

ANALISIS DE LA NATURALEZA,
EFECTOS Y TRANSMISION DE LOS
CROMOSOMAS ACCESORIOS DE
LOCUSTA MIGRATORIA

ESTHER VISERAS ALARCON

DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA ANIMAL, ECOLOGIA Y GENETICA
FACULTAD DE CIENCIAS
UNIVERSIDAD DE GRANADA

1.986

El presente trabajo ha sido realizado en el Departamento de Genética, integrado desde Junio de 1986 en el Departamento de Biología Animal, Ecología y Genética de la Universidad de Granada, durante los años 1983-1986.

Parte de los resultados de esta Tesis han sido presentados en las XXI y XXII Jornadas Luso-Españolas de Genética, celebradas en Vila-Real (1985) y Oviedo (1986).

A mis padres

A Alberto

AGRADECIMIENTOS

La realización de esta Tesis hubiera sido literalmente imposible sin la inestimable ayuda del Dr. Juan Pedro Martínez Camacho quien, además de su valiosa dirección, me ha brindado su apoyo, amistad y estímulo en todos estos años.

Quisiera también agradecer a mi compañera y amiga la Dra. Josefa Cabrero Hurtado su continuo interés y sus útiles consejos y comentarios.

Estoy en deuda asimismo con el licenciado Francisco Javier Salcedo Olmo y con el alumno Héctor Valor Arbol, quienes han colaborado en el estudio de parte del material; y con los licenciados Jesús Navas Castillo y Juan de Dios Alché Ramírez, quienes cuidaron con cariño mis saltamontes cuando, por causas diversas, yo no pude hacerlo. Este último me acompañó en una accidentada aunque finalmente feliz excursión para capturar material. Otros esforzados compañeros de "caza" han sido César, Javier y Jorge Viseras y Alberto López, quien también me ha ayudado con la mecanografía y con tantas otras cosas invaluable. Todos ellos saben cuánto se lo agradezco.

Me siento agradecida a todos mis compañeros de Departamento, que siempre me han alentado; en especial a Miguel Burgos y Rafael Jiménez, amigos entrañables desde nuestra época de alumnos internos y tesinandos, quienes no dudaron en prestarme su ayuda "técnica" cuando la necesité.

El soporte económico ha correspondido al Ministerio de Educación y Ciencia, que en 1983 me concedió una Beca del Plan de Formación del Personal Investigador en España, lo que me ha permitido no sólo llevar a cabo mi labor investigadora y hacer algunos pinitos en docencia sino también conocer a muchos y muy interesantes miembros del colectivo de Becarios de Investigación de esta Universidad, con los que he compartido muchas inquietudes y esperanzas durante este tiempo.

Para terminar, quisiera dar las gracias a todos aquellos familiares, compañeros y amigos (debo confesar que me siento afortunada porque han sido muy numerosos) que han mostrado interés por mi trabajo y satisfacción por su desarrollo. Cada uno de ellos ha contribuido en cierta forma a su feliz término y, por tanto, son de algún modo copartícipes de él.

INDICE

I. INTRODUCCION	1
I.1. Origen y evolución de los cromosomas accesorios	1
I.2. Naturaleza de los Bs	3
I.2.1. Bandas C	3
I.2.2. Bandas G	7
I.2.3. Regiones organizadoras nucleolares (NCRs)	9
I.3. Inestabilidad y transmisión de los Bs	11
I.4. Efectos de los cromosomas supernumerarios	13
I.5. Significado biológico de los Bs	15
II. OBJETIVOS	17
III. MATERIAL Y METODOS	18
III.1. Material	18
III.2. Métodos	21
III.2.1. Captura de los individuos en el campo	21
III.2.2. Técnica de cultivo de los saltamontes	21
III.2.3. Obtención del material	22
A) Adultos	22
B) Embriones	23
III.2.4. Fijación del material	23
III.2.5. Obtención de las preparaciones microscópicas	24
III.2.6. Técnica de Bando C	25
III.2.7. Técnica de Bando G	26
III.2.8. Técnica de impregnación argéntica	27
III.2.9. Tratamiento de los resultados	28
IV. RESULTADOS	29
IV.1. Biología reproductiva de <i>Locusta migratoria</i> en cautividad	29
IV.2. Datos crudos (sin elaborar)	33
IV.3. Naturaleza de los cromosomas accesorios	55

IV.3.1. Bandas C	55
IV.3.2. Bandas G	56
IV.3.4. Regiones organizadoras nucleolares	56
IV.4. Inestabilidad mitótica	58
IV.4.1. Grado de inestabilidad	61
IV.4.2. Inestabilidad mitótica intrafolicular	67
IV.4.3. Inestabilidad mitótica intraovariolar	69
IV.4.4. Cálculo de la acumulación del B en la línea germinal	70
IV.4.5. Eliminación en los ciegos gástricos	75
IV.5. Efectos de los cromosomas accesorios sobre la frecuencia de quiasmas	76
IV.6. Frecuencia del cromosoma accesorio en las poblaciones naturales	85
IV.7. Fertilidad femenina	88
IV.8. Transmisión	91
IV.8.1. Cruces entre 1 macho y 1 hembra	91
IV.8.2. Cruces entre 2 machos y 1 hembra	104
IV.8.3. Cruce entre 2 machos y 2 hembras	110
V. DISCUSION	113
V.1. Naturaleza de los cromosomas accesorios	113
V.2. Efectos de los cromosomas supernumerarios sobre la frecuencia de quiasmas	114
V.3. Transmisión del cromosoma accesorio de <i>Locusta migratoria</i>	117
V.4. Mecanismo de acumulación de los cromosomas accesorios de <i>Locusta migratoria</i>	127
VI. CONCLUSIONES	132
VII. BIBLIOGRAFIA	134

I. INTRODUCCION

I. INTRODUCCION

Los cromosomas supernumerarios, también llamados cromosomas B o accesorios, son cromosomas adicionales, no homólogos de ningún otro elemento del cariotipo normal, que están presentes en unos pocos individuos de algunas poblaciones de muchas especies. Así, se han citado en gran número de especies vegetales y animales, e incluso en el hombre, acumulándose en consecuencia gran cantidad de bibliografía sobre el tema, que ha sido revisada y recopilada por autores como Rutishauser (1960), Battaglia (1964), John y Lewis (1965, 1968), White (1973), Müntzing (1974), Hones (1975), Puertas (1975), Hewitt (1979) y Jones y Rees (1982). Sin embargo, en la actualidad persisten muchos interrogantes sobre su origen y evolución, así como sobre su naturaleza, efectos, mecanismos de transmisión y, en definitiva, su significado biológico.

I.1. Origen y evolución de los cromosomas accesorios

Efectivamente, aunque todos los autores opinan que los cromosomas B deben derivar de los cromosomas del complemento básico, su rápida diferenciación por diversos mecanismos hace que en la mayoría de los casos sólo pueda especularse sobre su posible origen y evolución. Lo más lógico es pensar que los cromosomas se inicien a partir de aquellos elementos que en principio puedan ser más fácilmente tolerables en condición polisómica, como los cromosomas sexuales, los autosomas de menor tamaño, fragmentos céntricos resultantes de algún tipo de reordenación cromosómica, o fragmentos trisómicos.

Por ejemplo, según Hewitt (1973a) el cromosoma B de gran tamaño encontrado en algunas especies de ortópteros podría derivarse del X, debido a su gran parecido con éste en tamaño, posición del centrómero y heteroploidicidad, argumentos sin embargo bastante discutibles (Santos, 1980).

En *Glossina*, donde existe una gran semejanza entre los patrones de bandas C de los cromosomas Bs e Y (Davies y Southern, 1976), Amos y Dover (1981) han defendido el origen de los accesorios a partir de los cromosomas Y, basándose en su parecido y localización del ADN satélite.

Otros casos de cromosomas supernumerarios que posiblemente tuvieran su inicio en cromosomas sexuales han sido citados por Jackson y Cheung (1967), Zuk (1969), Hewitt y John (1971, 1972), Westerman (1975), Fontana y Vickery (1975, 1976) y Webb (1976).

Ciertos Bs pequeños han podido originarse a partir de polisomías para los autosomas de menor tamaño (Nur, 1969; Stephen y Bregman, 1972; Hewitt, 1973a,b,c). De otros cromosomas supernumerarios se supone un inicio por simple delección de autosomas (Gotch, 1924; Stolze, 1925; Emme, 1928; Lewitsky, 1931; Schulz-Schaeffer, 1966) o cromosomas sexuales (Rothfels, 1950), incluso de pequeños brazos autosómicos (Darlington y Keffallinon, 1957), o de fragmentos céntricos de escaso tamaño que podrían ser productos de reordenaciones estructurales (Avdulov y Titova, 1933; Tobgy, 1943; Lewis y John, 1959; Jackson, 1960; Patton, 1977; Jones, 1979; Dnyansagar y Pingle, 1979; Carr y Carr, 1982).

Finalmente, en descendientes de ciertos individuos trisómicos se ha encontrado un complemento normal y, además, fragmentos céntricos que poseen muchos de los atributos de los Bs y que, en definitiva, podrían ser origen de éstos (Frost y Ising, 1964; Tsuchiya, 1969).

Mención aparte merece el grupo de cromosomas iso-Bs, que incluye accesorios metacéntricos originados por misdivisión y no disyunción del centrómero, de manera que dos brazos idénticos quedan unidos al mismo centrómero (Gallagher y col. 1973; Camacho, 1980; Camacho, Díaz de la Guardia y Ruíz Rejón, 1981; Viseras, 1982; Viseras y Camacho, 1985). Para mayor profundización en el tema, así como en la bibliografía relativa a éste, ver Hewitt (1979) y Jones y Rees (1982).

En algunas especies se puede encontrar más de un tipo de supernumerarios, siendo en algunos casos estos cromosomas bastante similares y probablemente relacionados por alguna reordenación cromosómica como, por ejemplo, en *Myrmeleotettix maculatus*, donde la posición del centrómero ha sido cambiada por una inversión pericéntrica (White, 1951a,b; John y Hewitt, 1965). En otros casos, los diferentes tipos de accesorios no están claramente relacionados, como sucede en *Mel. noplus femur-rubrum* (Stephens y Bregman, 1972), *Podisma pedestris* (Hewitt y John, 1972), *Phaulacridium marginale* (Westerman y Fontana, 1973) y *Tettigidea lateralis* (Fontana y Vickery, 1973, 1975).

Casos especialmente complejos de sistemas de cromosomas accesorios son los de *Chortoicetes terminifera*, donde Webb y Nebaus (1979) distinguieron 23 tipos de Bs mediante las técnicas de bandeado C y G; y

Eyprepocnemis plorans, especie en la que Henriques-Gil (1984), Henriques-Gil, Santos y Arana (1984) y Henriques-Gil y col. (1985) han caracterizado con la técnica de bandeo C hasta 21 clases de Bs, muchos de los cuales pueden interrelacionarse a través de procesos de delección, duplicación o misdivisión.

Otra cualidad interesante del origen de los cromosomas supernumerarios la constituye su aspecto espacio-temporal. En algunos casos se puede determinar un origen reciente circunscrito a la región en cuestión, como sucede con *Allium schoenoprasum* (Bourgourd y Parker, 1979). En otras especies, como centeno o *Locusta migratoria*, no es posible aventurar un origen geográfico, por encontrarse cromosomas accesorios en toda su área de distribución a nivel mundial (Jones y Rees, 1982). En el caso de *Eyprepocnemis plorans*, tampoco se puede determinar un origen espacial, según Henriques-Gil (1984), por haber encontrado portadores de Bs en todas las poblaciones analizadas, aunque este autor sostiene que el inicio fue anterior al aislamiento entre Europa y África que ocurriera, en su opinión, con la declinación del último periodo glacial. El argumento contrario fue expuesto por Hewitt y John (1970) y Hewitt (1973a) para explicar la exclusiva aparición del cromosoma supernumerario de *Myrmeleotettix maculatus* en poblaciones de Gran Bretaña y su ausencia del continente europeo (aunque existe la excepción de la isla de Öland, en la costa de Suecia, según Ramel, 1981). Aquellos autores interpretan este hecho en base a un origen del accesorio posterior a la separación de la isla del continente, al final de la glaciación de Würm, hace 10.000 años.

I.2. Naturaleza de los Bs

I.2.1. BANDAS C

La cromatina que compone los cromosomas eucarióticos se puede dividir en tres grupos principales: eucromatina, heterocromatina intercalar y heterocromatina constitutiva (Comings, 1973; 1974). Esta última se localiza generalmente a nivel centromérico, suele ser genéticamente inactiva, su ADN se replica al final de la etapa S, es rica en bases Guanina-Citosina y puede serlo en Adenina-Timina, y normalmente incluye ADN altamente repetido y en muchos casos también ADN satélite (Skinner, 1977; Comings, 1978).

Se puede considerar que el estudio moderno de la heterocromatina a nivel citológico y molecular comenzó cuando, en 1970, Pardue y Gall observaron que la heterocromatina centromérica de cromosomas de ratón, rica en ADN satélite, se teñía más intensamente con Giemsa después de un tratamiento de hibridación "in situ". Con este procedimiento, posteriormente modificado por Arrighi y Hsu (1971) y otros autores, nació la técnica de bandeado C, que pone de manifiesto las regiones de heterocromatina constitutiva (heterocromatina C) en los cromosomas.

El mecanismo molecular que conduce a las bandas C no está todavía completamente claro, debido a que los estudios realizados sobre el tema muestran resultados contradictorios. La hipótesis más aceptada sugiere que existe una pérdida selectiva de ADN, en la que interviene de forma importante la despurinización del mismo, y que se produce en mayor medida en las zonas eucromáticas que en las heterocromáticas (Comings y col. 1973; Pathak y Arrighi, 1973; Schmiad y col. 1975; Holmquist, 1979).

Sin ánimo de hacer, ni mucho menos, una revisión bibliográfica sobre el tema (por otra parte muy extenso), citaremos a modo de ejemplo algunos trabajos en los que se describe la aplicación del bandeado C para resolver los más dispares problemas en los más distantes materiales. Así, en cereales como el trigo, se ha empleado en estudios de híbridos (Fomiyana y Jouve, 1985a y b; Jouve y col. 1985) y de translocaciones (Fomiyana y Jouve, 1986); también en los mosquitos *Aedes* se ha aplicado en análisis de hibridación (Motara y Rai, 1977); mientras que en *Endochironomus*, ciertos dípteros, ha sido usado en estudios de características taxonómicas (Michailova y Gercheva, 1982); y en el heteróptero *Nezara* se ha empleado en investigaciones sobre el comportamiento meiótico de sus cromosomas holocéntricos (Camacho, Belda y Cabrero, 1984).

En peces, como la carpa *Poecilia*, las bandas C han permitido determinar el par cromosómico sexual (Haaf y Schmid, 1984); en anfibios se han empleado en trabajos sobre constricciones secundarias (King, 1980, en *Litoria*), estudios de sistemas de determinismo cromosómico del sexo (Schmid y col. 1983, en *Gastrotheca*), análisis de heteromorfismos y evolución cromosómica (Sims y col. 1984, en *Triturus*), prospecciones sobre triploidía (Green y col. 1984, en *Leiopelma*) e incluso en investigaciones sobre estructura cromosómica (Herrero y Gosálvez, 1985, en *Triturus*).

También ha sido utilizada esta técnica en reptiles, para aventurar hipótesis sobre el origen y la evolución de la partenogénesis en *Heteronotia* (Moritz, 1984); para analizar hembras heterogámicas del género

Takydromus (Olmo y col. 1984); o para la caracterización de bandas C en varias especies de la familia Lacertidae, relacionándolas con la evolución de la misma (Odierna y col. 1985).

En mamíferos ha sido muy aplicada en estudios de evolución cariotípica, como es el caso del insectívoro *Talpa* (Jiménez y col. 1984); en investigaciones acerca de segmentos supernumerarios en roedores como *Mus* (Traut y col. 1984); o incluso en el análisis y la identificación de elementos cromosómicos supernumerarios observados en linfocitos cultivados de hombres fenotípicamente normales (Sinha y col. 1985).

En ortópteros, material especialmente óptimo para los análisis citogenéticos, se podría confeccionar una vasta relación de especies en las que se ha empleado el bandeo C con muy diversos fines. Como en el caso precedente, no es nuestro propósito citar todas las referencias existentes, pero comentaremos algunas con la intención de ilustrar el tema.

En ocasiones, esta técnica simplemente se ha aplicado para caracterizar los patrones de bandeo C del cariotipo de la especie analizada (Bregman, 1983, en *Dissosteira carolina*; Kumaraswamy y Rajasekarasetty, 1976, en *Acrida turrita*; Warchalowska-Sliwa y col. 1978, en *Acheta domesticus*; White y Contreras, 1982, en clones de *Warramaba virgo*), pero generalmente ha servido además para estudios de variabilidad (Shaw y col. 1976, en *Caledia*; Camacho y col. 1981, en *Eumigus*), naturaleza (Hägele, 1979, en *Schistocerca gregaria*; López-Fernández y Gosálvez, 1981, en *Arcyptera fusca*; Zhan y col. 1984, en *Melanoplus sanguinipes*; John y col. 1985, en varias especies de acrididos) y efectos (Fox y col. 1973, en *Schistocerca gregaria*; Santos y Giráldez, 1978, en *Chorthippus biguttulus*) de la heterocromatina. Asimismo, el bandeo C se ha empleado para análisis citotaxonómicos (Santos, Arana y Giráldez, 1983, en 47 saltamontes españoles; Pascual y col. 1985, en *Eumigus*; Cabrero y Camacho, 1986, en 20 especies de gonfocerinos), estudios sobre comportamiento meiótico (Giráldez y Santos, 1981, en *Euchorthippus pulvinatus gallicus*; Santos, Orellana y Giráldez, 1983, en *Eyprepocnemis plorans*), reordenaciones cromosómicas (Arana y col. 1985, en *Eyprepocnemis plorans*; Navas-Castillo y Camacho, 1985, en *Oedipoda charpentieri*; Suja y Rufas, 1985, en *Aiolopus strepens*; Camacho y Cabrero, 1986, en *Chorthippus binotatus*), o varios de estos propósitos (Cardoso y col. 1974, en *Dichroplus silveraguidoi*; Santos, Arana y col. 1985, en un híbrido de *Euchorthippus pulvinatus* y *E. chopardi*).

En muchos organismos, y especialmente en los insectos ortopteroides,

además de la heterocromatina que podría considerarse inherente al complemento cromosómico normal (p.e., la heterocromatina centromérica), existe otra clase adicional denominada heterocromatina supernumeraria. Esta heterocromatina puede estar adicionada al cariotipo en forma de segmentos añadidos a los cromosomas propios de la especie (segmentos supernumerarios) o bien en forma de cromosomas accesorios. Un capítulo importante en la utilización del bandeó C en ortópteros reside en el estudio de la heterocromatina supernumeraria.

En lo tocante a los segmentos supernumerarios podemos citar como ejemplos representativos los trabajos llevados a cabo en:

- *Acrotylus insubricus* y *Oedipoda charpentieri* (Navas-Castillo y col. 1986b).
- *Arcyptera fusca* y *A. tornosi* (Gosálvez y col. 1981; Bella y col. 1985; Torre y col. 1986).
- *A. microptera* (Gosálvez y col. 1981).
- *Atractomorpha similis* (John, 1981; John y King, 1983; John y col. 1986).
- *Baetica ustulata* (Fernández-Piqueras y col. 1984; Sentís y col. 1985, 1986; Navas-Castillo y col. 1986a).
- *Calliptamus barbarus* (Camacho, Viseras y col. 1984).
- *Chorthippus brunneus* (Camacho, Viseras y col. 1984; Cabrero, 1985; Cabrero y Camacho, 1985).
- *Chorthippus jucundus* (García de la Vega y col. 1982, 1985).
- *Cryptobothrus chrysophorus* (John y King, 1977, 1980; John, 1981).
- *Doclostaurus genei* (Hewitt, 1979; Santos, Arana y Giráldez, 1983; Cabrero, 1985; García de la Vega, 1985; Navas-Castillo y col. 1986b).
- *D. jagoi occidentalis* (García de la Vega, 1985).
- *Euchorthippus pulvinatus* (Santos, 1980; Santos y Giráldez, 1982; Cabrero, 1985; Santos, Henriques-Gil y Arana, 1985; Santos, Cano y col. 1985; Santos, Henriques-Gil y col. 1985).
- *Gomphocerus sibiricus* (García-Lafuente y col. 1983).
- *Oedipoda fuscocincta* (Camacho, Viseras y col. 1984; Navas-Castillo y col. 1986b).
- *Omocestus raymondi* y *Chorthippus parallelus* (Camacho, Viseras y col. 1984; Cabrero, 1985).
- *Stenobothrus festivus*, *Chorthippus apicalis*, *Ch. nevadensis*, *Ch. binotatus* y *Ch. vagans* (Cabrero, 1985).
- *Truxalis nasuta* (Cabrero, 1985; Navas-Castillo y col. 1986b).

Sólo los cromosomas supernumerarios de algunas especies de ortópteros han sido sometidos a la técnica de bandeado C. Una de las especies más estudiadas con este método es *Eyprepocnemis plorans*, en la que se han descrito un gran número de variantes de cromosomas accesorios interrelacionados entre sí, que han sido objeto de abundantes estudios (Santos, 1980; Henriques-Gil y col. 1982; Henriques-Gil, Arana y Santos, 1983; 1984; Henriques-Gil, 1984; Henriques-Gil, Santos y Arana, 1984; Henriques-Gil y col. 1985; Santos, Cano y col. 1985). En *Chorthippus terminifera* también se han descrito hasta 23 diferentes variantes gracias a la aplicación de las técnicas de bandeado C y G (Webb, 1976; Webb y Nehaus, 1979). Otras especies de ortópteros cuyos cromosomas accesorios han sido caracterizados en cuanto a su patrón de bandas C son:

- *Arcyptera tornosi*, *Stenobothrus stigmaticus* y *Locusta migratoria* (Santos, 1980).
- *Atractomorpha similis* (John y col. 1986).
- *Chorthippus vagans* (Cabrero, 1985).
- *Heteracris littoralis* (Santos, 1980; Cano y col. 1985).
- *Omocestus bolivari* (Viseras y Camacho, 1985).
- *Phaulacridium vittatum* (Webb y Westerman, 1978).
- *Podisma pedestris* (Westerman y Hewitt, 1985).
- *Tettigidea lateralis* (Fontana y Vickery, 1975).

Según Santos (1980), *Locusta migratoria* tiene un B heterocromático en su mayor parte, excepto en la zona cercana al centrómero, patrón que coincide con el encontrado por John (comunicación personal) en especímenes australianos.

1.2.2. BANDAS G

En los albores del bandeado G, una de las cuestiones de mayor interés residió en averiguar si los procedimientos de bandeado inducían las bandas G o, por el contrario, únicamente realzaban bandas que ya estaban presentes. Con la aparición de trabajos que ponían de manifiesto que este patrón se podía producir ocasionalmente por un escaso o nulo tratamiento de los cromosomas (Yunis y Sánchez, 1973), por tinción con Feulgen (Rodman y Tahiliani, 1973; Rodman, 1974) o por medio de métodos especiales de examen de cromosomas en fase G₂ tratados o no, tales como microscopía de fases

(Meisner y col., 1973; McKay, 1973), microscopía UV (McKay, 1973) o microscopía electrónica (Bahr y col., 1973; Bahr y Larsen, 1974; Comings y Okada, 1975), se sospechó que las bandas estaban presentes y simplemente necesitaban ser intensificadas. La confirmación final de esta idea provino de la observación de que los patrones de bandas G correspondían exactamente a los patrones de cromómeros de los cromosomas meióticos (Ferguson-Smith y Page, 1973; Okada y Comings, 1974; Luciani y col., 1975).

Poco más se conoce actualmente sobre la naturaleza de las bandas G, salvo que forman parte de la heterocromatina intercalar -probablemente inactiva-, que están compuestas de ADN de replicación tardía rico en Adenina-Timina y moderadamente repetitivo o bien único (Comings, 1972; 1978; entre otros) y que corresponden a regiones de organización proteica ácida particular (Comings y col., 1973).

Las técnicas de bandeado G aplicadas a cromosomas de mamíferos provocan la aparición de una serie bien definida de bandas e interbandas, que se usan con éxito en la identificación cromosómica, sobre todo en estudios de reordenaciones. Sin embargo, por lo general estas técnicas no son muy efectivas cuando se aplican sobre insectos o plantas (Greilhuber, 1977). En ortópteros suelen dar poca definición en algunos autosomas, como sucede en *Warramaba virgo* (Webb y col., 1978), *Phaulacridium vittatum* (Webb y Westerman, 1978), *Acheta domesticus* (Warchalowska-Sliwa y col., 1978), *Chortoicetes terminifera* (Webb, 1976), *Melanoplus sanguinipes* (Zhan y col., 1984), *Eyprepocnemis plorans* (Alché y col., 1985), *Podisma pedestris* (Westerman y Hewitt, 1985) y *Baetica ustulata* (Navas-Castillo y col., 1986a).

Dos únicos casos de cromosomas B con bandas G bien definidas se han descrito hasta ahora. El primero corresponde al cromosoma supernumerario de *Chortoicetes terminifera* que, tras digestión con tripsina, muestra un espectacular patrón de bandas e interbandas (Webb, 1976; Webb y Komarowski, 1976; Webb y Nehaus, 1979); el segundo, al cromosoma B₂ -según la terminología de Henriques-Gil y col. (1982)- de *Eyprepocnemis plorans*, que presenta tres bandas oscuras en la mitad proximal de su brazo largo, apareciendo el resto claro, con un tono similar al de las regiones centroméricas de los autosomas (Alché y col., 1985).

I.2.3. REGIONES ORGANIZADORAS NUCLEOLARES (NORs)

Los estudios citogenéticos clásicos sobre el nucleolo demostraron que éste se formaba en un locus cromosómico específico llamado organizador nucleolar. Mediante hibridación *in situ* se ha averiguado que las NORs son los sitios de los cistrones que codifican para ARN ribosómicos 18S y 28S (Henderson, Warburton y Atwood, 1972, 1974; Henderson, Eicher y Yu, 1974; Hsu y col. 1975; Pardue y Hsu, 1975).

Diversos autores han asociado el nucleolo a constricciones secundarias (Heitz, 1931; McClintock, 1934) e incluso se ha hablado de la diferente longitud de las NORs y el número de genes rARN en relación al tamaño de las constricciones secundarias y los nucleolos que producen (Miller y Brown, 1969; Flavell y O'Dell, 1979); aunque otros investigadores han encontrado que en ocasiones los nucleolos aparecen a pesar de haberse suprimido las constricciones secundarias (Subrahmanyam y Azad, 1978).

Aunque ya en 1903 Ramón y Cajal puso de manifiesto la afinidad del nucleolo por las sales de plata, tuvieron que transcurrir tres cuartos de siglo para que, en 1975, Goodpasture y Bloom redescubrieran la técnica de impregnación argéntica para detectar las NORs y el nucleolo (ver también Bloom y Goodpasture, 1976).

Sólo aquellas NORs que fueron funcionalmente activas durante la interfase precedente se tifen con plata (Miller, Dev y col. 1976; Miller, Miller y col. 1976; Engel y col. 1977; Howell, 1977; Schwarzacher y col. 1978; Hofgärtner y col. 1979; Schmiad y col. 1979).

En distintos trabajos se ha defendido que el material responsable de la reacción con la plata en las NORs son proteínas, y particularmente, no histonas (Goodpasture y Bloom, 1975; Howell y col. 1975; Howell, 1977; Schwarzacher y col. 1978; Buys y Osinga, 1980).

