrmeleotettix maculatus (HEWITT, 1973b). Años despues, este mecanismo de acumulación fue demostrado citológicamente por HEWITT (1976) al observar en la meiosis de hembras de M. maculatus que posefan un B que durante la primera división meiótica el univalente B migra preferencialmente al oocito secundario fren-

te al primer corpúsculo polar.

Aunque la forma y tamaño de los Bs varía grandemente de unas especies a otras, es posible, según HEWITT (1979), dividirlos en cuatro categorías:

1. - Grandes B-cromosomas, heterocromáticos y de tamaño similar al del X, del cual se cree pueden proceder, que generalmente se presentan en número de uno y a veces dos. Son casi siempre mitóticamente estables.

2. - Supernumerarios semejantes en tamaño y forma a los más pequeños miembros del complemento y procedentes de éstos seguramente por polisomía. Son heterocromáticos e inestables, en general y algunos individuos pueden contener hasta diez de ellos en algunas células.

3. - Cromosomas minúsculos, más pequeños que cualquiera de los elementos del cariotipo normal, generalmente inestables y pudiendo alcanzar un gran número. Se piensa pueden proceder de delección de los miembros regulares del complemento o de B-cromosomas más grandes.

4. - Supernumerarios que son isocromosomas, prácticamente metacéntricos, con los dos brazos apareándose y dando lugar a un anillo en meiosis. Este anillo se forma generalmente por homología pero, en algunos casos, como en Myrmeleotettix maculatus (JOHN & HEWITT, 1965), se ha demostrado que es quiasmado. Se originan por misdivisión y no disyunción del centrómero, de manera que dos brazos idénticos quedan unidos al mismo centrómero, como demostraron GALLAGHER y col. (1973) en Myrmeleotettix maculatus mediante tinción diferencial con Giemsa. El tamaño de los iso-Bs varía entre especies pero, en general, es de mediano a grande en comparación con los miembros del complemento normal. Estos supernumerarios son normalmente bastante estables en la división celular.

En algunas especies se pueden encontrar más de un tipo de

supernumerario, siendo en algunos casos estos cromosomas bastante similares y probablemente relacionados por alguna reordenación cromosómica como, por ejemplo, en Myrmeleotettix maculatus y Trimero-tropis sparsa, donde la posición del centrómero ha sido cambiada por una inversión pericéntrica (JOHN & HEWITT, 1965; WHITE, 1951a,b). En otros casos, los diferentes tipos de supernumerarios no están tan claramente relacionados, como sucede en Melanoplus femur-rubrum (STEPHENS & BREGMAN, 1972), Podisma pedestris (HEWITT & JOHN, 1972), Phaulacridium marginale (WESTERMAN & FONTANA, 1973) y Tettigidea lateralis (FONTANA & VICKERY, 1973, 1975).

Los B-cromosomas son usualmente heterocromáticos en la profase meiótica, aunque este comportamiento aloclíclico puede no desarrollarse tan tempranamente como el del X. Es común para tal heterocromatina estar asociada por "pegajosidad" (stickness) meiótica. Esta asociación heterocromática, de base incierta, puede en algunos casos conducir a segregación preferencial del supernumerario con respecto al cromosoma X. Así sucede en una especie del Grillo Euscyrtus (SMITH, 1953) y en Tettigidea lateralis (FONTANA & VICKERY, 1973), donde el X y el B segregan al mismo polo en el 76% y el 59% de las divisiones, respectivamente. Por el contrario, en otras especies, la asociación del X y el B produce disyunción de ambos a polos opuestos. Así sucede en el 61% de los casos en Tetrix ceperoi (HENDERSON, 1961) y en el 70% en Phaulacridium vittatum de Tasmania (JACKSON & CHEUNG, 1976). Sin embargo, ROWE & WESTERMAN (1974) no encontraron segregación preferencial en cinco poblaciones australianas de esta especie, ni tampoco JOHN & FREEMAN (1974) en una amplia muestra de individuos de otras poblaciones del continente. Un reciente exámen del material de Tasmania (JOHN & FREEMAN, 1975) también mostró segregación al azar del X y el B. Tampoco hay segregación preferencial en la especie relacionada Phaulacridium marginale de Nueva Zelanda (WESTERMAN &

FONTANA, 1973).

Aunque los supernumerarios no son completamente inertes, como se ha llegado a creer, ciertamente no poseen los efectos que se rñan de esperar en relación a la cantidad de DNA que contienen. Con toda probabilidad son inactivos o están inactivados en una gran extensión. En los últimos años han sido registrados gran cantidad de efectos de los B-cromosomas sobre caracteres cuantitativos tanto en plantas como en animales, incluyendo formación de quiasmas, apareamiento cromosómico, composición nuclear, nivel de desarrollo, morfología y fertilidad. Los supernumerarios apenas producen efectos fenotípicos externos. Por el contrario, sí tienen efectos a nivel celular en algunas especies, siendo tal vez el principal la alteración de la frecuencia de quiasmas. Este fenómeno se da en algunas especies de Ortópteros, mientras que en otras no se detecta ningún cambio (Ver revisión de SCHROETER & HEWITT, 1974). El efecto sobre la formación de quiasmas puede ser de varios tipos: Aumento simultáneo de la frecuencia media de quiasmas y de la varianza entre células, como en Myrmeleotettix maculatus (JOHN & HEWITT, 1965) y Eyprepocnemis plorans plorans (CAMACHO y col., 1980); aumento exclusivo de la frecuencia media de quiasmas, como en Melanoplus diferencialis (ABDEL-HAMMED y col., 1970); y aumento sólo de la varianza entre células, como en Melanoplus femur-rubrum (STEPHENS & BREGMAN, 1972). Aunque en las plantas sí se han citado (CAMERON & REES, 1967; VIINIKKA, 1973), en los saltamontes no existen ejemplos de supernumerarios que produzcan disminución de la frecuencia de quiasmas. Por otra parte, los B-cromosomas sí pueden afectar a la localización de los quiasmas, como ha sido observado en Tettigidea lateralis (FONTANA & VICKERY, 1973).

La importancia de la influencia de los Bs sobre la frecuencia de quiasmas reside en que un aumento de dicha frecuencia significa un incremento en el número de intercambios entre los cromosomas homólogos y, por tanto, una mayor proporción de combinaciones génicas

en la descendencia de los individuos portadores de los Bs, lo cual conduce a un aumento en la variabilidad genética de la población.

Otra función de los B-cromosomas se ha descubierto en Locusta migratoria (BERGERARD y col., 1972), donde la electroforesis de las proteínas de la hemolinfa muestra bandas de diferente movilidad y densidad en los individuos con B y sin B.

En Myrmeleotettix maculatus los individuos con Bs no sobreviven al invierno como embriones tanto como los individuos sin Bs (ROBINSON & HEWITT, 1976). También en M. maculatus (HEWITT, 1973a), Camnula pellucida (NUR, 1969), y Neopodismopsis abdominalis (ROTHFELS & PROCUNIER, 1975), los supernumerarios están asociados con producción incrementada de espermátidas anormales, lo que reduce la fertilidad de los machos que los transportan. Un efecto mucho más serio sobre la fertilidad ocurre en Myrmeleotettix y Chloealtis, donde la presencia de B-cromosomas hace que una hembra produzca significativas proporciones de embriones aberrantes (HEWITT, 1973c).

En cuanto a efectos en el exofenotipo, NUR(1969) observó en Camnula pellucida que los individuos con B-cromosomas tenían menos folículos en los testículos, más esperma anormal y fémures más cortos que aquellos que no poseían supernumerarios. Esta variación exofenotípica podría tener significación adaptativa. Así, ha sido demostrado que existen diferencias en viabilidad en épocas particulares del ciclo de vida entre individuos con B e individuos sin B de Myrmeleotettix maculatus (ROBINSON, 1973).

En general, los cromosomas supernumerarios de saltamontes suelen permanecer con frecuencia estable a lo largo del tiempo, dentro de una misma población, aunque las frecuencias pueden variar mucho, según los tipos de B-cromosomas, de unas poblaciones a otras de la misma especie.

El cromosoma supernumerario metacéntrico encontrado en Omocestus bolivari por CAMACHO y col. (1981) puede ser incluido en

la categoría de los iso-B-cromosomas a causa del apareamiento meiótico de sus dos brazos y su similar longitud. Estos autores no observaron quiasmas entre los brazos del iso-B, presumiendo que la asociación que mantiene los univalentes del B en anillo en metafase I es por homología. El supernumerario era un elemento mitóticamente estable y mostraba heteropicnosis positiva durante la profase I. En la mayoría de las células en cigotene el B y el X se observaron asociados y esta asociación persistía en diplotene en el 80% de las células, aunque en metafase I ya no se observó ninguna asociación entre estos dos elementos. En diplotene y metafase I los dos brazos del iso-B se apareaban frecuentemente formando un anillo. Asimismo, detectaron segregación al azar del X y el B y división ecuacional del iso-B en la primera división meiótica.

En 1973, SANNOMIYA describió en machos de Atractomorpha bedeli la presencia de un B-cromosoma cuyo número era constante dentro de los folículos testiculares pero variable entre los folículos dentro de los individuos. Las células de los ciegos gástricos de machos y hembras y las de las ovarias de hembras carecían de supernumerarios, lo que indicaba que los Bs estaban presentes en la línea germinal, pero ausentes en la línea somática. La diferencia entre ambas líneas fue explicada en base a la eliminación de Bs de las células somáticas, y la variación interfolicular en número de Bs fue atribuida a no disyunción mitótica en la línea germinal, anterior a la diferenciación de los folículos. Según SANNOMIYA, este supernumerario era indistinguible del autosoma A_8 , al que era completamente similar en tamaño y estado picnótico.

Sin embargo, PETERS (1981), basándose en éstas y otras características, sostiene que el B-cromosoma descrito por SANNOMIYA probablemente no es tal, sino un autosoma extra, copia del A_8 , constituyendo polisomía para la línea germinal semejante a la descubierta por NANKIVEL (1976) y posteriormente estudiada exhaustivamente por el

propio PETERS (1981), en la especie emparentada Atractomorpha similis. En esta especie, el polisómico es el cromosoma megamérico A_9 . El número de cromosomas extra varía entre folículos pero no dentro de ellos y no se encuentran en tejido somático de machos o hembras. En las poblaciones naturales la condición no diploide más común es la trisomía, aunque en poblaciones obtenidas en el laboratorio mediante tratamientos de selección a favor de la polisomía se observa una deficiencia en números impares de cromosomas extras. En meiosis, las copias extras del A_9 presentes como univalentes se retrasan en anafase I o II y, consiguientemente, forman micronúcleos que degeneran pronto. Cuando son dos los cromosomas extras no se observan micronúcleos. En Atractomorpha similis se ha encontrado un B-cromosoma y éste no está asociado a la presencia de micronúcleos, lo que lo distingue claramente del autosoma extra de esta especie. La mitosis en folículos polisómicos es regular, así que la variación interfolicular en el número de cromosomas extras sólo puede ser explicada asumiendo un periodo de inestabilidad mitótica y no disyunción previa a la organización de los testículos. Experimentos de laboratorio de selección a favor y en contra de la polisomía para la línea germinal consiguen aumentar y disminuir, respectivamente, el porcentaje de machos polisómicos en cantidad significativa en sólo tres generaciones. Estos experimentos también muestran que la polisomía es igualmente transmisible a través del padre y de la madre y que los cromosomas extras pueden aparecer de novo, presumiblemente por no disyunción en líneas diploides previas. Parece ser que la transmisión de la polisomía ocurre gracias a la acción de factores hereditarios que determinan la probabilidad de no disyunción y así la acumulación de un autosoma concreto durante una serie determinada de divisiones mitóticas en la línea germinal del embrión. Posteriormente, en las mitosis espermatogoniales ya no existe ninguna inestabilidad para el A_9 .

La polisomía es un fenómeno poco frecuente en los saltamontes, así que hay escasas citas sobre ella. Además de las de Atrac-

tomorpha similis y A. bedeli ya citadas, existen las de Chrotogonus trachypterus (SHARMA y col., 1962), Chorthippus parallelus (HEWITT, 1963; HEWITT & JOHN, 1968, 1970a; JOHN & HEWITT, 1969; SOUTHERN, 1967b), Myrmeleotettix maculatus (HEWITT & JOHN, 1965), Chorthippus jucundus, Omocestus bolivari (CAMACHO, 1980; CAMACHO y col., 1981) y Gomphocerus sibiricus (GOSALVEZ & LOPEZ-FERNANDEZ, 1981).

La polisomía encontrada en Omocestus bolivari presenta características muy similares a la detectada en Chorthippus parallelus. En ambos, el cromosoma polisómico es el M_4 , coincidiendo con el encontrado en la especie emparentada Chorthippus jucundus; los M_4 en exceso de dos se muestran heteropícnóticos positivos durante la profase-I de la meiosis; ni en C. parallelus, ni en O. bolivari, se han encontrado células monosómicas o nulisómicas, lo que hace pensar en una supervivencia diferencial de los productos de la inestabilidad mitótica de sus cromosomas M_4 , y las diferencias significativas del pirgomórfido Chrotogonus trachypterus, donde en el mismo individuo se observaron células polisómicas y células monosómicas (SHARMA y col., 1962).

Finalmente, cabe destacar que en unas especies diferentes miembros del complemento pueden ser polisómicos (LEWIS & JOHN, 1959; SHARMA y col., 1965), mientras que en otras, el mismo cromosoma está invariablemente implicado, como son los casos de Chorthippus parallelus (HEWITT & JOHN, 1968, 1970a; JOHN & HEWITT, 1969), C. jucundus y O. bolivari (CAMACHO, 1980), en los que el cromosoma polisómico es el M_4 , lo que implica una tendencia de este elemento a mostrar inestabilidad en las mitosis premeióticas en estas tres especies pertenecientes a la subfamilia Gomphocerinae.

Para terminar, queremos hacer mención a otros tipos de variaciones cromosómicas estructurales, como son los segmentos cro-

mosómicos supernumerarios y las constricciones secundarias elásticas, fenómenos ambos presentes en el sistema citogenético de Omocestus bolivari.

Los sistemas de polimorfismo para segmentos supernumerarios están bastante extendidos en los Ortópteros. Especialmente, las poblaciones de saltamontes muestran frecuentemente polimorfismo con respecto a la presencia y frecuencia de segmentos supernumerarios en uno o más miembros de la dotación normal. Los segmentos son siempre, cuando menos, parcialmente heterocromáticos y pueden ocupar una posición proximal, intersticial o terminal dentro del cromosoma. Su origen es preferentemente por duplicación (HEWITT, 1979).

En los saltamontes se han descrito numerosos casos de bivalentes desiguales originados por heterocigosis para segmentos supernumerarios. HEWITT (1979) da una relación de los citados hasta la fecha. A nosotros nos interesa especialmente el conocido sistema de segmentos supernumerarios de Chorthippus parallelus (JOHN & HEWITT, 1966, 1969; HEWITT & JOHN, 1968, 1970a; WESTERMAN, 1969, 1970); tanto en poblaciones de Gran Bretaña como de Francia se ha encontrado este polimorfismo para segmentos adicionales en los miembros más pequeños del complemento (M_7 y S_8). Además, en una población de Austria apareció un segmento extra en el cromosoma M_6 . Estos segmentos eran heteropignóticos positivos desde cigotene a diacinesis y podían ir en uno o ambos homólogos de los bivalentes M_6 , M_7 y S_8 (WESTERMAN, 1970).

Las constricciones secundarias elásticas fueron descritas por primera vez por WHITE (1957) en Moraba scurra, y desde entonces se han citado en algunas especies de saltamontes, en los que, invariablemente, se desarrollan en cromosomas megaméricos que contienen los organizadores nucleolares (JOHN, 1976).

MATERIAL Y METODOS

MATERIAL ANALIZADO

Formas que se analizaron en el presente trabajo corresponden a la especie Omocestus bolivari (Cuvier). Los machos de esta especie se encuentran naturalmente en Sierra Nevada, elegidas en el estudio de las características de sus cromosomas.

OBJETIVOS

Con este trabajo se pretende profundizar en el estudio de los cromosomas supernumerarios y de la polisomía del M_4 del saltamontes Omocestus bolivari, principalmente a tres niveles:

1. - Estudio de la estructura de poblaciones de Sierra Nevada en relación con ambos polimorfismos.
2. - Análisis del comportamiento meiótico de los elementos extra.
3. - Efectos de los elementos extra sobre caracteres endofenotípicos.

MATERIAL ANALIZADO

1.1. - Teoría Todos los ejemplares analizados en el presente trabajo pertenecen a la especie Omocestus bolivari (Chopard). Los machos procedían de cinco poblaciones naturales de Sierra Nevada, elegidas al azar, con la única condición de que estuvieran representadas la cara Norte y la cara Sur de Sierra Nevada:

- Educación y Descanso (E.D.) 2.200 m. Cara Norte de Sierra Nevada. 40 machos.
- Campos de Otero (C.O.) 2.200 m. Cara Norte de Sierra Nevada. 18 machos.
- Albergue Universitario (A.U.) 2.500 m. Cara Norte de Sierra Nevada. 76 machos.
- Alto del Chorrillo (A.C.) 2.710 m. Cara Sur de Sierra Nevada. 22 machos.
- La Alberquilla (L.A.) 2.400 m. Cara Sur de Sierra Nevada. 55 machos.

Además, se estudiaron 19 hembras de la misma especie procedentes de diversas poblaciones de Sierra Nevada. Mientras no se advierta lo contrario, los resultados se referirán a machos.

1.2. - Preparación para el estudio de la mitosis1.2.1. - Mitosis en machos

En los machos, la mitosis ha sido estudiada en células de la pared de los ovulíferos y en células de los lagos y el resto. El tratamiento es idéntico para ambos materiales y consiste en el tratamiento con colchicina al 0.05% en solución.

METODOS

1. - Técnicas

=====

1.1. - Técnica para el estudio de la meiosis

Los machos capturados se llevaron vivos al laboratorio, se anestesiaron con acetato de etilo y se les abrió el abdomen, extrayéndoseles los testículos completos. Estos se sometieron inmediatamente a fijación en Carnoy (alcohol-acético 3:1), en el que permanecieron al menos una hora. Durante este tiempo, los folículos de los testículos fueron separados para facilitar su fijación homogénea.

Una vez fijado el material, si no se estudió inmediatamente, se guardó en alcohol del 70% a 4°C.

Para el estudio rutinario de la meiosis en los machos se siguió la técnica de aplastamiento en orceína acética al 2%.

En cada macho se analizaron individualmente, salvo excepciones, al menos diez folículos, si éstos eran normales. Si presentaban algún elemento extra, se analizaron hasta veinte o treinta folículos. En cada individuo de la población de Albergue Universitario se contabilizaron los quiasmas de al menos diez células en diplotene. En las distintas fases de la meiosis, se contabilizó y fotografió la asociación y segregación de los distintos elementos extras frente a determinados elementos del cariotipo normal.

1.2. - Técnicas para el estudio de la mitosis

1.2.1. - Mitosis en hembras

En las hembras, la mitosis ha sido estudiada en células de la pared de las ovariolas y en células de los ciegos gástricos.

El tratamiento es idéntico para ambos materiales y consiste en:

- Pretratamiento con colchicina al 0.05% en solución

salina para insectos, inyectada en el abdomen de las hembras adultas.

- Fijación: a las 8 horas de la inyección de colchicina se anestesia el animal, se disecciona y se extrae el material a analizar, que se pasa a fijador alcohol-acético 3:1, donde se mantiene durante una hora, como mínimo.

- Una vez fijado, el material se puede guardar a 4°C en el mismo fijador o bien en alcohol del 70%.

- Observación al microscopio: Para montar las preparaciones se sigue la técnica de aplastamiento de un pequeño trozo de ciego gástrico, o un filamento terminal de una ovariola, inmersos en orceína acética al 2%.

1.2.2. - Mitosis en machos

En algunos de los machos analizados se ha estudiado la mitosis en ciegos gástricos por el procedimiento siguiente:

- Obtención, por disección, de los ciegos gástricos del individuo.

- Introducción de los ciegos en colchicina al 0.05% en solución salina para insectos durante cuatro horas.

- Fijación en Carnoy.

- Aplastamiento con orceína acética al 2%.

1.3. - Técnica de bandas C

Las preparaciones sometidas a esta técnica se hicieron por aplastamiento en acético del 45%, y el cubreobjetos fué separado con nieve carbónica, tras de lo cual las preparaciones fueron deshidratadas con alcohol absoluto durante 24 horas y una vez secas se sometieron al tratamiento de bandeo. En esencia, el procedimiento de bandeo C ha sido el descrito por SUMNER y col. (1971). El proceso detallado es como sigue:

- Se introducen las preparaciones en CIH 0,2 N durante 30' a temperatura ambiente.

- Se introducen en una solución saturada de hidróxido bórico a 60°C, durante 5'.

- Se lavan enérgicamente en agua del grifo, durante 5'.

- Se introducen las preparaciones en 2XSSC a 60°C, durante 1 hora.

- Se lavan nuevamente, en la forma ya descrita.

- Se tiñe con Giemsa al 2% hasta conseguir el contraste adecuado.

2. - Métodos estadísticos

Para estimar el grado de significación de aquellos caracteres que han sido cuantificados, se han aplicado las siguientes pruebas estadísticas:

- Ji-cuadrado (simple, de contingencia y de homogeneidad).

- Análisis de varianza.

- Contraste de medias (t de Student).

Los análisis de varianza y los contrastes de medias llevados a cabo para estudiar la influencia de los elementos extra sobre la frecuencia de quiasmas han sido efectuados en el Centro de Informática de la Universidad de Granada en un ordenador UNIVAC 1100, empleando el programa BMDP1V de ed. E. Dixon, Universidad de California, 1975.

RESULTADOS

El cariotipo normal de Omocestus bolivari, como el de todas las demás especies de Omocestus examinadas citológicamente hasta ahora, consta de tres pares de grandes autosomas metacéntricos y cinco pares de autosomas acrocéntricos más pequeños, con un determinismo cromosómico del sexo tipo X0/XX, de manera que $2n\sigma=17$ y $2n\varphi=18$. Los grupos de tamaño son: 3 largos (L_1-L_3), 3 medianos (M_4-M_6) y 2 cortos (S_7-S_8). El cromosoma X es el cuarto en orden de tamaño decreciente (Fig. 1). En los espermatoцитos primarios el complemento básico muestra 11 bivalentes, más el univalente X. El bivalente megamérico es el M_6 , el cual se asocia frecuentemente con el cromosoma X durante la profase-I y casi nunca en metafase-I.