Se han aplicado diversos métodos de tinción argéntica a un amplio número de organismos, incluyendo el hombre, otros mamíferos, anfibios, peces o insectos (numerosas referencias pueden encontrarse en Bicudo, 1982 y García de la Vega, 1982; véanse, además, Foresti y col. 1981, 1983; Privitera, 1981; Verschaeve y col. 1981; Rufas, Iturra y col. 1982; Schmid, Haaf y col. 1983; Schmid, Müller y col. 1983; Moritz, 1984; Camacho, Belda y Cabrero, 1985).

En ortópteros, la técnica de impregnación argéntica para microscopía óptica se ha empleado en especies como, por ejemplo:

- *Acheta domesticus* (Czaker, 1978; Satya-Prakash y Pathak, 1984).
- *Anacridium aegyptum* y *Corthippus brunneus* (Rufas, Giménez-Martín y Esponda, 1932).
- *Arcyptera tornosi* (Gosálvez y col. 1981; López-Fernández y Gosálvez, 1982; Rufas, Giménez-Martín y Esponda, 1982; Torre y col. 1985).
- *A. fusca* (Gosálvez y col. 1981; López-Fernández y Gosálvez, 1982; Rufas, Gosálvez, López-Fernández y Cardoso, 1983; Torre y col. 1985).
- *A. microptera* (Gosálvez y col. 1981; Rufas, Giménez-Martín y Esponda, 1982; Torre y col. 1985).
- *Chorthippus bicolor* y *Oedipoda coerulescens* (Esponda y Rufas, 1980).
- *Ch. biguttulus*, *Stauroderus scalaris* y *Omocestus panteli* (Rufas, Gosálvez, López-Fernández y Cardoso, 1983).
- *Ch. binotatus* (Camacho, Navas-Castillo y Cabrero, 1985).
- *Ch. jucundus* (García de la Vega y col. 1982; Rufas, Giménez-Martín y Esponda, 1982; Rufas, Iturra y col. 1982; Rufas, Gosálvez, Giménez-Martín y Esponda, 1983).
- *Dociostaurus genei* y *D. jagoi occidentalis* (García de la Vega, 1985).
- *Eumigus monticola*, *E. cucullatus* y *E. rubioi* (Pascual y col. 1985).
- *Eyprepocnemis plorans* (Alché y col. 1985).
- *Heteracris littoralis* (Cano y col. 1985).
- *Locusta migratoria* (Esponda y Rufas, 1980; Díez y Puertas, 1984; Fox y Santos, 1985).
- *Oedipoda charpentieri* (Navas-Castillo y Camacho, 1985).
- *O. fuscocincta* (Camacho y col. 1986).
- *Omocestus bolivari* (Viseras y Camacho, 1984).
- *Podisma pedestris* (Rufas, Gosálvez, Giménez-Martín y Esponda, 1983; Rufas, Gosálvez, López-Fernández y Cardoso, 1983).
- *Pycnogaster* (Sentís y Fernández-Piqueras, 1985).
- *Schistocerca gregaria* (Rufas y Gosálvez, 1982; Rufas, Iturra y col. 1982; Fox y Santos, 1985).
- *Steropleurus martorelli* (Fernández-Piqueras y col. 1983).

En saltamontes, las NORs activas sólo pueden ser localizadas en los espermaticitos primarios en paquitene y diplotene donde, mediante la precipitación de plata, un nucleolo aparece pegado a cada NOR activa, de modo que los bivalentes que las llevan son fácilmente reconocibles.

En *Locusta migratoria* Díez y Puertas (1984) detectaron sendas NORs en los bivalentes L₂, M₄ ó M₅ y S₂. Fox y Santos (1985) confirmaron la

existencia de NORs en el L₂ y en el S₂ pero, para ellos, el bivalente mediano organizador de nucleolo era el M₂.

Hasta la fecha, la localización de genes ribosomales ARN en cromosomas accesorios sólo ha sido demostrada en algunas especies de plantas, como *Crepis syriaca* (Cameron, 1934), *C. foelida* (Babcock, 1947), *Alopecurus pratensis* (Bosemark, 1957), *Pennisetum typhoides* (Powell y Burton, 1966), *Gibasis linearis* (Brandham y Bhattarai, 1977), *Calycadenia* (Carr y Carr, 1982), *Allium flavum* (Leidl, 1982) y *A. sphaerocephalon* (Guillén y Ruíz-Rejón, 1984). Recientemente, Cabrero y col. (1987) han detectado actividad NOR en el cromosoma B₂ de *Eyprepocnemis plorans* cuando está fusionado con un autosoma, y en *Dedipoda fuscocincta*, Camacho y col. (1986) han evidenciado la presencia de una NOR en un segmento supernumerario.

I.3. Inestabilidad y transmisión de los Bs

En la mayoría de las especies la transmisión y distribución de los cromosomas B a las células hijas en las mitosis que tienen lugar durante el crecimiento y desarrollo son, como las de los cromosomas A, disyuncionales, de manera que todas las células hijas llevan el mismo número de Bs. Ejemplos de ello, tanto en plantas como en animales, pueden ser encontrados en Jones y Rees (1982). En ortópteros habría que añadir, tal vez, los casos de *Eyprepocnemis plorans* (Camacho y col. 1980), *Omocestus bolivari* (Camacho, Díaz de la Guardia y Ruíz-Rejón, 1981; Viseras, 1982; Viseras y Camacho, 1985) y *Chorthippus vagans* (Cabrero y Camacho, 1987).

En otros casos, la no disyunción mitótica de los cromosomas accesorios causa variación en el número de Bs entre células dentro del mismo individuo. Jones y Rees (*op. cit.*) dan una relación de especies vegetales donde se ha encontrado variación somática en el número de supernumerarios. La causa de dicha variación numérica es en todos estos casos la no disyunción de los cromosomas accesorios en la anafase de la mitosis. Cuando, debido a la no disyunción, las dos cromátidas hijas migran al mismo polo de la anafase, se produce la acumulación de los Bs en una línea celular y su exclusión de la otra.

Como en plantas, la no disyunción mitótica de los supernumerarios es una fuente de variación en algunas especies animales (ver en Jones y Rees,

1982, una relación al respecto), siendo especialmente importante en el caso de los folículos testiculares de los saltamontes. En la mayoría de ellos, la variación es solamente interfolicular, como es el caso de *Camnula pellucida* (Carrol, 1920; Nur, 1969a), *Neopodismopsis abdominalis* (Rothfels, 1950), *Calliptamus palaestinensis* (Nur, 1963), *Atractomorpha bedeli* (Sannomiya y Kayano, 1969), *Melanoplus femur-rubrum* (Stephens y Bregman, 1972) o *Sphingonotus coeruleans* (Gosálvez y col. 1985).

En algunas especies se ha observado variación inter e intrafolicular, siendo ésta en menor grado que aquella. Son ejemplos *Fatanga japonica* (Sannomiya, 1962) y *Locusta migratoria* (Nur, 1969a; Kayano, 1971).

En su estudio sobre *Calliptamus palaestinensis*, Nur (1963) sugirió que los Bs mitóticamente inestables se mantendrían asociados a mecanismos de acumulación. Más tarde, puso en evidencia dicha asociación en *Camnula pellucida* y la apuntó para *Locusta migratoria* (Nur, 1969a). En esta última especie, Kayano (1971) demostró la acumulación de los Bs en la línea germinal masculina estudiando tanto los ciegos gástricos como los folículos testiculares de varios machos portadores de uno o dos cromosomas accesorios, emitiendo la hipótesis de que la falta de células con 0B y células con 0B y 1B, respectivamente, se debía a la no disyunción durante los estadios tempranos del desarrollo folicular, seguida de la inclusión preferencial de las cromátidas B en los núcleos destinados a dar lugar a la línea germinal.

En algunas especies, se puede producir igualmente cierta inestabilidad de los accesorios en la meiosis. Esto ocurre, a veces, cuando los Bs están presentes en forma de univalentes, que se retrasan en anafase I ó II o se dividen en anafase I, y posteriormente se pierden en forma de micronúcleos. Este es el caso de *Camnula pellucida* (Carrol, 1920; Nur, 1969a), *Omocestus bolivari* (Viseras, 1982; Viseras y Camacho, 1985) y *Sphingonotus coeruleans* (Gosálvez y col. 1985). En esta especie, se ha observado un aumento de la división ecuacional de los univalentes B en anafase I, con el subsecuente incremento en la formación de micronúcleos, en aquellos individuos que eran portadores a un tiempo de supernumerario y polisomía para el autosoma M₄.

Los mecanismos de acumulación en la línea germinal facilitan la transmisión preferencial de los cromosomas supernumerarios a la descendencia. En plantas, la mayoría de ellos son efectivos en las mitosis que tienen lugar en los gametofitos una vez producida la meiosis (ver Jones y Rees, 1982), en tanto que en animales suelen actuar en los tejidos germi-

nales antes o durante la meiosis. De hecho, en los embriones de algunas especies se produce la acumulación durante la diferenciación de las células que originarán los tejidos reproductores mediante una no disyunción preferencial hacia dichas células. Son los casos, por ejemplo, de *Calliptamus palaestinensis* (Nur, 1963), *Camnula pellucida* (Nur, 1969a), *Neopodismopsis abdominalis* (Rothfels, 1950) y *Locusta migratoria* (Kayano, 1971).

En otros animales no ópteros se han apuntado mecanismos adicionales de acumulación, como la proliferación selectiva de células con altas frecuencias de Bs resultantes de la no disyunción (Evans, 1960) o la replicación preferencial de los cromosomas accesorios por endomitosis en la interfase anterior a la meiosis (Melander, 1950).

Con referencia a los mecanismos de acumulación que actúan durante la meiosis, resulta especialmente interesante el caso de la deriva meiótica que se produce en hembras, por la cual los cromosomas B se trasladan preferentemente al polo que dará lugar a la célula huevo en la primera división meiótica. El caso más estudiado de este fenómeno se produce en *Myrmeleotettix maculatus* (Hewitt, 1973a,b,c; Shaw, 1984; Shaw y Hewitt, 1984, 1985; Shaw y col. 1985), donde se ha podido observar directamente la orientación preferencial del B en el huso del oocito primario (Hewitt, 1976). También se ha comprobado la existencia de deriva meiótica en hembras de *Melanoplus femur-rubrum* (Lucov y Nur, 1973; Nur, 1977). Como puede comprenderse, este mecanismo de acumulación sólo se da en plantas y en hembras animales, ya que en los machos los polos meióticos son idénticos. Una excepción digna de mencionarse es la deriva meiótica que se produce en los machos de *Pseudococcus obscurus* (Nur, 1966a,b), donde los cromosomas B se incluyen preferencialmente en los polos que originarán los espermatozoides, ya que posee un sistema lecanoide.

I.4. Efectos de los cromosomas supernumerarios

Aunque los cromosomas accesorios no son completamente inertes, como se ha llegado a creer, ciertamente no poseen los efectos que serían de esperar en relación a la cantidad de ADN que contienen. Con toda probabilidad son inactivos o están inactivados en una gran extensión, quizá debido en parte al alto contenido heterocromatínico que, por lo general, presentan. En los últimos años, han sido registrados gran cantidad

de efectos de los cromosomas B 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, si 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 y 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 y Hewitt, 1965) y *Eyprepocnemis plarans* (Camacho y col. 1980); aumento exclusivo de la frecuencia media de quiasmas, como en *Melanoplus differentialis* (Abdel-Hammed y col. 1970); y aumento sólo de la varianza entre células, como en *Melanoplus fenur-rubrum* (Stephens y Bregman, 1972).

Aunque en las plantas sí se han citado (Cameron y Rees, 1967; Viinikka, 1973; Raghuvanshi y Kumar, 1983), en los saltamontes no existen ejemplos de supernumerarios que produzcan disminución de la frecuencia de quiasmas. Por otra parte, los Bs sí pueden afectar a la localización de los quiasmas, como ha sido observado en *Tettigidea lateralis* (Fontana y Vickery, 1973).

Se ha argüido que la importancia de la influencia de los cromosomas accesorios sobre la frecuencia de quiasmas reside en que un aumento en 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. Sin embargo, no se ha llegado a probar la existencia de una variabilidad fenotípica asociada a las alteraciones mencionadas, como tampoco ha podido ser demostrada ninguna de las posibles ventajas que dichas alteraciones provocarían (Dearn, 1975).

Otra función de los cromosomas supernumerarios 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 y sin Bs. Dentro de este capítulo de efectos a nivel molecular de los accesorios, no podemos dejar de citar el caso de *Scilla autumnalis*, donde Ruíz-Rejón y col. (1980) demostraron que la presencia de

Bs induce una actividad isoenzimática adicional para las esterasas (Est-1). Estos autores proponen que el E ejerce una función reguladora de la actividad del gen E-1 (Oliver y col. 1982) y no que éste se localice en el accesorio, como malinterpretan Jones y Rees (1982).

En *Myrmeleotettix maculatus*, los individuos con accesorios no sobreviven al invierno como embriones tanto como los individuos sin Bs (Robinson y Hewitt, 1976). En esta misma especie (Hewitt, 1973b) y en *Cannula pellucida* (Nur, 1969a), *Neopodismopsis abdominalis* (Rothfels y Procunier, 1975) y *Omocestus bolivari* (Viseras, 1982; Viseras y Camacho, 1985), 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 cromosomas B hace que una hembra produzca significativas proporciones de embriones aberrantes (Hewitt, 1973a).

En cuanto a efectos en el exofenotipo, son escasos los citados en saltamontes: Nur (1969a) observó en *Cannula pellucida* que los individuos con cromosomas accesorios 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.

I.5. Significado biológico de los Bs

Se ha discutido ampliamente el significado biológico de los cromosomas accesorios, existiendo a tal respecto dos posturas contradictorias, denominadas por White (1973) modelos "parasítico" y "heterótico". Según el primero (Ostergren, 1945; Rhoades y Dempsey, 1972, 1973; Nur, 1966a,b, 1969b, 1977), los Bs se mantienen en las poblaciones merced a mecanismos de acumulación, que contrarrestarían los efectos de la selección contra los individuos portadores. El modelo "heterótico" defiende que los Bs pueden conferir una ventaja adaptativa a los individuos que los portan o, al menos, a la población (Darlington, 1973; White, 1973; Rees y Hutchinson, 1974; Hutchinson, 1975; Teoh y Jones, 1978; Teoh y col. 1976; Puertas y Carmona, 1976).

Como parece lógico, el modelo parasítico parte de la base de que los

cromosomas accesorios disminuyen normalmente la eficacia biológica de los individuos que los portan. Por el contrario, el modelo heterótico se apoya en hipotéticos efectos beneficiosos de los Bs que, como hemos visto, son a veces muy discutibles. Esta es la razón por la cual Nur (1977) señaló que las pruebas a favor de este modelo son menos directas y más especulativas que las que apoyan el modelo parasítico.

II. OBJETIVOS

III. OBJETIVOS

La presente investigación pretende contribuir al esclarecimiento del significado biológico de los cromosomas accesorios, esos enigmáticos elementos genómicos. Lo haremos mediante el análisis de su naturaleza, efectos y transmisión en dos poblaciones granadinas de la especie *Locusta migratoria*, un saltamontes especialmente apto para su manipulación en el laboratorio. Con ello, trataremos de demostrar la posible existencia de mecanismos de acumulación de los Bs y, en su caso, estudiaremos éstos en profundidad.

Pensamos que este trabajo sentará las bases para futuras investigaciones sobre la eficacia biológica diferencial de los individuos portadores y no portadores del cromosoma accesorio, las cuales dirán la última palabra acerca del significado biológico de estos cromosomas.

III. MATERIAL Y METODOS

III. MATERIAL Y METODOS

III.1. Material

Todos los individuos analizados en este trabajo pertenecen a la especie *Locusta migratoria* (Orthoptera, Acrididae). Algunos han sido aprehendidos en su hábitat natural y la mayoría proceden de puestas obtenidas en incubadas en nuestro laboratorio a partir de especímenes capturados en el campo. En ciertos casos, se ha permitido el desarrollo de los huevos hasta conseguir primero saltones y luego individuos en estadio adulto; en otros, se han diseccionado tempranamente las ootecas para obtener sujetos en fase embrionaria. La Tabla III.1.1 muestra los individuos analizados microscópicamente.

TABLA III.1.1. Material analizado citogenéticamente.

Población	Siglas	Localizac.	Muestra	Generación	Cruce	Nº Adultos		Nº Embriones	
						Machos	Hembras		
Baños de la Encina	BE	Jaén				38			
Gábias	GA	Granada	I	60		17			
				61		49			
			II	60		9	7		
				61	1				49
				2					31
				3					30
	4					27			
	5	11				55			
	6	19				60			
Padul	PA	Granada		60		6	5		
				61	1			33	
					2			30	
					3	12		26	
				4			59		
TOTAL						162	12	400	

En machos adultos hemos estudiado tanto los ciegos gástricos como los testículos y en hembras adultas se han analizado ciegos gástricos y ovariolas. El número de ciegos investigado en ambos casos ha variado en función de la dificultad para encontrar una cifra de células adecuada, que por lo general ha sido de 20.

El número de folículos observados citológicamente en los machos dependió del fin a que se destinaran éstos: en aquellos en los que únicamente se analizó la frecuencia de portadores de supernumerarios se investigaron alrededor de 12 folículos por individuo; en los machos estudiados exhaustivamente a nivel citológico se analizaron alrededor de 20 folículos si no eran portadores de supernumerarios, y de 20 a 30 si presentaban cromosomas accesorios. Dentro de cada folículo el número de células contabilizadas fue aproximadamente de 10 cuando no existía variación intrafolicular; en los casos en que ésta se producía se analizó el número máximo de células posible.

Para calcular la frecuencia de quiasmas en cada macho se investigó dicho carácter en 30 diplotenes por individuo.

En cada hembra se han estudiado 10 ovariolas. En cada una de éstas se ha contabilizado el número máximo posible de células en mitosis, aunque a menudo esta cifra era muy baja (1 ó 2 metafases por ovariola).

En la mayoría de los embriones hemos analizado un mínimo de 20 células; no obstante, en algunos individuos la cifra ha sido muy superior, llegando a estudiarse más de 60 células en un solo embrión. El número de embriones investigados por puesta ha sido alrededor de 30; en ocasiones ha sido imposible alcanzar esta cifra, pero en otras se han rebasado las cuatro decenas.

Además de los individuos expresados en la Tabla III.1.1, que se han analizado citogenéticamente, para el estudio de la fertilidad femenina hemos utilizado los recuentos de 1360 embriones (incluyendo los de la Tabla mencionada) procedentes de 1801 huevos obtenidos a partir de 33 puestas recogidas de 12 hembras. Para el análisis de la biología reproductiva de *Locusta migratoria* en cautividad hemos empleado los datos proporcionados por un total de 1286 saltones nacidos en el laboratorio, y los recuentos de 1509 embriones procedentes de 2102 huevos obtenidos a partir de 39 puestas. Además, se ha estudiado el comportamiento reproductor sobre 29 hembras y 46 machos adultos.

Una parte importante de nuestro trabajo se basa en los resultados desprendidos del análisis citogenético de los individuos pertenecientes a

10 cruces controlados en el laboratorio. El esquema de cada uno de estos cruzamientos, junto con el código asignado a los especímenes que los componen, se pueden observar en la Tabla III.1.2.

TABLA III.1.2. Composición de los cruces controlados de laboratorio empleados en análisis citogenéticos.

Población	Cruce	Progenitores			Descendientes	
		Hembra	Macho 1	Macho 2	Puestas embriones	Machos adultos
Galias II	1	1	7	--	P17	--
	2	6	13	17	P42	--
	3	7	14	--	P39	--
	4	10	17	13	P41	--
	5	2	9	--	P15, P18	1-11
	6	4	11	8	P19, P23	11-19
Padul	1	4	7	--	P8	--
	2	6	9	--	P32	--
	3	5	5	--	P36	1-13
	4	1	2	3	P20, P26	--

III.2. Métodos

III.2.1. CAPTURA DE LOS INDIVIDUOS EN EL CAMPO

La especie *Locusta migratoria* presenta ciertas dificultades a añadir a la normal incertidumbre que significa desplazarse al campo en busca de saltamontes. Su hábitat en nuestra zona es muy determinado, encontrándose generalmente cerca de cultivos de tabaco o maíz próximos a una corriente de agua, con gran cantidad de cañaverales. Su gran velocidad y potencia de vuelo, así como su extremado mimetismo, su rapidez de reflejos y su afinidad por "escondarse" entre maizales y cañaverales, hacen imposible su apresamiento por una sola persona, necesitándose varias que, provistas de cazamariposas, las detecten, persigan, rodeen y, acercándose sigilosamente, consigan -sólo a veces- atraparlas. Una vez alcanzado este objetivo, se introducen en unas botellas transparentes de tapón pequeño a las que se han practicado diminutos orificios para facilitar la renovación de aire y en las que se transportan hasta el laboratorio.

La época del año más adecuada para su captura es la de finales de otoño a principios de invierno, cuando se encuentran más individuos en estadio adulto.

III.2.2. TECNICA DE CULTIVO DE LOS SALTAMONTES

La mayoría de los individuos analizados en estado adulto han sido cultivados en cajas de madera preparadas especialmente para ello, con un cristal delantero, una portezuela lateral y telas metálicas en las zonas lateral y superior para facilitar la aireación, de modo semejante a como describen Ashby (1976) y Clemente y col. (1985).

En el suelo se han practicado unos orificios a los que se han acoplado sendos botes provistos de vermiculita humedecida para facilitar la oviposición. Las fuentes de luz y calor han sido externas, de forma que en verano estas cajas han sido colocadas en una habitación-invernadero y en invierno en un local especialmente acondicionado, con una temperatura constante de $\approx 25^{\circ}\text{C}$ controlada por termostato, y con un fotoperiodo de 12

horas de luz y 12 de oscuridad, proporcionado por un número adecuado de bombillas frente a las cajas de cultivo.

La humedad ambiental necesaria -elevada en esta especie- se consigue por medio de la evaporación de agua de múltiples contenedores situados en el suelo de la habitación, que permanece casi cerrada, aunque con la suficiente ventilación.

Dentro de las cajas se han colocado una serie de palos y ramas de árbol elevándose desde el suelo, para facilitar los apareamientos y, sobre todo, las diversas mudas. Además, se han dispuesto recipientes con salvado y con agua. La lechuga y/o las gramíneas silvestres con que principalmente se ha alimentado a los especímenes han sido esparcidas por el suelo de la caja. Su adecuado contenido en agua se asegura por su diaria sustitución por alimento nuevo, al tiempo que se cambia el agua y se limpia la jaula para mantener la necesaria higiene.

En este tipo de cajas se han introducido los individuos capturados en el campo, mezclándose indiscriminadamente machos y hembras (Gabias I G0) o bien dispuestos por parejas o tríos (una hembra y dos machos, uno de ellos marcado -Gabias II G0 y Padul G0-). Los tubos de oviposición han sido revisados diariamente y las puestas así obtenidas se han llevado a la estufa a 25-30°C en una placa de Petri con vermiculita húmeda, vigilándose dicha humedad diariamente, durante todo el periodo de incubación.

Los saltones nacidos en el laboratorio se han ubicado inmediatamente en cajas de cultivo como las anteriormente descritas. Su alimentación y cuidados, así como las condiciones de cultivo, son las mismas aplicadas a los adultos. En estas jaulas han sufrido las sucesivas mudas hasta alcanzar su madurez.

III.2.3. OBTENCION DEL MATERIAL

Los materiales analizados han sido testículos y ciegos gástricos de machos adultos y ovariolas y ciegos gástricos de hembras adultas, así como embriones completos de ambos sexos en los primeros días de desarrollo.

A) ADULTOS

Todos los individuos adultos sacrificados se han anestesiado previamente con vapores de acetato de etilo.

A.1- MACHOS

En los machos adultos de los cuales sólo se analizaron los testículos, se obtuvieron éstos por disección directa de los animales, sin ningún tratamiento previo.

En los demás individuos se ha utilizado una modificación del método de Kayano (1971): se cortan las tegminas de los machos y se les practica una pequeña incisión con unas tijeras de disección en la parte dorsal del abdomen. A través de esta abertura se obtienen, mediante una ligera presión, los testículos, que se pasan a fijador. Posteriormente, se cierra el orificio con parafina y se inyecta al individuo con 0.5 ml de colchicina en solución salina para insectos al 0.05 %. Al cabo de 6 horas se practica su disección y se extraen los ciegos gástricos, que se fijan.

Composición de la solución salina para insectos (pH=7,3):

ClNa	7,50 gr
ClK	0,25 gr
Cl ₂ Ca	0,30 gr
CO ₃ HNa	0,20 gr
H ₂ O dest.	1000 cc

A.2- HEMBRAS

Las hembras adultas se inyectan con 0.8 cc de la misma solución de colchicina aplicada a los machos para, transcurridas 6 horas, diseccionarlas y obtener sus ciegos gástricos y ovariclas, que se pasan a fijador.

B) EMBRIONES

El método empleado para los embriones está inspirado en el descrito por Webb y col. (1978). Tras permanecer los huevos en incubación durante 4-6 días a 25-30°C se llevan las ootecas a solución salina para insectos, donde se separan y diseccionan los huevos y se extraen los embriones, que se trasladan a un pocillo con 1 cc de la solución de colchicina ya mencionada. Al cabo de 1½ horas se les añade 1 cc de agua destilada para provocar un choque osmótico; tras 10-15 minutos se trasladan a fijador.

III.2.4. FIJACION DEL MATERIAL

El fijador utilizado ha sido para todos los materiales el Carnoy

(etanol:ácido acético, 3:1), que se ha preparado momentos antes de su empleo. Los testículos, ovariolas y ciegos gástricos recién extraídos se individualizaron a la lupa en fijador, liberándolos de restos de grasa y de tejidos adyacentes, tras lo cual se pasaron a nuevo fijador.

En todos los casos, el material recién fijado ha permanecido a temperatura ambiente durante \approx 1 hora, tras lo cual se ha almacenado a 4°C. En algunos casos, se procedió a un cambio de fijador antes de efectuar dicho almacenamiento.

III.2.5. OBTENCION DE LAS PREPARACIONES MICROSCOPICAS

El estudio rutinario de los testículos, ciegos gástricos y ovariolas se ha llevado a cabo sobre preparaciones del material elaboradas en orceina acética o lactopropiónica al 2%: sobre una gota de este colorante en un portaobjetos se depositan, respectivamente, un folículo testicular, parte de un ciego o una ovariola, macerándose con un instrumento metálico de extremo plano. Hecho esto, se coloca un cubreobjetos y se retiran el colorante y aire sobrantes con la ayuda de una lanceta o aguja enmangada y un trozo de papel de filtro; posteriormente, se aplasta fuertemente con un utensilio grueso de base plana apoyado en un papel de filtro doblado sobre sí mismo varias veces.

La orceina lactopropiónica ofrece la ventaja sobre la acética de que tinte menos el citoplasma, y sus preparados resisten mejor el paso del tiempo, aún sin necesidad de parafinar los bordes.

La técnica que hemos utilizado en la obtención de preparaciones de embriones tiene su origen en el método de Meredith (1969): en un tubo de centrifuga de fondo cónico se depositan 25-30 μ l (según el tamaño de los embriones) de ácido acético glacial, a una concentración del 80%. En su interior se coloca el embrión fijado que, al cabo de 3 minutos, se suspende cuidadosamente con la micropipeta. Transcurridos otros 3 minutos, se toma la mitad de esta suspensión con la micropipeta y se va depositando y volviendo a recoger varias veces sobre un portaobjetos colocado en una superficie calentada a 60°C, de forma que al final queda el porta con dos hileras longitudinales de gotas conteniendo el material perfectamente esparcido. La otra mitad del macerado se destina a un segundo porta, obteniéndose así dos preparaciones por cada embrión, con las que poder

efectuar pruebas distintas para la misma técnica, aplicar procedimientos diferentes, o simplemente completar un estudio que haya podido resultar insuficiente con el análisis de una sola preparación.

Este tipo de preparados se han utilizado en el **bandeo C**, con el que se han analizado la mayoría de los embriones objeto de este trabajo, así como en el **bandeo G** e incluso **tinción directa con Giemsa** a los que se ha sometido a algunos de ellos.

Finalmente, para la **técnica de impregnación argéntica de testículos** de machos se han empleado preparaciones hechas de igual modo que las de orceína, aunque sustituyendo el colcrante por ácido acético glacial a una concentración del 45 ó 60%, respectivamente. Al cabo de 10-20 minutos se separa el cubreobjetos con una cuchilla, previa congelación con nieve carbónica aplicada en forma de chorro a presión sobre el porta, consiguiéndose así que la mayor parte del material quede sobre éste.

III.2.6. TÉCNICA DE BANDEO C

La técnica de bandas C empleada sobre preparados de embriones se basa en la descrita por Sumner (1972), con algunas variaciones. El procedimiento detallado es como sigue:

- Se introducen las preparaciones en ClH 0.4N durante 30 minutos a 25°C.
- Se sumergen en una solución saturada de Ba(OH)₂ al 5% filtrado a temperatura ambiente durante 10 minutos.
- Se lavan enérgicamente con agua del grifo durante 1 minuto aproximadamente.
- Se enjuagan con ClH 0.4N para eliminar los restos de Ba(OH)₂.
- Se vuelven a lavar con agua corriente en la forma ya descrita.
- Se introducen en 2 x SSC a 60°C durante 1 hora.
- Se lavan nuevamente con agua.
- Se tiñen con una solución de Giemsa al 10% en tampón fosfato a pH 6.8 durante 1-2 minutos, controlándose la tinción al microscopio hasta conseguir el grado óptimo.
- Se lavan con agua.
- Se secan alternativamente con aire caliente y frío.
- Se montan en DPX.

Es importante destacar que hemos observado una gran influencia de la temperatura ambiental sobre el resultado de esta técnica, de modo que los mejores bandeos se han conseguido en los meses de invierno, cuando la temperatura del laboratorio era inferior a los 15°C.

Composición del 2 x SSC (pH=6,8):

CINa 17,52 gr
C₆H₅Na₃O₇ · 2H₂O 8,82 gr
H₂O dest. 1000 cc

Composición del tampón fosfato (pH=6,8):

PO₄H₂K 4,61 gr
PO₄HNa₂ · 2H₂O 5,84 gr
H₂O dest. 1000 cc

III.2.7. TECNICA DE BANDEO G

Diversas experiencias han demostrado que los métodos de bandeo G extraen cierto grupo específico de proteínas (posiblemente hidrofóbicas) de los cromosomas, y que dicha extracción es un requisito indispensable para la producción de las bandas G (Burkholder y Duczek, 1980; Hancock y Sumner, 1982; entre otros), aunque una excesiva pérdida de proteínas inhibiría la respuesta a ésta y otras técnicas de bandeo cromosómico (Adolph y col. 1977).

Existen dos grupos comunes de métodos de bandeo G: los que usan un tratamiento salino en caliente, como son los de Sumner y col. (1971) y Schnedl (1971, 1973) y aquellos que emplean una enzima proteolítica (p.e., los de Dutrillaux y col. 1971; Seabright, 1972; Wang y Fedoroff, 1972; Sun y col. 1974).

Sin embargo, se han desarrollado varias técnicas de bandeo G que utilizan diferentes agentes para el tratamiento cromosómico, tales como permanganato potásico (Utakoji, 1972), detergentes (Yosida y Sagai, 1972; Lee y col. 1973), urea (Shiraishi y Yosida, 1972; Hsu, 1974), peróxido de hidrógeno (Buys y Osinga, 1982), eosina (Lichtenberger, 1983), etc.

Recientemente, Burgos y col. (1986) han puesto a punto una técnica de bandeo G que combina el tratamiento salino en caliente y el de tripsina, aplicándolo a células de roedores, insectívoros y cultivos humanos con óptimos resultados.

La técnica que hemos empleado sobre preparaciones de embriones de *Locusta migratoria* es básicamente la misma de Burgos y col., con ligeras modificaciones. En esencia, el método consiste en lo siguiente:

- Las preparaciones se introducen durante 15 a 25 segundos en una disolución de tripsina (0.0125% en PBS libre de Ca^{2+} y Mg^{2+}) preparada momentos antes.
- Se lavan inmediatamente con agua de grifo.
- Se llevan a 2 x SSC a 65°C durante 7 a 10 minutos.
- Se lavan con agua destilada.
- Se tiñen con una solución de Giemsa al 20% en tampón fosfato a pH=6.8 durante 30 a 60 segundos.
- Se lavan con agua corriente.
- Se secan alternativamente con aire caliente y frío.
- Se montan en DPX.

Composición del PBS (pH = 8)

<i>ClNa</i>	8,00 gr
<i>ClK</i>	0,20 gr
<i>PO₄HNa₂ · 2H₂O</i>	1,40 gr
<i>H₂O dest.</i>	1000 cc

III.2.8. TÉCNICA DE IMPREGNACION ARGENTICA

A este tratamiento se han sometido una serie de preparaciones de testículos de machos adultos, obtenidas por aplastamiento en acético al 45% y posterior separación del cubreobjetos con nieve carbónica. La técnica utilizada es semejante a la descrita por Rufas, Iturra y col. (1982) y consta de los siguientes pasos:

- Una vez secas las preparaciones, se lavan con una solución de pH = 3-3.5, que se ha preparado con 200 cc de agua destilada a la que se han añadido tres gotas de ácido fórmico y una de hidróxido amónico.
- Se secan alternativamente con aire caliente y frío.
- Se prepara una segunda solución, tomando 0.5 cc de la primera y añadiéndoles 0.5 gr de nitrato de plata, en un pequeño bote protegido de la

luz que se agita continuamente.

- A cada portaobjetos se añade una gota de esta segunda solución, colocándosele rápidamente un cubre de mayor tamaño que el de la preparación.
- Los portas así dispuestos se introducen inmediatamente en una cámara húmeda a 60°C en la que existe total oscuridad. ésta debe tener una ventana que nos permita comprobar el grado de tinción de vez en cuando, ya que no hay un tiempo fijado para conseguir el adecuado. Consideramos que la tinción ha llegado a un nivel aceptable cuando el color de la preparación es amarillo-dorado.
- Una vez conseguido este color, se lavan las preparaciones en agua del grifo y se comprueba la tinción al microscopio. Si ésta es insuficiente para los cromosomas, se puede resaltar sometiendo los preparados a una solución de Giemsa muy diluida (\approx 0.5% en tampón fosfato a pH 6.8) durante 1 minuto.
- Por último, se secan de nuevo las preparaciones y se montan en DPX.

Todos los objetos usados en esta técnica deben estar extremadamente limpios. El vidrio que se ha de reutilizar en otras sesiones debe ser sometido previamente a la acción de una solución oxidante de ácido sulfúrico al 20% en agua destilada con dicromato potásico, para limpiar todos los restos de plata.

III.2.9. TRATAMIENTO DE LOS RESULTADOS

Como instrumentos imprescindibles en la elaboración de los datos obtenidos hemos utilizado una serie de pruebas estadísticas, como tests de Ji cuadrado (simple y de contingencia), contraste de medias (t de Student), contraste de varianzas (F de Snedecor) y análisis de correlación. La mayoría de ellas han sido efectuadas en un ordenador personal AMSTRAD PCW 8256, usando el Mallard Basic incorporado al sistema operativo CP/M Plus, comercializado por AMSTRAD CONSUMER ELECTRONICS PCL, empleando programas confeccionados por la autora de la presente memoria.

IV. RESULTADOS

IV. RESULTADOS

IV. 1. Biología reproductiva de *Locusta migratoria* en cautividad

Los comentarios que a continuación exponemos derivan de detalladas observaciones llevadas a cabo sobre los especímenes de *L. migratoria* que hemos cultivado en nuestro laboratorio. Como se ha hecho constar en el capítulo de Material, hemos utilizado 29 hembras y 46 machos capturados en el campo, que se han cruzado discriminada o indiscriminadamente en jaulas de cría. De ellos se han obtenido, por una parte, 39 puestas con 2102 huevos y 1509 hembriones, y, por otra, 1286 saltones que se han cultivado en el laboratorio.

En los once cruces en los que participaron una hembra y dos machos marcamos uno de éstos, para investigar si la hembra prefería a uno determinado a la hora de copular. El número de experimentos de este tipo realizado no nos permite extraer conclusiones estadísticamente significativas. Sin embargo, los resultados obtenidos no dejan de ser curiosos: Tan sólo en dos de estos cruces pudimos ver a la hembra apareándose sucesivamente con uno y otro macho; en el resto, la hembra copuló repetidamente con uno de los dos machos y nunca la vimos aparearse con el otro (no se realizó ninguna observación durante la noche, pero durante el día se vigilaron con atención). En los casos en que el color de la hembra era diferente al de uno de los dos machos éste fue el elegido y si ambos machos presentaban el mismo color pero a uno de ellos le faltaba una de las patas saltadoras, el elegido era el no mutilado.

Hemos observado la emisión de sonido por parte de los machos en edad reproductora que suponemos forma parte del cortejo de apareamiento, como sucede en otras especies de ortópteros (Uvarov, 1977; Clemente y col. 1985; García y Presa, 1985).

La cópula no se produce normalmente en el momento de subir el macho sobre la hembra, sino que por lo general existe un *lapsus* de tiempo durante el cual el macho curva el abdomen repetidas veces en dirección al aparato reproductor de la hembra, mientras ésta abre y cierra sucesivamente las valvas cuando va a aceptar el apareamiento (si no lo va a

hacer intenta por todos los medios librarse del macho, ayudándose sobre todo de las patas saltadoras). Finalmente, si la hembra está dispuesta para la cópula, ella misma colabora de forma imprescindible situando su abdomen en la posición adecuada y abriendo definitivamente las valvas de su aparato genital, para permitir la introducción del pene por parte del macho.

La cópula dura por lo general varias horas, durante las cuales la hembra puede cambiar de situación dentro de la caja de cultivo o incluso saltar (llevando siempre consigo a su pareja) si es molestada o asustada.

Es frecuente, sobre todo en los momentos previos a la cópula, cuando aún no se ha producido la introducción del pene en el aparato reproductor femenino, que otros machos pretendan entorpecer el apareamiento, estorbando con sus patas o a veces incluso situándose sobre el macho que ha intentado primero la cópula. Es posible que se trate de algún fenómeno de competencia, ya que ocasionalmente el individuo perturbador logra desplazar al primitivamente destinado a aparearse, siendo él el que definitivamente se acople con la hembra, aunque el macho expulsado puede insistir, convirtiéndose a su vez en elemento transtornador.

Eventualmente, hemos descubierto algunos machos que, subidos en otros individuos de su mismo sexo, presentaban una actitud semejante a la de precópula (torsión del abdomen, emisión de sonido, etc.). Es difícil interpretar este hecho y sería demasiado aventurado darle una explicación homosexual, sin un estudio más exhaustivo sobre el tema.

Sin perjuicio de haber podido participar en apareamientos posteriores, transcurridos unos 26 días como término medio desde la primera cópula, la hembra fecundada efectuará su primera oviposición. Para ello, introduce profundamente el abdomen en la vermiculita húmeda, lo que puede repetir varias veces antes de decidir el lugar y momento de comenzar a poner.

La ooteca, recubierta por una sustancia protectora que se endurece rápidamente (casi instantáneamente si está en contacto directo con el aire), es de forma cilíndrica y mide unos 4-5 centímetros de longitud y casi 1 cm de diámetro. Contiene una media de 54 huevos (aunque esta cantidad puede variar sensiblemente) que incluyen un promedio de 39 embriones.

Una misma hembra puede poner varias veces. Nosotros hemos obtenido hasta 6 puestas en algunos casos, pero ignoramos si el número podría ser superior, ya que la mayoría de los individuos se han sacrificado por

razones obvias sin esperar a agotar su periodo de vida y, como consecuencia, su capacidad reproductora.

El tiempo medio observado entre la primera puesta y la segunda es de 9 días; de la segunda a la tercera y de la tercera a la cuarta, de 8 días; entre la cuarta y la quinta puestas, así como entre la quinta y la sexta suelen transcurrir 7 días. Esto significa que en poco más de un mes una hembra puede poner seis veces.

El periodo que tardan en eclosionar los huevos desde que la puesta recién obtenida se lleva a incubación, depende de la temperatura a la que se le someta en este lapso. Si la temperatura es de 25°C, los saltones emergerán al cabo de unos 23 días mientras que, si es de 30°C, lo harán a los 13 días. En cualquier caso, nacerán 31 individuos por término medio (cifra que, de nuevo, es bastante flexible). No hemos observado diapausa en los especímenes que hemos cultivado en nuestro laboratorio, pero ignoramos si ello es debido a las condiciones artificiales a que han estado sometidos o si, por el contrario, es algo connatural a ellos y en estado salvaje tampoco la hubiesen sufrido.

Los saltones nacidos en el laboratorio experimentan su primera muda al cabo de 4 días. Los distintos estadios ninfales se caracterizan por cambios en tamaño y estructura. Los signos más obvios de dicha transformación a nivel externo son el aumento del tamaño total del individuo, el crecimiento de las alas rudimentarias, la adición de segmentos antenales y la diferenciación de las genitalias masculina y femenina, siendo las dos primeras cualidades las más útiles para la diferenciación entre dichos estadios.

La muda es más fácil si las ninfas pueden colgarse de alguna rama, cosa que necesitan especialmente en las últimas mudas, para poder desplegar las alas hasta que se sequen completamente. A los 3 días de la primera muda se produce la segunda. Al cabo de otros 4 días las ninfas sufren su tercera muda; después de 5 días más, la cuarta. Transcurridos otros 14 días ocurre la quinta y última muda, que les convierte en adultos. Así pues, el desarrollo desde la eclosión hasta el estado adulto dura aproximadamente un mes bajo condiciones de cultivo en el laboratorio, lo que coincide con los resultados aportados para otras especies de ortópteros (ver, p.e., Blasi y Wallace, 1984).

La mortalidad es muy alta en los primeros estadios ninfales, sin que podamos atribuirla a ninguna causa concreta y sin que conozcamos si ésta es la situación que se da en la naturaleza; además, hay que añadir un alto

grado de canibalismo no relacionable con la cantidad o tipo de alimento, fenómeno observado en diferentes especies cultivadas en el laboratorio (Clemente y col. 1985). Todo ello conduce a una gran disminución en el número de individuos que alcanzarán la madurez, que se ve reducido aproximadamente al 25-50% de la cifra original de individuos nacidos.

Desde que las ninfas del último estadio mudan a adultos deben pasar dos semanas para que manifiesten actitudes reproductoras, como sucede con el canto de los machos y la propia cópula, aunque durante dos o tres días antes puede observarse a los machos sobre las hembras, sin que se llegue a producir el acoplamiento. Hemos conseguido dos puestas a partir de estos individuos nacidos y cultivados en el laboratorio. La primera de ellas contenía 38 huevos con sólo 4 embriones; la segunda tenía 31 huevos con 2 embriones. Son cifras muy pobres en comparación con las medias anteriormente expuestas, pero al ser datos aislados no nos parece correcto establecer deducciones al respecto.

De todo lo expuesto en estas páginas, puede deducirse que el ciclo reproductor de *Locusta migratoria* en condiciones de laboratorio dura aproximadamente tres meses. Aunque pueden obtenerse varias puestas de huevos por cada hembra y de ellas numerosos embriones, el número de adultos que se conseguirán en el caso de que se dejen eclosionar dichos huevos y se cultiven los individuos nacidos en el laboratorio se habrá visto sensiblemente mermado.

IV.2. Datos crudos (sin elaborar)

Nos parece interesante incluir en este punto una serie de tablas que serán de referencia frecuente, ya que contienen datos numéricos obtenidos del análisis citogenético directo del material estudiado.

De este modo, a continuación se muestran los resultados brutos recabados de nuestra investigación sobre la variación inter (Tabla IV.2.1) e intrafolicular (Tabla IV.2.2) para el número de cromosomas accesorios en testículos de machos adultos; sobre el número de Bs en ciegos de machos (Tabla IV.2.3) y hembras (Tabla IV.2.4); sobre la variación de la frecuencia de cromosomas accesorios entre (Tabla IV.2.5) y dentro (Tabla IV.2.6) de ovariolas de hembras adultas; y sobre el número de Bs encontrado en las células de los embriones de las diferentes puestas analizadas (Tabla IV.2.7).

TABLA IV.2.1. Variación interfolicular para el número de cromosomas accesorios observados en testículos de machos adultos. Los asteriscos señalan los individuos que presentaron, además, variación intrafolicular (ver tabla IV.2.2), la cual ha sido tomada en cuenta para calcular el nº medio de Bs en estos individuos. Entre paréntesis figuran los números totales de folículos analizados.

Muestra	Macho	Número de folículos con							Total folic.	Nº Medio Bs	
		0B	1B	2B	3B	4B	5B	6B			
Gabias I 60	1	37	--	--	--	--	--	--	37	0	
	2			Datos insuficientes, Portador							
	3			Datos insuficientes, Portador							
	4	--	1	21	6	1	1	--	30	2,333	
	5	--	2	16	8	4	--	--	30	2,467	
	6	--	4	14	8	--	2	2	30	2,600	
	7			Datos insuficientes, Portador							
	8	27	--	--	--	--	--	--	27	0	
	9	18	--	--	--	--	--	--	18	0	
	10	--	2	21	6	1	--	--	30	2,200	
	11	48	--	--	--	--	--	--	48	0	
	12	--	4	24	2	--	--	--	30	1,933	
	13	--	1	7	11	6	4	1	30	3,267	
	14	5	15	3	6	--	1	--	30	1,467	
	15	1	2	18	7	2	--	--	30	2,233	
	16	i	21	8	--	--	--	--	30	1,233	
	17	42	--	--	--	--	--	--	42	0	

TABLA IV.2.1. Continuación

Muestra	Macho	Número de folículos con							Total folic.	Nº Medio Bs
		0B	1B	2B	3B	4B	5B	6B		
Sabias I 61	1									Datos insuficientes, Portador
	2									Datos insuficientes, Portador
	3	4	6	10	--	--	--	--	20	1,300
	4									Datos insuficientes, Portador
	5	1	15	13	1	--	--	--	30	1,467
	6	--	--	10	12	1	6	1	30	3,200
	7	--	17	11	2	--	--	--	30	1,500
	8	1	2	6	9	8	3	1	30	3,133
	9	1	14	12	3	--	--	--	30	1,570
	10	13	--	--	--	--	--	--	13	0
	11	--	1	16	6	6	1	--	30	2,670
	12	1	20	9	--	--	--	--	30	1,270
	13 *	--	--	2	8	9	4	2	25(30)	3,899
	14	--	9	15	5	1	--	--	30	1,933
	15 *	1	9	7	9	1	--	--	27(30)	2,044
	16									Datos insuficientes, Portador
	17									Datos insuficientes, Portador
	18 *	--	14	7	5	--	--	--	26(30)	1,638
	19 *	--	3	13	8	3	2	--	29(30)	2,614
	20									Datos insuficientes, Portador
	21									Datos insuficientes, Portador
	22 *	--	15	9	2	1	--	--	27(30)	1,596
	23 *	--	--	6	3	6	1	1	17(20)	3,329
	24 *	--	2	5	9	3	--	1	20(30)	2,988
	25	--	--	6	12	7	3	2	30	3,433
Sabias II 60	2 *	--	11	7	--	--	--	18(20)	1,425	
	3	--	1	15	--	4	--	20	2,350	
	7 *	--	5	13	--	--	--	18(20)	1,743	
	6 *	--	8	3	--	--	--	19(20)	1,714	
	9 *	1	4	7	6	--	--	18(20)	1,978	
	11	1	15	3	1	--	--	20	1,200	
	13	20	--	--	--	--	--	20	0	
	14	20	--	--	--	--	--	20	0	
17	--	9	8	3	--	--	20	1,700		
Sabias II 61 (Cruce 5)	1	--	15	5	--	--	--	20	1,250	
	2	--	3	1	16	--	--	20	2,650	
	3	--	7	11	2	--	--	20	1,750	
	4 *	--	--	7	3	8	--	18(20)	3,179	
	5	--	--	11	--	8	1	20	2,950	
	6 *	--	7	7	1	--	--	15(20)	1,698	
	7	20	--	--	--	--	--	20	0	
	8 *	--	--	5	8	2	1	16(20)	3,010	
	9	--	4	10	5	1	--	20	2,150	
	10 *	--	1	12	6	--	--	19(20)	2,209	
	11 *	--	4	11	2	--	--	18(20)	1,888	

TABLA IV.2.1. Continuación

Muestra	Macho	Número de folículos con							Total folic.	Nº Medio Bs
		0B	1B	2B	3B	4B	5B	6B		
Gabias II G1 (Cruce 6)	1	--	12	7	1	--	--	--	20	1,450
	2 *	1	12	6	--	--	--	--	19(20)	1,508
	3 *	--	10	8	1	--	--	--	19(20)	1,463
	4	20	--	--	--	--	--	--	20	0
	5	--	5	14	1	--	--	--	20	1,800
	6	--	1	5	5	5	3	--	20	3,200
	7	--	--	--	6	10	4	--	20	3,900
	8	--	2	15	--	3	--	--	20	2,200
	9	--	17	3	--	--	--	--	20	1,150
	10	20	--	--	--	--	--	--	20	0
	11	--	16	4	--	--	--	--	20	1,200
	12	20	--	--	--	--	--	--	20	0
	13	20	--	--	--	--	--	--	20	0
	14	--	18	--	2	--	--	--	20	1,200
	15	20	--	--	--	--	--	--	20	0
	16	--	5	8	3	3	--	1	20	2,400
	17	--	12	7	1	--	--	--	20	1,450
	18	--	16	4	--	--	--	--	20	1,200
	19	--	3	13	4	--	--	--	20	2,050
Padul 60	2 *	1	14	4	--	--	--	--	19(20)	1,183
	3	1	11	7	1	--	--	--	20	1,400
	5	1	7	10	2	--	--	--	20	1,650
	7 *	--	--	6	4	2	--	--	12(20)	2,691
	8	8	11	1	--	--	--	--	20	0,650
	9 *	2	9	8	--	--	--	--	19(20)	1,375
Padul G1 (Cruce 3)	1	20	--	--	--	--	--	--	20	0
	2 *	--	5	7	4	3	--	--	19(20)	2,422
	3	--	--	9	11	--	--	--	20	2,550
	4	--	5	12	1	2	--	--	20	2,000
	5	--	11	9	--	--	--	--	20	1,450
	6	20	--	--	--	--	--	--	20	0
	7	20	--	--	--	--	--	--	20	0
	8	--	6	14	--	--	--	--	20	1,700
	9	--	12	8	--	--	--	--	20	1,400
	10	20	--	--	--	--	--	--	20	0
	11	--	16	4	--	--	--	--	20	1,200
	12	--	9	9	1	1	--	--	20	1,700
	13	4	11	5	--	--	--	--	20	1,050

TABLA IV.2.2. Variación intrafolicular para el número de cromosomas accesorios observados en testículos de algunos machos adultos.

Muestra	Macho	Folic.	Número de células con								Total células	Nº Medio Bs
			0B	1B	2B	3B	4B	5B	6B	7B		
Gabias I 61	13	1	--	--	4	4	--	--	--	--	8	2,500
		2	--	--	--	--	--	5	--	3	8	5,750
		3	--	--	--	--	--	2	--	3	5	6,200
		4	--	4	--	3	--	--	--	--	7	1,857
		5	--	--	--	2	4	--	--	--	6	4,667
	15	1	--	3	7	--	--	--	--	--	10	1,700
		2	--	3	5	--	--	--	--	--	8	1,625
		3	--	--	2	--	2	--	--	--	4	3,000
	18	1	--	11	6	--	--	--	--	--	17	1,353
		2	--	8	--	8	--	--	--	--	16	2,000
		3	--	9	5	--	--	--	--	--	14	1,357
		4	--	9	7	--	--	--	--	--	16	1,438
	19	1	--	--	2	--	5	--	--	--	7	3,429
	22	1	--	7	9	--	--	--	--	--	16	1,563
		2	--	9	--	7	--	--	--	--	16	1,875
		3	--	6	5	--	--	--	--	--	11	1,455
	23	1	--	--	3	4	--	--	--	--	7	2,571
		2	--	--	--	3	3	--	--	--	6	3,500
		3	--	--	--	--	8	8	--	--	16	4,500
	24	1	--	--	6	7	--	--	--	--	13	2,539
		2	--	11	9	--	--	--	--	--	20	1,450
		3	--	--	--	4	--	6	--	--	10	4,200
		4	--	--	6	8	--	--	--	--	14	2,571
		5	--	--	--	--	--	8	5	--	13	5,385
		6	--	--	4	5	--	--	--	--	9	2,556
		7	--	--	2	--	3	--	--	--	5	3,200
		8	--	--	--	6	7	--	--	--	13	3,539
		9	--	--	--	--	--	5	--	3	8	5,750
		10	--	10	--	3	--	--	--	--	13	1,662
	Gabias II 60	2	1	--	--	3	1	--	--	--	4	2,250
2			--	3	1	--	--	--	--	4	1,250	
7		1	--	--	4	6	--	--	--	10	2,600	
		2	--	3	1	--	--	--	--	4	1,250	
8		1	--	5	2	--	--	--	--	7	1,286	
		2	--	--	6	3	--	--	--	9	2,333	
2		1	--	--	6	3	--	--	--	9	2,333	
		2	--	7	2	--	--	--	--	9	1,222	

TABLA IV.2.2. Continuación

Muestra	Macho	Folic.	Número de células con							Total células	Nº Medio Bs	
			0B	1B	2B	3B	4B	5B	6B			7B
Gabias II 61 (Cruce 5)	4	1	--	--	--	--	--	4	3	--	7	5,429
		2	--	--	3	--	4	--	--	--	7	3,143
	6	1	--	--	5	4	--	--	--	--	9	2,444
		2	--	--	--	5	1	--	--	--	6	3,167
		3	--	6	4	--	--	--	--	--	10	1,400
		4	--	--	7	--	3	--	--	--	10	2,600
		5	6	3	--	--	--	--	--	--	9	0,333
	8	1	--	--	2	1	10	--	--	--	13	3,615
		2	--	--	2	--	4	--	--	--	6	3,333
		3	2	--	8	3	--	--	--	--	13	1,923
		4	--	--	--	--	4	2	--	--	6	4,333
	10	1	--	9	2	--	--	--	--	--	11	1,182
	11	1	--	--	10	--	6	--	--	--	16	2,750
		2	--	--	3	--	3	--	--	--	6	3,000
Gabias II 61 (Cruce 6)	2	1	--	17	3	--	--	--	--	--	20	1,150
	3	1	6	2	--	--	--	--	--	--	8	0,250
Padul 60	2	1	1	2	9	--	--	--	--	--	12	1,667
		7	1	--	--	3	2	--	--	--	5	2,400
	7	2	--	--	--	2	--	3	--	2	7	5,000
		3	--	5	--	6	--	--	--	--	11	2,091
		4	--	9	3	--	--	--	--	--	12	1,250
		5	--	--	4	2	--	--	--	--	6	2,333
		6	--	--	1	3	--	--	--	--	4	2,750
		7	--	--	--	1	3	--	--	--	4	3,750
		8	--	--	3	1	--	--	--	--	4	2,250
		9	1	--	1	--	3	--	--	--	4	2,500
Padul 61 (Cruce 3)	2	1	--	--	--	--	5	4	--	9	5,444	

TABLA IV.2.3. Número de cromosomas accesorios observados en ciegos gástricos de machos adultos.