Como elementos extraños al cariotipo normal se han observado, principalmente, un B-cromosoma y polisomía para el autosoma M_4 .

El cromosoma supernumerario es metacéntrico, mitóticamente estable y está presente tanto en la línea somática (ciegos gástricos, Fig. 2) como en la línea germinal (Fig. 3). En base a la similar longitud de sus dos brazos y al apareamiento entre ambos durante la 1ª división meiótica, se puede afirmar que se trata de un iso-cromosoma. Para profundizar en este tema, hemos aplicado la técnica de bandeo C en individuos con B-cromosoma. El resultado fué que el iso-B presenta una única banda C muy pequeña a nivel del centrómero (Fig. 3). En la hembra que presentó B-cromosoma, éste fué observado en todas las células de sus ovariolas.

Con respecto a la polisomía, ésta fué detectada en la línea germinal masculina por la presencia de autosomas M_4 extras, que se pueden distinguir de los M_4 del complemento normal porque se muestran heteropicnóticos positivos durante la profase-I de la

RESULTADOS

El cariotipo normal de Omocestus bolivari, como el de todas las demás especies de Omocestus examinadas citológicamente hasta ahora, consta de tres pares de grandes autosomas metacéntricos y cinco pares de autosomas acrocéntricos más pequeños, con un

determinismo cromosómico del sexo tipo XO. De manera que los grupos de tamaño son: 3 largos (1-3), 3 medianos (4-6) y 5 cortos (7-11). El cromosoma X es el cuarto en orden de tamaño decreciente (Fig. 1). En las espermatozoides primarios el complemento básico muestra 11 bivalentes, más el univalente X. El bivalente megacéntrico es el M₁, el cual se asocia frecuentemente con el cromosoma X durante la profase-I y casi nunca en meta-

fase-I. Como elementos extraños al cariotipo normal se han ob-

servado, principalmente, un B-cromosoma y polissomía para el autosoma M₁. El cromosoma supernumerario es metacéntrico, mitóti-

camente estable y está presente tanto en la línea somática (ciegos gástricos, Fig. 2) como en la línea germinal (Fig. 3). En base a la

Fig. 1: Cariotipo de una hembra de Omocestus bolivari, mostrando un iso-B-cromosoma.

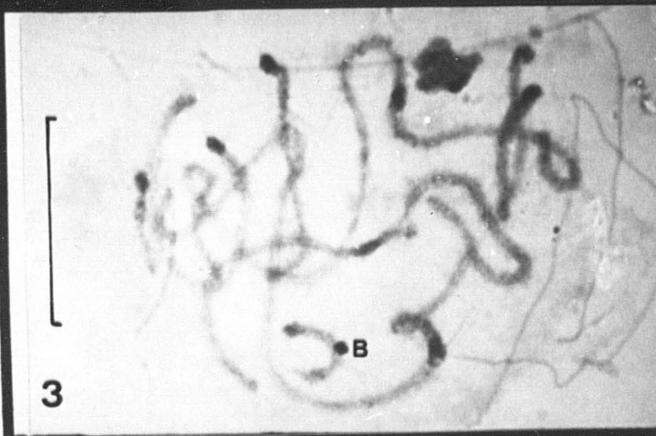
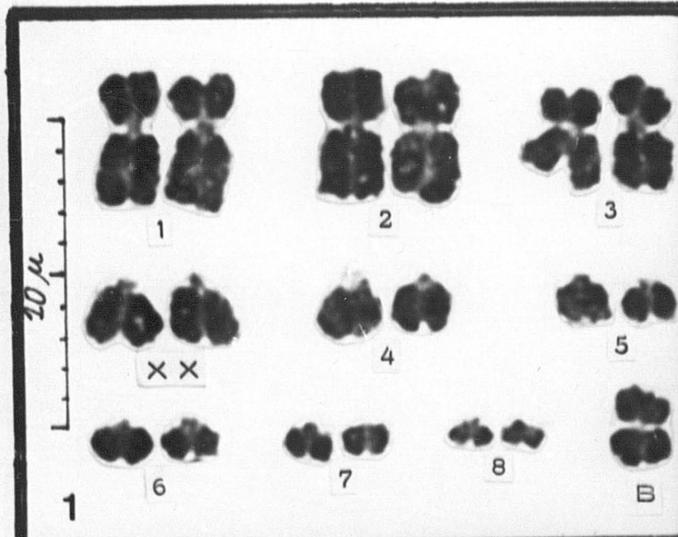
Fig. 2: Metafase mitótica obtenida en ciegos gástricos de un macho portador de supernumerario, en la que se puede observar un iso-B.

Fig. 3: Bandas-C en paquitene. Nótese que el B-cromosoma metacéntrico muestra una única banda, a nivel del centrómero.

Fig. 4: Asociación X-B.

- 4a: Diplotene: X y B asociados.
- 4b: Diplotene temprana: X y B asociados.

Excepto en la figura 2, las barras representan 10 μ .



meiosis. A diferencia de los B-cromosomas, los autosomas M_4 extra no fueron encontrados en los ciegos gástricos de los individuos portadores de la polisomía.

1. - ESTRUCTURA DE LAS POBLACIONES ANALIZADAS.

1.1. - Frecuencia del iso-B-cromosoma y de la polisomía en las poblaciones.

La incidencia de estos elementos extras ha sido muy variable según las poblaciones estudiadas, como puede observarse en la Tabla 1. De las 19 hembras analizadas, en ninguna se observó polisomía para el autosome M_4 y en sólo una de ellas se detectó un iso-B-cromosoma.

1.2. - Frecuencia de la polisomía en los individuos.

Todos los individuos que presentaban el carácter de polisómicos resultaron ser mosaicos para dicho carácter, es decir, presentaban folículos normales ($n=8\pm X$) y folículos con distintos números de autosomas M_4 extras, en unas frecuencias que pueden observarse en la Tabla 2. El número de M_4 extras variaba entre los folículos del mismo individuo, pero era constante entre las células de un mismo folículo.

2. - COMPORTAMIENTO MEIOTICO DEL ISO-B-CROMOSOMA.

El cromosoma supernumerario encontrado en las poblaciones estudiadas de Omocestus bolivari se muestra heteropichnótico positivo durante la profase-I de la meiosis, así como con un alto grado de contracción a lo largo de todo el ciclo meiótico.

Tabla 1. Frecuencia del iso-B-cromosoma y de la polisomía en las poblaciones

Población	Individuos										
	1 B	%	2 B	%	Poliso- mía (Mo- saico)	%	Mosaico ± 1 B	%	Norma- les	%	TOTAL
E.D.	3	7.50	-	-	2	5.00	-	-	35	87.50	40
C.O.	4	22.22	1	5.56	4	22.22	-	-	9	50.00	18
A.U.	5	6.58	-	-	4	5.26	2	2.63	65	85.53	76
A.C.	-	-	-	-	-	-	-	-	22	100.00	22
L.A.	4	7.27	-	-	2	3.64	-	-	49	89.09	55

Tabla 2. Frecuencia de la polisomía en los individuos

Individuo	Folículos $n=8 \pm X$	%	Folículos $n=8 \pm X \pm 1M_4$	%	Folículos $n=8 \pm X \pm 2M_4$	%	Folículos $n=8 \pm X \pm 3M_4$	%	Folículos $n=8 \pm X \pm 4M_4$	%	Folículos polisomicos	%	TOTAL Folículos
A. U. 5	3	37.50	-	-	4	50.00	1	12.50	-	-	5	62.50	8
A. U. 11	4	40.00	-	-	6	60.00	-	-	-	-	6	60.00	10
A. U. 22	6	40.00	-	-	7	46.67	-	-	2	13.33	9	60.00	15
A. U. 25(±B)	16	55.17	10	34.48	3	10.34	-	-	-	-	13	44.82	29
A. U. 28(±B)	10	50.00	-	-	8	40.00	-	-	2	10.00	10	50.00	20
A. U. 66	11	34.38	7	21.88	14	43.75	-	-	-	-	21	65.63	32
L. A. 6	13	43.33	-	-	16	53.33	-	-	1	3.33	17	56.66	30
L. A. 22	2	10.53	-	-	17	89.47	-	-	-	-	17	89.47	19
E. D. 21	9	37.50	4	16.67	11	45.83	-	-	-	-	15	62.50	24

2.1. - Asociación X-B.

En los machos con 1 B la existencia de los univalentes X y B posibilita a veces la asociación meiótica de ambos (Fig. 4). Por ese motivo, hemos hecho un estudio de dicha asociación en distintas etapas de la meiosis, en varias poblaciones de ambas caras de Sierra Nevada.

Como se puede ver en la Tabla 3, la asociación X-B es muy alta en la profase-I (cigotene: 81,07%; paquitene: 70,77%; diplotene: 63,43%). Sin embargo, en metafase-I esta asociación es muy baja (2,23%), lo que nos lleva a pensar que esta asociación no es por homología, sino más bien se trata de una asociación por afinidad heterocromática.

2.2. - Asociación entre los brazos del B.

Los dos brazos del B-cromosoma metacéntrico se aparean frecuentemente durante las primeras etapas meióticas formando estructuras de brazos apareados en toda su longitud (Fig. 5) y estructuras de B en anillo (Fig. 6).

Cuando los brazos del iso-B no se aparean los B toman una apariencia de estructura estirada o recta (Fig. 7).

En la Tabla 4 se muestran las frecuencias de asociación entre los brazos del B en paquitene (89,32%), diplotene (85,92%) y metafase-I (61,28%). La alta frecuencia con que las asociaciones persisten en metafase-I indica la existencia de homología entre los brazos del B-cromosoma, al contrario de lo que ocurría con las asociaciones X-B.

2.3. - Segregación X-B.

Un aspecto muy interesante a estudiar en machos con 1 B, en los que, como dijimos anteriormente, se observan dos cromosomas univalentes, el X y el B, es la segregación de ambos univalentes en

Tabla 3. Asociación X-B

Población	Cigotene			Paquitene			Diplotene			Metafase-I		
	U	S	% as.	U	S	% as.	U	S	% as.	U	S	% as.
A.U.	491	69	87.68	427	117	78.49	371	121	75.41	10	509	1.96
L.A.	358	95	79.03	81	39	67.50	129	106	54.89	10	355	2.74
E.D.	106	59	64.24	27	65	29.35	74	104	41.57	3	143	2.05
TOTAL	955	223	81.07	535	221	70.77	574	331	63.43	23	1007	2.23

U: Unidos; S: Separados; as.: asociación.

Fig. 5: Espermatocito primario en paquitene mostrando un B con los brazos totalmente apareados.

Fig. 6: B en anillo.

6a: Paquitene.

6b: Diplotene.

6c: Metafase-I.

La barra representa 10 μ .

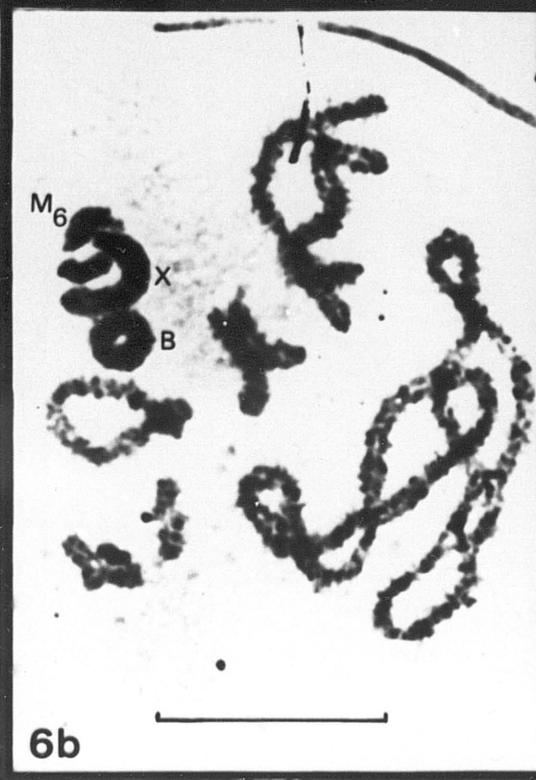


Fig. 7: B estirado.

7a: Diplotene.

7b: Metafase-I.

Fig. 8: Distintos tipos de células en metafase-II en individuos portadores de B.

8a: $n=8$

8b: $n=8\frac{1}{2}B$

La barra representa $10\ \mu$.

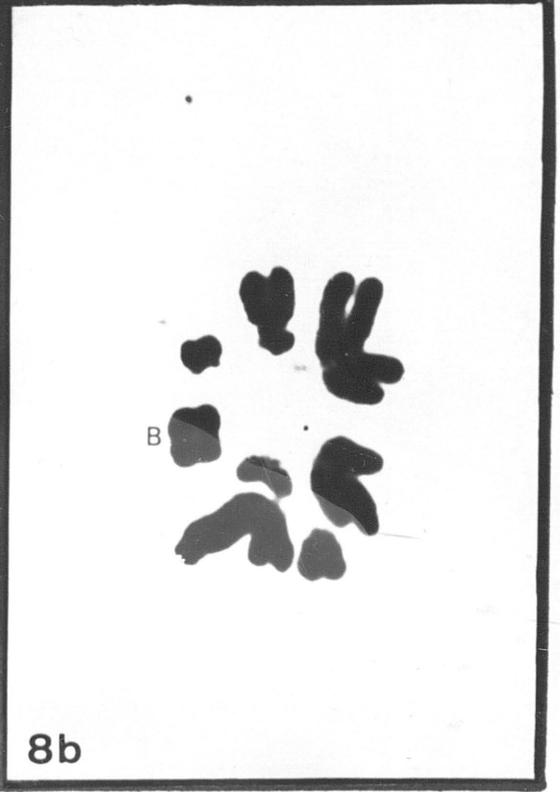


Fig. 8: (Continuación).

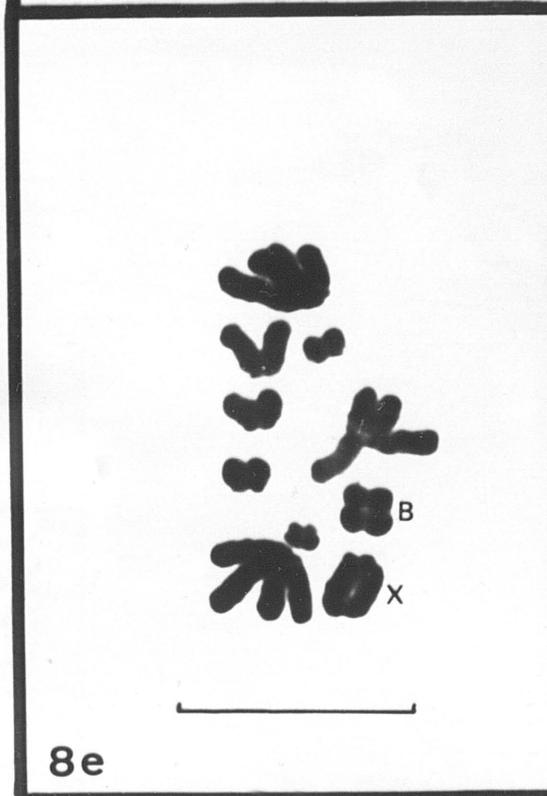
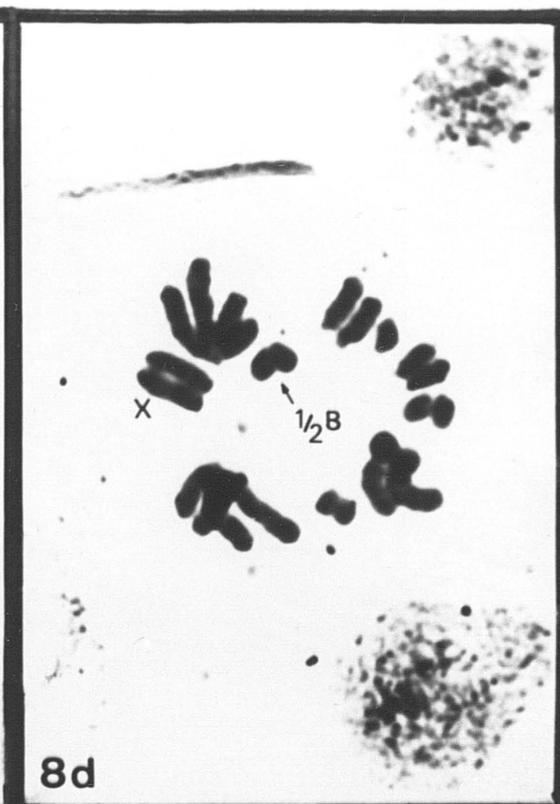
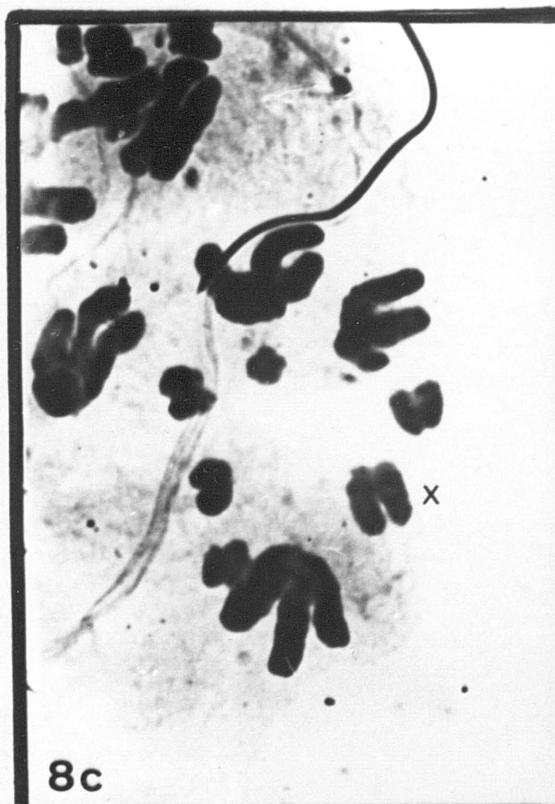
8c: $n=8\frac{1}{2}X$

8d: $n=8\frac{1}{2}X\frac{1}{2}B$

8e: $n=8\frac{1}{2}X\frac{1}{2}B$

8f: $n=8\frac{1}{2}B$

La barra representa 10μ .



la primera división meiótica. Para ello hicimos un recuento de células en metafase-II de machos con B de Albergue Universitario y La Alberquilla.

La Fig. 8 muestra los distintos tipos de metafases-II observadas en los machos con B y en la Tabla 5 se muestran las frecuencias de cada uno de estos tipos encontrados en cada uno de los individuos portadores de B de Albergue Universitario.

Los dos últimos tipos de metafase-II, que representan el 21.66% del total de metafases-II, derivan de división ecuacional del univalente B en la 1ª división meiótica y no serán tenidas en cuenta para el estudio de la segregación X-B porque proceden de anafases-I en las que no hubo segregación para el B.

En el caso de que el X y el B segregaran al azar, deberíamos esperar que los cuatro primeros tipos de metafase-II aparecieran en igual frecuencia (1:1:1:1). Teniendo en cuenta las frecuencias esperadas calculadas en base a esta hipótesis, aplicamos en cada macho un test de χ^2 simple y obtuvimos resultados contradictorios, lo que nos llevó a aplicar un test de χ^2 de homogeneidad, que no detectó diferencias significativas entre los 5 machos ($\chi^2_{(12)}=13.207$; $P=0.3-0.5$). En base a esto, el resultado final de la segregación X-B en los 5 machos con B de esta población vendría dado por la χ^2 de las frecuencias acumuladas, cuyo valor era $\chi^2_{(3)}=19.565$ ($P<0.001$). Por todo ello, se puede afirmar que en Albergue Universitario los univalentes X y B no segregan al azar, sino que migran al mismo polo en más del 50% (54.51%) de los casos.

En La Alberquilla, este aspecto se estudió en dos de los machos con B (Tabla 6). En éstos, el 8.18% de las metafases-II procedía de división ecuacional del B, porcentaje sensiblemente inferior al observado en Albergue Universitario. Por lo que respecta a la segregación X-B, ésta en ambos machos era al azar (L. A. 2: $\chi^2_{(3)}=0.069$, $P>0.95$; L. A. 8: $\chi^2_{(3)}=2.302$, $P=0.5-0.7$).

Tabla 5. Frecuencias de los distintos tipos de metafases-II observadas en los machos portadores de B de Albergue Universitario

Macho($\frac{1}{2}$ B)	Metafases-II						TOTAL
	8	8 $\frac{1}{2}$ X	8 $\frac{1}{2}$ X $\frac{1}{2}$ B	8 $\frac{1}{2}$ B	8 $\frac{1}{2}$ $\frac{1}{2}$ B	8 $\frac{1}{2}$ X $\frac{1}{2}$ $\frac{1}{2}$ B	
A. U. 10	21	21	12	13	24	23	114
A. U. 14	26	26	27	19	31	25	154
A. U. 42	33	37	17	20	4	8	119
A. U. 57	30	15	22	14	2	3	86
A. U. 59	51	33	33	29	11	7	164
TOTAL	161	132	111	95	72	66	637

Porcentaje mínimo de células procedentes de división ecuacional del B (8 $\frac{1}{2}$ B y 8 $\frac{1}{2}$ X $\frac{1}{2}$ B): 21.66%

Tabla 6. Frecuencias de los distintos tipos de metafases-II observadas en los machos portadores de B de La Alberquilla

Macho(\downarrow B)	Metafases-II						TOTAL
	8	8 \downarrow X	8 \downarrow X \downarrow B	8 \downarrow B	8 \downarrow $\frac{1}{2}$ B	8 \downarrow X \downarrow $\frac{1}{2}$ B	
L. A. 2	15	14	14	15	1	2	61
L. A. 8	13	10	13	7	3	3	49
TOTAL	28	24	27	22	4	5	110

Porcentaje mínimo de células procedentes de división ecuacional del B (8 \downarrow $\frac{1}{2}$ B y 8 \downarrow X \downarrow $\frac{1}{2}$ B): 8.18%

El recuento de las metafases-II permite, por otra parte, la realización de un estudio de la frecuencia con que el X y el B son transmitidos a los gametos.