Muestra	Macho	Nº células con					Nº células anal.	Nº medio B=
		0B	1B	2B	3B	4B		
Gabies I 60	1	20	--	--	--	--	20	0
	2	Datos insuficientes						
	3	Datos insuficientes						
	4	--	5	15	--	--	20	1,750
	5	--	3	17	--	--	20	1,650
	6	--	--	17	--	--	17	2
	7	--	--	20	--	--	20	2
	8	20	--	--	--	--	20	0
	9	20	--	--	--	--	20	0
	10	--	--	4	--	--	4	2
	11	20	--	--	--	--	20	0
	12	--	12	--	--	--	12	1
	13	--	--	2	--	--	2	2
	14	--	20	--	--	--	20	1
	15	--	3	11	--	--	14	1,786
	16	--	--	13	2	--	15	2,133
	17	20	--	--	--	--	20	0
Gabies I 61	1	Datos insuficientes						
	2	Datos insuficientes						
	3	--	20	--	--	--	20	1
	4	Datos insuficientes						
	5	--	20	--	--	--	20	1
	6	--	--	--	16	7	23	3,304
	7	--	20	--	--	--	20	1
	8	--	--	6	12	2	20	2,800
	9	--	20	--	--	--	20	1
	10	20	--	--	--	--	20	0
	11	--	--	20	--	--	20	2
	12	--	20	--	--	--	20	1
	13	--	--	--	10	--	10	3
	14	4	16	--	--	--	20	0,800
	15	--	20	--	--	--	20	1
	16	Datos insuficientes						
	17	--	20	--	--	--	20	1
	18	--	20	--	--	--	20	1
	19	--	--	10	--	--	10	2
	20	--	--	15	42	1	58	2,759
	21	--	18	2	--	--	20	1,100
	22	4	9	--	--	--	13	0,692
	23	--	--	--	--	3	3	4
	24	--	11	20	--	--	31	1,645
	25	--	--	7	12	1	20	2,700
	26	--	--	20	--	--	20	2
	27	Datos insuficientes						
	28	--	--	--	19	3	22	3,136
	29	--	4	16	--	--	20	1,800
	30	--	20	--	--	--	20	1
	31	3	18	1	--	--	22	0,909

TABLA IV.2.3. Continuación.

Muestra	Macho	Nº células con					Nº células anal.	Nº medio Bs
		0B	1B	2B	3B	4B		
	32	--	--	20	--	--	20	2
Gabies II 60	2	--	20	--	--	--	20	1
	3	--	4	22	--	--	26	1,846
	7	--	3	17	--	--	20	1,850
	8	--	3	20	--	--	23	1,870
	9	--	6	21	--	--	27	1,778
	11	--	20	--	--	--	20	1
	13	20	--	--	--	--	20	0
	14	20	--	--	--	--	20	0
	17	--	21	--	--	21	1	
Gabies II 61 (Cruce 5)	1	--	20	--	--	--	20	1
	2	--	--	3	17	--	20	2,850
	3	--	8	8	4	--	20	1,800
	4	--	--	--	10	11	21	3,524
	5	--	--	6	14	--	20	2,700
	6	--	7	13	--	--	20	1,650
	7	20	--	--	--	--	20	0
	8	--	3	6	6	6	21	2,714
	9	3	3	14	--	--	20	1,550
	10	--	--	18	--	--	18	2
	11	--	13	7	--	--	20	1,350
Gabies II 61 (Cruce 6)	1	--	22	--	--	--	22	1
	2	--	22	--	--	--	22	1
	3	--	25	1	--	--	26	1,038
	4	20	--	--	--	--	20	0
	5	--	22	--	--	--	22	1
	6	--	--	--	24	--	24	3
	7	--	--	--	3	18	21	3,857
	8	--	3	20	1	--	24	1,917
	9	--	21	--	--	--	21	1
	10	21	--	--	--	--	21	0
	11	--	21	--	--	--	21	1
	12	21	--	--	--	--	21	0
	13	20	--	--	--	--	20	0
	14	--	20	--	--	--	20	1
	15	20	--	--	--	--	20	0
	16	--	--	23	--	--	23	2
	17	4	15	1	--	--	20	0,850
	18	--	19	1	--	--	20	1,050
	19	--	9	13	--	--	22	1,591
Padul 60	2	--	17	3	--	--	20	1,150
	3	3	17	--	--	--	20	0,850
	5	--	20	--	--	--	20	1
	7	--	--	21	--	--	21	2
	8	--	20	--	--	--	20	1
	9	5	15	--	--	--	20	0,750

TABLA IV.2.3. Continuación.

Muestra	Macho	Nº células con					Nº células anal.	Nº medio Bs
		0B	1B	2B	3B	4B		
Padul G1 (Cruce 3)	1	20	--	--	--	--	20	0
	2	--	3	17	--	--	20	1,850
	3	--	--	20	--	--	20	2
	4	--	--	18	--	--	18	2
	5	4	16	--	--	--	20	0,800
	6	20	--	--	--	--	20	0
	7	20	--	--	--	--	20	0
	8	7	13	--	--	--	20	0,650
	9	--	12	8	--	--	20	1,400
	10	20	--	--	--	--	20	0
	11	--	20	--	--	--	20	1
	12	--	18	2	--	--	20	1,100
	13	--	20	--	--	--	20	1

TABLA IV.2.4. Número de cromosomas accesorios observados en ciegos gástricos de hembras adultas.

Muestra	Hembra	Nº células con				Nº células anal.	Nº Medio Bs
		0B	1B	2B	3B		
Gabias II G0	1	20	--	--	--	20	0
	2	--	20	--	--	20	1
	4	3	16	1	--	20	0,900
	6	--	20	--	--	20	1
	7	--	20	--	--	20	1
	10	--	20	--	--	20	1
Padul G0	1	--	18	--	--	18	1
	4	--	--	19	1	20	2,050
	5	4	12	3	--	19	0,947
	6	--	19	1	--	20	1,050

TABLA IV.2.5. Variación interovariolar para el número de cromosomas accesorios observados en hembras adultas. Los asteriscos señalan los individuos que presentan variación intraovariolar (ver tabla IV.2.6), la cual ha sido tomada en cuenta para calcular el número medio de Bs en estos individuos. Entre paréntesis figuran los números totales de ovariolas analizadas.

Muestra	Hembra	Nº ovariolas con				Nº ovariolas anal.	Nº Medio Bs
		0B	1B	2B	3B		
Gábias II GO	1	10	--	--	--	10	0
	2 *	1	7	--	--	8(10)	0,800
	4	--	10	--	--	10	1
	6 *	--	9	--	--	9(10)	0,950
	7	--	10	--	--	10	1
	10	2	6	2	--	10	1,000
Padul GO	1	--	10	--	--	10	1
	4 *	--	--	5	3	8(10)	2,242
	5	--	10	--	--	10	1
	6 *	1	5	1	--	7(10)	0,933

TABLA IV.2.6. Variación intraovariolar para el número de cromosomas accesorios observados en hembras adultas.

Muestra	Hembra	Ovariola	Nº células con			Nº células anal.	Nº Medio Bs
			0B	1B	2B		
Gábias II GO	2	1	1	1	--	2	0,500
		2	1	1	--	2	0,500
	6	1	1	1	--	2	0,500
Padul GO	4	1	--	1	2	3	1,667
		2	1	--	7	8	0,750
	6	1	1	1	--	2	0,500
		2	1	1	--	2	0,500
		3	--	2	1	3	1,333

TABLA IV.2.7. Número de cromosomas accesorios observados en embriones. F17 (Gabias II, Cruce 1)

Embrión	Sexo	Número de células con					Nº Cel. Anal.	Nº Medio Bs
		0B	1B	2B	3B	4B		
1		--	7	--	--	--	7	1
2		--	7	--	--	--	7	1
3		7	--	--	--	--	7	0
4		--	12	5	--	--	17	1,294
5		--	5	--	--	--	5	1
6		--	12	--	--	--	12	1
7		--	19	--	--	--	19	1
8		--	18	--	--	--	18	1
9		--	16	--	--	--	16	1
10		--	--	8	--	--	8	2
11		--	8	--	--	--	8	1
12		--	11	--	--	--	11	1
13		--	10	--	--	--	10	1
14		--	56	4	--	2	62	1,161
15		--	7	--	--	--	7	1
16		12	--	--	--	--	12	0
17		--	13	--	--	--	13	1
18		--	34	1	--	--	35	1,029
19		11	--	--	--	--	11	0
20		--	24	--	--	--	24	1
21		--	5	50	2	--	57	1,947
22		--	65	1	--	1	67	1,060
23		--	25	--	--	--	25	1
24		3	51	3	--	--	57	1,000
25		23	--	--	--	--	23	0
26		22	--	--	--	--	22	0
27		--	59	3	1	--	63	1,079
28		--	18	--	--	--	18	1
29		--	21	--	--	--	21	1
30		--	19	--	--	--	19	1
31		--	--	16	--	--	16	2
32		--	30	--	--	--	30	1
33		--	34	--	--	--	34	1
34		--	28	--	--	--	28	1
35		--	77	4	1	--	82	1,073
36		--	22	--	--	--	22	1
37		--	23	--	--	--	23	1
38		--	26	3	--	1	30	1,200
39		--	--	45	6	--	51	2,118
40		--	14	--	--	--	14	1
41		--	--	52	--	--	52	2
42		--	32	--	--	--	32	1
43		--	33	2	--	--	35	1,057
44		--	27	1	--	--	28	1,036
45		--	35	1	--	--	36	1,028
46		--	24	--	--	--	24	1
47		--	33	--	--	--	33	1
48		--	30	--	--	--	30	1
49		--	--	10	--	--	10	2

TABLA IV.2.7. Continuación. F42 (Gabias II, Cruce 2).

Embrión	Sexo	Número de células con				Nº Cel. Anal.	Nº Medio Bs
		0B	1B	2B	3B		
1	♂	22	--	--	--	22	0
2	♀	4	23	2	--	29	0,931
3	♀	--	22	--	--	22	1
4	♀	--	40	4	--	44	1,091
5	♀	20	--	--	--	20	0
6	♀	36	--	--	--	36	0
7	♀	3	30	2	--	35	0,971
8	♀	--	32	--	--	32	1
9	♀	--	30	--	--	30	1
10	♀	3	32	5	1	41	1,098
11	♀	--	31	--	--	31	1
12	♀	5	24	3	--	32	0,938
13	♀	3	31	--	--	34	0,912
14	♀	--	19	--	--	19	1
15	♀	--	23	1	--	24	1,042
16	♀	--	30	1	--	31	1,032
17	♀	--	23	--	--	23	1
18	♀	--	28	--	2	30	1,133
19	♀	3	27	1	--	31	0,935
20	♀	20	--	--	--	20	0
21	♀	20	--	--	--	20	0
22	♀	3	12	16	--	31	1,419
23	♀	6	24	1	--	31	0,839
24	♀	--	22	--	--	22	1
25	♀	31	--	--	--	31	0
26	♀	21	--	--	--	21	0
27	♀	--	20	--	--	20	1
28	♀	3	15	--	--	19	0,842
29	♀	--	8	5	--	13	1,385
30	♀	--	28	2	--	30	1,067
31	♀	22	--	--	--	22	0

TABLA IV.2.7. Continuación. P39 (Gabias II, Cruce 3).

Embrión	Sexo	Número de células con						Nº Cel. Anal.	Nº Medio Bs
		0B	1B	2B	3B	4B	5B		
1	♀	25	--	--	--	--	--	25	0
2	♀	23	--	--	--	--	--	23	0
3	♀	--	20	--	--	--	--	20	1
4	♀	4	21	1	--	--	--	26	0,885
5	♀	23	--	--	--	--	--	23	0
6	♀	--	21	--	--	--	--	21	1
7	♀	--	22	--	--	--	--	22	1
8	♀	28	--	--	--	--	--	28	0
9	♀	21	--	--	--	--	--	21	0
10	♀	--	21	--	--	--	--	21	1
11	♀	23	--	--	--	--	--	23	0
12	♀	23	--	--	--	--	--	23	0
13	♀	--	23	7	--	--	--	30	1,233
14	♀	--	30	6	1	--	--	37	1,216
15	♀	20	--	--	--	--	--	20	0
16	♀	--	21	--	--	--	--	21	1
17	♀	--	4	21	3	2	1	31	2,194
18	♀	22	--	--	--	--	--	22	0
19	♀	21	--	--	--	--	--	21	0
20	♀	29	--	--	--	--	--	29	0
21	♀	20	--	--	--	--	--	20	0
22	♀	--	25	--	--	--	--	25	1
23	♀	--	16	3	1	--	--	20	1,250
24	♀	--	20	--	--	--	--	20	1
25	♀	--	17	--	--	--	--	17	1
26	♀	--	20	--	--	--	--	20	1
27	♀	--	16	--	1	--	--	17	1,118
28	♀	--	20	--	--	--	--	20	1
29	♀	--	20	4	--	--	--	24	1,167
30	♀	--	26	4	--	--	--	30	1,333

TABLA IV.2.7. Continuación. P41 (Gabias II, Cruce 4).

Embrión	Sexo	Número de células con				Nº Cel. Anal.	Nº Medio Bs
		0B	1B	2B	3B		
1	♂	5	14	1	--	20	0,800
2	♂	--	20	1	--	21	1,048
3	♂	--	21	--	--	21	1
4	♂	19	--	--	--	19	0
5	♂	--	15	--	--	15	1
6	♂	8	9	1	--	18	0,611
7	♂	--	15	2	--	17	1,118
8	♂	--	13	7	1	21	1,429
9	♂	--	--	11	--	11	2
10	♂	17	--	--	--	17	0
11	♂	18	--	--	--	18	0
12	♂	--	4	16	--	20	1,800
13	♂	17	--	--	--	17	0
14	♂	3	27	1	--	31	0,935
15	♂	5	15	--	--	20	0,750
16	♂	3	27	2	--	32	0,969
17	♂	3	16	1	--	20	0,900
18	♂	27	--	--	--	27	0
19	♂	--	3	16	1	20	1,900
20	♂	--	20	--	--	20	1
21	♂	--	18	2	--	20	1,100
22	♂	--	13	--	--	13	1
23	♂	--	19	1	--	20	1,050
24	♂	--	19	1	--	20	1,050
25	♂	--	--	15	2	17	2,118
26	♂	20	--	--	--	20	0
27	♂	20	--	--	--	20	0

TABLA IV.2.7. Continuación. P15 (Gabias II, Cruce 5)

Enbrión	Sexo	Número de células con							Nº Cel. Anal.	Nº Medio Bs
		0B	1B	2B	3B	4B	5B	10B		
1	♂	--	11	--	--	--	--	--	11	1
2	♂	--	--	3	--	--	--	--	3	2
3	♂	--	13	2	--	--	--	--	15	1,133
4	♂	--	12	--	--	--	--	--	12	1
5	♂	--	13	--	--	--	--	--	13	1
6	♂	--	14	--	--	--	--	--	14	1
7	♂	--	--	36	--	--	--	--	36	2
8	♂	--	41	8	--	1	--	--	50	1,220
9	♂	--	16	17	--	3	--	--	36	1,722
10	♂	--	8	40	5	1	--	--	55	2,127
11	♂	--	--	5	31	1	--	--	37	2,892
12	♂	--	3	39	6	3	--	--	51	2,176
13	♂	--	30	--	1	--	--	--	31	1,065
14	♂	--	--	11	--	--	--	--	11	2
15	♂	--	5	18	4	--	--	--	27	1,963
16	♂	31	--	--	--	--	--	--	31	0
17	♂	13	5	--	1	1	--	--	20	0,600
18	♂	--	55	5	--	--	--	--	60	1,083
19	♂	--	--	4	25	4	1	--	34	3,059
20	♂	24	--	--	--	--	--	--	24	0
21	♂	--	--	4	20	2	--	--	26	2,923
22	♂	--	--	19	4	--	--	--	23	2,174
23	♂	--	17	4	--	--	--	--	21	1,198
24	♂	--	--	19	--	--	--	--	19	2
25	♂	--	39	3	--	--	--	--	42	1,071
26	♂	--	--	18	2	--	--	--	20	2,100
27	♂	--	--	20	4	--	--	--	24	2,167
28	♂	--	--	3	32	1	--	--	36	2,944

TABLA IV.2.7. Continuación. P18 (Gabias II, Cruce 5)

Embrión	Sexo	Número de células con								Nº Cel. Anal.	Nº Medio Bs
		0B	1B	2B	3B	4B	5B	6B	9B		
1	♂	--	19	1	--	--	--	--	--	20	1,050
2	♂	--	--	18	2	--	--	2	--	22	1,636
3	♂	--	3	18	--	--	--	--	--	21	1,857
4	♂	--	5	9	4	2	--	--	--	20	2,150
5	♂	3	6	1	--	--	--	--	--	10	0,800
6	♂	--	--	--	4	11	2	--	--	17	3,882
7	♂	3	11	--	--	--	--	--	--	14	0,786
8	♂	3	4	4	3	--	--	--	--	14	1,500
9	♂	--	8	11	--	--	1	--	--	20	1,750
10	♂	20	--	--	--	--	--	--	--	20	0
11	♂	--	18	1	1	--	--	--	--	20	1,150
12	♂	--	8	19	4	1	--	--	--	32	1,938
13	♂	5	20	1	--	--	--	--	--	26	0,846
14	♂	--	5	15	--	--	--	--	--	20	1,750
15	♂	--	7	13	--	--	--	--	--	20	1,650
16	♂	--	4	9	--	--	--	--	--	13	1,692
17	♂	--	3	17	1	--	--	--	--	21	1,905
18	♂	4	3	17	1	3	--	--	--	28	1,857
19	♂	--	--	8	6	5	2	--	--	21	3,048
20	♂	--	17	--	--	--	--	--	--	17	1
21	♂	--	--	14	1	--	--	--	--	15	2,067
22	♂	--	3	17	1	--	--	--	--	21	1,905
23	♂	--	18	1	1	--	--	--	--	20	1,150
24	♂	--	--	5	7	--	--	--	1	13	3,077
25	♂	3	17	--	--	--	--	--	--	20	0,850
26	♂	--	17	2	1	--	--	--	--	20	1,200
27	♂	--	--	13	--	--	--	--	--	13	2

TABLA IV.2.7. Continuación. P19 (Gabias II, Cruce 6)

Embrión	Sexo	Número de células con						Nº Cel. Anal.	Nº Medio Bs
		0B	1B	2B	3B	4B	5B		
1	♂	22	--	--	--	--	--	22	0
2	♂	--	25	--	--	--	--	25	1
3	♂	23	--	--	--	--	--	23	0
4	♂	23	--	--	--	--	--	23	0
5	♂	--	24	--	--	--	--	24	1
6	♂	27	--	--	--	--	--	27	0
7	♂	3	26	1	--	--	--	30	0,933
8	♂	--	--	4	26	5	--	35	3,029
9	♂	--	31	--	1	--	--	32	1,063
10	♂	22	--	--	--	--	--	22	0
11	♂	--	25	--	--	--	--	25	1
12	♂	--	26	--	--	--	--	26	1
13	♂	25	--	--	--	--	--	25	0
14	♂	--	--	25	--	--	--	25	2
15	♂	23	--	--	--	--	--	23	0
16	♂	--	27	11	--	--	--	38	1,289
17	♂	--	--	33	--	--	--	33	2
18	♂	--	3	23	5	1	1	33	2,212
19	♂	23	--	--	--	--	--	23	0
20	♂	21	--	--	--	--	--	21	0
21	♂	21	--	--	--	--	--	21	0
22	♂	21	--	--	--	--	--	21	0
23	♂	25	--	--	--	--	--	25	0
24	♂	--	22	--	--	--	--	22	1
25	♂	--	28	--	--	--	--	28	1
26	♂	--	34	2	--	--	--	36	1,056
27	♂	24	--	--	--	--	--	24	0
28	♂	25	--	--	--	--	--	25	0
29	♂	--	7	30	4	--	--	41	1,927
30	♂	3	36	2	--	--	--	41	0,976

TABLA IV.2.7. Continuación. F23 (Gabias II, Cruce 6).

Embrión	Sexo	Número de células con							Nº Cel. Anal.	Nº Medio Bs
		0B	1B	2B	3B	4B	5B	6B		
1	♂	--	18	2	--	--	--	--	20	1,100
2	♂	--	4	13	3	--	--	--	20	1,950
3	♂	3	21	5	--	1	--	1	31	1,323
4	♂	--	20	--	--	--	--	--	20	1
5	♂	--	21	--	--	--	--	--	21	1
6	♂	20	--	--	--	--	--	--	20	0
7	♂	--	23	1	--	--	--	--	24	1,042
8	♂	--	20	--	--	--	--	--	20	1
9	♂	15	--	--	--	--	--	--	15	0
10	♂	15	--	--	--	--	--	--	15	0
11	♂	16	--	--	--	--	--	--	16	0
12	♂	17	--	--	--	--	--	--	17	0
13	♂	16	--	--	--	--	--	--	16	0
14	♂	--	--	20	--	--	--	--	20	2
15	♂	--	20	--	--	--	--	--	20	1
16	♂	18	--	--	--	--	--	--	18	0
17	♂	--	13	7	1	1	--	--	22	1,545
18	♂	16	--	--	--	--	--	--	16	0
19	♂	17	--	--	--	--	--	--	17	0
20	♂	--	--	20	--	--	--	--	20	2
21	♂	20	--	--	--	--	--	--	20	0
22	♂	--	--	6	9	6	2	--	23	3,174
23	♂	--	20	--	--	--	--	--	20	1
24	♂	--	5	15	2	--	--	--	22	1,864
25	♂	--	20	--	--	--	--	--	20	1
26	♂	--	20	--	--	--	--	--	20	1
27	♂	15	--	--	--	--	--	--	15	0
28	♂	16	--	--	--	--	--	--	16	0
29	♂	--	15	--	--	--	--	--	15	1
30	♂	15	--	--	--	--	--	--	15	0

TABLA IV.2.7. Continuación. P8 (Padul, Cruce 1).

Entrión	Sexo	Número de células con								Nº Cel. Anal.	Nº medio Bs
		0B	1B	2B	3B	4B	5B	6B	7B		
1	♂	--	4	20	2	--	--	--	--	26	1,923
2	♂	--	--	--	14	--	3	--	--	17	3,353
3	♂	--	--	11	--	--	--	--	--	11	2
4	♂	--	--	15	--	--	--	--	--	15	2
5	♂	--	--	3	8	--	2	--	--	13	3,077
6	♂	--	--	--	13	3	--	--	--	16	3,188
7	♂	--	15	--	--	--	--	--	--	15	1
8	♂	--	--	17	--	--	--	--	--	17	2
9	♂	--	3	3	10	--	--	--	--	16	2,438
10	♂	--	--	13	--	--	--	--	--	13	2
11	♂	--	--	7	--	--	--	--	8	15	4,667
12	♂	--	--	--	24	4	1	--	--	29	3,297
13	♂	--	--	--	3	8	--	--	--	11	3,727
14	♂	--	--	6	--	--	--	--	--	6	2
15	♂	--	8	--	--	--	--	--	--	8	1
16	♂	--	--	5	--	1	--	--	--	6	2,333
17	♂	--	--	3	1	--	--	--	--	4	2,250
18	♂	--	--	4	--	--	--	--	--	4	2
19	♂	--	--	6	--	--	--	--	--	6	2
20	♂	--	--	--	--	3	--	--	--	3	4
21	♂	--	--	5	2	--	--	--	--	7	2,286
22	♂	--	--	4	--	--	--	--	--	4	2
23	♂	--	--	--	6	--	--	--	--	6	3
24	♂	--	3	8	--	--	--	--	--	11	1,727
25	♂	--	--	--	9	--	--	--	--	9	3
26	♂	--	--	--	6	--	2	--	--	8	3,500
27	♂	--	--	4	--	--	--	--	--	4	2
28	♂	--	--	8	--	--	--	--	--	8	2
29	♂	--	3	--	--	--	--	--	--	3	1
30	♂	--	--	7	--	--	--	--	--	7	2
31	♂	--	--	--	5	3	--	--	--	8	3,375
32	♂	--	--	7	--	--	--	--	--	7	2
33	♂	--	--	--	--	5	--	--	--	5	4

TABLA IV.2.7. Continuación. P32 (Padul, Cruce 2).

Embrión	Sexo	Número de células con									Nº Cel. Anal.	Nº Medio Bs
		0B	1B	2B	3B	4B	5B	6B	7B	10B		
1	o	--	--	6	15	--	--	--	--	--	21	2,714
2	o	--	--	6	18	3	2	--	--	1	30	3,267
3	o	--	20	--	1	--	--	--	--	--	21	1,095
4	o	--	--	16	1	--	--	--	--	--	17	2,059
5	o	--	20	--	--	--	--	--	--	--	20	1
6	o	--	4	16	--	--	--	--	--	--	20	1,800
7	o	20	--	--	--	--	--	--	--	--	20	0
8	o	--	31	1	--	--	--	--	--	--	32	1,031
9	o	20	--	--	--	--	--	--	--	--	20	0
10	o	--	31	4	--	--	--	--	--	--	35	1,114
11	o	--	4	21	3	1	--	--	--	1	30	1,967
12	o	--	7	21	2	--	--	--	--	--	30	1,833
13	o	--	--	17	3	--	--	--	--	--	20	2,150
14	o	--	3	15	2	--	--	--	--	--	20	1,950
15	o	--	13	11	--	1	--	--	--	--	25	1,560
16	o	--	21	--	--	--	--	--	--	--	21	1
17	o	20	--	--	--	--	--	--	--	--	20	0
18	o	--	3	17	--	--	--	--	--	--	20	1,850
19	o	--	20	--	--	--	--	--	--	--	29	1
20	o	--	--	16	4	3	1	2	1	--	27	2,963
21	o	--	--	16	--	--	--	--	--	--	16	2
22	o	--	18	1	1	--	--	--	--	--	20	1,150
23	o	20	--	--	--	--	--	--	--	--	20	0
24	o	--	18	1	1	--	--	--	--	--	20	1,150
25	o	--	20	--	--	--	--	--	--	--	20	1
26	o	--	4	16	--	--	--	--	--	--	20	1,800
27	o	--	20	--	--	--	--	--	--	--	20	1
28	o	3	19	--	--	--	--	--	--	--	22	0,864
29	o	--	3	26	--	1	--	--	--	--	30	1,967
30	o	--	28	2	--	--	--	--	--	--	30	1,067

TABLA IV.2.7. Continuación. P36 (Padul, Cruce 3).

Embrión	Sexo	Número de células con					Nº Cel. Anal.	Nº Medio Bs
		0R	1B	2B	3B	4B		
1	♂	20	--	--	--	--	20	0
2		--	--	29	3	1	33	2,152
3		--	--	21	1	--	22	1,045
4		22	--	--	--	--	22	0
5		23	--	--	--	--	23	0
6		21	--	--	--	--	21	0
7		--	--	26	6	--	32	1,188
8		20	--	--	--	--	20	0
9		--	--	22	3	--	25	1,120
10		--	--	20	--	--	20	1
11		20	--	--	--	--	20	0
12		19	--	--	--	--	19	0
13		--	--	11	6	--	17	1,353
14		26	--	--	--	--	26	0
15		--	--	23	--	--	23	1
16		14	--	--	--	--	14	0
17		--	--	6	18	1	25	1,800
18		--	--	25	--	--	25	1
19		--	--	6	14	3	23	1,870
20		--	--	4	10	2	16	1,875
21		6	--	11	--	--	17	0,647
22		--	--	7	23	4	34	1,912
23		17	--	--	--	--	17	0
24		--	--	11	11	--	22	1,500
25		--	--	8	--	--	8	1
26		--	--	7	8	--	16	1,688

TABLA IV.2.7. Continuacion. F20 (Padul, Cruce 4).

Embrión	Sexo	Número de células con						Nº Cel. Anal.	Nº Medio Bs	
		0B	1B	2B	3B	4B	5B			6B
1	♀	--	3	16	1	--	--	20	1,900	
2		--	17	--	--	--	--	21	1	
3		21	--	--	--	--	--	21	0	
4		--	6	10	3	3	--	22	2,136	
5		--	4	5	9	--	--	20	2,550	
6		--	10	9	1	--	--	20	1,550	
7		20	--	--	--	--	--	20	0	
8		--	20	--	--	--	--	20	1	
9		3	20	--	--	--	--	23	0,870	
10		--	19	--	--	--	--	19	1	
11		--	13	14	--	--	--	27	1,519	
12		--	--	--	7	8	10	4	29	4,379
13		15	--	--	--	--	--	--	15	0
14		--	19	1	--	--	--	--	20	1,050
15		--	16	4	--	--	--	--	20	1,200
16		--	5	9	--	1	--	--	15	1,800
17		3	11	6	--	--	--	--	20	1,150
18		--	4	--	7	--	--	--	11	2,273
19		--	4	6	2	3	--	--	15	2,267
20		3	4	7	3	--	--	--	17	1,588
21		--	3	12	5	--	--	--	20	2,100
22		5	11	4	--	--	--	--	20	0,950
23		--	7	3	--	1	--	--	11	1,545
24		2	9	2	1	--	--	--	14	1,143
25		16	--	--	--	--	--	--	16	0
26		--	15	5	--	--	--	--	20	1,250
27		--	19	2	--	--	--	--	21	1,095
28		--	--	18	4	--	--	--	22	2,182
29		--	5	13	3	--	--	--	21	1,905

TABLA IV.2.7. Continuación. P26 (Padul, Cruce 4).

Embrión	Sexo	Número de células con					Nº Cel. Anal.	Nº Medio Bs
		0B	1B	2B	3B	4B		
1	o	--	20	--	--	--	20	1
2	o	20	--	--	--	--	20	0
3	o	--	21	--	--	--	21	1
4	o	20	--	--	--	--	20	0
5	o	21	--	--	--	--	21	0
6	o	--	21	--	--	--	21	1
7	o	--	--	23	--	--	23	2
8	o	--	--	19	1	--	20	2,050
9	o	15	--	--	--	--	15	0
10	o	7	11	2	--	--	20	0,750
11	o	--	22	--	--	--	22	1
12	o	3	28	--	--	--	31	0,903
13	o	--	20	2	--	--	22	1,091
14	o	--	8	6	7	1	22	2,045
15	o	4	13	3	--	--	20	0,950
16	o	23	--	--	--	--	23	0
17	o	15	--	--	--	--	15	0
18	o	15	--	--	--	--	15	0
19	o	--	--	7	12	1	20	2,700
20	o	16	--	--	--	--	16	0
21	o	20	--	--	--	--	20	0
22	o	--	15	5	--	--	20	1,250
23	o	--	4	16	--	--	20	1,800
24	o	--	3	16	1	1	21	2,000
25	o	--	8	12	2	--	22	1,727
26	o	3	17	3	--	--	23	1,000
27	o	--	10	10	5	--	25	1,800
28	o	--	8	12	--	--	20	1,600
29	o	--	--	20	--	--	20	2
30	o	4	16	--	--	--	20	0,800

IV.3. Naturaleza de los cromosomas accesorios.

El saltamonte *Locusta migratoria* posee un complemento cromosómico standard $2n = 22 + X0/XX$. Según Moens (1973), los autosomas se pueden ordenar en tres grupos de tamaño: grandes (L_1-L_2), medianos (M_3-M_6) y pequeños (S_7-S_{11}), siendo el X de longitud intermedia entre los autosomas de las parejas 2 y 3.

En 1934 Itoh describió por vez primera la existencia de un cromosoma supernumerario en *L. migratoria* de Japón, que posteriormente se ha observado en individuos de otros muchos lugares. En cuanto a nuestro país, en 1980 Camacho y Santos registran simultáneamente la presencia de accesorios en especímenes de *L. migratoria* de Almería y Valencia, respectivamente.

El B que nosotros hemos encontrado en poblaciones de Granada y Jaén coincide sin duda con los anteriormente descritos, siendo su tamaño ligeramente superior al de los autosomas más pequeños y difícilmente diferenciable de éstos en mitosis, sin recurrir a técnicas específicas de bandeado cromosómico (Figura 1). En meiosis son fácilmente reconocibles aún con tinción directa con orceína. Ello se debe a su zona heterocromática distal, que aparece heteropicnótica, contrastando con la región proximal, que exhibe homopicnosis (Figura 2).

En los siguientes apartados se muestran los resultados de la aplicación de diferentes tratamientos a células de *L. migratoria* portadoras de supernumerarios, con la intención de esclarecer en alguna medida la naturaleza de los cromosomas B de esta especie.

IV.3.1. Bandas C.

Todos los cromosomas normales poseen pequeñas bandas C paracentroméricas y bandas C negativas intersticiales en los autosomas L_1 y M_6 (Figura 3).

La aplicación de este método a los cromosomas accesorios resulta en una pequeña banda paracentromérica, la mitad proximal ligeramente teñida y la mitad distal intensamente bandeada.

IV.3.2. Bandas G.

La técnica de bandeo G aplicada a células en metafase mitótica de embriones pone de manifiesto una serie de bandas e interbandas. Solo algunas de ellas aparecen nitidamente definidas.

Los cromosomas normales se muestran, en su mayor extensión, teñidos con tonalidad oscura, exhibiendo algunas bandas más intensas, y algunas interbandas claras (Figura 4). Estas últimas se corresponden con regiones cromosómicas bien definidas, como son los centrómeros y las NORs localizadas en los autosomas L₂, M₆ (distales) y S₃ (intersticial). El cromosoma M₃ muestra igualmente una banda G clara intersticial, visible con todas las técnicas de análisis citogenético y que es, presumiblemente, una constricción secundaria, aunque no contiene ninguna NOR activa.

Por su parte, los cromosomas supernumerarios reaccionan a la técnica evidenciando una banda G oscura hacia el centro, rodeada de dos interbandas claras, con delgadas bandas oscuras en ambos extremos.

IV.3.4. REGIONES ORGANIZADORAS NUCLEOLARES.

La aplicación de la técnica de impregnación argéntica sobre las células en diplotene de testículos de *L. migratoria* da como resultado la aparición de varios nucleolos grandes, de frecuencia casi constante, que llamaremos primarios, y otros pequeños, de incidencia algo más esporádica, que llamaremos secundarios.

Los nucleolos primarios se presentan junto a los bivalentes L₂ (posición distal), M₆ (distal) y S₃ (proximal), revelando la existencia de NORs principales localizadas en dichas regiones cromosómicas (Figura 5). El nucleolo más recurrente es el del par 9, que se tiñe en casi todas las células; el de menor asiduidad es el del par 2, a menudo inexistente como nucleolo grande, aunque en dichos casos aparece en idéntica posición un nucleolo pequeño.

Los nucleolos secundarios, que pondrían de manifiesto NORs secundarias en la zona cromosómica de la que sobresalen, se observan principalmente asociados a las parejas 1, 2 y 3 (en posición intersticial) y 8 y 11 (con localización proximal). Ocasionalmente, nos ha parecido descubrir pequeños nucleolos en otros pares cromosómicos, e incluso en el cromosoma X, pero su incidencia ha sido tan escasa que por el momento no

se puede aventurar ninguna afirmación sobre ellos. Nuestro proyecto más inmediato consiste en efectuar un estudio exhaustivo de las NORs en un número considerable de machos, con lo que esperamos resolver esta incógnita, así como profundizar en el conocimiento general de las NORs en *L. migratoria*.

En ningún caso se han encontrado nucleolos asociados a los cromosomas supernumerarios (ver Figura 5), ni se ha observado variación alguna en cuanto a la aparición de nucleolos entre individuos portadores de Bs y los que carecían de accesorios.

IV.4. Inestabilidad mitótica

El estudio que hemos realizado sobre diversos tejidos procedentes de embriones e individuos adultos de *Locusta migratoria* portadores de cromosomas accesorios ha revelado que la totalidad de estos tejidos presentan inestabilidad mitótica de los cromosomas supernumerarios.

En la Tabla IV.4.1 se presentan los datos de inestabilidad mitótica en embriones portadores de 6 días de edad.

TABLA IV.4.1. Inestabilidad mitótica de los Bs en embriones portadores de supernumerarios.

Población	Cruce	Puesta	Nº de Hembras		Nº de Machos		Nº total de Embriones	
			Que presentan inestabilidad	Total	Que presentan inestabilidad	Total	Que presentan inestabilidad	Total
Galias II	1	P17	6	24	7	20	13 (0,2955)	44
	2	P42	7	11	8	12	15 (0,6522)	23
	3	P39	3	4	5	14	8 (0,4444)	18
	4	P41	8	11	7	9	15 (0,7500)	20
	5	P15	13	16	5	10	18 (0,6923)	26
		P18	15	16	9	10	24 (0,9231)	26
	6	P19	5	7	3	9	8 (0,5000)	16
P23		5	10	2	7	7 (0,4118)	17	
Total Población			62 (0,6263)	99	46 (0,5055)	91	108 (0,5684)	190
Padul	1	P8	8	16	6	17	14 (0,4242)	33
	2	P32	14	18	6	8	20 (0,7692)	26
	3	P36	5	6	7	10	12 (0,7500)	16
	4	P20	10	13	12	12	22 (0,8800)	25
		P26	7	12	8	9	15 (0,7143)	21
Total Población			44 (0,6769)	65	39 (0,6964)	56	83 (0,6860)	121
TOTAL			106 (0,6386)	166	85 (0,5782)	147	191 (0,6141)	311

Los datos presentados entre paréntesis corresponden a frecuencias relativas.

De esta Tabla se puede deducir que:

1.- La inestabilidad comienza antes de los 6 días de desarrollo en el 61.41% de los embriones.

2.- La inestabilidad muestra una frecuencia similar en embriones de puestas distintas del mismo cruce (Tabla IV.4.2).

3.- En las dos poblaciones analizadas existen diferencias significativas para la frecuencia de inestabilidad mitótica del B entre embriones de cruces distintos:

Gabias II: $\chi^2_{(5)} = 31,2$; $P < 0,001$

Padul: $\chi^2_{(5)} = 14,5$; $P: 0,001-0,01$

TABLA IV.4.2. Resultados de las comparaciones para la inestabilidad entre puestas diferentes procedentes de los mismos progenitores.

Localidad	Cruce	Puestas	$\chi^2_{(1)}$	P
Gabias II	5	P15-P18	3,10	0,05-0,10.
Gabias II	6	P19-P23	0,03	0,80-0,90.
Padul	3	P20-P26	1,08	0,20-0,30.

4.- No se encuentran, sin embargo, diferencias significativas para dicha frecuencia entre ambas poblaciones ($\chi^2_{(1)} = 3,83$; $P: 0,05-0,10$).

5.- En las dos poblaciones, la inestabilidad mitótica es igualmente frecuente en embriones de ambos sexos:

Gabias II: $\chi^2_{(1)} = 2,35$; $P: 0,10-0,20$

Padul: $\chi^2_{(1)} = 0,0016$; $P: 0,90-0,95$

Es interesante señalar que los embriones con B inestable suelen mostrar una alta frecuencia de células con el mismo número de supernumerarios. Además, poseen algunas células con números contiguos a éste, que podrían ser resultado de la no disyunción primaria del B; así como células con otros números más alejados del primero, que serían consecuencia de no disyunciones secundarias del supernumerario en mitosis posteriores (ver Tabla IV.2.7).

La tabla IV.4.3 expone las frecuencias de machos adultos portadores que presentan inestabilidad mitótica en ciegos gástricos, y los correspondientes cálculos para hembras adultas portadoras con inestabilidad en ciegos y ovariolas. Todos los machos adultos analizados han mostrado ines-

tabilidad mitótica interfolicular en sus testículos. Sin embargo, aproximadamente la mitad de las hembras han presentado variación en el número de Bs entre las células de sus ovariolas. Por el contrario, las frecuencias de machos y hembras que exhibieron inestabilidad en sus ciegos gástricos si resultaron ser similares entre sí ($\chi^2_{(1)} = 0.0012$; P:0.95-0.98).

TABLA IV.4.3. Frecuencia de adultos portadores con inestabilidad mitótica del B en ciegos gástricos (machos y hembras) y en ovariolas (hembras). El cromosoma B era inestable en los testículos de todos los machos estudiados.

Poblac.	Gener.	Cruce	Machos		Hembras			
			Ciegos		Ciegos		Ovariolas	
			Inestab. mit.	Total	Inestab. mit.	Total	Inestab. mit.	Total
Gabies I	60	-	4 (0,4000)	10	--	-	--	-
	61	-	11 (0,4231)	26	--	-	--	-
Gabies II	60	-	4 (0,5714)	7	1 (0,2000)	5	3 (0,5000)	5
	61	5	8 (0,8000)	10	--	-	--	-
		6	6 (0,4286)	14	--	-	--	-
Total Gabias			33 (0,4925)	67				
Padul	60	-	3 (0,5000)	6	4 (1,0000)	4	2 (0,5000)	4
	61	3	5 (0,5556)	9	--	-	--	-
Total Padul			8 (0,5333)	15				
TOTAL			41 (0,5000)	82	5 (0,5556)	9	5 (0,5556)	9

Entre paréntesis se expresan las frecuencias relativas

Utilizando parte de los datos que aparecen en las Tablas IV.4.1 y IV.4.3, hemos llevado a cabo una serie de comparaciones entre frecuencias de machos que presentan inestabilidad mitótica en sus ciegos y embriones con inestabilidad. Los análisis que se han realizado y sus resultados aparecen en la Tabla IV.4.4.

Como puede observarse, en ninguno de los casos ha aparecido diferencia significativa entre los datos cotejados, de los cual puede deducirse que la frecuencia de inestabilidad mitótica del B es similar en embriones y en ciegos de machos adultos. Por tanto, es presumible que los machos adultos con accesorio estable en los ciegos deriven de embriones con estabilidad para el supernumerario, en tanto que los machos con accesorio inestable en ciegos procederían de embriones con inestabilidad. Puesto que,

sin duda, los embriones con estabilidad exhiben el número original de Bs del cigoto del que derivan, el razonamiento anterior nos conduce a pensar que el número de accesorios en los ciegos gástricos de machos adultos con estabilidad del B refleja el número original de supernumerarios del cigoto.

TABLA IV.4.4. Resultados de las comparaciones entre las frecuencias de machos que muestran inestabilidad mitótica del B en ciegos y embriones con inestabilidad.

Muestra	$\chi^2(1)$	P
Gabias II G1 Cruce 5	0.14	0.70-0.80
Gabias II G1 Cruce 6	0.02	0.80-0.90
Gabias II G1	0.006	0.90-0.95
Gabias	0.87	0.30-0.50
Padul G1 Cruce 3	0.31	0.50-0.70
Padul G1	0.19	0.50-0.70
Padul	0.80	0.30-0.50

En los machos con número de Bs variable en los ciegos gástricos, el número de accesorios original del cigoto podría corresponder con el número de Bs más frecuente observado en dicho tejido, tal como sería perfectamente asumible para los embriones que muestran inestabilidad del B.

IV.4.1. GRADO DE INESTABILIDAD

Con objeto de cuantificar la variabilidad para el número de supernumerarios hemos definido el *grado de inestabilidad* como la frecuencia de células con número de Bs diferente del número más frecuente. Lógicamente, este parámetro sólo puede ser calculado en aquellos individuos o tejidos que muestran inestabilidad mitótica para los cromosomas accesorios, ya que de lo contrario es cero. Las Tablas IV.4.5 y IV.4.6 recogen los valores del grado de inestabilidad estimados en embriones machos y ciegos de machos adultos portadores, respectivamente.

TABLA IV.4.5. Grado de inestabilidad mitótica en embriones machos.

Muestra	Cruce	Puesta	Embrión	Nº de células con		Grado de inestabil.	Total células analizadas			
				Nº más frec. de Bs	Otros números					
Gabies II 61	1	P17	4	12	5	0,2941	17			
			14	56	6	0,0968	62			
			18	34	1	0,0286	35			
			24	51	6	0,1053	57			
			43	33	2	0,0571	35			
			44	27	1	0,0357	28			
			45	35	1	0,0278	36			
			Total	248	22	0,0815	270			
				2	P42	2	23	6	0,2069	29
						4	40	4	0,0909	44
7	30	5				0,1429	35			
13	31	3				0,0882	34			
15	23	1				0,0417	24			
19	27	4				0,1290	31			
22	16	15				0,4839	31			
29	8	5				0,3846	13			
Total	198	43				0,1784	241			
Gabies II 61	3	F39	13	23	7	0,2333	30			
			14	30	7	0,1892	37			
			27	16	1	0,0588	17			
			29	20	4	0,1667	24			
			30	26	4	0,1333	30			
			Total	115	23	0,1667	138			
	4	P41	1	14	6	0,3000	20			
			7	15	2	0,1176	17			
			12	16	4	0,2000	20			
			16	27	5	0,1562	32			
			23	19	1	0,0500	20			
			24	19	1	0,0500	20			
			25	15	2	0,1176	17			
			Total	125	21	0,1438	146			
	5	P15	3	13	2	0,1333	15			
			8	41	9	0,1800	50			
			13	30	1	0,0323	31			
			18	55	5	0,0833	60			
			22	19	4	0,1739	23			
			Total	158	21	0,1173	179			
		P18	1	19	1	0,0500	20			
			3	18	3	0,1429	21			

TABLA IV.4.5. Continuación.

Muestra	Cruce	Puesta	Embrión	Nº de células con		Grado de inestabil.	Total células analizadas
				Nº más frec. de Bs	Otros números		
			4	9	11	0,5500	20
			9	11	9	0,4500	20
			11	18	2	0,1000	20
			12	19	13	0,4063	32
			17	17	4	0,1905	21
			22	17	4	0,1905	21
			23	18	2	0,1000	20
		Total		146	49	0,2513	195
		Total Cruce 5		304	70	0,1872	374
6	P19		16	27	11	0,2895	38
			18	23	10	0,3030	33
			30	36	5	0,1220	41
		Total		86	26	0,2321	112
	P23		2	13	7	0,3500	20
			17	13	9	0,4091	22
		Total		26	16	0,3810	42
	Total Cruce 6			112	42	0,2727	154
	TOTAL GABIAS II 61			1102	221	0,1670	1323
Padul 61	1	P8	1	20	6	0,2308	26
			6	13	3	0,1875	16
			12	24	5	0,1724	29
			17	3	1	0,2500	4
			21	5	2	0,2857	7
			24	8	3	0,2727	11
		Total		73	20	0,2151	93
	2	P32	4	16	1	0,1588	17
			6	16	4	0,2000	20
			13	17	3	0,1500	20
			14	15	5	0,2500	20
			22	18	2	0,1000	20
			24	18	2	0,1000	20
		Total		100	17	0,1453	117
	3	P36	7	26	6	0,1875	32
			13	11	6	0,3529	17
			17	18	7	0,2800	25
			19	14	9	0,3913	23
			21	11	6	0,3529	17

TABLA IV.4.5. Continuación.

Muestra	Cruce	Puesta	Embrión	Nº de células con		Grado de inestabil.	Total células analizadas
				Nº más frec. de Bs	Otros números		
			22	23	11	0,3235	34
			Total	103	45	0,3041	148
	4	P20	4	10	12	0,5455	22
			5	9	11	0,5500	20
			6	10	10	0,5000	20
			11	14	13	0,4815	27
			14	19	1	0,0500	20
			17	11	9	0,4500	20
			18	7	4	0,3636	11
			19	6	9	0,6000	15
			21	12	8	0,4000	20
			23	7	4	0,3636	11
			24	9	5	0,3571	14
			27	19	2	0,0952	21
			Total	133	88	0,3982	221
		P26	12	28	3	0,0968	31
			14	8	14	0,6364	22
			15	13	7	0,3500	20
			22	15	5	0,2500	20
			23	16	4	0,2000	20
			25	12	10	0,4545	22
			30	16	4	0,2000	20
			Total	108	47	0,3032	155
		Total Cruce 4		241	135	0,3590	376
		TOTAL PADUL		517	217	0,2956	734

TABLA IV.4.6. Grado de inestabilidad mitótica en ciegos gástricos de machos adultos.

Muestra	Cruce	Macho	Nº de células con		Grado de inestabil.	Total células analizadas
			Nº más frec. de Bs	Otros números		
Gabias I 60		4	15	5	0,2500	20
		5	17	3	0,1500	20
		15	11	3	0,2143	14
		16	13	2	0,1333	15
		Total		56	13	0,1884
Gabias I 61		6	16	7	0,3043	23
		8	12	8	0,4000	20
		14	16	4	0,2000	20
		20	42	16	0,2759	58
		21	18	2	0,1000	20
		22	9	4	0,3077	13
		24	20	11	0,3548	31
		25	12	8	0,4000	20
		28	19	3	0,1364	22
		29	16	4	0,2000	20
		31	18	4	0,1818	22
	Total		198	71	0,2639	269
Gabias II 60		3	22	4	0,1538	26
		7	17	3	0,1500	20
		8	20	3	0,1304	23
		9	21	6	0,2222	27
	Total		80	16	0,1667	96
Gabias II 61	5	2	17	3	0,1500	20
		4	11	10	0,4762	21
		5	14	6	0,3000	20
		6	13	7	0,3500	20
		9	14	6	0,3000	20
		11	13	7	0,3500	20
	Total		82	39	0,3223	121
	6	3	25	1	0,0385	26
		7	18	3	0,1429	21
		8	20	4	0,1667	24
		17	15	5	0,2500	20
		18	19	1	0,0500	20
		19	13	9	0,4091	22
	Total		110	23	0,1729	133
TOTAL GABIAS			526	162	0,2355	688

TABLA IV.4.6. Continuación.

Muestra	Cruce	Macho	Nº de células con		Grado de inestabil.	Total células analizadas
			Nº más frec. de Bs	Útros números		
Padul 60		2	17	3	0,1500	20
		3	17	3	0,1500	20
		9	15	5	0,2500	20
		Total	49	11	0,1833	60
Padul 61	3	2	17	3	0,1500	20
		5	16	4	0,2000	20
		8	13	7	0,3500	20
		9	12	8	0,4000	20
		12	18	2	0,1000	20
	Total	76	24	0,2400	100	
TOTAL PADUL			125	35	0,2188	160

La comparación entre los resultados obtenidos en embriones masculinos y ciegos de machos adultos indica que en la población de Gabias el grado de inestabilidad es superior en los últimos ($\chi^2_{(1)} = 13.30$; $P < 0.001$), mientras que en Padul son similares los grados de inestabilidad en embriones y ciegos de adultos ($\chi^2_{(1)} = 3.47$; $P: 0.05-0.10$). Se demuestra así que en Gabias, los ciegos incorporaron mayor inestabilidad para el B que la observada en embriones, es decir, que después de los seis primeros días de desarrollo, las células destinadas a dar ciegos continuaron sufriendo la inestabilidad del supernumerario. En Padul, por el contrario, toda la inestabilidad de los ciegos deriva de la observada en los seis primeros días del desarrollo embrionario.

No obstante, cuando esta comparación se realiza entre ciegos de adultos y embriones hermanos, el grado de inestabilidad tiende a ser distinto en unos y otros. Sin embargo, la diferencia sólo resulta estadísticamente significativa en el cruce 5 de Gabias, donde el grado de inestabilidad en los ciegos de machos adultos es sensiblemente superior al hallado en sus hermanos analizados en estadio embrionario:

Población	Cruce	$\chi^2_{(1)}$	P
Gabias II	5	8.95	0.001-0.01
	6	0.58	0.30-0.50
Padul	3	0.92	0.30-0.50

IV.4.2. INESTABILIDAD MITÓTICA INTRAFOLI- CULAR

Se ha comentado anteriormente que todos los machos portadores analizados en este estudio manifestaron variabilidad interfolicular para el número de supernumerarios. Además se ha observado inestabilidad mitótica dentro de algunos folículos de ciertos machos portadores (ver Tablas IV.2.1 y IV.2.2, y Figura 6). De los datos expuestos en la Tabla IV.4.7. se desprende que alrededor del 30% de los machos adultos sufren inestabilidad intrafolicular, sin que se observen diferencias entre las poblaciones de Gabias y Padul ($\chi^2_{(1)} = 0.0016$; P:0.95-0.98).

TABLA IV.4.7. Inestabilidad mitótica de los Bs en testículos de machos portadores de accesorios. Los recuentos se han realizado sobre células en meiosis. Los datos entre paréntesis se refieren a frecuencias relativas.

Muestra	Nº de Machos que presentan inestabilidad mitótica			Nº total Machos
	Sólo interfolic.	Inter e intrafolic.	Total	
Gabias I G0	9	0 (0)	9	9
Gabias I G1	10	6 (0,3750)	16	16
Gabias II G0	3	4 (0,5714)	7	7
Gabias II G1 Cruce 5	5	5 (0,5000)	10	10
Gabias II G1 Cruce 6	12	2 (0,1429)	14	14
Total Gabias	39	17 (0,3036)	56	56
Padul G0	3	3 (0,5000)	6	6
Padul G1 Cruce 3	8	1 (0,1111)	9	9
Total Padul	11	4 (0,2667)	15	15
TOTAL	50	21 (0,2958)	71	71

Aproximadamente un 12.5% de los folículos de estos machos muestran inestabilidad mitótica para el B en su seno (Tabla IV.4.8) y, como en el caso anterior, este resultado es similar para Gabias y Padul ($\chi^2_{(1)} = 0.024$; P:0.80-0.90).

TABLA IV.4.8. Inestabilidad intrafolicular de los cromosomas B en machos portadores. Los datos entre paréntesis se refieren a frecuencias relativas.

Muestra	Foliculos		
	Macho	Que presentan I.M. intrafolicular	Total analizados
Gabias I 61	13	5 (0,1667)	30
	15	3 (0,1000)	30
	18	4 (0,1333)	30
	19	1 (0,0333)	30
	22	3 (0,1000)	30
	23	3 (0,1500)	20
	24	10 (0,3333)	30
Total		29 (0,1450)	200
Gabias II 60	2	2 (0,1000)	20
	7	2 (0,1000)	20
	8	1 (0,0500)	20
	9	2 (0,1000)	20
Total		7 (0,0875)	80
Gabias II 61 Cruce 5	4	2 (0,1000)	20
	6	5 (0,2500)	20
	8	4 (0,2000)	20
	10	1 (0,0500)	20
	11	2 (0,1000)	20
Total		14 (0,1400)	100
Gabias II 61 Cruce 6	2	1 (0,0500)	20
	3	1 (0,0500)	20
Total		2 (0,0500)	40
Total Gabias II 61		16 (0,1143)	140
Total Gabias II		23 (0,1045)	220
Total Gabias		52 (0,1238)	420
Padul 60	2	1 (0,0500)	20
	7	8 (0,4000)	20
	9	1 (0,0500)	20
Total		10 (0,1667)	60
Padul 61 Cruce 3	2	1 (0,0500)	20
Total Padul		11 (0,1375)	80
TOTAL		63 (0,1260)	500

A diferencia de la variabilidad interfolicular del B, que se origina por su inestabilidad durante el desarrollo embrionario y puede conducir a la acumulación del supernumerario, la variación intrafolicular observada se inició presumiblemente después del desarrollo de los testículos, quizás durante las mitosis espermatogoniales previas a la espermatogénesis, por lo que es de esperar que no conduzca a la acumulación del B. De ser así, en aquellos machos con número elevado de folículos con variabilidad el número medio de supernumerarios debería ser similar en los folículos con número variable de Bs y en los que poseen un número constante, como de hecho ocurre en los cuatro machos en los que ha podido llevarse a cabo esta comparación (Tabla IV.4.9).