Así, de la Tabla 5 se puede deducir que los machos con B de Albergue Universitario forman gametos determinantes de machos y hembras (sin X y con X, respectivamente) en proporción 1:1 ($\chi^2_{(1)}=0.57$; $P=0.3-0.5$). Lo mismo se concluye de la Tabla 6 para los machos de La Alberquilla ($\chi^2_{(1)}=0.57$; $P=0.3-0.5$).

Por otra parte, los machos con un B de Albergue Universitario forman un 41.28% de gametos con B, según se deduce de la Tabla 5. Esto difiere significativamente del 50% esperado ($\chi^2_{(1)}=15.17$; $P<0.001$) e indica una pérdida de Bs durante la 1ª división meiótica.

En La Alberquilla (Tabla 6), los machos con un B forman aproximadamente la misma cantidad de gametos con B que sin B ($\chi^2_{(1)}=0.069$; $P=0.7-0.9$); por tanto, no debe haber en ellos pérdida de Bs durante la 1ª división meiótica.

2.4. - Formación de microespermátidas.

En las preparaciones microscópicas de folículos testiculares, además de células en distintas fases de la meiosis y mitosis espermatogoniales, se pueden encontrar núcleos espermáticos, espermátidas y espermatozoides. En ocasiones se observan estructuras semejantes a núcleos espermáticos y espermátidas, pero de tamaño mucho menor, a las que llamamos respectivamente, micronúcleos y microespermátidas (Fig. 9).

Aunque en principio se contabilizó la frecuencia de ambos tipos de elementos, pensamos que el recuento de micronúcleos se podía prestar a errores por exceso con mayor probabilidad que el recuento de microespermátidas. De hecho, la frecuencia de micronúcleos espermáticos en diez machos normales de Albergue Universitario escogidos al azar (1.01%) fué significativamente mayor que la frecuen-

Fig. 9: Núcleos espermáticos (n.), espermátidas (e.), micronúcleos (m.n.) y microespermátidas (m.e.).

Fig. 10: Dos $\frac{1}{2}Bs$ separados de la telofase-I a la que pertenecen.

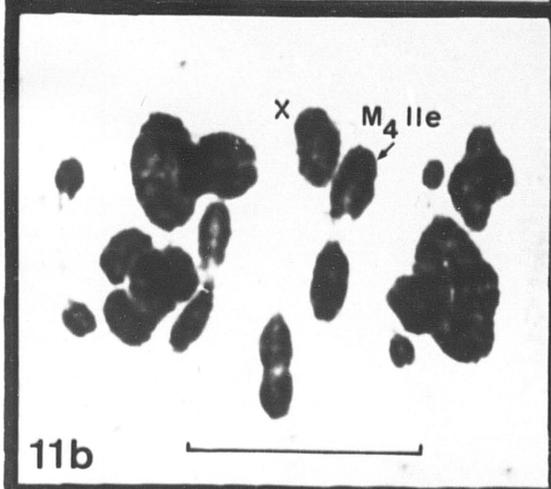
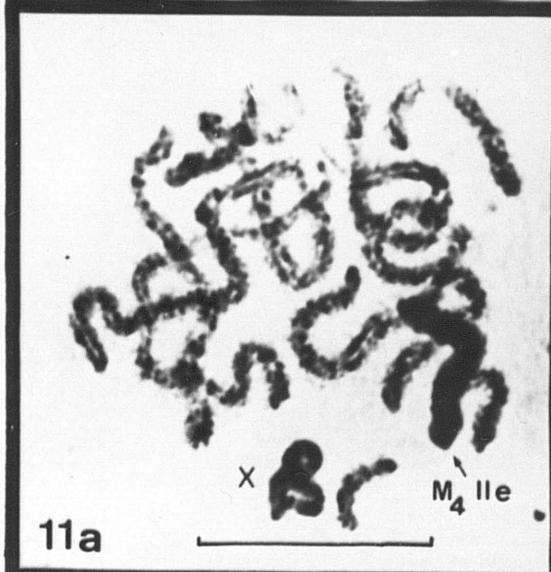
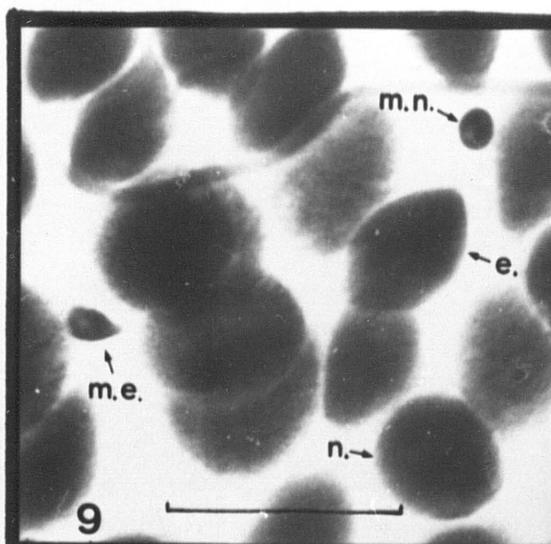
Fig. 11: Asociaciones X- M_4 extra.

11a: Paquitene: bivalente M_4 extra separado del X.

11b: Metafase-I: bivalente M_4 extra asociado al X.

11c: Cigotene: bivalente M_4 extra asociado al X. En esta fase, ambos forman un único cuerpo heteropichnótico positivo.

Las barras representan 10μ .



cia de microespermátidas contabilizada en estos mismos machos (0.16%) ($\chi^2_{(1)}=17.67$; $P<0.001$). Aunque pensamos que era probable que algunos micronúcleos no llegaran a formar microespermátidas (según estas cifras, seis de cada siete micronúcleos), también supusimos que contabilizábamos más micronúcleos de los que realmente había, porque determinados artefactos de la preparación podían prestarse a ser confundidos con dichos micronúcleos. En consecuencia, optamos por hacer recuentos sólo de microespermátidas frente a espermátidas de tamaño normal, porque en éste caso no era tanta la probabilidad de cometer error, debido a que la forma de la microespermátida es inconfundible.

A.U. 19 En la población de Albergue Universitario se contabilizó la frecuencia de microespermátidas en diez individuos normales escogidos al azar, como puede observarse en la Tabla 7, apareciendo una frecuencia global del 0.16%. También se contabilizó dicha frecuencia en aquellos individuos que eran portadores del iso-B (Tabla 8).

A.U. 63 Del mismo modo, en La Alberquilla, fueron estudiados seis individuos normales escogidos al azar, en los que no se detectó ninguna microespermátida, en recuento similar al realizado en los machos normales de Albergue Universitario. En los individuos de La Alberquilla portadores de supernumerario sí se detectaron microespermátidas, en unas frecuencias que se muestran en la Tabla 9.

Al comparar los individuos normales de Albergue Universitario con los individuos portadores de B (A.U. 42, A.U. 57, A.U. 59) en cuanto a la frecuencia de formación de microespermátidas, se observó que los machos con B de dicha población formaban microespermátidas con una frecuencia significativamente mucho mayor que los machos normales ($\chi^2_{(1)}=42.86$; $P<0.001$). Esto nos llevó a deducir que se puede atribuir la presencia de la mayoría de las microespermátidas a la existencia del B.

Debido a que, como se ha dicho, la frecuencia de micro-

Tabla 7. Frecuencia de microespermátidas en individuos normales de Albergue Universitario

Macho (normal)	Microespermátidas	Espermátidas
A. U. 72	0	362
A. U. 19	0	239
A. U. 17	0	327
A. U. 73	1	320
A. U. 39	0	163
A. U. 41	0	301
A. U. 63	1	332
A. U. 58	2	350
A. U. 4	1	308
A. U. 53	0	381
TOTAL	5 (0,16%)	3083

Tabla 8. Frecuencia de microespermátidas y de división ecuacional del B en individuos portadores de B de Albergue Universitario

Macho (n=8±X±B)	Microes- permátidas (frecuencia)		Espermátidas	División re- duccional	División ecuacional (frecuencia)	
A. U. 42	2	(0.0056)	355	107	12	(0.1008)
A. U. 57	15	(0.0294)	496	81	5	(0.0581)
A. U. 59	8	(0.0235)	332	146	18	(0.1098)
TOTAL	25	(0.0207)	1183	334	35	(0.0949)

Tabla 9. Frecuencia de microespermátidas y de división ecuacional del B en individuos portadores de B de La Alberquilla

Macho (n=8♂X♂B)	Microes- permátidas (frecuencia)	Espermátidas	División reduccional	División ecuacional (frecuencia)
L. A. 2	5 (0.0163)	302	58	3 (0.0492)
L. A. 8	2 (0.0038)	526	43	3 (0.0612)
L. A. 19	2 (0.0051)	389	12	1 (0.0769)
L. A. 48	3 (0.0074)	405	18	0 (0.0000)
TOTAL	12 (0.0073)	1622	131	7 (0.0507)

espermáticas en individuos normales de La Alberquilla resultó ser nula, tuvimos que comparar los individuos con B de La Alberquilla con machos normales de Albergue Universitario, resultando que aquellos forman microespermáticas con una frecuencia significativamente mayor que éstos ($\chi^2_{(1)}=8.23$; $P=0.001-0.005$).

- Relación entre la división ecuacional de los B y la formación de microespermáticas.

La división ecuacional del supernumerario en la anafase-I meiótica, hace que a cada célula hija vaya una cromátida del B, que nosotros hemos denominado $\frac{1}{2}B$.

Sin embargo, la existencia de una pérdida de Bs durante la 1ª división meiótica, como se indicó en el apartado 2.3., así como la observación de algunas células en telofase-I en las que los dos $\frac{1}{2}Bs$ están bastante alejados de los polos telofásicos (Fig. 10), indican claramente que los $\frac{1}{2}Bs$ no siempre se integran en los polos telofásicos y por tanto, que puedan dar lugar a microespermáticas.

Si, como parece deducirse de lo expuesto anteriormente, la formación de microespermáticas tuviera relación con la división ecuacional del B en la 1ª división meiótica, a mayor frecuencia de división ecuacional debería corresponder mayor frecuencia de microespermáticas. Efectivamente, los machos de Albergue Universitario, que muestran una mayor frecuencia de división ecuacional del B (21.66%) que los machos de La Alberquilla (8.18%), presentan una frecuencia de microespermáticas (2.07%) significativamente mayor que la de los machos de La Alberquilla (0.73%) ($\chi^2_{(1)}=8.62$; $P=0.001-0.005$).

Una vez asumida la relación entre la división ecuacional de los B y la formación de microespermáticas, a través de la no integración de los $\frac{1}{2}Bs$ en los polos anafásicos, podemos hacer una estimación de la frecuencia con que ocurre la integración efectiva de dichos

elementos en los polos.

El razonamiento para obtener dicha frecuencia ha sido el siguiente:

Puesto que los machos normales de Albergue Universitario forman microespermátidas (aunque en pequeña frecuencia), esto indica que algún (os) otro (s) elemento (s) del cariotipo (aparte del B) tiene (n) un comportamiento meiótico anormal que conduce a la formación de microespermátidas. Como no existen razones para pensar que no ocurra igual en los machos con B, restaremos a la frecuencia de microespermátidas en machos con B la frecuencia observada en los individuos no portadores de supernumerario (0.0016):

Así, en el macho A.U. 42, la frecuencia de microespermátidas es de 0.0056 (Tabla 8) y al restarle 0.0016 se obtiene una frecuencia "neta" de microespermátidas de 0.004. Puesto que la división ecuacional observada en este individuo es de 0.1008 (Tabla 8), ésta debería ser la frecuencia de microespermátidas esperada en el supuesto de que la integración en los polos anafásicos de los $\frac{1}{2}$ Bs fuera del 0%. Si a esta frecuencia "esperada" le restamos la "observada" (0.004), nos dará una cifra, 0.0968, que, dividida por la frecuencia de división ecuacional, nos dará el % de integración de los $\frac{1}{2}$ Bs en los polos anafásicos, que este caso es del 96%.

Por el mismo procedimiento hemos obtenido que en el macho A.U. 57 la integración ocurre en el 52% de los casos y en el A.U. 59 en el 80%.

Por tanto, la frecuencia con que los $\frac{1}{2}$ Bs resultantes de división ecuacional se integran en los polos telofásicos de la 1ª división meiótica es bastante elevada y variable entre machos.

3. - COMPORTAMIENTO MEIOTICO DE LOS M_4 EXTRAS:

Todos los autosomas M_4 en exceso de dos presentan heteropicnosis positiva durante la profase-I de la meiosis. A estos M_4 en exceso los hemos denominado M_4 extras (M_4e).

3.1. - Asociación X- M_4 extras.

Hemos estudiado esta asociación en dos tipos de folículos, $n=8\pm X\pm 1 M_4e$ y $n=8\pm X\pm 2 M_4e$ (ver Fig. 11), ya que en los folículos con tres y cuatro elementos extra no aparecieron suficientes células para hacer un buen recuento.

En los folículos $n=8\pm X\pm 1 M_4e$ del A.U. 66, la asociación en paquitene era del 87.88% y en metafase-I del 2.46%. Se puede deducir de ello que no se trata de una asociación por homología sino por afinidad heterocromática, como en el caso de los supernumerarios.

En cuanto a la asociación en los folículos con dos M_4 extras (Tabla 10), ésta era del 41.67% en paquitene, del 31.48% en diplotene y del 3.32% en metafase-I. Como se puede apreciar, las asociaciones X- M_4 extra en profase-I descienden sensiblemente cuando existen 2 M_4 extras, posiblemente debido, como veremos posteriormente, a que los 2 M_4 extras siempre forman bivalente.

3.2. - Asociación M_4 normal- M_4 extra (M_4n - M_4e).

Esta asociación era muy baja durante la profase-I, lo cual pensamos que es debido a la diferencia en el ciclo picnótico o de condensación de ambos tipos de cromosomas (Fig. 12). Así, mientras que los M_4 normales se muestran descondensados en el comienzo de la profase-I y su contracción aumenta con el progreso de ésta (como es normal en los miembros estándar del complemento), los M_4 extra aparecen heteropicnóticos positivos (muy contraídos) ya desde el inicio de la meiosis. Esta diferencia en condensación en las etapas

Todos los autosomas M₄ en exceso de dos presentan heteroploidia positiva durante la profase-I de la meiosis. A estos M₄ en exceso los hemos denominado M₄ extras (M₄ ex).

3.1.1 - Asociación X-M₄ extras.

Hemos estudiado esta asociación en dos tipos de folículos: n=64X+1 M₄ e y n=64X+2 M₄ e (ver Fig. 11), ya que en los folículos con tres y cuatro elementos extra no aparecen suficientes células para hacer un buen recuento.

En los folículos n=64X+1 M₄ e del A.U. 66, la asociación en paquítena era del 87,98% y en metafase-I del 5,45%. Se puede deducir de ello que no se trata de una asociación por homología sino por afinidad heterocromática, como en el caso de los supernuméricas.

En cuanto a la asociación en los folículos con dos M₄ extras (Tabla 10), ésta era del 67% en paquítena, del 31,48% en diplotene y del 3,32% en metafase-I. Como se puede apreciar, las asociaciones X-M₄ extras en profase-I descienden sensiblemente cuando existen 2 M₄ extras, posiblemente debido, como veremos posteriormente, a que los 2 M₄ extras siempre forman bivalentes.

3.2 - Asociación M₄ normal-M₄ extra (M₄ n-M₄ e).

Fig. 12: Asociación M₄ normal-M₄ extra.

12a: Diplotene temprana: bivalente M₄ normal asociado al bivalente M₄ extra.

12b: Paquítena: bivalente M₄ normal separado del bivalente M₄ extra.

Fig. 13: Aspecto de los bivalentes M₄ extra en diplotene (a y b) y metafase-I (c).

La barra representa 10 μ.

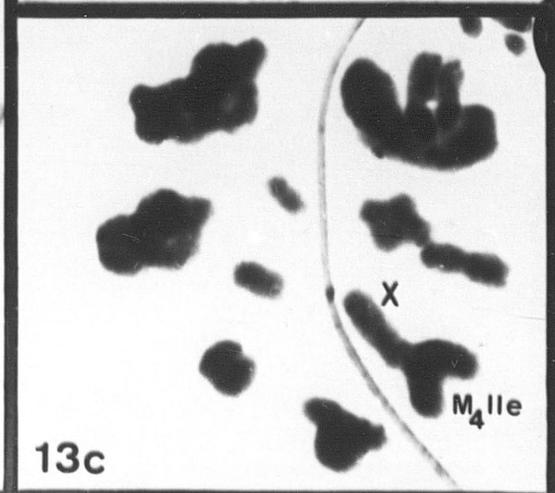
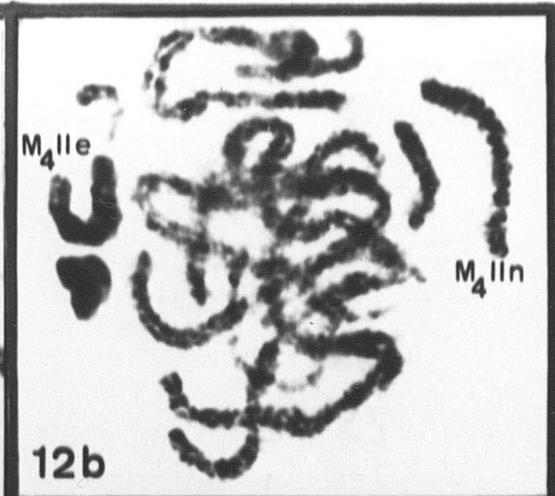


Tabla 10. Asociación X-M₄ II extra

Macho	Paquitene			Diplotene			Metafase-I		
	A	S	% as.	A	S	% as.	A	S	% as.
A. U. 66	18	19	48.65	7	10	41.18	1	49	2.00
L. A. 6	12	7	63.16	1	2	33.33	6	108	5.26
L. A. 22	5	23	17.86	9	25	26.47	0	47	0.00
TOTAL	35	49	41.67	17	37	31.48	7	204	3.32

A: Asociados; S: Separados; as.: asociación.

en que ocurre el apareamiento homólogo puede llevar a fallos en dicho apareamiento.

3.3. - Asociación entre los M_4 extras.

En folículos $n=8+X+2 M_4$ siempre se han observado los 2 M_4 extras asociados en bivalente en profase-I y metafase-I (Fig. 13). En ningún caso se encontraron formando dos univalentes.

En los folículos con 4 M_4 extras éstos podían formar las siguientes estructuras: un cuadrivalente, dos bivalentes, un trivalente más un univalente o un bivalente más dos univalentes, dándose estas asociaciones en paquitene, diplotene y metafase-I. El número de células en este tipo de folículos no era lo suficientemente elevado como para efectuar un buen recuento de frecuencias.

En paquitene y diplotene los cuadrivalentes aparecían en círculo, en cruz o en cadena (Fig. 14).

Los bivalentes podían presentarse asociados entre sí o separados (Fig. 15). Su forma en paquitene y diplotene podía ser de ambos en cruz, uve o cadena, es decir, con un quiasma en cada bivalente, dependiendo la forma de los bivalentes de la posición de dicho quiasma; uno en anillo (dos quiasmas) y el otro en cruz, uve o cadena; o ambos en anillo.

En los casos en los que se observó un trivalente más un univalente, éste se presentaba separado de aquél, que en diplotene tenía forma de anillo compuesto de tres autosomas M_4 extras (Fig. 16).

Solamente en metafase-I se encontraron los M_4 extras asociados formando un bivalente y dos univalentes, de los cuales en ocasiones uno se encontró ligado al bivalente extra, mientras que en otras, los tres elementos permanecían libres entre sí (Fig. 17).

3.4. - Formación de microespermátidas.

Del mismo modo que comprobamos que los iso-B incremen-

Fig. 14: Cuadrivalentes M_4 extras.

14a: Célula incompleta en diplotene.

14b: Paquítene: cuadrivalente en cadena.

14c: Diplotene: cuadrivalente en anillo.

14d: Metafase-I: cuadrivalente en anillo.

14e: Metafase-I: cuadrivalente en cadena.

Las barras representan 10μ .

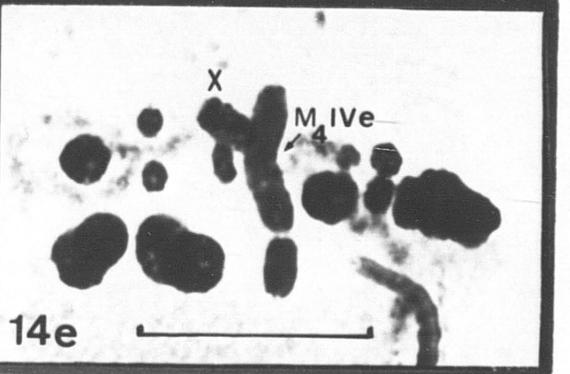
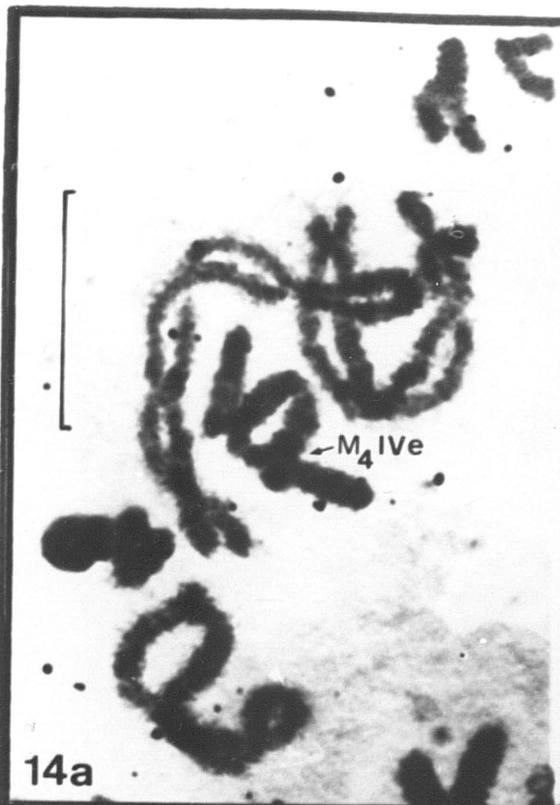


Fig. 15: Células en diplotene mostrando dos bivalentes M_4 extras.

15a: Dos bivalentes en anillo.

15b: Un bivalente en uve y otro en cruz.

15c: Un bivalente en anillo y otro en cruz.

15d: Un bivalente en uve y otro en cruz.

La barra representa 10μ .