TABLA IV.4.9. Comparaciones entre el número medio de Bs en folículos con número variable de cromosomas accesorios y en folículos con número constante de Bs en machos con variación intrafolicular en 5 folículos como mínimo.

Macho	Folículos con variabilidad			Folículos sin variabilidad			t	P
	Nº fol.	Nº medio de Bs	ϵ	Nº fol.	Nº medio de Bs	ϵ		
13 GA I 61	5	4,195	0,866	25	3,840	0,214	0,40	0,50-0,70
24 GA I 61	10	3,265	0,468	20	2,850	0,254	0,80	0,30-0,50
7 PA 60	8	2,728	0,407	12	2,667	0,225	0,13	0,70-0,90
6 GA II 61 Cruce 5	5	1,989	0,503	15	1,600	0,163	0,74	0,30-0,50

IV.4.3. INESTABILIDAD MITOTICA INTRAOVARIOLAR

Como se ha visto, cinco de las nueve hembras portadoras de supernumerarios que hemos analizado presentaron inestabilidad mitótica para el cromosoma B en las células en mitosis de las paredes de sus ovariolas (ver Tabla IV.4.3). Una de ellas experimentaba inestabilidad exclusivamente interovariolar, tres mostraban inestabilidad únicamente a nivel de algunas células dentro de sus ovariolas, y la última manifestaba inestabilidad

tanto a nivel inter como intraovariolar. En la Tabla IV.4.10 se contemplan los datos referentes a la inestabilidad intraovariolar en las cuatro hembras citadas.

TABLA IV.4.10. Inestabilidad intraovariolar de los cromosomas B en hembras portadoras. Los datos entre paréntesis se refieren a frecuencias relativas.

Ovariolas		
Hembra	Que presentan I.M. intraovariolar	Total analizadas
6 GA II GO	1 (0,10)	10
2 GA II GO	2 (0,20)	10
4 PA GO	2 (0,20)	10
6 PA GO	3 (0,30)	10
TOTAL	8 (0,20)	40

No hemos podido analizar la inestabilidad en ovariolas a nivel de células en meiosis, ya que no conocíamos ningún método rentable de obtención de melocitos femeninos. Recientemente, Henriques-Gil y col. (1986) han puesto a punto una modificación de la técnica de Perry y Jones (1974) que parece satisfactoria, pero ha sido bastante después de que fijásemos el material objeto de este trabajo.

IV.4.4. CALCULO DE LA ACUMULACION DEL B EN LA LINEA GERMINAL MASCULINA.

La acumulación del cromosoma accesorio se puede hallar por la fórmula:

$$a = \frac{t - c}{c} \times 100$$

donde *a* es el porcentaje de acumulación, *t* el número medio de Bs en el tejido analizado y *c* el número de supernumerarios original del cigoto.

El grado de acumulación de los cromosomas B se puede calcular de manera fidedigna en los machos con número constante de accesorios en ciegos, ya que en éstos es perfectamente asumible que el número de Bs observado en los ciegos corresponda con el número de supernumerarios original del cigoto. Puede así calcularse la acumulación del B en la línea germinal de cada macho por medio de la siguiente expresión:

$$\% \text{ acumulación} = \frac{\text{N}^\circ \text{ medio Bs en testículos} - \text{N}^\circ \text{ Bs en ciegos}}{\text{N}^\circ \text{ Bs en ciegos}} \times 100$$

En machos con número de accesorios variable en ciegos, el número medio de Bs observado en dicho tejido no puede tomarse como número original del cigoto, ya que éste ha de ser una cifra entera. Podría tomarse, sin embargo, el número de supernumerarios más frecuente observado en los ciegos gástricos como el número de Bs original del cigoto. Así, en estos machos la acumulación se calcularía por la fórmula:

$$\% \text{ acumulación} = \frac{\text{N}^\circ \text{ medio Bs en test.} - \text{N}^\circ \text{ más frec. Bs en ciegos.}}{\text{N}^\circ \text{ más frecuente de Bs en ciegos}} \times 100$$

En las Tablas IV.4.11 y IV.4.12 se exhiben los resultados de los cálculos de la acumulación en cada macho analizado. Un resumen de estos datos puede ser encontrado en la Tabla IV.4.13.

TABLA IV.4.11. Acumulación estimada en testículos de machos adultos con número de Bs constante en ciegos.

Muestra	Macho	Nº de Bs en ciegos	Nº medio de Bs en testículos	% acumulación en testículos
Gabias I 60	6	2	2,600	30,00
	10	2	2,200	10,00
	12	1	1,933	93,30
	13	2	3,267	63,35
	14	1	1,467	46,70
	Total		1,600	2,293
Gabias I 61	3	1	1,300	30,00
	5	1	1,467	46,70

TABLA IV.4.11. Continuación.

Muestra	Macho	Nº de Bs en riegos	Nº medio de Bs en testículos	% acumulación en testículos
	7	1	1,500	50,00
	9	1	1,570	57,00
	11	2	2,670	33,50
	12	1	1,270	27,00
	13	3	3,899	30,00
	15	1	2,044	104,40
	18	1	1,638	63,80
	19	2	2,614	30,70
	23	4	3,329	-16,78
	Total	1,636	2,118	41,48
Gabias II 60	2	1	1,425	42,50
	11	1	1,200	20,00
	17	1	1,700	70,00
	Total	1	1,442	44,20
Gabias II 61 Cruce 5	1	1	1,250	25,00
	10	2	2,209	10,45
Gabias II 61 Cruce 6	1	1	1,450	45,00
	2	1	1,508	50,80
	5	1	1,800	80,00
	5	3	3,200	6,67
	9	1	1,150	15,00
	11	1	1,200	20,00
	14	1	1,200	20,00
	16	2	2,400	20,00
	Total Gabias II 61	1,400	1,737	29,29
Padul 60	5	1	1,650	65,00
	7	2	2,691	34,55
	8	1	0,650	-35,00
	Total	1,333	1,664	21,52
Padul 61	3	2	2,550	27,50
	4	2	2,000	0,00
	11	1	1,200	20,00
	13	1	1,050	5,00
	Total	1,500	1,700	13,13

TABLA IV.4.12. Acumulación estimada en ciegos y testículos de machos adultos con números de Bs variable en ciegos.

Muestra	Macho	Nº med. Bs en ciegos	Nº de Bs más frec. en ciegos	% Acumul. en ciegos	Nº med. Bs testículos	% Acum. en testículos
Gabras I 60	4	1,750	2	-12,50	2,333	16,65
	5	1,850	2	-7,50	2,467	23,35
	15	1,786	2	-10,70	2,233	11,65
	16	2,133	2	6,65	1,233	-38,35
	Total	1,890	2	-6,00	2,067	3,33
Gabras I 61	6	3,300	3	10,13	3,200	6,67
	8	2,800	3	-6,67	3,133	4,43
	14	0,800	1	-20,00	1,933	93,30
	22	0,692	1	-30,80	1,596	59,60
	24	1,645	2	-17,75	2,988	49,40
	25	2,700	3	-10,00	3,433	14,43
Total	1,990		-12,52	2,714	37,97	
Gabras II 60	3	1,846	2	-7,70	2,350	17,50
	7	1,850	2	-7,50	1,743	-12,85
	8	1,870	2	-6,50	1,714	-14,30
	9	1,778	2	-11,10	1,978	-1,10
Total	1,836	2	-8,20	1,946	-2,69	
Gabras II 61 (Cruce 5)	2	2,850	3	-5,00	2,650	-11,67
	5	2,700	3	-10,00	2,950	-1,67
	6	1,650	2	-17,50	1,598	-15,10
	9	1,550	2	-22,50	2,150	7,50
	11	1,350	1	35,00	1,888	88,80
Gabras II 61 (Cruce 6)	3	1,038	1	3,80	1,463	46,30
	7	3,857	4	-3,58	3,900	-2,50
	8	1,917	2	-4,15	2,200	10,00
	17	0,850	1	-15,00	1,450	45,00
	18	1,050	1	5,00	1,200	20,00
	19	1,591	2	-20,45	2,050	2,50
Total Gabras II 61	1,855		-4,54	2,140	17,20	
Padul 60	2	1,150	1	15,00	1,183	18,30
	3	0,850	1	-15,00	1,400	40,00
	9	0,750	1	-25,00	1,375	37,50
Total	0,917	1	-8,33	1,319	31,93	
Padul 61	2	1,850	2	-7,50	2,422	21,10
	5	0,800	1	-20,00	1,450	45,00
	8	0,650	1	-35,00	1,700	70,00

TABLA IV. 4. 12. Continuación.

Muestra	Macho	Nº med. Bs en ciegos	Nº de Bs más frec. en ciegos	% Acumul. en ciegos	Nº med. Bs testículos	% Acum. en testículos
	9	1,400	1	40,00	1,400	40,00
	12	1,100	1	10,00	1,700	70,00
	Total	1,160		-2,50	1,734	49,22

TABLA IV. 4. 13. Resumen de la acumulación estimada en testículos y en ciegos y testículos de machos con número de Bs constante y variable, respectivamente, en ciegos.

Muestra	Machos con nº Bs constante en ciegos.		Machos con nº Bs variable en ciegos			Total	
	Nº de machos	% Acum. testic.	Nº de machos	% Acum. ciegos	% Acum. testic.	Nº de machos	% Acum. testic.
Gabias I 60	5	48,67	4	-6,00	3,33	9	28,52
Gabias I 61	11	41,48	6	-12,52	37,97	17	40,24
Gabias II 60	3	44,20	4	-8,20	-2,69	7	17,41
Gabias II 61	10	29,29	11	-4,94	17,20	21	22,96
Total	29	38,80	25	-7,45	16,78	54	28,61
Padul 60	3	21,52	3	-8,33	31,93	6	26,72
Padul 61	4	13,13	5	-2,50	49,22	9	33,18
Total	7	16,72	8	-4,69	42,74	15	30,60

De estos datos se desprende que:

- La acumulación total en testículos es similar en las dos poblaciones (alrededor de un 30%).

- En los machos con número de Bs constante en ciegos, la acumulación en testículos es mayor en los machos capturados en la naturaleza (G0) que

en los criados en el laboratorio (G1). En los machos con número variable de Bs en ciegos ocurre lo contrario.

-En Gabias, los machos con número constante de supernumerarios en ciegos muestran mayor acumulación del accesorio en la línea germinal que los machos con número variable de Bs en ciegos. En Padul se observa el fenómeno contrario.

IV.4.5. ELIMINACION EN LOS CIEGOS GASTRICOS

En los machos con número variable de cromosomas accesorios en ciegos podemos calcular también la hipotética acumulación en los ciegos por la siguiente fórmula:

$$\% \text{ acumulación} = \frac{\text{Nº medio Bs ciegos} - \text{Nº Bs original cigoto}}{\text{Nº de Bs original del cigoto}} \times 100$$

Consideramos, por los motivos anteriormente expuestos, el número más frecuente de supernumerarios en ciegos como el número de Bs original del cigoto.

Aunque en algunos machos se observa cierto grado de acumulación a nivel de los ciegos (ver Tabla IV.4.12), los resultados expresados en la Tabla IV.4.13 demuestran que, en términos globales, el cromosoma accesorio es parcialmente eliminado en los ciegos gástricos

IV.5. Efectos de los cromosomas accesorios sobre la frecuencia de quiasmas

Hemos analizado los efectos derivados de la presencia de los cromosomas accesorios sobre la frecuencia de quiasmas a los niveles intra- e interindividual. Para ello, se ha llevado a cabo un recuento de quiasmas en 30 células en diplotene de 14 machos de Gabias I G0 y 18 de Gabias I G1.

Para la investigación a nivel intraindividual hemos realizado en cada macho un análisis de correlación entre el número de quiasmas mostrados por cada célula y el número de Bs presentes en dicha célula. En la mayoría de los machos se ha investigado la relación entre número de Bs y número de quiasmas en 30 diplotenes. En algunos de ellos, aunque se hayan contabilizado los quiasmas de dicha cantidad de células, la cifra de diplotenes para las que se identificó el número de supernumerarios fue menor, pero nunca inferior a 25. La Tabla IV.5.1 resume los resultados de estos tests.

TABLA IV.5.1. Resultados de los análisis de correlación en machos portadores entre el número de quiasmas mostrados por cada célula y el número de Bs presentes en dicha célula.

Muestra	Macho	Nº Bs	Nº quiasmas	Nº células	N	r	t	P
Gabias I G0	4	2	11	1	30	-0,62	0,10	>0,90
		2	12	6				
		2	13	13				
		2	14	8				
		2	16	1				
	5	13	1					
	5	2	14	1	30	-0,11	0,60	0,70-0,90
		2	15	1				
		2	16	2				
		2	17	1				
3		13	3					
3		14	5					
3		15	7					
3		16	8					
3		17	1					
4		16	1					
6	1	13	3	30	0,34	1,91	0,05-0,10	
	1	14	2					
	2	13	2					

TABLA IV.5.1. Continuación.

Muestra	Macho	Nº Bs	Nº quiasmas	Nº células	N	r	t	P
		2	14	3				
		2	15	1				
		3	13	6				
		3	14	5				
		3	15	4				
		3	16	3				
		3	17	1				
10	1	16	2	30	-0,28	1,54	0,10-0,30	
	2	13	6					
	2	14	5					
	2	15	11					
	2	16	3					
	2	17	1					
	2	18	1					
	3	14	1					
12	2	12	2	30	-0,18	0,97	0,30-0,50	
	2	13	10					
	2	14	7					
	2	15	4					
	2	16	2					
	2	17	1					
	3	12	1					
	3	13	1					
	3	14	2					
13	2	12	1	30	0,60	3,92	<0,001	
	3	11	1					
	3	12	5					
	3	13	3					
	3	14	7					
	3	15	1					
	5	12	1					
	5	13	1					
	5	14	2					
	5	15	5					
	5	16	1					
	5	17	2					
14	0	14	2	30	0,06	0,32	0,70-0,80	
	0	15	3					
	1	12	1					
	1	13	3					
	1	14	4					
	1	15	7					
	1	16	3					
	1	17	2					
	1	18	1					
	1	20	1					
	2	17	1					
	3	14	1					
	3	15	1					

TABLA IV.5.1. Continuación.

Muestra	Macho	Nº Bs	Nº quiasmas	Nº células	N	r	t	P
	15	2	13	1	30	-0,48	2,87	0,001-0,01
		2	14	5				
		2	15	7				
		2	17	2				
		3	13	2				
		3	14	4				
		3	15	3				
		4	12	1				
		4	13	2				
		4	14	2				
		4	15	1				
	16	0	15	1	26	-0,12	0,61	0,50-0,70
		0	16	1				
		2	12	2				
		2	13	1				
		2	14	4				
		2	15	6				
		2	16	5				
		2	17	1				
		2	18	1				
		3	13	1				
		3	15	2				
		3	16	1				
Gabias I 61	3	0	14	1	30	-0,05	0,27	0,70-0,90
		0	15	1				
		0	16	1				
		1	12	1				
		1	14	1				
		1	15	1				
		2	12	1				
		2	13	2				
		2	14	11				
		2	15	6				
		2	16	3				
		2	17	1				
	5	1	12	2	29	0,27	1,48	0,10-0,30
		1	13	6				
		1	14	4				
		1	16	2				
		2	13	6				
		2	14	3				
		2	15	3				
		2	16	2				
		3	15	1				
	6	2	13	1	26	0,14	0,70	0,30-0,50
		2	14	6				
		2	15	1				
		3	11	1				

TABLA IV.5.1. Continuación.

Muestra	Macho	Nº Bs	Nº quismas	Nº células	N	r	t	P
		3	12	6				
		3	13	5				
		3	14	3				
		3	15	1				
		5	14	1				
		5	17	1				
	7	1	11	3	25	0,61	3,69	0,001-0,01
		1	12	3				
		1	13	6				
		1	14	4				
		1	15	1				
		2	12	1				
		2	13	2				
		2	14	2				
		2	17	1				
		3	16	1				
		3	17	1				
	8	1	11	1	30	0,25	1,37	0,10-0,30
		1	12	1				
		1	13	1				
		2	12	4				
		2	13	1				
		3	12	6				
		3	13	4				
		3	14	3				
		4	12	2				
		4	13	3				
		4	15	1				
		5	13	1				
		5	14	1				
		5	15	1				
	9	1	14	1	30	-0,35	1,99	0,05-0,10
		1	15	1				
		1	16	3				
		1	17	2				
		1	18	4				
		1	19	1				
		2	13	2				
		2	14	1				
		2	15	4				
		2	16	4				
		2	17	2				
		2	18	1				
		3	15	2				
		3	16	1				
		3	17	1				
	11	2	12	1	29	-0,27	1,44	0,10-0,30
		2	13	2				
		2	14	6				

TABLA IV.5.1. Continuación.

Muestra	Macho	Nº Bs	Nº quiasmas	Nº células	N	r	t	P
		2	15	9				
		2	16	6				
		2	18	1				
		3	13	1				
		3	14	1				
		4	14	2				
12	1	12	12	2	28	0,35	1,91	0,05-0,10
	1	13	13	11				
	1	14	14	8				
	1	15	15	1				
	1	16	16	1				
	2	13	13	2				
	2	15	15	2				
	2	16	16	1				
13	3	14	14	1	30	-0,24	1,28	0,10-0,30
	3	15	15	1				
	3	16	16	3				
	3	17	17	3				
	3	18	18	6				
	3	19	19	3				
	3	20	20	3				
	4	15	15	3				
	4	16	16	2				
	4	17	17	2				
	4	19	19	1				
	6	16	16	1				
	6	18	18	1				
14	2	12	12	2	30	-0,16	0,85	0,30-0,50
	2	13	13	8				
	2	14	14	15				
	2	15	15	3				
	2	16	16	1				
	3	13	13	1				
15	1	16	16	1	30	-0,20	1,07	0,10-0,30
	1	18	18	2				
	1	19	19	1				
	1	20	20	1				
	2	15	15	2				
	2	17	17	3				
	2	18	18	1				
	2	19	19	1				
	3	16	16	2				
	3	19	19	6				
	3	20	20	1				
	2	22	22	1				
	4	14	14	2				
	4	15	15	1				
	4	16	16	1				
	4	17	17	3				

TABLA IV.5.1. Continuación.

Muestra	Macho	Nº Bs	Nº quiasmas	Nº células	N	r	t	P
		4	20	1				
18	1	1	13	1	30	0,04	0,20	0,70-0,90
	1	1	14	6				
	1	1	15	5				
	1	1	16	4				
	1	1	17	2				
	2	2	14	3				
	2	2	15	7				
	2	2	16	1				
	2	2	18	1				
19	2	2	13	3	30	0,52	3,19	0,001-0,01
	2	2	14	1				
	2	2	15	1				
	2	2	17	1				
	3	3	14	2				
	3	3	15	6				
	3	3	16	8				
	3	3	17	5				
	3	3	18	2				
	3	3	19	1				
22	1	1	13	1	30	-0,08	0,44	0,50-0,70
	1	1	14	4				
	1	1	15	2				
	1	1	16	1				
	3	3	12	2				
	3	3	13	1				
	3	3	14	13				
	3	3	15	4				
	3	3	16	1				
	3	3	17	1				
23	2	2	14	1	29	0,12	0,62	0,50-0,70
	2	2	16	3				
	5	5	13	1				
	5	5	14	5				
	5	5	15	1				
	5	5	16	10				
	5	5	17	3				
	5	5	18	4				
	5	5	19	1				
24	1	1	12	6	30	0,16	0,85	0,30-0,50
	1	1	13	2				
	2	2	11	2				
	2	2	13	3				
	3	3	11	1				
	3	3	12	7				
	3	3	13	9				

De los 25 análisis efectuados en machos portadores de accesorios, 21 no daban correlación de ningún tipo, 1 resultó en correlación negativa y 3 indicaron correlación positiva. Parece, por tanto, que la frecuencia media de quiasmas es independiente del número de cromosomas supernumerarios presentes en la célula.

Para los estudios a nivel interindividual, hemos calculado en cada macho la frecuencia media de quiasmas y la varianza para las 30 diplotenes analizadas. La Tabla IV.5.2 resume estos resultados, mostrando asimismo el número medio de Bs y la acumulación estimada en los testículos de cada individuo analizado.

TABLA IV.5.2. Frecuencia media de quiasmas, varianza entre células, número medio de Bs y acumulación estimada en los testículos de los machos de *Gabias I G0* y *G1*.

Muestra	Macho	Frecuencia media quiasmas	Varianza	Número medio Bs	Acumulación	
<i>Gabias I G0</i>	1	15,633	2,103	0	--	
	4	13,100	0,922	2,333	16,65	
	5	15,100	1,266	2,467	23,35	
	6	14,100	1,266	2,600	30,00	
	8	13,500	1,844	0	--	
	9	16,667	1,817	0	--	
	10	14,733	1,583	2,200	10,00	
	11	16,067	3,031	0	--	
	12	13,800	1,476	1,933	93,30	
	13	13,767	2,323	3,267	63,35	
	14	15,033	2,654	1,467	46,70	
	15	14,333	1,195	2,233	11,65	
	16	14,733	2,135	1,233	-38,35	
	17	15,700	3,320	0	--	
	<i>Gabias I G1</i>	3	14,433	1,288	1,300	30,00
		5	13,867	1,362	1,467	46,70
		6	13,430	1,496	3,200	6,67
7		13,900	3,614	1,500	50,00	
8		12,767	0,943	3,133	4,43	
9		16,033	2,310	1,570	57,00	
10		16,833	1,523	0	--	
11		14,700	1,459	2,670	33,50	
12		13,600	1,006	1,270	27,00	
13		17,233	2,736	3,899	30,00	
14		13,733	0,753	1,933	93,30	
15		17,567	3,842	2,044	104,40	
18		15,033	1,206	1,638	63,80	
19		15,700	2,286	2,614	30,70	
22	14,233	1,082	1,596	59,60		

TABLA IV.5.2. Continuación.

Muestra	Macho	Frecuencia media quiasmas	Varianza	Número medio Bs	Acumulación
	23	15,900	2,161	3,329	-16,78
	24	12,357	0,448	2,988	49,40
	25	13,967	1,414	3,433	14,43

La presencia de uno o más cromosomas accesorios produce efectos sobre la frecuencia de quiasmas, en el sentido de disminuir tanto la frecuencia media como la varianza entre células en los machos portadores con respecto a los no portadores. Esto sólo pudimos probarlo en Gabias I G0, donde 5 de los 14 machos eran de tipo OP (Tabla IV.5.3).

TABLA IV.5.3. Resultados de la comparación entre la frecuencia de quiasmas y la varianza del total de células analizadas en los individuos portadores y no portadores de supernumerarios.

ITEM	Tipo de machos		test	P
	+B	-B		
\bar{x}_q	14.300	15.513	t=6.912	<0.001
ϵ	0.086	0.153		
σ^2_{n-1}	1.995	3.513	F=1.761	<0.01
N	270	150		

\bar{x}_q = frecuencia media de quiasmas; ϵ = error estándar;
 σ^2_{n-1} = varianza entre células; N = número de células analizadas

Hemos realizado también análisis de correlación entre las variables referentes a la frecuencia de quiasmas (media y varianza) y frecuencia de accesorios (número medio de Bs y acumulación) para los testículos de los machos portadores de cada generación (Tabla IV.5.4).

En ninguno de los casos se ha observado correlación entre los parámetros contrastados.

TABLA IV.5.4. Resultados de los análisis de correlación efectuados entre las variables vinculadas a la frecuencia de quiasmas y frecuencia de supernumerarios en testículos de machos portadores.

Muestra	Variabes contrastadas	N	r	t	P
Gabias I G0	\bar{x}_q y \bar{x}_B	9	-0.44	1.29	0.10-0.30
	\bar{x}_q y a	9	-0.33	0.92	0.30-0.50
	σ^2 y \bar{x}_B	9	-0.28	0.78	0.30-0.50
	σ^2 y a	9	0.10	0.26	0.70-0.90
Gabias I G1	\bar{x}_q y \bar{x}_B	17	0.10	0.39	0.70
	\bar{x}_q y a	17	0.23	0.90	0.30-0.50
	σ^2 y \bar{x}_B	17	0.02	0.06	>0.90
	σ^2 y a	17	0.12	0.46	0.50-0.70

\bar{x}_q = frecuencia media de quiasmas; \bar{x}_B = número medio de Bs en testículos; σ^2 = varianza entre células para la frecuencia de quiasmas; a = acumulación estimada del accesorio en testículos.

IV.6. Frecuencia del cromosoma accesorio en las poblaciones naturales

Hemos analizado la frecuencia del cromosoma accesorio de *Locusta migratoria* en poblaciones naturales a nivel de la incidencia de individuos portadores en el total de la población.

La Tabla IV.6.1 resume las frecuencias de individuos adultos con y sin cromosoma supernumerario en las tres poblaciones estudiadas: Gabias, Padul y Baños de la Encina. En las dos primeras se han investigado tanto especímenes capturados en la naturaleza (G0), como los individuos nacidos en el laboratorio a partir de ellos (G1); en Baños de la Encina todos los machos analizados procedían del campo. La captura se llevó a cabo en Gabias durante dos años sucesivos; dentro de los descendientes de los aprehendidos en primer lugar hemos establecido dos categorías: G1 y G1'. Los individuos de Gabias I G1' son ciertos especímenes contemporáneos de los de Gabias I G1, a los que sobrevino una muerte masiva debida presumiblemente al insecticida que portaba la lechuga con que se les alimentaba.

TABLA IV.6.1. Frecuencias de individuos adultos portadores de cromosomas accesorios en las poblaciones analizadas. Los datos entre paréntesis corresponden a frecuencias relativas.

Población	Generac.	Cruce	Nº Machos analizados		Nº Hembras analizadas		Nº Adultos analizados	
			portadores	total	portadoras	total	portadores	total
Gabias I (1983)	G0		12 (0,7059)	17	--		12 (0,7059)	17
	G1		31 (0,9688)	32	--		31 (0,9688)	32
	G1'		16 (0,9412)	17	--		16 (0,9412)	17
Gabias II (1984)	G0		7 (0,7778)	9	6 (0,8571)	7	13 (0,8125)	16
	G1	5	10 (0,9091)	11	--		10 (0,9091)	11
		6	14 (0,7368)	19	--		14 (0,7368)	19
Total Gabias			90 (0,8571)	105	6 (0,8571)	7	96 (0,8571)	112
Padul	G0		6 (1,0000)	6	4 (0,8000)	5	10 (0,9091)	11
	G1	3	9 (0,6923)	13	--		9 (0,6923)	13
Total Padul			15 (0,7895)	19	4 (0,8000)	5	19 (0,7917)	24
Baños de la Encina			31 (0,8158)	33	--		31 (0,8158)	31

La frecuencia de individuos portadores de cromosomas accesorios era muy elevada en todas las muestras analizadas, variando entre el 69.23% de Padul G1 y el 96.88% en Gabias I G1. La frecuencia era bastante semejante entre machos y hembras en las dos muestras en que éstos fueron analizados.