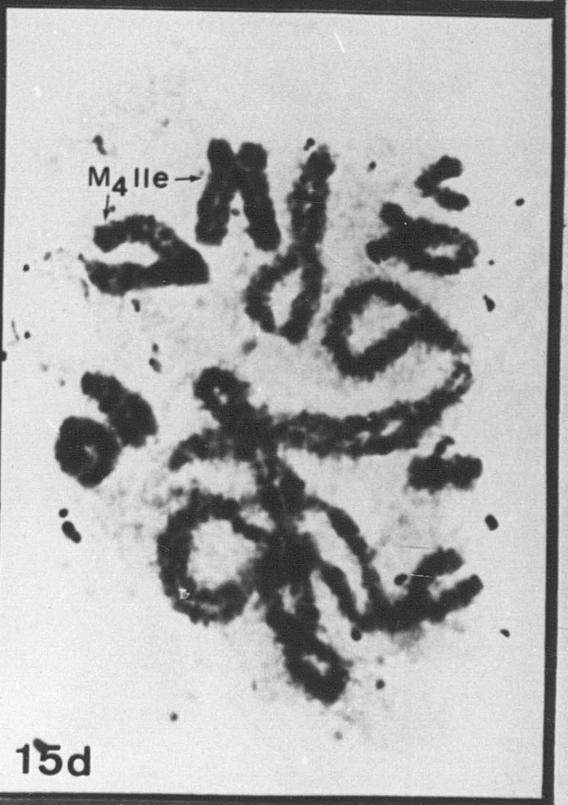
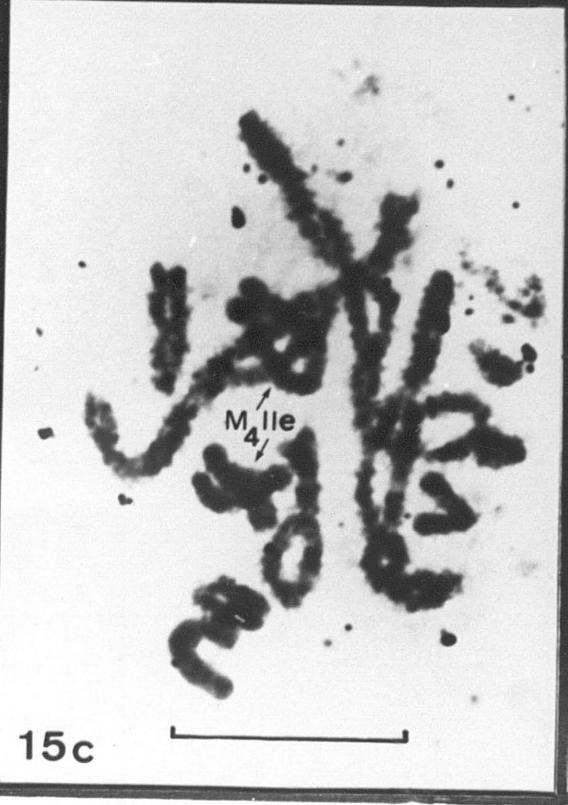


Fig. 15: (Continuación).

15e: Dos bivalentes en anillo.

Fig. 16: Célula en diplotene mostrando un trivalente y un univalente

M_4 extras.

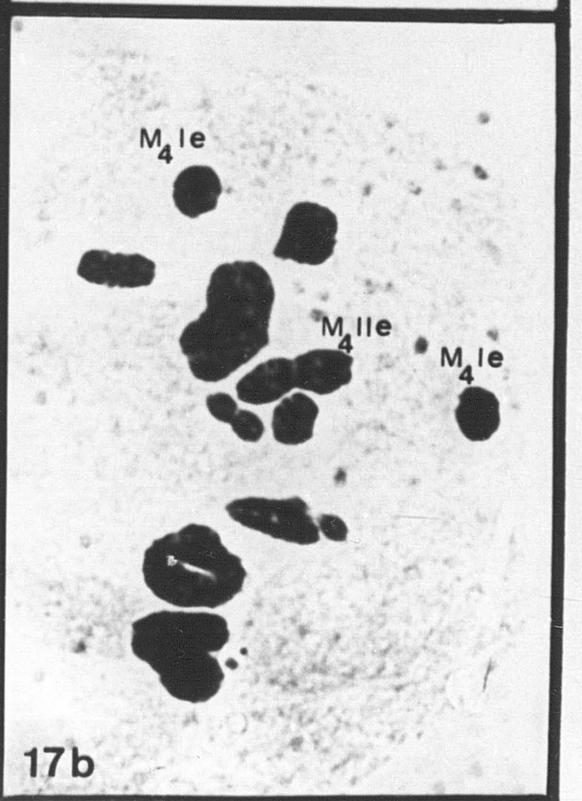
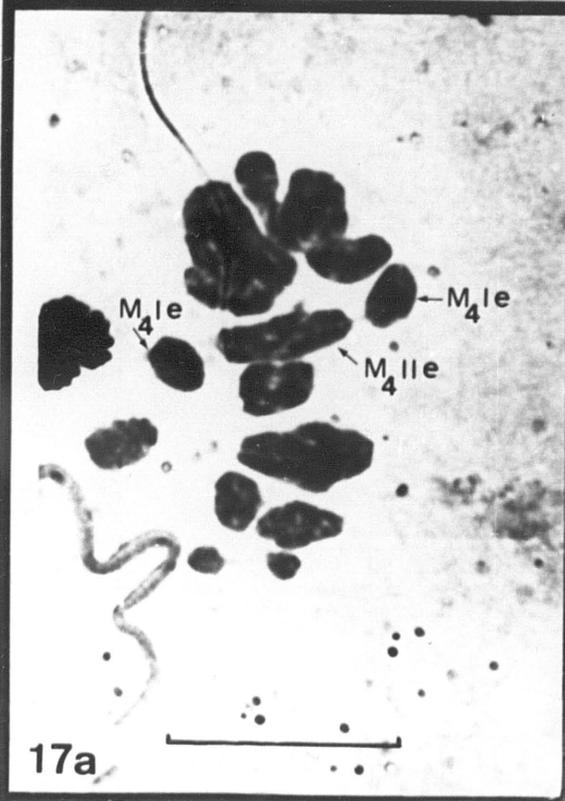
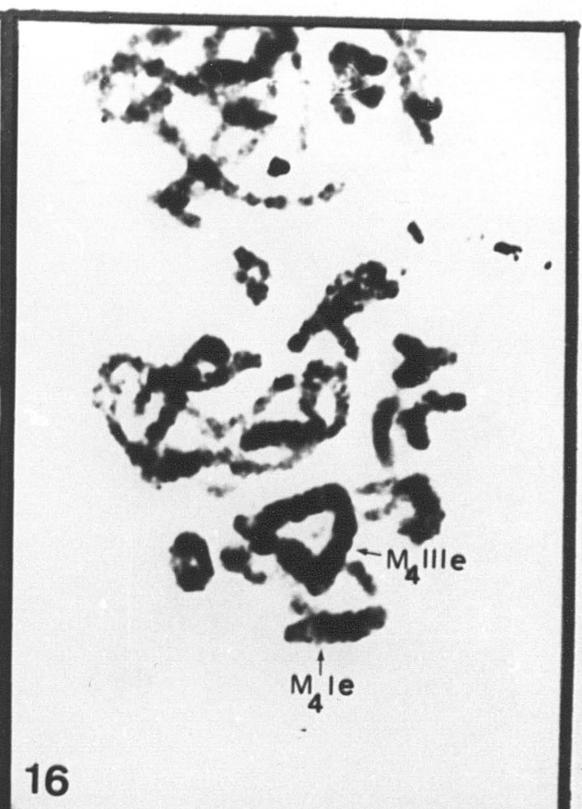
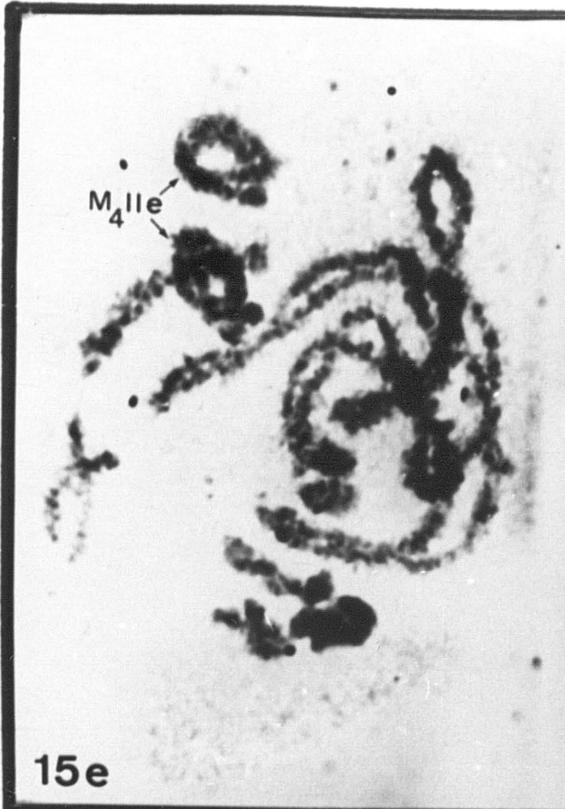
Fig. 17: Espermátocitos primarios en metafase-I con un bivalente

M_4 extra más dos univalentes M_4 extras.

17a: Un univalente asociado al bivalente.

17b: Los dos univalentes separados del bivalente.

La barra representa 10μ .



taban la frecuencia de microespermátidas en los individuos portadores de dichos supernumerarios, quisimos investigar si los elementos M_4 extras tenían algo que ver con la formación de las microespermátidas. En la Tabla 11 se muestran los resultados de recuentos de microespermátidas y espermátidas normales en los distintos tipos de folículos de varios machos mosaicos para la polisomía.

Tabla 11. Frecuencia de microespermátidas en los machos mosaicos para la polisomía

Folículos	microespermátidas	espermátidas	TOTAL
$n=8\downarrow X$	7	1020	1027
$n=8\downarrow X\downarrow 1 M_4 e$	18	521	539
$n=8\downarrow X\downarrow 2 M_4 e$	7	801	808
TOTAL	32	2342	2374

Comparando entre sí los diferentes tipos de folículos respecto a la frecuencia de microespermátidas, se obtuvo que ésta era significativamente diferente entre ellos ($\chi^2_{(2)}=20.889$; $P=0.001$). Al comparar cada dos tipos de folículos se vio que la frecuencia de microespermátidas sólo se puede considerar similar entre los folículos $n=8\downarrow X$ y $n=8\downarrow X\downarrow 2 M_4 e$ ($\chi^2_{(1)}=0.033$; $P=0.70-0.90$) y en ambos es menor a la de los folículos $n=8\downarrow X\downarrow 1 M_4 e$ (Tabla 12). Es posible que en éstos, parte de los univalentes M_4 extra se pierdan, dando lugar a microespermátidas, cosa que ocurre con menor frecuencia en los folículos $n=8\downarrow X\downarrow 2 M_4 e$ porque en éstos los M_4 extra siempre forman bivalentes que se pueden orientar mejor en el huso acromático.

Tabla 13. Comparación en la formación de microespermátidas entre los distintos tipos de portadores de los cromosomas

Portador	χ^2	P
$n=81X/n=81X+1 M_e$	46615,07	0,001***
$n=81X/n=81X+2 M_e$	0,033	0,70-0,90 n.s.
$n=81X+1 M_e/n=81X+2 M_e$	2,343	0,001-0,01**

4. - COMPORTAMIENTO MEIÓTICO DE LOS ISO-5_e Y LOS M₄ EXTRAS EN INDIVIDUOS PORTADORES DE AMBOS.

De todos los machos analizados en este trabajo tan sólo hubo dos, de la población de Albarque Universitario, que mostraran simultáneamente portadores para el autosoma M₄ y cromosoma adeno- numérico. De ellos, por ser mejor material, se estudió exhaustiva- mente el A.U. 25, al que se referirán la mayoría de los datos y resul- tados de este apartado.

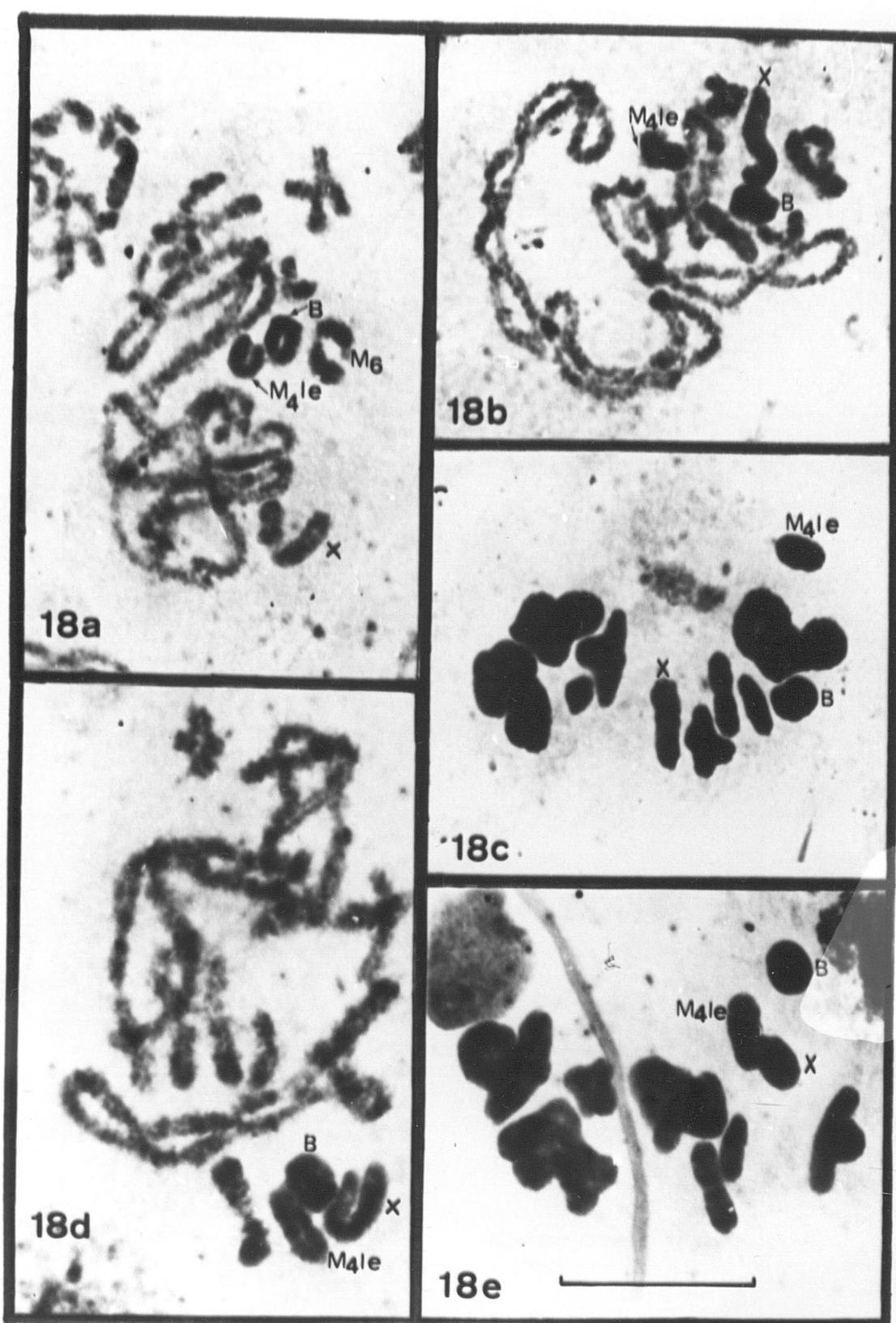
4.1. - Asociación X-B-M₄ extra en A.U. 25

La Fig. 18 muestra los distintos tipos de asociación en-

Fig. 18: Asociaciones X-B-M₄ extras: células con 1 M₄ extra.

- 18a: Diplotene: B y M₄ extra unidos, X separado.
- 18b: Diplotene: B y X unidos, M₄ extra separado.
- 18c: Metafase-I: X, B y M₄ extra separados.
- 18d: Diplotene: X, B y M₄ extra unidos.
- 18e: Metafase-I: X y M₄ extra unidos, B separado.

La barra representa 10 μ .



18a

18b

18c

18d

18e

Fig. 18: (Continuación): células con 2 M_4 extras.

18f: Diplotene: B unido a los M_4 extras, X separado. Obsérvese el quiasma intersticial en el B.

18g: Diplotene: X, B y M_4 extras separados.

18h: Diplotene: X, B y M_4 extras unidos.

18i: Diplotene: X, B y M_4 extras separados.

18j: Metafase-I: X y M_4 extras unidos, B separado.

Las barras representan 10 μ .

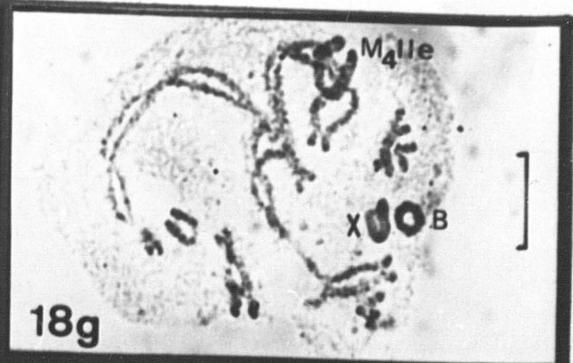


Tabla 13. Asociación X-B-M₄ extra en A. U. 25

Folículos	Fase	Configuración										
		X-B-M ₄ e	X-B/M ₄ e	X-M ₄ e/B	B-M ₄ e/X	X/B/M ₄ e	TOTAL					
n=8±X±B ±1 M ₄ e	Paquitene	7	(30.43%)	0	(0.00%)	6	(26.09%)	3	(13.04%)	7	(30.43%)	23
	Diplotene	11	(26.19%)	4	(9.52%)	5	(11.90%)	10	(23.81%)	12	(28.57%)	42
	Metafase-I	0	(0.00%)	0	(0.00%)	6	(6.00%)	0	(0.00%)	94	(94.00%)	100
	TOTAL	18	(10.91%)	4	(2.42%)	17	(10.30%)	13	(7.88%)	113	(68.48%)	165
n=8±X±B ±2 M ₄ e	Paquitene	2	(7.14%)	0	(0.00%)	3	(10.71%)	4	(14.29%)	19	(67.86%)	28
	Diplotene	3	(7.89%)	2	(5.26%)	3	(7.89%)	4	(10.53%)	26	(68.42%)	38
	Metafase-I	0	(0.00%)	0	(0.00%)	2	(8.70%)	0	(0.00%)	21	(91.30%)	23
	TOTAL	5	(5.62%)	2	(2.25%)	8	(8.99%)	8	(8.99%)	66	(74.16%)	89

el M_4 extra las asociaciones X-B en diplotene son poco frecuentes (35.71% para folículos $n=8 \downarrow X \downarrow B \downarrow 1 M_4 e$ y 13.16% para folículos $n=8 \downarrow X \downarrow B \downarrow 2 M_4 e$, ver Tabla 14). Esto contrasta con la relativamente alta (60%) frecuencia de asociación X-B observada en células sin M_4 extra del A.U. 25 (Tabla 14).

Si consideramos los mismos datos de la Tabla 13, pero mezclando los diferentes tipos de asociación ($X-B-M_4 // X-B/M_4 // X-M_4/B // B-M_4/X$) frente a la no asociación ($X/B/M_4$) podremos comprobar que en ambos tipos de folículos la frecuencia de asociaciones coincide en paquitene y diplotene (folículos $n=8 \downarrow X \downarrow B \downarrow 1 M_4 e$: $\chi^2_{(1)} = 0.016$; $P=0.9$; folículos $n=8 \downarrow X \downarrow B \downarrow 2 M_4 e$: $\chi^2_{(1)} = 0.048$; $P=0.7-0.9$). Por consiguiente, se puede considerar ambas en conjunto como la frecuencia de asociación en profase-I, resultando que la frecuencia de asociaciones es significativamente mayor en los folículos $n=8 \downarrow X \downarrow B \downarrow 1 M_4 e$ que en los folículos $n=8 \downarrow X \downarrow B \downarrow 2 M_4 e$ ($\chi^2_{(1)} = 18.36$; $P < 0.001$). Cuando se incluyen en la comparación los folículos $n=8 \downarrow X \downarrow B$ del mismo individuo, también existe diferencia significativa ($\chi^2_{(2)} = 21.87$; $P < 0.001$).

En la Tabla 15 se muestran los resultados de comparados a dos estos tres tipos de folículos. De ella se deduce que las frecuencias de las asociaciones X-B de los folículos $n=8 \downarrow X \downarrow B$ equivalen a la frecuencia total de asociaciones ($X-B-M_4 e$) de los folículos $n=8 \downarrow X \downarrow B \downarrow 1 M_4 e$ ($\chi^2_{(1)} = 1.55$; $P=0.3-0.5$). La frecuencia de asociaciones desciende en los folículos $n=8 \downarrow X \downarrow B \downarrow 2 M_4 e$, lo cual se debe posiblemente a que los dos M_4 extras forman siempre bivalentes y esto parece interferir en las asociaciones secundarias con los otros elementos. De hecho, las asociaciones de los M_4 extras con el X y el B son más frecuentes cuando aquellos se presentan como univalentes (folículos $n=8 \downarrow X \downarrow B \downarrow 1 M_4 e$) que cuando lo hacen como bivalentes (folículos $n=8 \downarrow X \downarrow B \downarrow 2 M_4 e$) ($\chi^2_{(1)} = 18.07$; $P < 0.001$).

Tabla 14. Frecuencias de asociación total de los elementos X, B y M₄ extra en los tres tipos de folículos del A.U. 25

Folículos	Paquitene			Diplotene			Metafase-I		
	U	S	% as.	U	S	% as.	U	S	% as.
n=8†X†B	-	-	-	60	40	60.00	1	99	1.00
n=8†X†B†1 M ₄ e	7	16	30.43	15	27	35.71	0	100	0.00
n=8†X†B†2 M ₄ e	2	26	7.14	5	33	13.16	0	23	0.00

U: Unidos; S: Separados; as.: asociación.

Tabla 15. Comparación en las frecuencias de asociaciones X-B-M₄ extra entre los distintos tipos de folículos del macho A.U. 25

Folículos	$\chi^2_{(1)}$	P
$\downarrow B / \downarrow B \downarrow 1 M_4 e$	1.55	0.3-0.5 n.s.
$\downarrow B \downarrow 1 M_4 e / \downarrow B \downarrow 2 M_4 e$	18.36	< 0.001 ***
$\downarrow B / \downarrow B \downarrow 2 M_4 e$	11.54	< 0.001 ***

4.2. - Asociación entre los brazos del B.

La asociación entre los brazos del B es muy alta en cualquiera de las fases encontradas en los distintos tipos de folículos que poseía el macho A.U. 25 (Tabla 16). Es importante reseñar que en los folículos $n=8 \downarrow X \downarrow B$ de A.U. 25 esta asociación entre los brazos del B es más alta que la observada en el conjunto de los individuos con B de A.U., cuyos porcentajes eran del 89.22% en paquitene, 82.06% en diplotene y 47.31% en metafase-I (ver Tabla 4).

4.3. - Segregación X-B-M₄ extras.

De los datos obtenidos de recuentos de anafases-II en folículos $n=8 \downarrow X \downarrow B \downarrow 1 M_4 e$ del macho A.U. 25, podemos deducir que el M₄ extra se divide ecuacionalmente en el 23.8% de los casos. Por otra parte, de los datos obtenidos en recuentos de anafases-I, metafases-II y anafases-II en folículos $n=8 \downarrow X \downarrow B \downarrow 2 M_4 e$ se puede calcular que el B se divide ecuacionalmente con una frecuencia (77.5%) mucho mayor que en los machos de la misma población que solamente llevan B (21.66%) (ver Tabla 5).

Tabla 16. Asociación entre los brazos del B en los distintos tipos de folículos del macho A. U. 25

Folículos	Paquitene				Diplotene				Metafase-I		
	B. T. A.	A	E	% as.	B. T. A.	A	E	% as.	A	R	% as.
n=8♂X♂B	23	19	5	89.36	31	57	12	88.00	90	10	90.00
n=8♂X♂B♂1M ₄	14	8	1	95.65	7	37	1	97.78	92	8	92.00
n=8♂X♂B♂2M ₄	19	12	0	100.00	7	31	0	100.00	22	1	95.65

B. T. A.: Brazos totalmente apareados; A: Anillo; E: Estirado; R: Recto; as.: asociación.

4.4. - Formación de microespermátidas.

En la Tabla 17 se muestran las frecuencias de microespermátidas en los distintos tipos de folículos de los individuos A.U. 25 y A.U. 28, ambos portadores de supernumerario y mosaicos para la polisomía. Agrupando los datos totales de cada tipo de folículo de ambos machos se puede afirmar que no existe diferencia significativa entre los distintos folículos de estos individuos para la frecuencia de microespermátidas ($\chi^2_{(3)}=4.542$; $P=0.1-0.2$).

Tabla 17. Frecuencia de microespermátidas en los machos A.U. 25 y A.U. 28

Macho	Folículos	Microespermátidas	Espermátidas
A. U. 25	$n=8 \downarrow X \downarrow B$	2 (0.99%)	200
"	$n=8 \downarrow X \downarrow B \downarrow 1 M_4 e$	13 (5.00%)	247
"	$n=8 \downarrow X \downarrow B \downarrow 2 M_4 e$	14 (4.76%)	280
A. U. 28	$n=8 \downarrow X \downarrow B$	7 (3.30%)	205
"	$n=8 \downarrow X \downarrow B \downarrow 2 M_4 e$	11 (3.78%)	280
"	$n=8 \downarrow X \downarrow B \downarrow 4 M_4 e$	6 (3.37%)	172
TOTAL		53 (3.83%)	1384

Al comparar la frecuencia total de formación de microespermátidas de los machos portadores de la polisomía y del B (53 microespermátidas/1384 espermátidas) con la de los individuos normales de la misma población (ver Tabla 7), resulta que existe diferencia significativa entre ambas ($\chi^2_{(1)}=93.61$; $P<0.001$). Es decir, los individuos mosaico $\downarrow B$ forman microespermátidas con una frecuen-

cia significativamente mayor que los normales. Lo mismo sucede respecto a los individuos portadores exclusivamente de supernumerario ($\chi^2_{(1)}=5.46$; $P=0.01-0.05$) (ver Tabla 8) o de polisomfa ($\chi^2_{(1)}=21.42$; $P<0.001$) (ver Tabla 11). Esto confirma que tanto los B como los M_4 extra dan lugar a microespermátidas.

5. - EFECTOS DE LOS ELEMENTOS EXTRA A NIVEL ENDOFENOTÍPICO.

De los dos polimorfismos sobre los que hasta ahora ha versado este trabajo, sólomente se pueden estudiar efectos a nivel intraindividual en el caso de machos polisómicos, en los que el número de M_4 extras es variable entre células. En el caso del B, puesto que el número de supernumerarios es constante en todas las células de un mismo individuo, sólomente se pudieron hacer comparaciones entre individuos.

El carácter endofenotípico que hemos investigado es la frecuencia de quiasmas, que representa un índice estimatorio de la cantidad de variabilidad genética que un individuo transmite a través de sus gametos.

5.1. - Efectos a nivel intraindividual.

Para estudiar los efectos de la polisomfa sobre la frecuencia media de quiasmas, se analizaron exhaustivamente respecto a este carácter los individuos A.U. 11 y A.U. 22, ambos mosaicos, y los individuos A.U. 25 y A.U. 28, ambos portadores de supernumerario y a la vez mosaicos.

Para las comparaciones se utilizaron cinco tipos de variables: L (frecuencia de quiasmas en los tres bivalentes largos), M (frecuencia de quiasmas en los tres bivalentes medianos), S (fre-

cuencia de quiasmas en los dos bivalentes cortos), $L+M$ (suma de las frecuencias de quiasmas de los bivalentes L y M) y $L+M+S$ (frecuencia total de quiasmas por célula).

En las Tablas 18 y 19 se muestran los resultados de diversos análisis de varianza para comparar la frecuencia media de quiasmas de los distintos tipos de folículos dentro de cada individuo.

En el macho A.U. 11 existe una tendencia a un aumento (estadísticamente no significativo) de la frecuencia de quiasmas en las células con M_4 extras. En los folículos con M_4 extras del macho A.U. 22 aumenta significativamente la frecuencia total de quiasmas por célula debido a incrementos en el número de quiasmas de los bivalentes L y M (ver Tabla 18). Resultados similares se obtuvieron en los machos A.U. 25 y A.U. 28 (ver Tabla 19).

5.2. - Comparaciones entre individuos.

A continuación, pasaremos a realizar una serie de comparaciones entre folículos similares (en contenido cromosómico) de individuos distintos.

En la Tabla 20 se observan los resultados de diversos análisis de varianza para comparar los folículos $n=8+X$ de los individuos mosaico A.U. 11 y A.U. 22. Estos análisis demostraron que entre las células normales de ambos machos existen diferencias significativas para la frecuencia de quiasmas a nivel de los bivalentes L y M. De igual forma, existen diferencias significativas para los folículos $n=8+X+B$ entre los machos A.U. 25 y A.U. 28 (ambos mosaico+B) a nivel de los bivalentes L (Tabla 21). También existe diferencia significativa entre estos dos machos (A.U. 25 y A.U. 28) cuando se comparan los folículos con $2 M_4$ extras. Estas diferencias se sitúan a nivel de los bivalentes M (Tabla 22).

Los resultados de estos tres test para folículos similares entre individuos distintos indican que existe un componente genotípico

Tabla 18. Comparación en la frecuencia media de quiasmas entre los distintos tipos de folículos de los individuos mosaicos A. U. 11 y A. U. 22

Individuo	Variable	\bar{X} quiasmas Folículos		F	P	
		n=8±X	n=8±X+2 M ₄ e			
A. U. 11	L	8.64	9.00	0.51	0.49	n.s.
	M	4.27	4.13	0.16	0.70	n.s.
	S	2.27	2.50	0.97	0.34	n.s.
	L+M	12.91	13.13	0.13	0.72	n.s.
	L+M+S	15.18	15.63	0.44	0.52	n.s.
A. U. 22	L	7.60	9.44	19.64	0.00	***
	M	3.60	5.67	55.92	0.00	***
	S	2.05	2.00	0.44	0.51	n.s.
	L+M	11.20	15.11	75.20	0.00	***
	L+M+S	13.25	17.11	72.13	0.00	***

Tabla 19. Comparación en la frecuencia media de quiasmas entre los distintos tipos de folículos de los individuos mosaico+B A. U. 25 y A. U. 28

Individuo	Variable	\bar{X} quiasmas Folículos			F	P	
		n=8+X+B	n=8+X+B+1 M ₄ e	n=8+X+B+2 M ₄ e			
A. U. 25	L	10,83	11,43	11,08	2,64	0,08	n.s.
	M	4,09	4,38	4,85	5,53	0,01	**
	S	2,00	2,00	2,00	0,00	1,00	n.s.
	L+M	14,91	15,81	15,92	5,00	0,01	**
	L+M+S	16,91	17,81	17,92	5,00	0,01	**
		n=8+X+B	n=8+X+B+2 M ₄ e	n=8+X+B+4 M ₄ e			
A. U. 28	L	9,00	10,10	10,30	4,03	0,03	*
	M	3,85	3,80	4,20	1,15	0,33	n.s.
	S	2,00	2,00	2,00	0,00	1,00	n.s.
	L+M	12,85	13,90	14,50	5,65	0,01	**
	L+M+S	14,85	15,90	16,50	5,65	0,01	**

Tabla 20. Comparación en la frecuencia media de quiasmas entre los folículos $n=8 \pm X$ de los individuos
mosaico A.U. 11 y A.U. 22

Variable	\bar{X} quiasmas, folículos $n=8 \pm X$		F	P
	A.U. 11	A.U. 22		
L	8.64	7.60	7.05	0.01 **
M	4.27	3.60	7.17	0.01 **
S	2.27	2.05	3.26	0.08 n.s.
L±M	12.91	11.20	14.28	0.001 **
L±M±S	15.18	13.25	16.21	0.00 ***

Tabla 21. Comparación en la frecuencia media de quiasmas entre los folículos $n=8 \pm X \pm B$ de los individuos mosaico $\pm B$ A. U. 25 y A. U. 28

Variable	\bar{X} quiasmas, folículos $n=8 \pm X \pm B$		F	P	
	A. U. 25	A. U. 28			
L	10.83	9.00	33.93	0.00	***
M	4.09	3.85	0.82	0.37	n.s.
S	2.00	2.00	0.00	1.00	n.s.
L \pm M	14.91	12.85	26.48	0.00	***
L \pm M \pm S	16.91	14.85	26.48	0.00	***

Tabla 22. Comparación en la frecuencia media de quiasmas entre los folículos $n=8 \pm X \pm B \pm 2 M_4$ e de los individuos mosaico $\pm B$ A.U. 25 y A.U. 28

Variable	\bar{X} quiasmas, folículos $n=8 \pm X \pm B \pm 2 M_4$		F	P
	A.U. 25	A.U. 28		
L	11.08	10.10	3.35	0.08 n.s.
M	4.85	3.80	13.98	0.001 **
S	2.00	2.00	0.00	1.00 n.s.
L \pm M	15.92	13.90	12.20	0.002 **
L \pm M \pm S	17.93	15.90	t=3.54	0.001-0.01 **

en la determinación de la frecuencia de quiasmas en esta especie. Las diferencias suelen estar a nivel de los bivalentes L y/o M.

De una comparación en la frecuencia media de quiasmas entre individuos normales, individuos portadores de supernumerario, heterocigotos para un segmento extra en el par M_6 , portadores de polisomía y machos mosaicos $\downarrow B$ (Tabla 23), se puede deducir que los individuos mosaico tienen una frecuencia total de quiasmas significativamente menor que los normales, y los mosaico $\downarrow B$ tienen mayor frecuencia total de quiasmas que los demás tipos de individuos contrastados. Las diferencias en la frecuencia de quiasmas ocurren principalmente en los bivalentes L.

En los individuos mosaico se disminuye respecto a los normales la frecuencia de quiasmas a nivel de los bivalentes L ($t=5.63$; $P=0$), en los M ($t=0.04$; $P=0.97$) parece permanecer igual y se incrementa en los S ($t=4.54$; $P=0$). La mayor frecuencia de quiasmas de los individuos mosaico $\downarrow B$ frente a los normales reside en un incremento en el número de quiasmas que se forman en los bivalentes L ($t=8.79$; $P=0$).

Cuando se comparan la frecuencia media de quiasmas de los machos normales con la frecuencia media de quiasmas de los individuos con elemento (s) extra (s) (sean B o/y M_4), éstos últimos presentan una frecuencia de quiasmas significativamente mayor debido a un incremento en el número de quiasmas de los bivalentes L (Tabla 24).

La existencia de individuos mosaicos para la polisomía y las diferencias en frecuencia de quiasmas que observamos entre los folículos de estos machos, nos llevaron a la realización de los siguientes análisis estadísticos, en los cuales distinguiremos los distintos tipos de folí-

Tabla 23. Comparación en la frecuencia media de quiasmas entre los distintos tipos de individuos aparecidos en Albergue Universitario. Het. ss M_6 : Heterocigotos para un segmento supernumerario en el cromosoma M_6

Variable	\bar{X} quiasmas Individuos					F	P
	Normales	†B	Het. ss M_6	Mosaicos	Mosaico†B		
L	9.46	9.62	9.85	8.42	10.63	31.38	0.00 ***
M	4.23	4.36	4.10	4.23	4.20	0.52	0.72 n.s.
S	2.03	2.00	2.05	2.17	2.00	6.93	0.00 ***
L†M	13.70	13.98	13.95	12.65	14.82	20.92	0.00 ***
L†M†S	15.73	16.04	16.00	14.81	16.82	18.11	0.00 ***

Tabla 24. Comparación en la frecuencia media de quiasmas entre individuos normales e individuos con elementos extra (\downarrow B, mosaico y mosaico \downarrow B) de Albergue Universitario

Variable	\bar{X} quiasmas, individuos		t	P	
	Normales	Con elemento extra			
L	9.46	9.85	3.61	0.000	***
M	4.23	4.25	0.17	0.862	n.s.
S	2.03	2.06	1.47	0.143	n.s.
L \downarrow M	13.70	14.09	3.15	0.002	**
L \downarrow M \downarrow S	15.73	16.15	3.31	0.001	***

culos dentro de los machos mosaicos:

Cuando se comparan células de individuos normales con células normales de individuos mosaicos para la polisomía (Tabla 25), resulta que la frecuencia total de quiasmas es significativamente inferior en los últimos, produciéndose una disminución a nivel de los L y los M y un incremento en los S.

Tabla 25. Contraste de medias para la frecuencia media de quiasmas

Tabla 25. Contraste de medias para la frecuencia media de quiasmas de células de individuos normales ($n=8\pm X$) y células normales ($n=8\pm X$) de individuos mosaicos

Variable	\bar{X} ♂♂ normales	\bar{X} fol. normal. ♂♂ mosaicos	t	P
L	9.46	7.97	6.59	0.000 ***
M	4.23	3.84	2.77	0.006 **
S	2.03	2.13	2.80	0.005 **
L±M	13.70	11.81	7.08	0.000 ***
L±M±S	15.73	13.94	6.61	0.000 ***

Por el contrario, cuando se comparan células de individuos normales con células con M_4 extra de machos mosaicos (Tabla 26), resulta que éstos últimos muestran tendencia a un incremento en la frecuencia de quiasmas, principalmente por aumento en los bivalentes M y S. Teniendo en cuenta que en las células normales de los machos mosaicos los bivalentes L presentan una frecuencia de quiasmas (7.97) sensiblemente inferior a la de los machos normales (9.46) e incluso a la de los folículos con M_4 extra de los machos mosaicos

(9.24), podemos deducir que la presencia de los M_4 extras también lleva consigo un incremento en la frecuencia de quiasmas de los bivalentes L, haciéndola similar a la de los bivalentes L de los individuos normales. Por lo tanto, se puede concluir que la presencia de los M_4 extra influye en los tres grupos de bivalentes.

Tabla 26. Contraste de medias para la frecuencia media de quiasmas de células de individuos normales ($n=8\ddagger X$) y células con M_4 extra de individuos mosaico

Variable	\bar{X} ♂♂ normales	\bar{X} fol. con M_4 e ♂♂ mosaico	t	P	
L	9.46	9.24	0.75	0.453	n.s.
M	4.23	4.94	3.64	0.000	***
S	2.03	2.24	4.40	0.000	***
L \ddagger M	13.70	14.18	1.34	0.180	n.s.
L \ddagger M \ddagger S	15.73	16.41	1.89	0.059	n.s.

Para investigar la influencia del B sobre la frecuencia de quiasmas, hemos comparado células de individuos normales con todas aquellas células donde el B (y ningún otro elemento extra) estaba presente, tanto de individuos $\ddagger B$ como de individuos mosaico $\ddagger B$ (Tabla 27). El resultado fué que las células con B presentan mayor frecuencia de quiasmas que las células normales y este efecto ocurre principalmente a nivel de los bivalentes L. Por tanto, se puede afirmar que los B-cromosomas incrementan la frecuencia de quiasmas a nivel de los bivalentes L.

Tabla 27. Contraste de medias para la frecuencia media de quiasmas de células de individuos normales ($n=8 \pm X$) y células $n=8 \pm X \pm B$

Variable	\bar{X} ♂♂ normales	\bar{X} fol. $\pm B$ ♂♂ $\pm B$ y ♂♂ Mosaico $\pm B$	t	P
L	9.46	9.97	3.80	0.000 ***
M	4.23	4.19	0.47	0.637 n.s.
S	2.03	2.03	0.09	0.931 n.s.
L \pm M	13.70	14.16	2.98	0.003 **
L \pm M \pm S	15.73	16.19	2.93	0.004 **

6. - OTRAS VARIACIONES CROMOSOMICAS ESTRUCTURALES

6.1. - Segmentos cromosómicos supernumerarios.

En nuestro estudio sobre la especie Omocestus bolivari hemos encontrado un segmento cromosómico extra terminal en el cromosoma M_6 , que sólo se presentó en heterocigosis y cuya incidencia era escasa en todas las poblaciones analizadas. Así, solamente lo mostraban 2 machos de Albergue Universitario, 1 de La Alberquilla, 1 de Educación y Descanso, 1 de Alto del Chorrillo y 1 de Campos de Otero. El segmento supernumerario mostraba heteropichosis positiva durante la profase-I de la meiosis (Fig. 19).

6.2. - Constricciones secundarias elásticas.

Finalmente, en algunas de las poblaciones estudiadas se encontraron constricciones secundarias elásticas en el cromoso-

Tabla 27. Contraste de medias para la frecuencia media de quismas de células de individuos normales (n=81X) y células n=81XB

Variable	\bar{X} de normales	\bar{X} de células n=81XB y n=81XC	P
L4M1S	12.73	16.19	0.004**
L4M	13.70	14.16	0.003**
S	2.03	2.03	0.931 n.s.
M	4.23	4.19	0.637 n.s.
L	9.48	9.97	0.000***

6. - OTRAS VARIACIONES CROMOSOMICAS ESTRUCTURALES

6.1. - Segmentos cromosómicos supernumerarios.

En nuestro estudio sobre la especie *Omocestus bolivari*

hemos encontrado un segmento cromosómico extra terminal en el cromosoma M_6 , que sólo se presentó en heterocigosis y cuya incidencia era escasa en todas las poblaciones analizadas. Así, solamente lo

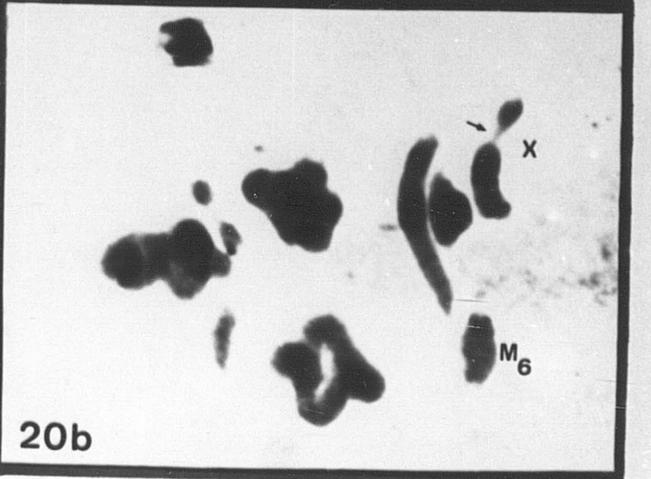
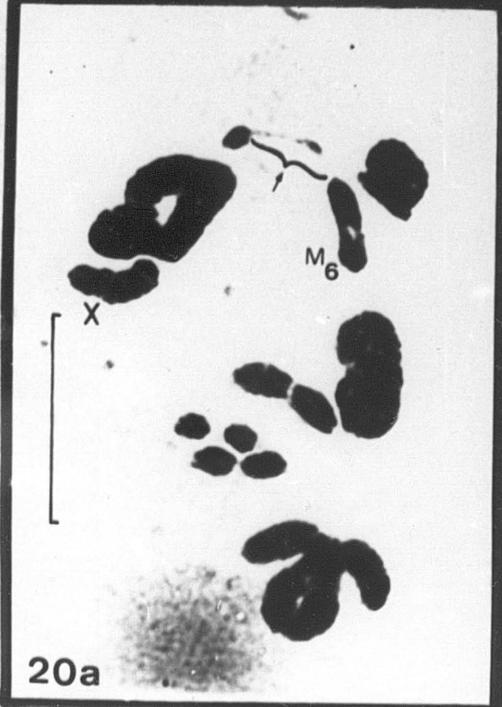
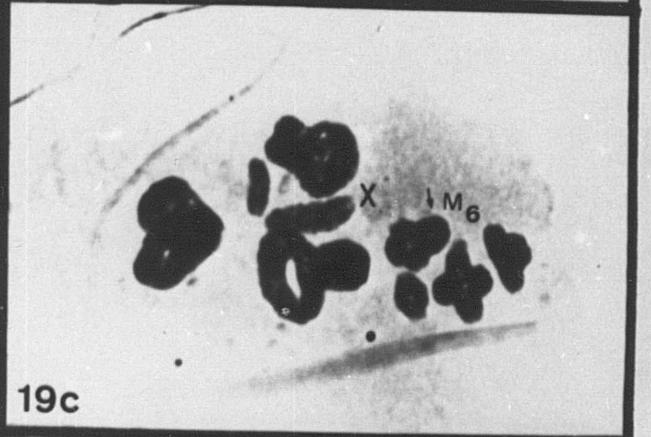
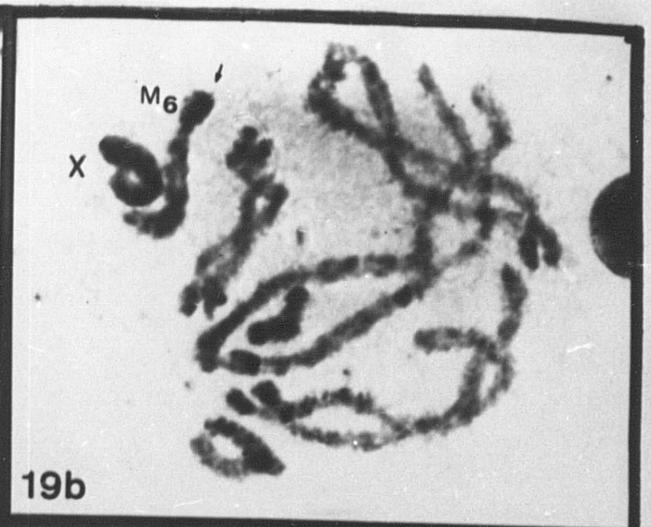
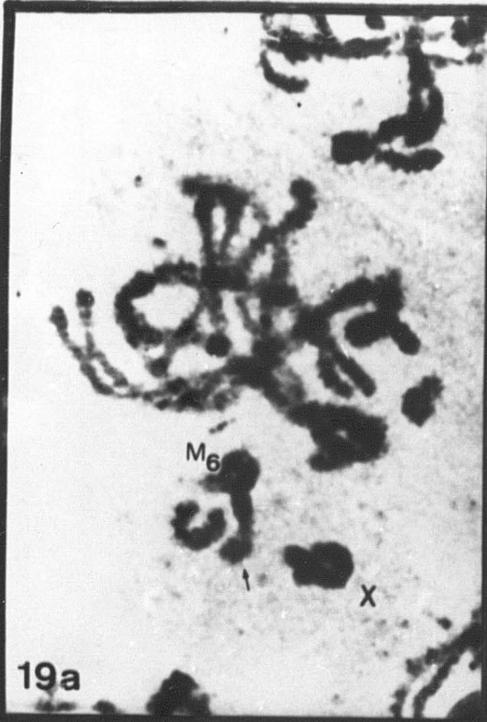
Fig. 19: Heterocigosis para un segmento supernumerario (flechas) en el bivalente M_6 , tal como se observa en paquitene (a), diplotene (b) y metafase-I (c).