La frecuencia de machos portadores no era significativamente diferente entre muestras de la población de Gabias recogidas en años sucesivos ($\chi^2_{(1)} = 0.005$; P: 0.90-0.95, para la comparación Gabias I G0 y Gabias II G0).

Tampoco se observaron diferencias para la frecuencia de machos portadores entre los supervivientes al envenenamiento (Gabias I G1) y sus hermanos fallecidos (Gabias I G1') ($\chi^2_{(1)} = 0.086$; P:0.7-0.8), lo que indica que la resistencia al insecticida fue similar para los individuos con o sin B.

Las muestras de individuos nacidos en nuestro laboratorio en años sucesivos (Gabias I G1 y Gabias II G1) mostraron una frecuencia similar de machos portadores ($\chi^2_{(1)} = 3.58$; P:0.05-0.10).

En Gabias I, los machos nacidos en el laboratorio (G1) mostraron una frecuencia de portadores significativamente mayor que los parentales capturados en el campo (G0) ($\chi^2_{(1)} = 6.08$; P:0.01-0.02), y mayor que las frecuencias observadas en todas las demás muestras y poblaciones, lo que indica que las condiciones del cultivo de laboratorio podrían favorecer el incremento en la frecuencia de los cromosomas accesorios en relación con las condiciones naturales.

En el siguiente año (Gabias II), sin embargo, no se observaron diferencias significativas entre las frecuencias de individuos portadores nacidos en el laboratorio (G1) y los capturados en el campo (G0) ($\chi^2_{(1)} = 0.11$; P:0.70-0.80). Las diferencias entre ambas muestras radican en que, mientras los individuos de Gabias I G0 se reprodujeron libremente en una caja de cultivo común, en Gabias II se hicieron cruces dirigidos por parejas en cajas independientes, por lo cual quedaron descartadas las posibles diferencias en el éxito reproductivo de los machos con y sin B que podrían explicar, entre otros factores, la diferencia observada en Gabias I.

Las frecuencias de individuos portadores de cromosomas accesorios en machos de la misma generación nacidos en el laboratorio (Gabias I G1) y en el campo (Gabias II G0) no mostraban diferencias significativas ($\chi^2_{(1)} = 1.58$; P:0.20-0.30).

Estas frecuencias tampoco diferían entre los machos de las tres poblaciones analizadas ($\chi^2_{(2)} = 0.75$; P:0.50-0.70).

Se ha investigado igualmente la frecuencia de embriones portadores de cromosomas accesorios en las poblaciones de Gabias y Padul. Los resultados derivados de dicho estudio se muestran en la tabla IV.6.2.

TABLA IV.6.2. Frecuencia de embriones portadores de supernumerarios. Los datos entre paréntesis corresponden a frecuencias relativas.

Población	Cruce	Puesta	Embriones portadores			Embriones no portadores			TOTAL
			Hembras	Machos	Total	Hembras	Machos	Total	
Gabias II	1	P17	24	20	44 (0,8980)	3	2	5	49
	2	P42	11	12	23 (0,7419)	3	5	8	31
	3	P39	4	14	18 (0,6000)	4	8	12	30
	4	P41	11	9	20 (0,7407)	3	4	7	27
	5	P15	16	10	26 (0,9286)	0	2	2	28
		P18	16	10	26 (0,9630)	1	0	1	27
	6	P19	7	9	16 (0,5333)	6	8	14	30
P23		10	7	17 (0,5667)	7	6	13	30	
Total Gabias II			99	91	190 (0,7540)	27	35	62	252
Padul	1	P8	16	17	33 (1,0000)	0	0	0	33
	2	P32	18	8	26 (0,8667)	2	2	4	30
	3	P36	6	10	16 (0,6154)	3	7	10	26
	4	P20	13	12	25 (0,8621)	2	2	4	29
		P26	12	9	21 (0,7000)	5	4	9	30
Total Padul			65	56	121 (0,8176)	12	15	27	148
TOTAL			164	147	311 (0,7775)	39	50	89	400

Tanto en Gabias como en Padul, la frecuencia de embriones portadores de cromosomas supernumerarios era similar en ambos sexos:

$$\text{Gabias} \Rightarrow \chi^2_{(1)} = 1.05; P:0.30-0.50$$

$$\text{Padul} \Rightarrow \chi^2_{(1)} = 0.43; P:0.50-0.70$$

Estos valores demuestran que la segregación de los cromosomas X y B en la meiosis masculina ocurre de forma aleatoria.

No existe tampoco diferencia significativa entre los embriones de Gabias y Padul para la frecuencia de individuos portadores ($\chi^2_{(1)} = 1.83$; P:0.10-0.20).

IV.7. Fertilidad femenina

Hemos medido dos componentes de la fertilidad femenina: número de huevos por puesta y proporción de huevos fértiles. Los resultados de este análisis se muestran en la Tabla IV.7.1.

TABLA IV.7.1. Fertilidad en las hembras.

Muestra	Tipo hembra	Hembra	Puesta	Nº huevos por puesta	Nº embrion. por puesta	Proporción huevos fértiles
Gabias II 60	0B	1	P6	41	26	0,6341
			P10	58	45	0,7759
			P13	52	38	0,7308
			P17	53	52	0,9811
			Total	204	161	0,7892
	1B	2	P11	78	7	0,0897
			P15	74	45	0,6081
			P18	86	72	0,8372
	Total	238	124	0,5210		
	4	4	P19	60	53	0,8833
			P23	58	57	0,9828
			Total	118	110	0,9322
	6	6	P30	45	30	0,6667
			P37	62	49	0,7903
			P40	65	56	0,8615
P42			72	61	0,8472	
Total	244	196	0,8033			
7	7	P33	45	34	0,7391	
		P39	53	45	0,8491	
Total	99	79	0,7980			
10	10	P29	41	28	0,6829	
		P34	54	39	0,7222	
		P41	56	45	0,8036	
Total	151	112	0,7417			
Total hembras con 1B				850	621	0,7306
2B	9	9	P35	24	6	0,2500

TABLA IV.7.1. Continuación.

Muestra	Tipo hembra	Hembra	Puesta	Nº huevos por puesta	Nº embrion. por puesta	Proporción huevos fértiles	
Padul	0B	3	P14	33	31	0.9394	
			P21	56	52	0.9286	
			P3	25	0	0	
			P27	50	47	0.9400	
			Total		164	130	0.7927
	1B	1	P20	59	56	0.9492	
			P24	65	61	0.9385	
			P26	69	68	0.9855	
			Total	193	185	0.9585	
		5	P4	29	0	0	
			P5	51	0	0	
			P36	70	63	0.9000	
			Total	150	63	0.4200	
		6	P32	58	53	0.9138	
			P38	64	56	0.8750	
Total			122	109	0.8934		
		Total hembras con 1B		465	357	0.7677	
2B	4	P8	55	48	0.8727		
		P25	39	37	0.9487		
		Total	94	85	0.9043		

El orden de cada puesta dentro de esta tabla tiene una razón cronológica, en función del momento en que se obtuvo de la hembra progenitora. A la luz de esta distribución, resulta evidente la tendencia al incremento del número de huevos y embriones por puesta, así como de la proporción de huevos fértiles, a medida que progresa la madurez de la hembra.

En la Tabla IV.7.2 se expresan los datos globales de fertilidad para cada tipo de hembra en las dos poblaciones analizadas.

En Gabias, la proporción de huevos fértiles es similar para las hembras 0B y 1B ($\chi^2_{(1)} = 2.66$; $P:0.10-0.20$), pero es significativamente menor en la hembra de tipo 2B que hemos analizado ($\chi^2_{(1)} = 29.17$; $P < 0.001$, en la comparación con la hembra 0B; $\chi^2_{(1)} = 20.61$; $P < 0.001$, en la comparación con las hembras 1B).

Un hecho inverso se observa en Padul, donde la proporción de huevos fértiles resulta semejante para las hembras 0B y 1B ($\chi^2_{(1)} = 0.3$; P:0.50-0.70), pero es significativamente **mayor** en la hembra 2B ($\chi^2_{(1)} = 4.58$; P:0.02-0.05, al compararla con la hembra 0B; $\chi^2_{(1)} = 8$; P:0.001-0.01, cuando se compara con las hembras 1B).

TABLA IV.7.2. Proporción de huevos fértiles y fertilidad relativa encontrada en los distintos tipos de hembra.

Población	Tipo hembra	Nº hembras	Nº puestas	Nº medio huevos/puesta	Nº medio embriones/puesta	Proporción huevos fértiles	Fertilidad relativa
Gabies	0B	1	4	51,00	40,25	0,7892	0,9073
	1B	5	14	60,71	44,36	0,7414	1
	2B	1	1	24	6	0,2500	0,1353
Padul	0B	1	4	41,00	32,50	0,7927	0,7282
	1B	3	8	58,13	44,63	0,7677	1
	2B	1	2	47,00	42,50	0,9043	0,9523

Aunque los datos son insuficientes, sugieren al menos que en las dos poblaciones las hembras 0B y 1B muestran proporciones similares de huevos fértiles. No obstante, dado que las puestas de las hembras 1B constan, por término medio, de más huevos que las de las hembras 0B, el número medio de embriones por puesta resulta superior en las hembras 1B que en las hembras 0B. En consecuencia, la mayor fertilidad corresponde a las hembras 1B en las dos poblaciones.

IV.8. Transmisión

Para el estudio de la herencia de los cromosomas supernumerarios de *Locusta migratoria* hemos realizado tres tipos de cruces:

- Entre 1 macho y 1 hembra (Gabias II C₁, C₂, C₃, Padul C₁, C₂, C₃)
- Entre 2 machos y 1 hembra (Gabias II C₃, Padul C₄)
- Entre 2 machos y 2 hembras (Gabias II C₂ + C₄)

Con los primeros (cruces "por parejas"), la intención era analizar la transmisión del cromosoma B a través de los dos sexos. Con los tipos segundo y tercero (cruces "múltiples"), nuestro propósito fue investigar si las hembras de *L. migratoria* pueden aparearse y tener descendencia simultánea con más de un macho.

IV.8.1. CRUCES ENTRE 1 MACHO Y 1 HEMBRA

Gabias II Cruce 1: ♂ 7 GA II GO × ♀ 1 GA II GO

La hembra 1 carecía de cromosoma accesorio y el macho 7 poseía un número medio de Bs en los testículos de 1.743, por lo que su tasa teórica de transmisión del supernumerario era $K\sigma = 0.871$. En consecuencia, entre los embriones de la descendencia cabría esperar un número medio de Bs (\bar{x}_E) igual a $\bar{x}_E = K\sigma + Kq = 0.871 + 0 = 0.871$. El nº medio de Bs observado en los 49 embriones de la puesta P17 (1.042) era sólo ligeramente superior al teórico.

Puesto que el número de accesorios muestra variación continua tanto en los progenitores como en los descendientes, no se puede realizar la comparación de las frecuencias cariotípicas observadas y esperadas porque cada individuo posee, en lugar de un número discreto de Bs, una cifra media de supernumerarios. Por ello, hemos recurrido a realizar la comparación de las frecuencias de embriones con y sin cromosoma accesorio. El cálculo de las frecuencias esperadas para dicha comparación se realiza

como describimos a continuación:

La frecuencia de cigotos 0B esperada es el producto de la frecuencia de esperma 0B por la frecuencia de óvulos 0B. Como en el cruce 1 la hembra era 0B, la frecuencia de cigotos 0B esperada corresponderá con la frecuencia de esperma 0B. Para calcular la frecuencia de esperma 0B hemos de tener en cuenta el comportamiento meiótico de los cromosomas accesorios de *L. migratoria* durante la espermatogénesis, que fue descrito por Camacho (1980).

Los espermatocitos con 1B deben dar lugar a esperma 0B y 1B en proporción 1:1.

Según Camacho (*op. cit.*), en el 97.3% de los espermatocitos con 2B se observa un bivalente B en metafase I, y en el 2.7% dos univalentes B. Los primeros darán lugar a espermatozoides con 1B, mientras que los segundos, asumiendo segregación al azar de los dos univalentes B, darán lugar a esperma 0B, 1B y 2B en proporciones 1:2:1. Por tanto, los espermatocitos con 2B originarán una frecuencia de esperma 0B igual a $0.027 \times 1/4 = 0.00675$.

Los espermatocitos con 3B forman en metafase I un 5.56% de trivalentes B, un 76.39% de bivalentes B más un univalente B y un 18.05% de tres univalentes B. Mientras que ninguno de los dos primeros tipos de configuración meiótica dará lugar presumiblemente a esperma 0B, el tercer tipo puede formarlo si asumimos que los univalentes B migran aleatoriamente en anafase I. En ese caso, se formaría esperma 0B, 1B, 2B y 3B con probabilidades 0.125, 0.375, 0.375 y 0.125, respectivamente, tal como resulta de aplicar la expresión binomial $n!/x!y! \cdot p^xq^y$ para calcular la probabilidad de cada uno de los cuatro casos. En dicha expresión, n sería el número de univalentes B en el espermatocito; x , el nº de univalentes B que migran al polo que dará lugar al espermatozoide considerado; y , el nº de univalentes B que migran al polo opuesto; y p y q , las probabilidades de que un univalente B vaya a uno (1/2) u otro polo (1/2). De este modo, la probabilidad total de esperma 0B obtenido a partir de espermatocitos con 3B es: $0.1805 \times 0.125 = 0.02256$.

Respecto a los espermatocitos con 4B, Camacho (*op.cit.*) hizo un recuento en diplotene que puede ser extrapolado a metafase I, dado que en espermatocitos con 2 y 3 accesorios coincidían los recuentos realizados por este autor en ambas etapas meióticas. Así, el 64.44% de los espermatocitos primarios contenían dos univalentes B; el 26.67% un bivalente más dos univalentes B; y el 8.89% cuatro univalentes B. Los dos

primeros tipos celulares no dan lugar a esperma 0B. En cambio, si los cuatro univalentes segregan al azar, pueden originar esperma 0B, 1B, 2B, 3B y 4B, con frecuencias 0.0625, 0.25, 0.375, 0.25 y 0.0625, respectivamente. En total, los espermatoцитos con 4B formarán esperma 0B con una frecuencia: $0.0689 \times 0.0625 = 0.00556$.

A continuación, se resumen las probabilidades de formar esperma 0B por parte de espermatoцитos con distintos números de supernumerarios:

Nº Bs en espermatoцитos	Probabilidad esperma 0B
0	1
1	0.5
2	0.00675
3	0.02256
4	0.00556

Teniendo en cuenta estos valores, el macho 7 formará esperma 0B con la frecuencia calculada en la tabla IV.8.1, en función de las frecuencias de folículos con distinto número de Bs (en aquellos con número constante de accesorios) y de células con distinto número de Bs (en los folículos con inestabilidad intrafolicular del supernumerario).

TABLA IV.8.1. Frecuencia de esperma 0B formada por el macho 7 GA II GO.

	Folículos con					Total
	0B	1B	2B	1.25B	2.6B	
Número	0	5	13	1	1	20
Frec. relat.	0	0.25	0.65	0.05	0.05	
Frec. esperma 0B	0	0.125	0.00439	0.01875	0.00081	0.14903

En los folículos con número constante de Bs (0,1,2, etc.) la frecuencia de esperma 0B resulta de multiplicar la frecuencia de cada tipo de folículo por la probabilidad de formar esperma 0B por los espermatoцитos de ese mismo tipo de folículo. Por ejemplo, en los folículos 1B este valor es $0.25 \times 0.5 = 0.125$, y en los folículos con 2B es $0.65 \times 0.00675 = 0.00439$.

En los folículos con número variable de Bs entre células, la

contribución a la formación de esperma OB se obtiene de multiplicar la frecuencia relativa de cada folículo por la probabilidad total de esperma OB resultante de sumar las probabilidades particulares de cada tipo celular observado. Por ejemplo, en el folículo con 2.6 Bs se observaron 4 células con 2B y 6 con 3B. La frecuencia de esperma OB en este folículo se calculó por la siguiente operación:

$$[(4/10 \times 0.00675) + (6/10 \times 0.02256)] \times 0.05 = 0.00081$$

En total, el macho 7 formaba esperma OB con una frecuencia 0.14903, que se corresponde con la frecuencia esperada de cigotos OB en el cruce 1, dado que la hembra 1 era OB. Esto supone que se deberían esperar $0.14903 \times 40 = 7.3$ embriones OB y 41.7 embriones con B. Comparando estos valores con los observados en este cruce (5 y 44, respectivamente) no se observaron diferencias significativas ($\chi^2_{(1)} = 0.85$; P:0.30-0.50), lo que demuestra que la transmisión del B fue mendeliana en este cruce. Este resultado lleva implícito que los espermatozoides con B y sin B fecundan por igual a los óvulos OB.

Otra forma de análisis de la transmisión del B en estos cruces consiste en calcular las frecuencias de todos los tipos posibles de espermatozoides que puede formar el macho progenitor y combinarlos con los distintos tipos de óvulos producidos por la madre, con lo que se obtienen las frecuencias cigóticas esperadas en la descendencia. Estas frecuencias pueden ser comparadas con las observadas en los embriones analizados si asumimos que el número de Bs más frecuentemente observado representa el número de Bs original del cigoto. De esta forma puede obviarse el problema de la inestabilidad mitótica del B en los embriones.

Las frecuencias de espermatozoides formados por el macho se deducen del comportamiento meiótico del B en la espermatogénesis (Tabla IV.8.2). Ya hemos visto cómo se calcula la frecuencia de esperma OB para cada tipo de espermatocito. Los espermatocitos OB no pueden dar lugar a otra clase de espermatozoides. Los espermatocitos 1B formarán esperma OB y 1B en proporción 1:1, como vimos.

Según las configuraciones meióticas observadas por Camacho (1980) y sus frecuencias, los espermatocitos con 2B tendrían un 97.5% de bivalentes B, todos los cuales darían lugar a espermatozoides 1B. El resto de los espermatocitos 2B, 2.7%, llevan dos univalentes B que por segregación independiente darían espermatozoides OB, 1B y 2B en proporciones 1:2:1. La

frecuencia total de esperma 1B producido por los espermatocitos con 2B será: $0.973 + 0.027 \times 0.5 = 0.9865$. La frecuencia de esperma 2B sólo dependerá de la proporción de configuraciones de 2 univalentes, al igual que la frecuencia de esperma 0B. En ambos casos, el resultado será: $0.027 \times 0.25 = 0.00675$.

Los espermatocitos con 3B podrán dar lugar a esperma 0B, 1B, 2B y 3B. Las frecuencias de la primera y cuarta clases sólo dependerán de la existencia de 3 univalentes, configuración que se observa en el 13.05% de las ocasiones. La probabilidad de que 3 univalentes B vayan al mismo polo es $0.5^3 = 0.125$, por lo que la frecuencia de cada una de estas clases es $0.1805 \times 0.125 = 0.02256$. Los otros dos tipos de configuración meiótica observados por Camacho (*op.cit.*) son un trivalente y un bivalente más un univalente. Puesto que no es predecible el comportamiento exacto de los trivalentes B, y dado que su frecuencia era muy baja, los hemos considerado como configuraciones de bivalente más univalente, porque es más probable que su comportamiento segregacional se parezca al de este tipo de configuración que al de tres univalentes. Así, nos encontraríamos con una categoría de espermatocitos cuya incidencia sería del 81.95%, y que daría lugar a esperma 1B y 2B en proporción 1:1. Por tanto, la probabilidad de encontrar esperma 1B a partir de espermatocitos 3B será: $0.1805 \times 0.375 + 0.8195 \times 0.5 = 0.47744$, frecuencia que coincidirá con la del esperma 2B.

TABLA IV.8.2. Frecuencia de las distintas clases de espermatozoides originados a partir de los diferentes tipos de espermatocitos

Tipo de espermatocito	Frecuencia de esperma con				
	0B	1B	2B	3B	4B
0B	1				
1B	0.5	0.5			
2B	0.00675	0.98650	0.00675		
3B	0.02256	0.47744	0.47744	0.02256	
4B	0.00556	0.0889	0.8111	0.0889	0.00556

Finalmente, los espermatocitos 4B presentan, como vimos, tres tipos de configuraciones: dos bivalentes (64.44%), un bivalente más dos univalentes (26.67%) y cuatro univalentes (8.89%). El primer tipo originará indefectiblemente esperma 2B. En el segundo, si los dos univalentes segregan al azar, formarán esperma con 0B, 1B y 2B (1:2:1). Como cada

cromosoma del bivalente migra a un polo, el resultado final de los espermatozoides surgidos de esta configuración meiótica será 1B, 2B y 3B en proporciones 1:2:1. Ya hemos considerado el caso de que se presenten cuatro univalentes: se formará esperma 0B, 1B, 2B, 3B y 4B en proporciones 0.0625, 0.25, 0.375, 0.25, y 0.0625. De todo ello se derivan los cálculos de las siguientes frecuencias de esperma:

$$\text{Esperma 0B} = \text{Esperma 4B} = 0.0889 \times 0.0625 = 0.00556$$

$$\text{Esperma 1B} = \text{Esperma 3B} = 0.0889 \times 0.25 + 0.2667 \times 0.25 = 0.0889$$

$$\text{Esperma 2B} = 0.0889 \times 0.375 + 0.2667 \times 0.5 + 0.6444 = 0.8111$$

Aplicados estos valores al caso del macho 7 (ver Tabla IV.8.1), éste resultó formar las siguientes frecuencias gaméticas:

$$0.14903 \text{ (0B)}, 0.8314 \text{ (1B)}, 0.0189 \text{ (2B)}, 0.0007 \text{ (3B)}$$

Como la hembra 1 era 0B, estas frecuencias se corresponden con las frecuencias cigóticas esperadas en la descendencia. Como se analizaron 49 embriones de la puesta P17, los números esperados eran :

$$7.3 \text{ (0B)}, 40.7 \text{ (1B)}, 1 \text{ (2 ó 3 Bs)}$$

Cuando en la puesta P17 se considera en número más frecuente de Bs observados en cada embrión como en número cigótico original resultan las siguientes frecuencias:

$$5 \text{ (0B)}, 38 \text{ (1B)}, 6 \text{ (2B)}$$

Comparando estos valores con los esperados resultó que existen diferencias significativas ($\chi^2_{(2)} = 25.9; P < 0.001$), debido a que se obtuvo un exceso de embriones 2B. Este exceso pudo originarse como consecuencia de una frecuencia de formación de bivalentes B en los folículos 2B del macho 7 menor que la determinada por Camacho (1980) en machos de otra población, y que ha sido utilizada para calcular las frecuencias esperadas de los distintos tipos de esperma en el macho 7.

Gabias II Cruce 3: ♂ 14 GA II GO × ♀ 7 GA II GO

El macho 14 carecía de cromosomas accesorios y la hembra 7 poseía 1 supernumerario, por lo que el número medio de Bs esperado en los embriones era $\bar{x}_E = 0.5$. Aunque el número medio de Bs observado en los embriones de la puesta P39 era 0.7, sin embargo, las frecuencias observadas y esperadas de embriones con o sin B no mostraron diferencia significativa:

	+ B	- B	
Observados	18	12	$\chi^2(1) = 1.2; P:0.20-0.30$
Esperados	15	15	

Esto demuestra que aproximadamente la mitad de los óvulos producidos por la hembra 7 llevaban el cromosoma B y, por tanto, que la transmisión de éste por la hembra es mendeliana. Por otra parte, las frecuencias cigóticas originales en la puesta P39 eran: 12 (0B), 17 (1B) y 1 (2B). El embrión 28 hubo de originarse necesariamente por no disyunción del B en la meiosis femenina.

Gabias II Cruce 5: ♂ 9 GA II GO × ♀ 2 GA II GO

El macho 9 mostraba un número medio de Bs en sus testículos de 1.978 y la hembra 2 tenía número variable de supernumerarios en sus ovariolas, con un valor medio de 0.8. Así, las tasas teóricas de transmisión del B en los progenitores eran $K\sigma = 0.989$ y $K\phi = 0.4$. Por tanto, el número medio de Bs esperado en los embriones era 1.389 (o bien 1.489, ya que desconocemos si el número de Bs en las células de las paredes ovariolares refleja o no el número de accesorios en los ovocitos). De este cruce analizamos dos puestas, P15 y P18, cuyos resultados se expresan a continuación.

	P15	P18	Total
\bar{x}_E	1.629	1.648	1.638
ϵ	0.157	0.155	
+B	26	26	52
-B	2	1	3
Total	28	27	55

El número medio de supernumerarios (\bar{x}_E) no difería entre ambas puestas ($t = 0.086$, $P > 0.90$), pero era ligeramente superior al teórico. No obstante, el test de Ji-cuadrado para las frecuencias de portadores y no portadores del cromosoma supernumerario indicó que las frecuencias observadas de estos dos tipos de embriones se ajustaban a las esperadas bajo una transmisión mendeliana del B por ambos sexos.

Este test lo realizamos, al igual que en el cruce 1, calculando las frecuencias de cigotos OB esperadas como el producto de las frecuencias de esperma OB y óvulos OB. La frecuencia de esperma OB fue calculada teniendo en cuenta las probabilidades de esperma OB a partir de espermatocitos con distinto número de Bs expresadas en la Tabla IV.8.3.

TABLA IV.8.3. Frecuencia de esperma OB en el macho 9 GA II GO.

	Folículos con						Total
	0B	1B	2B	3B	1,222B	2,333B	
Número	1	4	7	6	1	1	20
Frec. relativ.	0.05	0.2	0.35	0.3	0.05	0.05	
Frec. esper. OB	0.05	0.1	0.00236	0.00677	0.01952	0.00060	0.17925

La frecuencia de óvulos OB era $1 - K_0 = 0.6$, por lo que la frecuencia esperada de cigotos OB era $0.1793 \times 0.6 = 0.1076$, que en el total de los 55 embriones analizados representa 5.917 embriones OB esperados y, por tanto, 49.083 embriones con B. La comparación de estos valores con los observados (3 y 52, respectivamente) no puso de manifiesto diferencias significativas ($\chi^2_{(1)} = 1.11$; $P: 0.20-0.30$), demostrando la transmisión mendeliana del B en este cruce.

Las frecuencias de los distintos tipos de esperma calculadas para el macho 9 eran:

0.17925 (0B), 0.65975 (1B), 0.15385 (2B), 0.00714 (3B)

Las frecuencias en óvulos eran: 0.6 (0B), 0.4 (1B).

Las frecuencias cigóticas esperadas resultantes de la combinación aleatoria de estos gametos fueron:

0.10755 (0B), 0.46755 (1B), 0.35621 (2B), 0.06582 (3B), 0.00286 (4B).

En las puestas P15 y P18, las frecuencias cigóticas originales (considerando el número de Bs más frecuente en cada embrión como el número de supernumerarios original del cigoto) eran:

3 (0B), 21 (1B), 25 (2B), 5 (3B), 1 (4B)

Comparando estas frecuencias con las esperadas en los 55 embriones no se observaron diferencias significativas, lo que demuestra de nuevo que la transmisión del B fue mendeliana en el cruce 5.

	0B	1B	2B	3 ó 4 Bs	
Observadas	3	21	25	6	$\chi^2_{(3)} = 5.1; P: 0.10-0.20$
Esperadas	5.92	25.71	19.59	3.78	

Padul Cruce 1: ♂ 7 PA 60 × ♀ 4 PA 60

El macho 7 poseía en sus testículos un número medio de accesorios de 2.691, y la hembra 4, 2.42 en sus ovariolas. Ello significa unas tasas de transmisión teóricas $K\sigma^p = 1.3455$ y $K\sigma_q = 1.121$, y por tanto, un número medio de Bs esperado en los embriones de 2.4665.