Fig. 20: Constricciones secundarias elásticas (flechas).

20a: Constricción elástica en heterocigosis en el bivalente M_6 .

20b: Constricción elástica en el cromosoma X.

La barra representan 10 μ .



ma X y en el bivalente M_6 , en éste último en heterocigosis (Fig. 20). Dichas constricciones no solían observarse en todas las células del individuo portador. Por otra parte, los individuos portadores de constricción elástica eran muy poco frecuentes en las poblaciones analizadas. Así, las del cromosoma X aparecieron solamente en 1 macho de Albergue Universitario, 1 de La Alberquilla y 1 de Campos de Otero, y las constricciones del M_6 se observaron tan sólo en 1 macho de Albergue Universitario, 1 macho de La Alberquilla y 1 macho de Educación y Descanso.

La formación de univalentes en anillo parece ser una característica general de los iso-cromosomas supernumerarios de saltamontes y se han observado en otras especies aparte de *O. bolivari*, como son *Myrmeleotettix maculatus* (JOHN & HEWITT, 1965), *Melanoplus farnum-rubrum* (STEPHENS & BRESMAN, 1972) y *Phaulacridium marginale* (WESTERMAN, 1975). En *Myrmeleotettix maculatus* han sido observados quiasmas intersticiales en su B en anillo (JOHN & HEWITT, 1965). En ciertas células de *O. bolivari* nos ha parecido detectar un quiasma intersticial en el cromosoma B, lo que confirmaría la homología de ambos brazos del supernumerario (ver Fig. 19).

GALLAGHER y col. (1973) emplearon una técnica de tinción diferencial con Giemsa (bandeo C) en *Myrmeleotettix maculatus*, con la que detectaron bandas idénticas en ambos brazos del iso-B. En *O. bolivari*, el bandeo C practicado por nosotros no arroja más luz sobre la posible cualidad de iso-cromosoma de su supernumerario, ya que tan sólo aparece una banda a nivel del centrómero. Sin embargo, este bandeo al menos no descarta la posibilidad de que el B de *O. bolivari* sea un iso-B.

En los formosos $n=8(X)B$ de individuos mosaicos para la polisonía del M_6 y portadores de supernumerario (A. U. 35), la asociación entre los miembros del B se ve interrumpida por la condición polisó-

DISCUSION

El cromosoma supernumerario metacéntrico encontrado en la línea somática y la línea germinal de Omocestus bolivari es, con gran probabilidad, un iso-cromosoma, ya que sus dos brazos tienen longitud similar y se aparean entre sí con una alta frecuencia durante toda la profase-I de la meiosis, persistiendo esta asociación hasta metafase-I en un gran porcentaje, lo que indica que existe homología entre los dos brazos.

La formación de univalentes en anillo parece ser una característica general de los iso-cromosomas supernumerarios de saltamontes y se han observado en otras especies aparte de O. bolivari, como son Myrmeleotettix maculatus (JOHN & HEWITT, 1965), Melanoplus femur-rubrum (STEPHENS & BREGMAN, 1972) y Phaulacridium marginale (WESTERMAN, 1975). En Myrmeleotettix maculatus han sido observados quiasmas intersticiales en su B en anillo (JOHN & HEWITT, 1965). En ciertas células de O. bolivari nos ha parecido detectar un quiasma intersticial en el cromosoma B, lo que confirmaría la homología de ambos brazos del supernumerario (ver Fig. 18f).

GALLAGHER y col. (1973) emplearon una técnica de tinción diferencial con Giemsa (bandeo C) en Myrmeleotettix maculatus, con la que detectaron bandas idénticas en ambos brazos del iso-B. En O. bolivari, el bandeo C practicado por nosotros no arroja más luz sobre la posible cualidad de iso-cromosoma de su supernumerario, ya que tan sólo aparece una banda a nivel del centrómero. Sin embargo, este bandeo al menos no descarta la posibilidad de que el B de O. bolivari sea un iso-B.

En los folículos $n=8\ddagger X\ddagger B$ de individuos mosaicos para la polisomía del M_4 y portadores de supernumerario (A.U. 25), la asociación entre los brazos del B se ve influida por la condición polisó-

mica del individuo portador, ya que dicha asociación es sensiblemente más alta en estos folículos que en folículos similares de los machos que solo poseen B de la misma población. De esta observación, es posible aventurar que los genes para la polisomfa (cuya existencia se discutirá más adelante) tengan alguna influencia positiva sobre la asociación entre los brazos del B, que se manifiesta incluso en folículos que no presentan M_4 extras.

La frecuencia con que el iso-B se detecta en las poblaciones es variable, aunque en general bastante baja. Esta débil incidencia del supernumerario de O. bolivari contrasta con la alta frecuencia de individuos portadores de B que CABRERO & CAMACHO (en preparación) han detectado en dos poblaciones de Locusta migratoria del Sur de la Península Ibérica, en las cuales el 75 y el 95%, respectivamente, de los individuos presentaba B.

Los supernumerarios de saltamontes suelen presentarse en frecuencias muy variables entre poblaciones. En algunas ocasiones, se pueden encontrar clinas en la frecuencia de Bs en relación con gradientes en factores ambientales. Así, en Myrmeleotettix maculatus, se ha demostrado que, en poblaciones de Inglaterra, la distribución del supernumerario descubierto por BARKER (1960) está grandemente correlacionada con la favorabilidad del ambiente en relación con temperatura y pluviosidad, tanto a nivel macroclimático como a nivel de microclima (BARKER, 1966; HEWITT & JOHN, 1967, 1970b; HEWITT & BROWN, 1970; HEWITT & RUSCOE, 1971; HEWITT, 1972).

Otra prueba a favor de la posible influencia del ambiente sobre la frecuencia de supernumerarios, fué aportada experimentalmente por LESPINASSE (1977), que demostró en una población de Locusta migratoria migratorioides que se puede aumentar experimentalmente la frecuencia de portadores de B de un 34 a un 75%, al incre

mentar la temperatura de cultivo de 27 a 35°C, por disminución de la mortalidad selectiva de los individuos portadores de dos supernumerarios.

En O. bolivari, dada la restringida distribución de la especie a poblaciones de Sierra Nevada, no es posible investigar la existencia de una clina de amplia distribución, como, p.e., la de Myrmeleotettix maculatus. Sin embargo, sí parece existir una relación entre la altitud a que están situadas las poblaciones y la frecuencia de supernumerarios en las mismas. Así, mientras que en Alto del Chorrillo (2710 m.) no hemos detectado la presencia de B-cromosomas, la frecuencia más alta de portadores de Bs se observó en la población de menor altitud, Campos de Otero (2200 m.), siendo la frecuencia de Bs intermedia en poblaciones de altitud intermedia. El principal factor ambiental que cambia entre las poblaciones es la temperatura, lo cual estaría en concordancia con lo observado en Myrmeleotettix maculatus y Locusta migratoria.

En lo que se refiere al comportamiento meiótico de los B-cromosomas de O. bolivari, éstos se muestran más contraídos que los autosomas durante toda la meiosis, lo que coincide con la observación de REES (1974) y TEOH & REES (1977) de que el ADN de los B-cromosomas es más denso (hay más cantidad de ADN por unidad de volumen) que el de los autosomas.

La asociación meiótica entre los univalentes X y B es una asociación inespecífica del tipo de afinidad heterocromática, por similitud de picnosis, como indica el hecho de que persista muy raramente en metafase-I. La persistencia en la asociación X-B ha conducido en ciertos casos a la migración preferencial de ambos cromosomas al mismo polo anafásico en la primera división meiótica, como es el caso de Tettigidea lateralis (FONTANA & VICKERY, 1973) o a polos dife-

rentes, como ocurre en Tetrix ceperoi (HENDERSON, 1961) o Phaulacridium vitattum (JACKSON & CHEUNG, 1976).

En O. bolivari, los resultados de la segregación X-B son contradictorios entre poblaciones. Así, en Albergue Universitario, la segregación no es al azar, migrando al mismo polo en el 54.51% de los casos, mientras que en La Alberquilla, se observó segregación al azar del X y el B.

Una situación similar ocurre en Phaulacridium vitattum, puesto que, en poblaciones distintas de las que estudiaron JACKSON & CHEUNG (1976), la segregación X-B siempre era al azar (ROWE & WESTERMAN, 1974; JOHN & FREEMAN, 1974).

Sin embargo, pensamos que en O. bolivari no se puede atribuir la segregación no al azar de Albergue Universitario a la persistencia de la asociación X-B en metafase-I, por dos razones: La primera, que en La Alberquilla esta persistencia en la asociación X-B es mayor y, sin embargo, segregan al azar; en segundo lugar, en Albergue Universitario los individuos con segregación X-B no al azar muestran tendencias opuestas en cuanto a esta segregación. Así, p. e., en el macho A.U. 42 el X y el B van a polos distintos con una frecuencia del 53.27%, significativamente superior al 50% esperado, mientras que, por el contrario, en el macho A.U. 57 el X y el B van al mismo polo con una frecuencia del 64.20%, significativamente superior al 50% esperado.

En los machos con un B de Albergue Universitario hemos detectado una pérdida de Bs durante la primera división meiótica, que posiblemente esté relacionada con la división ecuacional del B y con la formación de microespermátidas, como parecen indicar las diferencias existentes, para estos hechos, entre las poblaciones Albergue Universitario y La Alberquilla. Así, en Albergue Universitario, don

de existe pérdida de Bs, ocurre división ecuacional del B en el 21.66% de los casos y se forma un 2.07% de microespermátidas. En contraste, en La Alberquilla, donde no existe pérdida de Bs, la división ecuacional del B se detectó en el 8.18% de las metafases-II y sólo se forman un 0.73% de microespermátidas. La proporcionalidad de estos tres hechos en ambas poblaciones, parece indicar que están causalmente relacionados.

La división ecuacional de los cromosomas supernumerarios en la primera división meiótica se da con cierta frecuencia en los saltamontes. Así, p. e., NUR (1969), en Locusta migratoria de Japón, observa que los univalentes B normalmente segregan en la primera división meiótica y se dividen en la segunda, pero, ocasionalmente, se retrasan y se dividen durante la primera división meiótica. Anteriormente, en Locusta de Sudán, REES & JAMIESON (1954) observaron que, cuando estaba presente un solo B, éste generalmente se retrasaba en anafase-I y luego se dividía, y cuando eran dos los Bs, éstos casi siempre formaban bivalentes. Recientemente, CAMACHO (1980) obtuvo resultados similares en una población de Locusta migratoria del Sur de la Península Ibérica, ya que observó que, cuando el supernumerario se encontraba como univalente, sufría división ecuacional en el 62% de los casos, pero, cuando se trataba de células con dos Bs, como éstos formaban bivalente en un alto porcentaje, nunca se observó división ecuacional de los Bs. En células con tres Bs, la asociación más frecuente de éstos era la de un bivalente y un univalente, sufriendo éste último división ecuacional en el 61% de las anafases-I con tres Bs analizadas.

Como quedó demostrado en los resultados, los machos con B de O. bolivari forman microespermátidas con una frecuencia significativamente mayor que los machos normales de la misma población. Esto es así en las dos poblaciones en que se analizó este carácter.

Por otra parte, los machos con B de Albergue Universitario forman más microespermátidas que los machos con B de La Alberquilla, lo cual es correspondido, como ya hemos visto, con una mayor frecuencia en Albergue Universitario de división ecuacional del univalente B en la primera división meiótica y con una pérdida significativa de Bs a través de ésta. Por tanto, podemos concluir que la división ecuacional de los Bs en anafase-I conduce a una pérdida de Bs en forma de microespermátidas.

La formación de microespermátidas en relación con el retraso y la posterior división ecuacional del B en la primera división meiótica ha sido también detectado por NUR (1969) en Camnula pellucida. El cromosoma supernumerario de esta especie fué descrito en 1920 por CARROL, que observó que cuando sólo estaba presente un B, éste segregaba normalmente en anafase-I y se dividía en anafase-II. Cuando estaban presentes dos Bs, éstos generalmente se apareaban entre sí y segregaban regularmente.

El comportamiento de los Bs detectados años más tarde por NUR (1969) en la misma especie, fué muy similar al descrito por CARROL. Los univalentes B también se retrasaban a menudo durante la anafase-I y luego segregaban o se dividían. Cuando estaban presentes dos Bs, éstos generalmente aparecían como bivalentes, aunque en el 1% de las células aparecieron como univalentes y también se encontraron células con tres Bs, en las que éstos aparecían en gran proporción como univalentes. El retraso de los univalentes B en anafase-I sugería que algunos de ellos o sus productos de división podían perderse durante la espermatogénesis. El exámen de espermátidas de machos con Bs reveló la presencia de microespermátidas, en general en folículos con uno o tres Bs, pero muy raras o ausentes en folículos con dos o ningún B. Se pudo afirmar que muchas de estas microespermátidas eran originadas por los productos de la división de los Bs que no

eran incluidos en los productos normales de la meiosis. La presencia de unas pocas microespermátidas en folículos sin B indicaba, sin embargo, que algunas de las microespermátidas derivaban aparentemente de cromosomas normales, hecho que coincide con el observado en O. bolivari, ya que en esta especie aparecen microespermátidas en individuos sin B, aunque en frecuencia muy baja.

Por otra parte, el hecho de que en O. bolivari la frecuencia de división ecuacional de los Bs fuese mayor que la frecuencia de microespermátidas en machos con B, nos indicó que parte de las cromátidas de B separadas por división ecuacional en la anafase-I se integran correctamente en los polos, mientras que, por el contrario, los que no lo hacen dan lugar a microespermátidas. Calculando, en base a las frecuencias de división ecuacional de los Bs y de microespermátidas, el porcentaje de integración efectiva en los polos anafásicos, pudimos concluir que éste es variable entre machos, pero siempre superior al 50% y en algún caso mayor del 90%.

Otro tipo de espermátidas que se suele encontrar en machos con cromosomas supernumerarios y que pueden ser atribuibles a la presencia de éstos son las macroespermátidas (espermátidas de mayor tamaño que las normales). NUR (1969) las encontró en Camnula pellucida y explicó su presencia por fallos en la citocinesis de las divisiones meióticas provocados por los univalentes Bs retrasados. Estas observaciones fueron confirmadas por JOHN & WEISSMAN (1977) en Buforania sp., donde los minisomas Bs, que siempre se presentan como univalentes, se retrasan en anafase-I y esto conduce, por fallos en la citocinesis de las células que los portan, a la formación de metafases-II diploides que por división dan lugar a espermátidas diploides; también se pueden retrasar de nuevo en anafase-II y así producir espermátidas tetraploides. En O. bolivari hemos detectado la presencia casual de macroespermátidas en machos con 1 B, con la consiguiente

reducción de fertilidad que ello representa.

Otra parte muy importante de nuestro estudio se ha referido a la polisomía para la línea germinal que O. bolivari presenta para el autosoma M_4 y que fué detectada por primera vez por CAMACHO (1980).

Los autosomas extras se originan a partir de los M_4 normales, por inestabilidad mitótica de éstos en la línea germinal masculina.

Para afirmar que se trata de copias extras del M_4 , nos basamos en su tamaño similar al del M_4 normal, teniendo en cuenta las pequeñas diferencias debidas a la heteropicnosis que el M_4 extra muestra tanto durante la meiosis como en las mitosis espermatogoniales (ver Fig. 21). Por otra parte, podría pensarse que este tipo de cromosomas extras sean cromosomas supernumerarios. Sin embargo, existe un hecho que descarta esta posibilidad, como es su ausencia en la línea somática (ver Fig. 22), lo que está en contraposición con lo observado en la mayoría de los cromosomas supernumerarios de saltamontes como, p. e., en Locusta migratoria, donde KAYANO (1971) demostró la presencia en los ciegos gástricos de ciertos machos de un B-cromosoma mitóticamente inestable en la línea germinal. En este sentido, recordemos que el iso-B de O. bolivari está presente tanto en la línea germinal como en la línea somática.

Los pocos casos de polisomía en saltamontes descritos en la bibliografía muestran unas características muy similares a las observadas por nosotros en O. bolivari. Los casos mejor estudiados son los del autosoma M_4 extra de Chorthippus parallelus (HEWITT & JOHN, 1968, 1970a; JOHN & HEWITT, 1969) y el autosoma A_9 extra de Atractomorpha similis (PETERS, 1981).

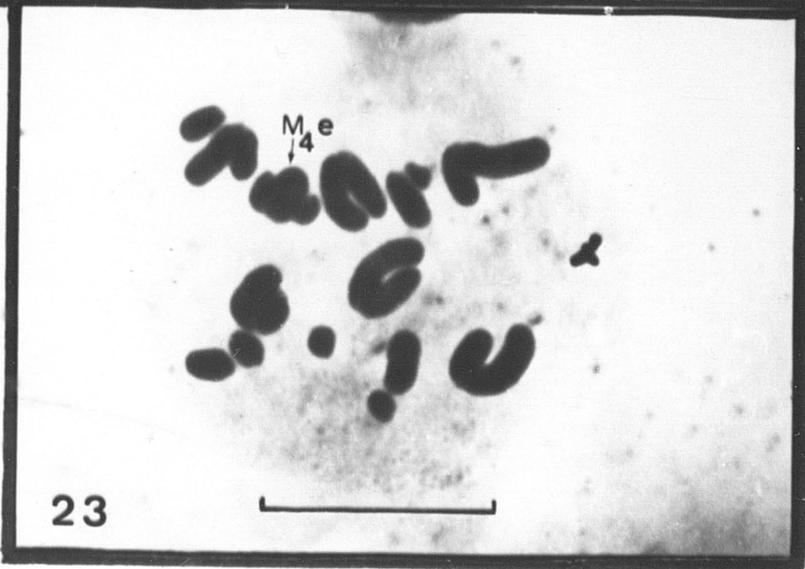
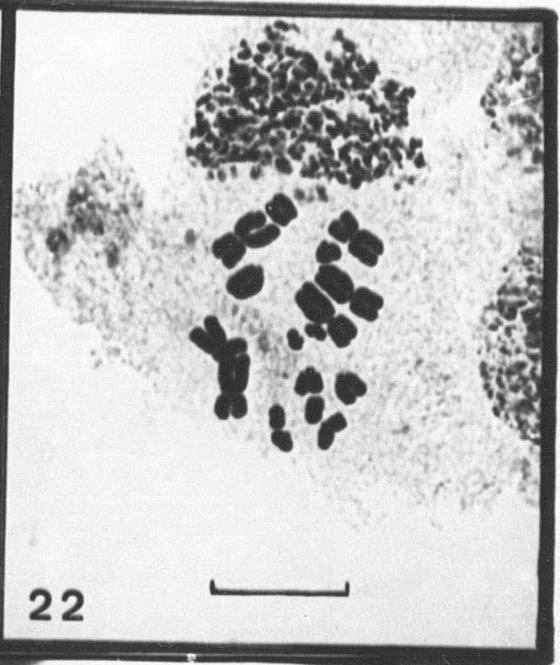
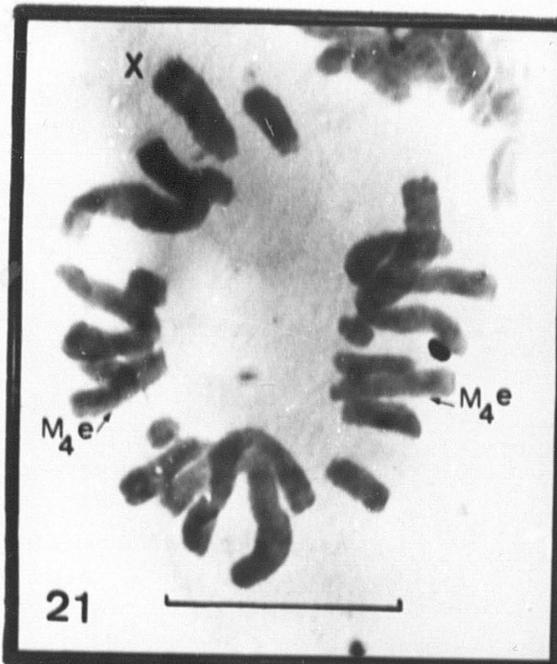
Los autosomas M_4 extras de O. bolivari no se transmiten de padres a hijos, como demuestra el hecho de que no fueron encontra

Fig. 21: Espermatogonia en metafase mitótica de un folículo $n=8\frac{1}{2}X\frac{1}{2}M_4e$, en la que se pueden observar los dos M_4 extras.

Fig. 22: Célula en metafase mitótica de los ciegos gástricos de un macho mosaico para la polisomía en la línea germinal. Adviértase la ausencia de cromosomas M_4 extras.

Fig. 23: Célula en anafase-II ($8/8\frac{1}{2}M_4e$) observada en un folículo $n=8\frac{1}{2}X\frac{1}{2}M_4e$ de un macho mosaico para la polisomía. Nótese la presencia de una cromátida de M_4 extra en un polo y su ausencia en el otro.

Las barras representan $10\ \mu$.



dos en ninguna de las hembras estudiadas y de que todos los machos analizados resultaron ser mosaicos para dicha polisomía, careciendo sus ciegos gástricos de M_4 extras. Nuestros resultados en este sentido difieren de los de CAMACHO (1980), que detectó un macho totalmente tetrasómico en la población de Campos de Otero de O. bolivari. Sin embargo, es de señalar que tan solo estudió ocho folículos de dicho macho, por lo que pensamos que no se puede afirmar categóricamente que este individuo no fuese mosaico con una alta proporción de folículos tetrasómicos. HEWITT & JOHN (1968) también detectaron en una población de Chorthippus parallelus un pequeño porcentaje de machos enteramente tetrasómicos para la línea germinal, pero ellos piensan que los autosomas extras de estos individuos se originaron, como los de los machos mosaicos, por no disyunción y no por transmisión de padres a hijos.

Los autosomas A_9 extras estudiados por PETERS (1981) en Atractomorpha similis tampoco se heredan, pero sí existen evidencias de que hay factores hereditarios que determinan la polisomía, a través de la no disyunción del A_9 normal en mitosis previas a la formación de los folículos testiculares. Así, este autor consigue aumentar y disminuir la proporción de machos polisómicos mediante selección artificial a favor y en contra de la polisomía. Incluso en un caso detecta aparición de novo de la polisomía, pero ninguno de los embriones analizados presentaba autosoma extra.

En O. bolivari, como vimos anteriormente, los M_4 extras tampoco parecen heredarse, por lo que deben existir factores genéticos que determinen su aparición de novo en la línea germinal masculina. Por tanto, los machos polisómicos en el estado de cigoto no son portadores de autosomas M_4 extras, sino de los factores hereditarios que determinan la inestabilidad mitótica de los M_4 normales en las mitosis previas a la formación de los folículos testiculares. Las hem-

bras no son polisómicas, pero sí pueden ser portadoras de los factores genéticos determinantes de la polisomía, como demostró PETERS (1981) en Atractomorpha similis.

Un hecho que puede reforzar aún más estos argumentos es la coincidencia de un mismo autosoma polisómico en especies emparentadas. Así, varias especies de saltamontes de la subfamilia Gomphocerinae, como son Chorthippus parallelus (HEWITT, 1963; SOUTHERN, 1967; HEWITT & JOHN, 1968, 1970a), C. jucundus y O. bolivari (CAMACHO, 1980) muestran tendencia a la inestabilidad mitótica en su autosoma M_4 . Del mismo modo, en dos especies de Atractomorpha, A. bedeli (SANNOMIYA, 1973) y A. similis (PETERS, 1981), se muestra polisomía para autosomas de tamaños muy similares (A_8 y A_9 respectivamente), que en el ancestral común pudieron ser el mismo.

En ningún caso hemos observado en los individuos mosaicos células monosómicas o nulisómicas, por lo que es de suponer que exista una supervivencia diferencial de los productos de la inestabilidad mitótica que da lugar a la no disyunción y subsiguiente acumulación de M_4 en las divisiones mitóticas previas a la formación de los testículos. A este respecto, el modelo de aneuploidía de O. bolivari es similar al observado en Chorthippus parallelus (HEWITT & JOHN, 1968) y Atractomorpha similis (PETERS, 1981), pero difiere significativamente del hallado en Chrotogonus trachypterus, donde SHARMA y col. (1962) encontraron células polisómicas y células monosómicas en el mismo individuo.

La frecuencia de la polisomía para el M_4 era tan variable entre las poblaciones estudiadas como la del supernumerario aunque, en cualquier caso, baja. De las diecinueve hembras analizadas, en

ninguna se detectó M_4 extra, mientras que en los machos la frecuencia oscilaba entre el 0% y el 22% de los individuos de la población.

Estos datos son muy similares a los observados para las polisomfas de Chorthippus parallelus y Atractomorpha similis. En C. parallelus, en un primer estudio, HEWITT & JOHN (1968) encontraron un 26% de individuos polisómicos en la población de Ashurst (AS), única que presentó polisomfa de las catorce poblaciones inglesas que estudiaron.

Un año más tarde, en un análisis exhaustivo de la población de AS, que dividieron en dos áreas, una de ellas a su vez subdividida en cuatro localidades, las frecuencias detectadas oscilaron del 12.5% al 19.6% (JOHN & HEWITT, 1969).

En un nuevo estudio de esta población, efectuado un año después, las frecuencias variaron (no significativamente) del 14.3% al 24%, siendo la media del 19.8% (HEWITT & JOHN, 1970a).

Una proporción similar (20%) de portadores de polisomfa para la línea germinal masculina fué observada por PETERS (1981) en diecinueve poblaciones australianas de Atractomorpha similis.

Sin embargo, cuando se comparan los tres sistemas de polisomfa (en O. bolivari, C. parallelus y A. similis) a nivel de la incidencia de folículos polisómicos dentro de los individuos, existe gran similitud entre los sistemas de O. bolivari y C. parallelus, pero diferencias apreciables entre la polisomfa de ambas especies y la de A. similis. Así, mientras que en O. bolivari y C. parallelus los folículos polisómicos más frecuentes eran los tetrasómicos (46 y 58%, respectivamente, del total de folículos), en A. similis predominaban los folículos trisómicos (32%). Es posible que la similitud observada para las frecuencias en O. bolivari y C. parallelus se deba a que el cromosoma polisómico en ambas especies es el M_4 .

Los autosomas extras de O. bolivari aparecen heteropicnóticos positivos desde cigotene a diplotene, por lo que son fácilmente distinguibles del resto de los autosomas del complemento normal, incluso de los M_4 normales. En mitosis espermatogoniales los M_4 extras también presentan heteropicnosis diferencial con respecto a los otros cromosomas. Esta situación coincide con la observada en Chorthippus parallelus (HEWITT & JOHN, 1968), donde los M_4 en exceso de dos se muestran heteropicnóticos negativos y ligeramente más largos que los M_4 normales. Al igual que en O. bolivari, en la profase-I de la meiosis los M_4 extras de C. parallelus se muestran heteropicnóticos positivos. También los autosomas A_9 extras de Atractomorpha similis (PETERS, 1981) son diferencialmente picnóticos en la profase de la meiosis; sin embargo, son indistinguibles en las metafases mitóticas espermatogoniales.

Los M_4 extras de O. bolivari se asocian entre sí formando bivalentes, trivalentes y cuadrivalentes. La homología de esta asociación está demostrada por la absoluta persistencia de los bivalentes M_4 extras en metafase-I, y por el aspecto quiasmado de los bivalentes, trivalentes y cuadrivalentes.

Por el contrario, los M_4 extras no se suelen asociar con los M_4 normales, debido ciertamente a la diferencia en el ciclo picnótico de ambos tipos de elementos. Esta diferencia en la heteropicnosis de los M_4 extras y los M_4 normales puede ser más importante, a la hora del apareamiento meiótico, que la homología existente entre ellos, como demuestra la alta frecuencia de asociaciones en profase-I entre M_4 extras y el cromosoma X. La posibilidad de que las asociaciones X- M_4 extras sean por homología ha de ser rechazada, debido a que raramente persisten en metafase-I. Por el contrario, estas asociaciones se pueden explicar por similitud en picnosis, ya que ambos elemen

tos se muestran heteropicnóticos positivos durante la profase-I. Vemos así cómo cromosomas que no son homólogos se asocian durante la profase-I con una frecuencia mucho mayor que elementos que, siendo homólogos, muestran diferencias en picnosis en las etapas en que ocurre el apareamiento meiótico.

La situación en O. bolivari es bastante similar a la observada por HEWITT & JOHN (1968) en Chorthippus parallelus. En esta especie, también debido a la heteropicnosis diferencial de los M_4 extra y los M_4 normales, se ve dificultado el apareamiento de estos cromosomas, de modo que en general los dos M_4 normales eucromáticos forman un bivalente, mientras que los M_4 extras heterocromáticos desarrollan asociaciones que pueden implicar hasta cuatro cromosomas, según el nivel de polisomía. Así, en las células tetrasómicas, la configuración más común (96%) es de dos bivalentes M_4 , uno eucromático y el otro heterocromático. Por otra parte, en el 75% de las células pentasómicas, se observan un bivalente eucromático y un bivalente y un univalente heterocromáticos. Los multivalentes son relativamente raros. En todos los casos, las configuraciones heterocromáticas de los M_4 extra forman quiasmas. En los pocos casos en que todos los M_4 presentes en un núcleo (M_4 extras y M_4 normales) se asocian en un multivalente, éste se muestra heteropicnótico positivo.

En Atractomorpha similis, la situación no difiere grandemente de las anteriores. En esta especie el cromosoma polisómico es el megamérico A_9 , que es parcialmente heteropicnótico durante la profase meiótica. En el único macho en que detectó esta polisomía el descubridor de la misma (NANKIVELL, 1976), observó una célula trisómica para el A_9 , en la que los tres homólogos estaban aparentemente asociados en un trivalente. Aunque este tipo de asociación también fué detectado posteriormente por PETERS (1981), observando en estos trivalentes la formación de quiasmas, su frecuencia era realmente

escasa. Los multivalentes son raros en las células polisómicas y, cuando ocurren, muy raramente incluyen todas las copias del A_9 presentes en la célula. En general, hay un bivalente A_9 presente. Este bivalente puede ser distinguido de las otras copias del A_9 presentes en células en paquitene o diplotene temprana, porque sus bloques heteropicnóticos están condensados en estas fases, dándole su apariencia convencional de megamérico. Las dos copias diferencialmente picnóticas del A_9 muy raramente se aparean con las otras, posiblemente como resultado de su condensación diferencial en profase temprana. La trisomía es la condición no diploide más común encontrada por PETERS en poblaciones naturales. En estas células hay generalmente un bivalente y un univalente A_9 . En células tetrasómicas hay normalmente dos bivalentes y, salvo raras excepciones, en las células se observan al menos un bivalente normal más distintas asociaciones de los elementos extras, dependiendo del número de A_9 extras presentes.

El número más frecuente de M_4 extras observado en los folículos de los machos mosaicos de O. bolivari era de dos. En estas células, como ya hemos indicado, se forman prácticamente siempre bivalentes M_4 extras, que persisten en metafase-I y se dividen reduccionalmente en anafase-I. Sin embargo, en folículos con un sólo M_4 extra, éste, al ser univalente, a veces se divide ecuacionalmente en la primera división meiótica, como demuestra la existencia de anafases-II donde el M_4 extra sólo aparece en uno de los polos (ver Fig. 23). Este tipo de división del M_4 extra puede conducir, como en el caso del B, a la formación de microespermátidas, como viene demostrado además por el hecho de que en los machos mosaicos para la polisomía, los folículos con 1 M_4 extra poseían significativamente más microespermátidas que los folículos normales, e incluso más que los folículos con 2 M_4 extras, donde la formación de bivalentes favorece la

división regular de los M_4 extras.

Esta situación es muy similar a la observada por PETERS (1981) en Atractomorpha similis, ya que en los folículos con univalentes A_9 extras, éstos a veces se dividen ecuacionalmente en la primera división meiótica, dando lugar a microespermátidas.

Por otra parte, en O. bolivari habría que distinguir la formación de microespermátidas por parte de los M_4 extras (cuando son univalentes) del efecto de los factores genéticos que determinan la polisomía sobre la formación de microespermátidas por parte de algunos elementos del cariotipo normal. Así, cuando se compara la frecuencia de microespermátidas en machos normales de Albergue Universitario con la de los folículos normales de los machos mosaicos de esta misma población, se observa que en los últimos se forman el cuádruple de microespermátidas que en los primeros, y la diferencia es significativa ($\chi^2_{(1)} = 5.48$; $P = 0.01-0.05$), como se puede deducir de los datos expresados en las Tablas 7 y 11.

En los individuos mosaico $\frac{1}{2}B$ podemos tener la excepcional oportunidad de estudiar posibles interacciones en el comportamiento meiótico de los dos tipos de elementos extras, B y M_4 . Así, del análisis de las asociaciones X-B- M_4 extras se puede deducir que en estos individuos disminuyen las asociaciones del B con el X en diplotene y éstas nunca persisten en metafase-I, lo cual se puede atribuir a la presencia de los M_4 extras, que compiten con el B por asociarse con el X. Por otra parte, las asociaciones (incluyendo las del M_4 extra) son más frecuentes cuando existe un solo M_4 extra que cuando aparecen dos, porque en éste caso los dos M_4 extras se asocian entre sí, formando un bivalente que se asocia con el X y/o el B con menor frecuencia que el univalente M_4 extra.

Como ya se ha mencionado, también existen diferencias en cuanto a la asociación entre los brazos del iso-B entre los machos

mosaico♂B y los machos portadores sólo de supernumerario. En los primeros esta asociación persiste en metafase-I con una frecuencia mucho mayor que la observada en los últimos. Puesto que ésto era así en los tres tipos de folículos analizados (incluso en aquellos que no presentaban M_4 extras), podemos concluir que, más que a la presencia física de los M_4 extras, este efecto se debe a los factores genéticos que determinan la polisomía.

Otra posible interacción entre los B y la polisomía ocurre a nivel de la formación de microespermátidas. Así, los individuos mosaico♂B forman significativamente más microespermátidas que los machos normales, que los machos con B y que los machos mosaicos de la misma población. Esto puede deberse, por una parte, a que tanto los M_4 extras como los B dan lugar a microespermátidas. Por otra parte, y sin excluir la posibilidad anterior, también puede ocurrir que los M_4 extras (o el carácter polisómico del individuo) influyan sobre el B, haciendo mayor la frecuencia con que éste da lugar a microespermátidas. Esta segunda posibilidad es avalada por el incremento en la frecuencia de división ecuacional del B en los machos mosaico♂B (77.5%) frente a la observada en los machos ♂B (21.66%) de la misma población (ver Tabla 5).

El tercer objetivo que nos planteamos para la realización de este trabajo es el referente a los posibles efectos de los elementos extras sobre caracteres endofenotípicos, concretamente sobre la frecuencia de quiasmas, carácter considerado como indicativo de la cantidad de variabilidad genética que un individuo aporta a su descendencia.

A nivel intraindividual, estos efectos sólo se han estudiado en los machos polisómicos, por ser mosaicos para la presencia de M_4 extras en las células de sus testículos y, por consiguiente, existir

variación para su número entre las mismas. Tanto en comparaciones dentro de machos mosaicos como en las realizadas dentro de machos mosaico+B, se observó una tendencia a un aumento (que en general resultó significativo) de la frecuencia media de quiasmas por célula, debido a incrementos del número de quiasmas a nivel de los bivalentes L y M, por la presencia de M_4 extras.

Puesto que en ninguno de los casos descritos sobre polisomía en saltamontes se ha realizado un estudio a nivel intraindividual de la influencia de los autosomas extras sobre la frecuencia de quiasmas, vamos a comparar los efectos de la polisomía de O. bolivari, al nivel ya indicado, con el observado en el sistema de B-cromosomas mitóticamente inestables de Locusta migratoria. En contraposición con el caso de los M_4 extras de O. bolivari, los B-cromosomas de L. migratoria no tienen influencia alguna sobre la frecuencia de quiasmas a nivel intraindividual, ya que ésta es similar en los folículos con y sin Bs (CABRERO & CAMACHO, en preparación).

La investigación de la influencia de los elementos extras sobre la frecuencia de quiasmas a nivel interindividual en O. bolivari, la hemos realizado tanto para los M_4 extras como para los B-cromosomas. Cuando se comparan folículos de similar contenido cromosómico de individuos diferentes, se observa que existen diferencias significativas entre ellos para la frecuencia media de quiasmas.

También hemos comprobado que los individuos mosaicos tienen una frecuencia total de quiasmas significativamente menor que los normales. Esta disminución radica en un decremento en la frecuencia de quiasmas en los bivalentes L porque, por el contrario, en los bivalentes S aumenta y en los bivalentes M permanece constante.

En las comparaciones anteriores, se han incluido las diferentes clases de folículos de los individuos mosaicos. La situación

es algo diferente cuando se utilizan únicamente los folículos normales de estos machos, resultando que dichos folículos presentan una menor frecuencia total de quiasmas por célula, debido a una disminución en el número de quiasmas de los bivalentes L y M, a pesar de un pequeño incremento en los S. Al no existir M_4 extras en las células normales de los machos polisómicos, podemos deducir que las diferencias en frecuencia de quiasmas antes mencionadas se deben a los factores genéticos que determinan la polisomía que, lógicamente, estarán presentes en estas células.

Siguiendo con los machos mosaicos, cuando se compara la frecuencia media de quiasmas de las células con M_4 extras de estos machos con la de los machos normales, se observa un incremento en la frecuencia media de quiasmas de los bivalentes M y S, debido a la presencia de los M_4 extras. A nivel de los bivalentes L, la frecuencia media de quiasmas en células con M_4 extras es superior que la observada en células sin M_4 extras de machos mosaicos. En consecuencia, podemos concluir que la presencia física de los M_4 extras aumenta la frecuencia de quiasmas a nivel de los tres grupos de bivalentes. En conclusión, la frecuencia de quiasmas en los machos mosaicos puede verse influenciada por dos factores, de algún modo antagónicos: los factores genéticos que determinan el carácter polisómico, los cuales producen una disminución de la frecuencia total de quiasmas por célula y, por otra parte, los autosomas M_4 extras, que producen un incremento en dicha frecuencia.

En contraste con lo que ocurre en O. bolivari, en Chorthippus parallelus HEWITT & JOHN (1968) no encontraron influencia alguna de los M_4 extras sobre la frecuencia de quiasmas del resto de los autosomas.

De nuestro trabajo se deduce que los cromosomas super-

numerarios de O. bolivari producen un incremento en la frecuencia de quiasmas, que se manifiesta a nivel del grupo de los bivalentes L. En este sentido, la situación coincide con la observada en Myrmeleo-tettix maculatus por JOHN & HEWITT (1965), donde los iso-B-cromosomas producen un incremento significativo en la frecuencia de quiasmas a nivel de los bivalentes L y M. Otras especies de saltamontes donde los B-cromosomas producen incremento en la frecuencia de quiasmas son Melanoplus differentialis (ABDEL-HAMEED y col., 1970), Eyprepocnemis plorans plorans (CAMACHO y col., 1980) y Melanoplus frigidus (GOSALVEZ y col., 1980). Sin embargo, en otros casos los B-cromosomas no producen efecto alguno sobre la frecuencia de quiasmas, como ocurre en las especies Podisma pedestris (HEWITT & JOHN, 1972), Chimarocephala pacifica pacifica (SCHROETER & HEWITT, 1974), y Camnula pellucida (SCHROETER & HEWITT, 1974).

Finalmente, en los individuos mosaico+B se aprecia un incremento significativo en la frecuencia total de quiasmas por célula frente a la observada tanto en machos normales como en los machos mosaicos e incluso en los portadores sólo de B. Esta diferencia se debe a un incremento en el número de quiasmas en los bivalentes L. Este efecto podría ser el resultado neto de la interacción de los efectos de los tres elementos que influyen sobre la frecuencia de quiasmas: genes de la polisomía, autosomas M_4 extras y B-cromosomas.

Para terminar esta discusión, queremos llamar la atención sobre el hecho de que la presencia de elementos extras de O. bolivari (sean M_4 s o Bs) produce un significativo incremento en la frecuencia de quiasmas y, por tanto, en la cantidad de variabilidad genética global de las poblaciones de esta especie. La importancia de este efecto se comprende si tenemos en cuenta lo afirmado por DOBZHANSKY y

col. en su libro "Evolución" (1980) de que "cuanto mayor sea la variabilidad genética de una población, más oportunidades tiene la selección natural para actuar". De hecho, ya en 1930, FISHER demostró que la cantidad de variabilidad genética en relación a la eficacia biológica se halla directamente correlacionada con la tasa de cambios evolutivos provocados por la selección natural. Este aserto quedó plasmado en el Teorema Fundamental de la Selección Natural: "La tasa con que incrementa la eficacia biológica de la población en un momento determinado es igual a su variabilidad genética respecto a la eficacia biológica en ese momento". Es importante reseñar que la formulación estricta de este Teorema presupone la constancia del ambiente.

Las poblaciones Pruebas experimentales de la correlación positiva entre la cantidad de variabilidad genética y la tasa de cambio evolutivo fueron suministradas por AYALA (1965, 1968) en Drosophila serrata.

Teniendo en cuenta estos hechos, cabe preguntarse si en O. bolivarij, especie endémica de Sierra Nevada y, por tanto, sumamente especializada a un ambiente más o menos constante, los incrementos en la variabilidad genética de sus poblaciones, producidos por la presencia de cromosomas extras, representan realmente una oportunidad para la actuación de la selección natural por la existencia de eficacias biológicas diferentes en individuos con y sin elementos extras.

No obstante, será necesario distinguir entre los efectos de los dos tipos de cromosomas extras (B y M_4), puesto que, como se demuestra en el presente trabajo, los cromosomas M_4 extras no son transmitidos de padres a hijos, de lo cual podemos inferir que las células con estos elementos adicionales no parecen dar lugar a gametos viables, a no ser que los M_4 extras sean eliminados en alguna etapa postmeiótica. De no ser así, los únicos gametos viables producidos por estos machos son los que proceden de espermatogonias normales

(sin M_4 extras), los cuales, con la única presencia de los factores genéticos para la polisomía, verán reducida su frecuencia de quiasmas durante la meiosis. En consecuencia, se puede decir que los machos mosaicos transmiten a su descendencia una cantidad de variabilidad genética menor que los machos normales y mucho menor que los machos con B.

En conclusión, es un reto para futuras investigaciones aclarar el significado preciso de estos efectos de los cromosomas extras de O. bolivari sobre la cantidad de variabilidad genética existente en las poblaciones y, consecuentemente, determinar si la selección natural juega un papel en el mantenimiento de estos polimorfismos en las poblaciones.

3.- Los M_4 extras...

4.- Los M_4 extras...

5.- En algunas...

CONCLUSIONES

Del estudio citogenético de cinco poblaciones naturales de Omocestus bolivari, utilizando las técnicas convencionales de investigación, hemos llegado a las siguientes conclusiones:

1. - La frecuencia de individuos de O. bolivari portadores de cromosomas supernumerarios es variable entre poblaciones y está relacionada con la altitud a la que se encuentran dichas poblaciones.

2. - La frecuencia de la polisomía es variable entre poblaciones y en general bastante baja.

3. - Los M_4 extras no se heredan, aunque sí los factores genéticos que determinan la polisomía para la línea germinal masculina. En cada macho polisómico los autosomas M_4 extras se originan de novo a partir de los M_4 normales, por inestabilidad mitótica de éstos en las mitosis previas a la organización de los testículos.

4. - Los M_4 extras se asocian entre sí por homología, formando bivalentes, trivalentes y cuadrivalentes de aspecto quiasmado. Por el contrario, no se asocian con los M_4 normales, por diferencias en la pínosis en las etapas en que ocurre el apareamiento meiótico.

5. - En folículos con M_4 extras y B de machos mosaico $\frac{1}{2}B$, éstos elementos compiten entre sí por asociarse con el cromosoma X, lo cual conduce a una disminución de las asociaciones X-B respecto de las observadas en machos portadores sólo de supernumerario.

6. - La relativamente frecuente división ecuacional de los

cromosomas supernumerarios en la primera división meiótica conduce a la pérdida de Bs y a la formación de microespermátidas por parte de éstos.

7. - En folículos con un solo M_4 extra, éste, al ser univalente, a veces se divide ecuacionalmente en la primera división meiótica y ello puede conducir a la formación de microespermátidas. En folículos con dos M_4 extras, éstos forman bivalentes que se dividen regularmente y, por tanto, no dan lugar a microespermátidas.

8. - Los factores genéticos responsables del carácter de la polisomía incrementan el grado de asociación homóloga entre los brazos del B. También provocan un aumento en la división ecuacional del supernumerario, que conduce a un incremento en la formación de microespermátidas por parte de éste.

9. - Los factores genéticos que determinan la polisomía provocan una disminución en la variabilidad genética de la población, a través de un decremento de la frecuencia media de quiasmas en los machos portadores.

10. - Los B-cromosomas aumentan la variabilidad genética de la población, a través de un incremento de la frecuencia media de quiasmas en los individuos portadores.

BIBLIOGRAFIA

- ABDEL-HAMEED, F., ROOTHAM, D.L. & FLINN, R.R. (1970). - Structural and numerical aberrations in natural populations of the grasshopper Melanoplus differentialis differentialis. *Genetics*, 64 (supplement 1): 1.
- ASTAUROV, B.L. (1969). - Experimental polyploidy in animals. *Annual Rev. Genet.*, 3: 99-126.
- AYALA, F.J. (1965). - Relative fitness of populations of Drosophila serrata and Drosophila birchii. *Genetics*, 51: 527-544.
- AYALA, F.J. (1968). - Genotype, environment and population numbers. *Science*, 162: 1453-1459.
- BARKER, J.F. (1960). - Variation of chiasma frequency in and between natural populations of Acrididae. *Heredity*, 14: 211-214.
- BARKER, J.F. (1966). - Climatological distribution of a grasshopper supernumerary chromosome. *Evolution*, 20: 665-667.
- BERGERARD, J., CARTON, Y., LESPINASSE, R. (1972). - Analyse électrophorétique en gel de polyacrylamide des protéines de l'hémolymphe de Locusta migratoria. Influence des chromosomes surnuméraires dans la sous-espèce migratorioides Reiche et Fairmaire. *C.R. Acad. Sc. Paris*, t. 275, série D: 783-786.
- BRIDGES, C.B. (1917). - Deficiency. *Genetics*, 2: 445.
- BUNGENBERG DE JONG, C.M. (1957). - Polyploidy in animals. *Bibliog. Genetica*, 17: 111-228.
- CAMACHO, J.P.M. (1980). - Variabilidad cromosómica en poblaciones naturales de Tettigonioidea, Pamphagoidea y Acridoidea. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias. Departamento de Genética. Universidad de Granada.

- CAMACHO, J.P.M., CARBALLO, A.R. & CABRERO, J. (1980). - The B-chromosome system of the grasshopper Eyprepocnemis plorans sp. plorans (Charpentier). *Chromosoma*, 80: 163-176.
- CAMACHO, J.P.M., DIAZ DE LA GUARDIA, R. & RUIZ REJON, M. (1981). - Polysomy and supernumerary isochromosomes in the grasshopper Omocestus bolivari (Chopard). *Heredity*, 46: 123-126.
- CAMERON, F.M. & REES, H. (1967). - The influence of B-chromosomes on meiosis in Lolium. *Heredity*, 22: 446-450.
- CARDOSO, H. & DUTRA, A. (1979). - The neo-X neo-Y sex pairing in Acrididae, its structure and association. *Chromosoma*, 70: 323-336.
- CARROL, M. (1920). - An extra dyad and an extra tetrad in the spermatogenesis of Camnula pellucida (Orthoptera): Numerical variation in the chromosome complex within the individual. *J. Morph.*, 34: 375-455.
- CATTANACH, B.M. (1964). - Autosomal trisomy in the mouse. *Cytogenetics*, 4: 159.
- CATTANACH, B.M. & POLLARD, C.E. (1969). - An XYY sex-chromosome constitution in the mouse. *Cytogenetics*, 8: 80-86.
- DOBZHANSKY, Th., AYALA, F.J., STEBBINS, G.L. & VALENTINE, J.W. (1980). - *Evolución*. Ed. Omega, S.A., Barcelona.
- DOBZHANSKY, Th. & LEVENE, H. (1948). - Genetics of natural populations. XVII. Proof of operation of natural selection in wild populations of Drosophila pseudoobscura. *Genetics*, 33: 537-547.
- EVANS, E.P., FORD, C.E. & SEARLE, A.G. (1969). - A 39, X/41, XYY mosaic mouse. *Cytogenetics*, 8: 87-96.

- FISHER, R. A. (1930). - The genetical theory of natural selection. Clarendon Press, Oxford.
- FONTANA, P. G. & VICKERY, V. R. (1973). - Segregation-distortion in the B-chromosome system of Tettigidea lateralis (Say) (Orthoptera: Tetrigidae). *Chromosoma*, 43: 75-100.
- FONTANA, P. G. & VICKERY, V. R. (1975). - The B-chromosome System of Tettigidea lateralis (Say). II. New Karyomorphs, Patterns of Pycnosity and Giemsa-Banding. *Chromosoma*, 50: 371-391.
- GALLAGHER, A., HEWITT, G. & GIBSON, I. (1973). - Differential Giemsa staining of heterochromatic B-chromosomes in Myrmeleotettix maculatus (Thunb) (Orthoptera: Acrididae). *Chromosoma*, 40: n° 2, 167-172.
- GOSALVEZ, J. & LOPEZ-FERNANDEZ, C. (1981). - Extra heterochromatin in natural populations of Gomphocerus sibiricus (Orthoptera: Acrididae). *Genetica* 56: 197-204.
- GOSALVEZ, J., LOPEZ-FERNANDEZ & MORALES AGACINO, E. (1980). - Consideraciones cromosómicas sobre algunas especies del grupo Podismini (Orthoptera: Acrididae). *Acrida*, 9: 133-143.
- GROPP, A., KOLBUS, U. & GIERS, D. (1975). - Systematic approach to study of trisomy in the mouse. II. Cytogenet. Cell. Genet., 14: 42-62.
- HAINES, R. L., ROBERTS, P. A. & LATTIN, J. D. (1978). - Paracentric Inversion Polymorphism in the Grasshopper Boonacris alticola. *Chromosoma*, 65: 185-197.
- HARRIS, H. (1966). - Enzyme polymorphism in man. *Proc. Roy. Soc. Ser. B*, 164: 298-310.
- HENDERSON, S. A. (1961). - The chromosomes of the British Tetrigidae (Orthoptera). *Chromosoma*, 12: 553-572.

- HEWITT, G.M. (1963). - A tetrasomic mosaic in the germ line of Chorthippus parallelus. *Heredity*, 18: 505-512.
- HEWITT, G.M. (1972). - The structure and role of B-chromosomes in the mottled grasshopper. *Chromosomes Today*, 3: 208-222.
- HEWITT, G.M. (1973a). - Variable transmission rates of a B-chromosome in Myrmeleotettix maculatus (Thunb) (Acrididae: Orthoptera). *Chromosoma*, 40: 83-106.
- HEWITT, G.M. (1973b). - Evolution and maintenance of B-chromosomes. *Chromosomes Today*, 4: 351-369.
- HEWITT, G.M. (1973c). - The integration of supernumerary chromosomes into the orthopteran genome. *Cold Spr. Harb. Symp. Quant. Biol.*, 38: 183-194.
- HEWITT, G.M. (1976). - Meiotic drive for B-chromosomes in the primary oocytes of Myrmeleotettix maculatus (Orthoptera: Acrididae). *Chromosoma*, 56: 381-391.
- HEWITT, G.M. (1979). - Grasshoppers and crickets. *Animal Cytogenetics vol. 3: Insecta 1 Orthoptera*, Gebrüder Borntraeger, Berlin-Stuttgart.
- HEWITT, G.M. & BROWN, B. (1970). - The B-chromosome system of Myrmeleotettix maculatus. V. A steep cline in East Anglia. *Heredity*, 25: 363-371.
- HEWITT, G.M. & JOHN, B. (1965). - The influence of structural and numerical chromosome mutations on chiasma conditions. *Heredity*, 20: 123-135.
- HEWITT, G.M. & JOHN, B. (1967). - The B-chromosome system of Myrmeleotettix maculatus (Thunb) III. The statistics. *Chromosoma*, 21: 140-162.
- HEWITT, G.M. & JOHN, B. (1968). - Parallel polymorphism for supernumerary segments in Chorthippus parallelus (Zetterstedt). I. British populations. *Chromosoma*, 25: 319-342.

- HEWITT, G.M. & JOHN, B. (1970a). - Parallel polymorphism for supernumerary segments in Chorthippus parallelus (Zetterstedt). IV. Ashurst re-visited. *Chromosoma*, 31: 198-206.
- HEWITT, G.M. & JOHN, B. (1970b). - The B-chromosome system of Myrmeleotettix maculatus. IV. The dynamics. *Evolution*, 24: 169-180.
- HEWITT, G.M. & JOHN, B. (1971). - The cytogenetic systems of grasshoppers and locust. I. Chortoicetes terminifera. *Chromosoma*, 34: 302-323.
- HEWITT, G.M. & JOHN, B. (1972). - Inter-population sex-chromosome polymorphism in the grasshopper Podisma pedestris. II. Population parameters. *Chromosoma*, 37: 23-42.
- HEWITT, G.M. & RUSCOE, C.N.E. (1971). - Changes in microclimate correlated with a cline for B-chromosomes in the grasshopper Myrmeleotettix maculatus (Thunb) (Orthoptera: Acrididae). *J. Anim. Ecol.*, 40: 753-765.
- HUBBY, J.L. & LEWONTIN, R.C. (1966). - A molecular approach to study of genic heterozygosity in natural populations. I. The number of alleles at different loci in Drosophila pseudoobscura. *Genetics*, 54: 577-794.
- HUNTER, R.L. & MARKERT, C.L. (1957). - Histochemical demonstration of enzymes separated by zone electrophoresis in starch gels. *Science*, 125: 1294-1295.
- JACKSON, W.D. & CHEUNG, D.S.M. (1967). - Distortional meiotic segregation of a supernumerary chromosome producing differential frequencies in the sexes in the short-horned grasshopper Phaulacridium vittatum. *Chromosoma*, 23: 24-37.
- JOHN, B. (1976). - Myths and mechanisms of meiosis. *Chromosoma*, 54: 295-325.

- JOHN, B. & FREEMAN, M. (1974). - B chromosomé behaviour in Phaulacridium vittatum. *Chromosoma*, 46: 181-195.
- JOHN, B. & FREEMAN, M. (1975). - The cytogenetic structure of Tasmanian populations of Phaulacridium vittatum. *Chromosoma*, 53: 283-293.
- JOHN, B. & HEWITT, G.M. (1965). - The B-chromosome system of Myrmeleotettix maculatus (Thunb) I. The mechanics. *Chromosoma*, 16: 548-578.
- JOHN, B. & HEWITT, G.M. (1966). - A polymorphism for heterochromatic supernumerary segments in Chorthippus parallelus. *Chromosoma*, 18: 254-271.
- JOHN, B. & HEWITT, G.M. (1969). - Parallel polymorphisms for supernumerary segments in Chorthippus parallelus (Zetterstedt). III. The Ashurst population. *Chromosoma*, 28: 73-84.
- JOHN, B. & WEISSMAN, D.B. (1977). - Cytogenetic components of reproductive isolation in Trimerotropis thalassica and T. occidentalis. *Chromosoma*, 60: 187-203.
- KAYANO, H. (1971). - Accumulation of B-chromosomes in the germ line of Locusta migratoria. *Heredity*, 27: 119-123.
- KING, R.L. (1950). - Neo Y chromosome in Hypochlora alba and Merminia intertexta (Orthoptera: Acrididae). *J. Morph.*, 87: 227-257.
- LACADENA, J.R. (1981). - *Genética*. 3ª Edición, A.G.E.S.A. Madrid.
- LESPINASSE, R. (1977). - Analyse de la transmission des chromosomes surnuméraires chez Locusta migratoria migratorioides R. et F. (Orthoptera, Acrididae). *Chromosoma*, 59: 307-332.
- LEWIS, K.R. & JOHN, B. (1959). - Breakdown and restoration of chromosome stability following inbreeding in a locust.

- Chromosoma, 10: 589-618.
- LEWONTIN, R. C. & HUBBY, J. L. (1966). - A molecular approach to the study of genic heterozygosity in natural populations. II. Amount of variation and degree of heterozygosity in natural populations of Drosophila pseudoobscura. Genetics, 54: 595-609.
- LUCOV, Z. & NUR, U. (1973). - Accumulation of B-chromosomes by preferential segregation in females of the grasshopper Melanoplus femur-rubrum. Chromosoma, 42: 289-306.
- MARKERT, C. L. & MOLLER, F. (1959). - Multiple forms of enzymes: tissue, ontogenetic, and species specific patterns. Proc. Nat. Acad. Sci., 45: 753-763.
- MATTHEY, R. (1954). - La polyploidie animale naturelle. Proc 9th Int. Cong. Genetic. Caryologia, vol suppl. 1954: 302-306.
- Mc FEELY, R. A. (1969). - Aneuploidy, polyploidy and structural rearrangements of chromosomes in mammals other than man. In Comparative mammalian cytogenetics (edit. by K. Bernischke), Springer Verlag, Berlin, pp. 434-444.
- MESA, A. & FERREIRA, A. (1978). - The chromosomes of South-American Eumastacids (Orthoptera: Eumastacidae) and discussion of the phylogeny of the family. Acrida, VII, 3: 157-163.
- MOSES, M. J. & POORMAN, P. A. (1981). - Synaptonemal complex analysis of mouse chromosomal rearrangement. II. Synaptic adjustment in a tandem duplication. Chromosoma, 81: 519-535.
- NANKIVELL, R. N. (1976). - Karyotype differences in the Crenaticeps-group of Atractomorpha (Orthoptera, Acridoidea, Pyrgomorphidae). Chromosoma, 56: 127-142.
- NUR, U. (1963). - A mitotically unstable supernumerary chromosome

- ROWE, H. B. (1967). - with an accumulation mechanism in a grasshopper. *Chromosoma*, 14: 407-422.
- NUR, U. (1968). - Synapsis and crossing over within a paracentric inversion in the grasshopper Camnula pellucida. *Chromosoma*, 25: 198-214.
- NUR, U. (1969). - Mitotic instability leading to an accumulation of B-chromosomes in grasshoppers. *Chromosoma*, 27: 1-19.
- PETERS, G. B. (1981). - Germ line polysomy in the grasshopper Atractomorpha similis. *Chromosoma*, 81: 593-617.
- POORMAN, P. A., MOSES, M. J., RUSSELL, L. B. & CACHEIRO, N. L. A. (1981). - Synaptonemal complex analysis of mouse chromosomal rearrangements. I. Cytogenetic observations on a tandem duplication. *Chromosoma*, 81: 507-518.
- RATHENBERG, R. & MÜLLER, D. (1973). - X and Y chromosome pairing and disjunction in a male mouse with an XYY sex-chromosome constitution. *Cytogen. Cell. Genet.*, 12: 87-92.
- REES, H. (1974). - B chromosomes. *Sci. Prog., Oxf.* 61, 535-554.
- REES, H. & JAMIESON, A. (1954). - A supernumerary chromosome in Locusta. *Nature*, 173: 43-44.
- ROBINSON, P. M. (1973). - The ecological genetics of B-chromosomes in Myrmeleotettix maculatus (Thunb) (Acrididae: Orthoptera). Ph. D. Thesis. University of East Anglia, Norwich, Great Britain.
- ROBINSON, P. M. & HEWITT, G. M. (1976). - Annual cycles in the incidence of B chromosomes in the grasshopper Myrmeleotettix maculatus. *Heredity*, 36: 399-412.
- ROTHFELS, K. & PROCUNIER, B. (1975). - The B-chromosomes of Neopodismopsis abdominalis (Acrididae). *Chromosoma*, 52: 137-148.

- ROWE, H.S. & WESTERMAN, W. (1974). - Population cytology of the genus Phaulacridium. I. Phaulacridium vittatum (Sjöst). Australian mainland populations. *Chromosoma*, 46: 197-205.
- SAEZ, F.A. (1956). - Cytogenetics of south american Orthoptera. *Nature*, 177: 490.
- SANNOMIYA, M. (1973). - Cytogenetics studies on natural populations of grasshoppers with special reference to B-chromosomes. II. Atractomorpha bedeli. *Chromosoma*, 44: 99-106.
- SCHROETER, G.L. & HEWITT, G.M. (1974). - The effects of supernumerary chromatin in three species of grasshopper. *Can. J. Genet. Cytol.*, 16: 285-296.
- SHARMA, G.P., PARSHAD, R. & BEDI, T.S. (1962). - Breakdown of the meiotic stability in Chrotogonus trachypterus (Blanchard) (Orthoptera: Acridoidea: Pyrgomorphidae). *Res. Bull. (N.S.) Panjab Univ.* 13: 281-308.
- SHARMA, G.P., PARSHAD, R. & GUPTA, M.L. (1965). - Chromosomal variations in the male germ cells of Chrotogonus trachypterus (Blanchard) (Orthoptera: Acridoidea: Pyrgomorphidae) from Ottu (Punjab). *La Cellule*, 65: 295-314.
- SHAW, D.D. (1976). - Population cytogenetics of the genus Caledia (Acrididae). I. Inter- and intraspecific karyotype diversity. *Chromosoma*, 54: 221-243.
- SHAW, D.D., WEBB, G.C. & WILKINSON, P. (1976). - Population cytogenetics of the genus Caledia (Acrididae). II. Variation in the pattern of C-banding. *Chromosoma*, 56: 169-190.
- SMITH, S.G. (1953). - A pseudo-multiple sex-chromosome mechanism in an Indian gryllid. *Chromosoma*, 5: 555-573.
- SOUTHERN, D.I. (1967). - Spontaneous chromosome mutations in

- truxaline grasshoppers. *Chromosoma*, 22: 241-257.
- STEPHENS, R. T. & BREGMAN, A. A. (1972). - The B-chromosome system of the grasshopper Melanoplus femur-rubrum. *Chromosoma*, 38: 297-311.
- SUMNER, A. T., EVANS, H. J. & BUCKLAND, R. A. (1971). - New technique for distinguishing between human chromosomes. *Nature New Biology*, 232: 31-32.
- SUOMALAINEN, E. (1950). - Parthenogenesis in animals. *Adv. Genet.*, 3: 193-253.
- TEOH, S. B. & REES, H. (1977). - B chromosomes in white spruce. *Proc. R. Soc. Lond. B.*, 198: 325-344.
- VIINIKKA, Y. (1973). - The occurrence of B-chromosomes and their effect on meiosis in Najas marina. *Hereditas*, 75: 207-212.
- WESTERMAN, M. (1969). - Parallel polymorphism for supernumerary segments in Chorthippus parallelus (Zetterstedt). II. French populations. *Chromosoma*, 26: 7-21.
- WESTERMAN, M. (1970). - Parallel polymorphism for supernumerary segments in Chorthippus parallelus. V. A new polymorphism in Europe. *Heredity*, 25: 662-667.
- WESTERMAN, M. (1975). - Population cytology of the genus Phaulacridium. III. P. marginale (Walker); polymorphisms for extra heterochromatin. *Heredity*, 34: 11-27.
- WESTERMAN, M. & FONTANA, P. G. (1973). - Polymorphisms for extra heterochromatin in Phaulacridium marginale. *Heredity*, 31: 223-229.
- WHITE, M. J. D. (1951a). - Structural heterozygosity in natural populations of the grasshopper Trimerotropis sparsa. *Evolution*, 5: 376-394.
- WHITE, M. J. D. (1951b). - A cytological survey of wild populations of Trimerotropis and Circotettix (Orthoptera: Acrididae).

II. Racial differentiation in T. sparsa. Genetics, 36: 31-53.

WHITE, M. J. D. (1951c). - Citología y evolución (trad. por F. A. Saez). ESPASA-CALPE, S. A., Buenos Aires.

WHITE, M. J. D. (1957). - Cytogenetics of the grasshopper Moraba scurra. IV. Heterozygosity for "elastic constrictions". Aust. J. Zool., 5: 348-354.

WHITE, M. J. D. (1973). - Animal cytology and evolution. 3rd Ed. Cambridge Univ. Press, London and New York.

WHITE, M. J. D. & CHENEY, J. (1966). - Cytogenetics of the cultrata group of Morabine grasshoppers. I. A group of species with XY and X_1X_2Y sex-chromosome mechanisms. Austral. J. Zool., 14: 821-834.