Los 33 embriones analizados de la puesta P8 poseían cromosomas supernumerarios, por lo que resultó imposible aplicar el test de Ji-cuadrado para portadores y no portadores. No obstante, la gran semejanza entre el número medio de Bs observado en los embriones (2.489) y el esperado indica que en este cruce la transmisión del B también fue de tipo mendeliano.

Las frecuencias calculadas de los distintos tipos de esperma formados por el macho 7 son:

0.06387 (0B), 0.62402 (1B), 0.28956 (2B), 0.02166 (3B), 0.00089 (4B)

La hembra 4 mostraba un número medio de Bs en las ovariolas de 2.242 resultante de la observación de 5 ovariolas con 2B y tres con 3B, y dos con número variable de supernumerarios (Tablas IV.2.5 y IV.2.6). Puesto que desconocemos el comportamiento de los Bs en la meiosis femenina, asumiremos que en ovocitos con dos o más Bs, éstos se transmiten

independientemente. Así, las frecuencias de los distintos tipos de óvulos esperados en las hembras serían:

Tipo de ovocito	Frecuencia de óvulos				
	0B	1B	2B	3B	4B
0B	1				
1B	0.5	0.5			
2B	0.25	0.5	0.25		
3B	0.125	0.375	0.735	0.125	
4B	0.0625	0.25	0.375	0.25	0.0625

Aplicado este criterio a la hembra 4 resultaron las siguientes frecuencias de óvulos:

0.23068 (0B), 0.45341 (1B), 0.27841 (2B), 0.0375 (3B)

Combinando las frecuencias gaméticas se obtienen las siguientes frecuencias cigóticas esperadas:

0.01473 (0B), 0.17291 (1B), 0.36751 (2B), 0.31241 (3B), 0.13244 (4 ó más Bs)

En la puesta P8 observamos las siguientes frecuencias de los diferentes tipos de embriones en función de los números cigóticos originales de Bs:

3 (1B), 17 (2B), 9 (3B), 3 (4B)

Comparadas estas frecuencias con las esperadas, no se observaron diferencias significativas, lo que demuestra que la transmisión del B fue igualmente mendeliana en este cruce:

	0 + 1B	2B	3B	4 ó más Bs
Observadas	3	17	9	3
Esperadas	6	11.76	10	4.24

$$\chi^2_{(3)} = 4.3; P:0.20-0.30$$

Padul Cruce 2: ♂ 9 PA GO x ♀ 6 PA GO

El macho 9 poseía en sus testículos un número medio de supernumerarios de 1.375 ($k\sigma^{\uparrow} = 0.6875$) y la hembra 6 mostraba en sus ovariolas una cifra media de Bs de 0.933 ($k\sigma^{\downarrow} = 0.4665$). Por tanto, el número medio de accesorios esperado en los embriones era $\bar{x}_E = k\sigma^{\uparrow} + k\sigma^{\downarrow} = 1.154$. El número medio de Bs observado en los embriones era superior a este valor (1.412), pero la prueba de Ji-cuadrado para la frecuencia de embriones portadores y no portadores no detectó diferencias significativas, tal como se describe a continuación:

La frecuencia de esperma OB formado por el macho 9 fue calculada por el mismo método que en los cruces anteriores (Tabla IV.8.4).

Tabla IV.8.4. Frecuencia de esperma OB en el macho 9 PA GO.

	Foliculos con				Total
	OB	1B	2B	2.5B	
Número	2	9	8	1	20
Frec. relat.	0.1	0.45	0.4	0.05	
Frec. esperma OB	0.1	0.225	0.0027	0.0071	0.3348

La frecuencia de óvulos OB formados por la hembra 6 era presumiblemente $1 - k\sigma = 0.5335$, por lo que la frecuencia esperada de cigotos OB era $0.3348 \times 0.5335 = 0.1786$. El número esperado de embriones OB entre los 30 analizados de la puesta P32 era de 5.36, y de 24.64 para los embriones portadores de accesorios. Comparados estos valores con los observados (4 y 26, respectivamente) no resultaron significativamente diferentes ($\chi^2_{(1)} = 0.17$; P:0.50-0.70), lo que demuestra una vez más la transmisión mendeliana del B.

Por otra parte, la frecuencia de los distintos tipos de espermatozoides deducidas del comportamiento meiótico del supernumerario eran en el macho 9: 0.3348 (OB), 0.6438 (1B), 0.0206 (2B), 0.00085 (3B), y las de los óvulos producidos por la hembra 6 (asumiendo transmisión mendeliana) era: 0.5335 (OB), 0.4665 (1B). Combinando estas frecuencias gaméticas resultaban las siguientes frecuencias cigóticas esperadas:

0.1786 (OB), 0.4496 (1B), 0.3113 (2B), 0.0101 (3B), 0.00039 (4B)

Así, de los 30 embriones analizados cabrían esperar 5.358 0B, 14.988 1B y 9.6537 con 2 ó más Bs. Si tomamos el número de accesorios observado en la mayoría de las células de cada embrión de la puesta P32 como el número cigótico original, se observan en dicha puesta 4 embriones 0B, 13 con 1B y 13 con 2 ó 3 Bs. Estas frecuencias no diferían significativamente de las esperadas según una hipótesis de transmisión mendeliana del supernumerario por la hembra ($\chi^2_{(2)} = 1.77$; $P:0.30-0.50$).

Padul Cruce 3: ♂ 5 PA GO × ♀ 5 PA GO

La hembra 5 poseía un cromosoma accesorio y el macho 5 mostró un número medio de Bs en sus testículos de 1.65. El número medio de supernumerarios esperado en su descendencia era, por tanto, $\bar{x}_e = k\sigma + kq = 0.5 + 0.825 = 1.325$. La cifra observada en los embriones de la puesta P36 (0.852) era, sin embargo, bastante inferior.

Las frecuencias de los distintos tipos de esperma formados por el macho 5 eran:

0.2306 (0B), 0.7160 (1B), 0.0511 (2B), 0.0023 (3B).

Las frecuencias de óvulos eran: 0.5 (0B), 0.5 (1B).

Combinando estas frecuencias gaméticas resultaron las siguientes frecuencias cigóticas esperadas:

0.1153 (0B), 0.4733 (1B), 0.3836 (2B), 0.0267 (3B), 0.0011 (4B)

La comparación entre las frecuencias observadas y esperadas de embriones portadores y no portadores de cromosomas accesorios arrojó el siguiente resultado:

	+B	-B	
Observadas	16	10	$\chi^2_{(1)} = 15.92$; $P < 0.001$
Esperadas	23	3	

Por tanto, la transmisión del B en este cruce no era mendeliana, ya que mostró transmisión significativamente reducida.

El test que comparaba las frecuencias cigóticas esperadas con las frecuencias de embriones mostrando los números cigóticos de Bs originales (sin considerar E24 y E26, por ser ambiguos), resultó:

	0B	1B	2 ó más Bs	
Observ.	10	9	5	$\chi^2_{(2)} = 21.76; P < 0.001$
Esper.	2.77	11.36	9.87	

Se puede afirmar, en consecuencia, que la transmisión del accesorio en el cruce 3 era significativamente inferior a la esperada bajo una hipótesis mendeliana.

Supongamos, no obstante, la existencia de deriva meiótica total en la hembra 5, de tal forma que el B migrara siempre al primer corpúsculo polar. En ese caso, esta hembra formaría únicamente óvulos 0B, y las frecuencias esperadas en la descendencia coincidirían con las frecuencias de esperma paterno: 0.2306 (+B) y 0.7694 (-B), que no son significativamente diferentes de las frecuencias observadas:

	+B	-B	
Observadas	16	10	$\chi^2_{(1)} = 3.47; P: 0.05-0.10$
Esperadas	20	6	

De esta forma, tendrían explicación las frecuencias de embriones portadores y no portadores observadas en la descendencia.

Sin embargo, en lo que se refiere a las frecuencias cigóticas, se observaría un exceso significativo de embriones 0B y 2 ó más Bs y defecto de embriones 1B con respecto a lo esperado, lo que indica que la explicación de los resultados puede ser aún más compleja:

	0B	1B	2 ó más Bs	
Observ.	10	9	5	$\chi^2_{(2)} = 18.3; P < 0.001$
Esper.	5.54	17.18	1.28	

IV.8.2. CRUCES ENTRE 2 MACHOS Y 1 HEMBRA

Gabias II Cruce 6: ♂ 11 GA II GO y ♂ 8 GA II GO
 × ♀ 4 GA II GO

La hembra 4 era ninfa cuando fue puesta en contacto con los dos machos. El estudio citogenético de sus ovariolas puso de manifiesto la existencia de un cromosoma accesorio. El macho 11 mostró un número medio de Bs en los testículos de 1.2 y el macho 8 de 1.714. Las tasas teóricas de transmisión eran, por tanto, 0.5 para la hembra, 0.5 para el macho 11 y 0.857 para el macho 8.

De este cruce analizamos dos puestas (P19 y P23) cuyos resultados mostramos a continuación:

	P19	P23	Total
\bar{x}_E	0.7495	0.7999	0.7747
ϵ	0.1541	0.1538	
+B	16	17	33
-B	14	13	27
Total	30	30	60

Estas dos puestas no diferían entre sí para el número medio de Bs (\bar{x}_E) ($t = 0.23$; $P: 0.70-0.90$), ni para la frecuencia de individuos portadores y no portadores del cromosoma accesorio ($\chi^2_{(1)} = 0$; $P = 1$).

La hembra 4 se observó copulando en 6 ocasiones con el macho 11 y ni una sola vez con el macho 8. No obstante, el número medio de Bs observado en los embriones (0.7747) era inferior al esperado tanto si el macho progenitor era el 11 ($\bar{x}_E = 0.5 + 0.6 = 1.1$) como si era el 8 ($\bar{x}_E = 0.5 + 0.857 = 1.357$).

Los tests para contrastar el tipo de transmisión del B considerando a cada macho por separado, se describen a continuación:

Macho 11. Las frecuencias de esperma en el macho 11 eran:

0.4271 (0B), 0.5469 (1B), 0.0249 (2B), 0.0011 (3B)

que, combinadas con las frecuencias de óvulos producidos por la hembra 4,

0.5 (0B) y 0.5 (1B), dieron las siguientes frecuencias cigóticas esperadas:

0.2136 (0B), 0.4870 (1B), 0.2859 (2B), 0.0130 (3B), 0.0006 (4B).

El test para las frecuencias de portadores y no portadores del B demostró diferencias significativas debido a la existencia de un exceso de embriones 0B, lo que demuestra transmisión reducida del supernumerario:

	+B	-B	
Observadas	33	27	$\chi^2_{(1)} = 15.72; P < 0.001$
Esperadas	47.19	12.81	

Por otra parte, las frecuencias cigóticas de números de Bs originales eran similares en las dos puestas analizadas:

Puesta	Nº Embriones con nº original				
	0B	1B	2B	3B	
P19	14	11	4	1	$\chi^2_{(3)} = 0.08; P: 0.95-0.98$
P23	13	12	4	1	
Total	27	23	8	2	

Las frecuencias totales eran significativamente diferentes de las frecuencias cigóticas esperadas,

18.81 (0B), 29.22 (1B), 17.15 (2B), 0.82 (3B),

debido a exceso de embriones 0B y defecto de embriones 2B ($\chi^2_{(2)} = 20.58; P < 0.001$).

Macho 6. Las frecuencias de esperma calculadas en el macho 8 eran:

0.2240 (0B), 0.6982 (1B), 0.0744 (2B), 0.0034 (3B)

que, combinadas con las frecuencias de óvulos esperados en la hembra 4, dieron las siguientes frecuencias cigóticas esperadas:

0.1120 (0B), 0.4611 (1B), 0.3863 (2B), 0.0389 (3B), 0.0017 (4B).

Las frecuencias de embriones portadores y no portadores del supernumerario observadas diferían significativamente de las esperadas en el caso de que el macho 8 fuese el padre de los embriones analizados:

	+B	-B	
Observadas	33	27	$\chi^2_{(1)} = 68.92; P < 0.001$
Esperadas	53.28	6.72	

El mismo resultado arrojó el test para las frecuencias cigóticas:

	Embriones con				
	0B	1B	2B	3 ó 4 Bs	
Obs.	27	23	8	2	$\chi^2_{(3)} = 72; P < 0.001$
Esp.	6.72	27.67	23.18	2.43	

Se observa un número de embriones 0B significativamente superior al esperado y una cantidad sensiblemente inferior de embriones 2B.

En resumen, fuese cual fuese el macho que fertilizó a la hembra 4, se observa en la descendencia una transmisión del B significativamente reducida, resultando un exceso de embriones 0B y un defecto de embriones 2B.

Esta reducción en la transmisión del accesorio podría ser el resultado de la existencia de deriva meiótica en la hembra 4, de tal forma que el cromosoma B quedase incluido preferentemente en los corpúsculos polares. Si dicha deriva meiótica fuese total, todos los óvulos de la hembra 4 serían 0B, por lo que las frecuencias observadas en los embriones deberían corresponderse con las frecuencias de esperma.

Aplicada esta hipótesis al macho 11, podría ser aceptada para las frecuencias de embriones portadores y no portadores del cromosoma B:

	+B	-B	
Observadas	33	27	$\chi^2_{(1)} = 0.13; P: 0.70-0.80$
Esperadas	34.37	25.63	

Sin embargo, debería ser rechazada para las frecuencias cigóticas:

	Embriones con			
	0B	1B	2 ó más Bs	
Observ.	27	23	10	$\chi^2_{(2)} = 48.67; P < 0.001$
Esper.	25.53	32.81	1.56	

Ello es debido a la existencia de un defecto significativo de embriones con 1B y un exceso de embriones con 2 ó más Bs. Esto solo podría ser explicado por una mayor frecuencia de esperma con 2 ó más supernumerarios producida por el macho 11.

En el caso de que el macho 8 fuese el progenitor de los embriones analizados, la deriva meiótica total en la hembra sería insuficiente para explicar el exceso de embriones 0B:

	+B	-B	
Observadas	33	27	$\chi^2_{(1)} = 17.63; P < 0.001$
Esperadas	46.56	13.44	

Tampoco podría interpretarse el defecto de embriones 1B ni el exceso de aquellos que muestran 2 ó más Bs:

	Embriones con			
	0B	1B	2 ó más Bs	
Observ.	27	23	10	$\chi^2_{(2)} = 28.28; P < 0.001$
Esper.	13.44	41.89	4.67	

Tanto estos resultados como el hecho de que el macho 8 no fue observado copulando con la hembra 4, nos indican que presumiblemente este macho no contribuyó a la descendencia del cruce 6.

Padul Cruce 4: ♂ 2 y ♂ 3 PA GO x ♀ 1 PA GO

La hembra 1 poseía un cromosoma accesorio en sus ovariolas. El macho 2 mostró un número medio de Bs en sus testículos de 1.183, y el macho 3, 1.4. Las tasas teóricas de transmisión fueron, respectivamente, 0.5, 0.5915, 0.7.

Las dos puestas analizadas (P20 y P26) mostraron los siguientes resultados:

	P20	P26	Total
\bar{x}_E	1.428	1.016	1.219
ϵ	0.1694	0.1495	
+B	25	21	46
-B	4	9	13
Total	29	30	59

Las dos puestas no difieren ni para el número medio de Bs ($t=1.82$; $P:0.05-0.10$) ni para la frecuencia de portadores y no portadores ($\chi^2_{(1)} = 1.4$; $P:0.20-0.30$).

Los dos machos fueron observados copulando con la hembra.

Macho 2. Las frecuencias de esperma en el macho 2 eran:

0.4099 (0B), 0.5885 (1B), 0.0016 (2B).

Combinadas con las frecuencias de óvulos, 0.5 (0B), 0.5 (1B), resultan las siguientes frecuencias cigóticas esperadas:

0.2050 (0B), 0.4992 (1B), 0.2950 (2B), 0.0008 (3B).

Las frecuencias observadas de embriones con B y sin B no diferían de las frecuencias esperadas:

	+B	-B
Observadas	46	13
Esperadas	46.91	12.09

$\chi^2_{(1)} = 0.086$; $P:0.70-0.80$

Las dos puestas mostraban frecuencias cigóticas originales semejantes:

Puesta	Nº Embriones con nº original			
	0B	1B	2B	3B
P20	4	12	9	3
P26	9	11	8	1
Total	13	23	17	4

$$\chi^2_{(2)} = 2.38; P:0.30-0.50$$

Las frecuencias cigóticas esperadas en los 57 embriones eran:

11.68 (0B), 28.45 (1B), 16.82 (2B), 0.0456 (3B)

y no diferían de las observadas ($\chi^2_{(2)} = 2.2; P:0.30-0.50$).

Macho 3. Las frecuencias de esperma calculadas en este macho fueron:

0.3285 (0B), 0.6442 (1B), 0.0262 (2B), 0.0011 (3B)

que, combinadas con las frecuencias de óvulos, 0.5 (0B), 0.5 (1B), resultaron en las siguientes frecuencias cigóticas esperadas:

0.1642 (0B), 0.4863 (1B), 0.3352 (2B), 0.0137 (3B), 0.0006 (4B).

Las frecuencias observadas de individuos portadores y no portadores de supernumerarios no diferían significativamente de las esperadas:

	+B	-B
Observadas	46	13
Esperadas	49.30	9.69

$$\chi^2_{(1)} = 1.35; P:0.20-0.30$$

Las frecuencias cigóticas observadas tampoco eran diferentes de las esperadas:

	Embriones con				$\chi^2_{(2)} = 2.28; P: 0.30-0.50$
	0B	1B	2B	3 ó 4 Bs	
Obs.	13	23	17	4	
Esp.	9.36	27.72	19.11	0.81	

Por tanto, fuese cual fuese el macho progenitor, puede admitirse que en este cruce la transmisión fue de tipo mendeliano.

IV.8.3. CRUCE ENTRE 2 MACHOS Y 2 HEMBRAS

*Gebias II Cruce 2+4: ♂ 13 y ♂ 17 GA II GO x
♀ 6 y ♀ 10 GA II GO*

Estos cuatro individuos fueron capturados en el estadio de ninfa. Se mantuvieron en la misma caja de cultivo hasta que todos ellos alcanzaron la madurez y las hembras fueron fertilizadas. Las observaciones visuales de la cópula por nuestra parte no fueron demasiado exhaustivas, por lo que sólo pudimos constatar un apareamiento entre el macho 13 y la hembra 6. A partir de entonces, separamos los cuatro individuos en dos parejas, que llamamos Cruce 2 (macho 13 x hembra 6) y Cruce 4 (macho 17 x hembra 10).

Los números medios de Bs en las gónadas de los cuatro individuos eran 0 (macho 13), 1.7 (macho 17), 0.95 (hembra 6) y 1 (hembra 10).

Las frecuencias calculadas de los distintos tipos de esperma y óvulos son resumidas en la Tabla IV.8.5.

Examinaremos a continuación la descendencia de cada hembra por separado. En la puesta P42, obtenida de la hembra 6, el número medio de Bs era de 0.762 para los 31 embriones analizados, 23 de los cuales poseían cromosomas accesorios.

Si estos embriones hubiesen sido obtenidos por fertilización del macho 13 exclusivamente, cabría esperar $0.475 \times 31 = 14.725$ individuos portadores y 16.275 no portadores, frecuencias que son significativamente diferentes de las observadas (23 y 8, respectivamente; $\chi^2_{(1)} = 8.86; P: 0.001-0.01$).

TABLA IV.8.5. Frecuencias de los diferentes tipos de esperma en los machos 13 y 17 de Gabias II G0, y de óvulos en las hembras 6 y 10 Gabias II G0.

Individuo	Esperma/óvulos con			
	0B	1B	2B	3B
♂ 13	1			
♂ 17	0.2311	0.6912	0.0743	0.0034
♀ 6	0.525	0.475		
♀ 10	0.5	0.5		

Si fuese el macho 17 el progenitor de los embriones de la puesta P42, se esperarían las siguientes frecuencias cigóticas:

0.1213 (0B), 0.4727 (1B), 0.3674 (2B), 0.0371 (3B), 0.0016 (4B).

Los números observados de individuos sin B (8) y con B (23) eran significativamente diferentes de los esperados (3.76 y 27.24, respectivamente. $\chi^2_{(1)} = 5.44$; $P:0.01-0.02$).

Podemos someter a prueba una tercera posibilidad: que la hembra fuese fertilizada por los dos machos, y que los embriones procediesen de ambos. Supongamos, en ese caso, que cada macho contribuyó con una cantidad similar de esperma, con lo que las frecuencias esperadas en la mezcla de esperma serían:

0.6155 (0B), 0.3456 (1B), 0.0372 (2B), 0.0017 (3B)

que, combinadas con las frecuencias de los dos tipos de óvulos, resultarían en una frecuencia esperada de 10.02 embriones sin B y 20.98 con B, cifras que no difieren significativamente de las observadas (8 y 23, respectivamente. $\chi^2_{(1)} = 0.6$; $P:0.30-0.50$).

Estos resultados sugieren la posibilidad de que la hembra 6 fuera fecundada por los dos machos y tuviera descendencia de ambos.

En la puesta P41, obtenida de la hembra 10, el número medio de supernumerarios era 0.873 para los 27 embriones analizados, 20 de los cuales eran portadores de cromosomas supernumerarios. Si estos individuos fueran descendientes únicamente del macho 13, cabría esperar $0.5 \times 27 =$

13.5 embriones portadores y 13.5 no portadores de cromosomas B, frecuencias que son significativamente diferentes de las observadas ($\chi^2_{(1)} = 6.26$; $P:0.01-0.02$).

Si el padre fuera el macho 17, se esperarían las siguientes frecuencias cigóticas en la descendencia:

0.1155 (0B), 0.4612 (1B), 0.3828 (2B), 0.0389 (3B), 0.0017 (4B).

Los números observados de embriones con B (20) y sin B (7) eran significativamente distintos de los esperados (23.88 y 3.12, respectivamente. $\chi^2_{(1)} = 4.14$; $P:0.02-0.05$).

La tercera posibilidad es que la hembra 10 fuese fertilizada por los machos 13 y 17, teniendo descendencia con ambos. Para someter a prueba esta hipótesis, supongamos que cada macho contribuyó por igual al espermatozoide almacenado por la hembra en la espermateca. En tal caso, las frecuencias de los distintos tipos de espermatozoides serían:

0.6155 (0B), 0.3456 (1B), 0.0372 (2B), 0.0017 (3B)

que, combinadas con las frecuencias de los tipos de óvulos, producirían 8.31 embriones sin B y 18.69 con B, frecuencias que no son significativamente diferentes de las observadas (7 y 20, respectivamente. $\chi^2_{(1)} = 0.30$; $P:0.50-0.70$).

Los resultados obtenidos en estas comparaciones apoyan la idea de que la hembra 10, al igual que la hembra 6, fue fertilizada por los machos 13 y 17, teniendo descendencia con ambos. Esta conclusión está basada en la asunción de que la transmisión del B, tal como fue demostrado en nuestros cruces de 1 macho con 1 hembra, es de tipo mendeliano.

V. DISCUSSION

V. DISCUSION

V.1. Naturaleza de los cromosomas accesorios

Los cromosomas de *Locusta migratoria* reaccionan de forma muy diferente a las técnicas de bandeado C y G. Todos los autosomas muestran pequeñas bandas C paracentroméricas oscuras y algunos de ellos manifiestan, además, una banda clara.

La respuesta de los autosomas al tratamiento de bandeado G se traduce en un patrón irregular de bandas e interbandas claras y oscuras a lo largo de toda la longitud de los cromosomas. La mayoría de las bandas claras (con excepción de las centroméricas y la intersticial del M_2) se corresponden con la localización de las NORs activas de esta especie.

Cuando se tiñen con orceína los cromosomas meióticos de *Locusta migratoria*, el cromosoma accesorio exhibe en la primera profase una zona distal heteropicnótica positiva, lo que demuestra que el cromosoma B de esta especie es parcialmente heterocromático, localizándose la heterocromatina en su parte distal. Su zona proximal está compuesta por eucromatina, existiendo una pequeña banda heterocromatínica a nivel paracentromérico.

En este sentido, nuestras observaciones parecen coincidir con las de Santos (1980) en poblaciones valencianas, y John (comunicación personal) en especímenes de Australia, lo que corrobora la hipótesis de que el B de *L. migratoria* encontrado en diferentes localizaciones de la distribución mundial de esta especie (Itoh, 1934; Rees y Jamieson, 1954; Hsiang, 1958; Nur, 1969a; Kayano, 1971; Bergerard y col. 1972; Dearn, 1974; Camacho, 1980; Santos, 1980; Cabrero y col. 1984; este trabajo) es el mismo para todas ellas.

Los cromosomas accesorios, sin embargo, responden de modo distinto a los métodos de bandeado C y G. Así, aunque tras la aplicación de cualquiera de estas técnicas el B manifiesta una pequeña banda paracentromérica, seguida de una interbanda clara, el resto del cromosoma reacciona al primer tratamiento mostrando una gran banda C oscura en posición distal; por el contrario, mediante el empleo de la técnica de bandeado G, en dicho

segmento cromosómico se puede encontrar una banda oscura intersticial seguida de una interbanda clara y, finalmente, otra banda oscura de localización distal.

Esta reacción diferencial de la zona heterocromática del B con ambas técnicas de bandeado demuestra la naturaleza heterogénea de la heterocromatina contenida en el cromosoma accesorio de *L. migratoria*. A idéntica conclusión llegó Alché (1986) en su estudio de la naturaleza del cromosoma accesorio de *Eyprepocnemis plorans* mediante las mismas técnicas.

No hemos observado actividad NOR en el cromosoma supernumerario, lo cual parece ser normal para la mayoría de los cromosomas accesorios en animales. Sólo se han citado cromosomas B con organizadores nucleolares en los saltamontes *Dichroplus pratensis* (Bidau, 1986) y *Eyprepocnemis plorans* (Alché, 1986; Cabrero y col. 1987). En el segundo caso, la NOR sólo es activa cuando el supernumerario se halla translocado a uno de los autosomas del complemento.

V.2. Efectos de los cromosomas supernumerarios sobre la frecuencia de quiasmas

El análisis de la posible influencia de los Bs sobre la frecuencia de quiasmas a nivel intraindividual ha puesto de manifiesto que la cifra de quiasmas observada en una célula determinada es independiente del número de accesorios presentes en dicha célula. Se demuestra así la ausencia de efectos de los supernumerarios sobre la frecuencia de quiasmas dentro de cada individuo.

A la misma conclusión llegaron Camacho (1980) y Cabrero y col. (1984), cuando compararon, en varios machos de *Locusta migratoria* procedentes de poblaciones de Almería y Jaén, la frecuencia media de quiasmas de folículos individuales con distinto número de Bs. Los últimos autores realizaron, además, una serie de tests comparativos entre folículos, de los que dedujeron la ausencia de efectos intraindividuales para la varianza de quiasmas.

En lo que se refiere a los efectos a nivel interindividual, hemos

puesto de manifiesto que en las células de los machos portadores de accesorios se produce una disminución de la frecuencia media de quiasmas, así como de la varianza entre células, con respecto a los resultados correspondientes en machos no portadores. Este hecho se contrapone en cierta medida con la observación de Cabrero y col. (*op.cit.*), quienes no encontraron influencia alguna de los Bs sobre estos parámetros a nivel interindividual, en poblaciones de *L. migratoria* diferentes a la que hemos analizado en nuestro estudio.

Otro caso de saltamontes donde, al igual que en *L. migratoria*, los cromosomas accesorios presentan un mecanismo de acumulación en la línea germinal masculina por inestabilidad mitótica es *Cannula pellucida*. Para esta especie, se ha citado (Schroeter y Hewitt, 1974) que los Bs no tienen influencia alguna sobre la frecuencia media de quiasmas, como tampoco sobre la varianza entre células.

La única referencia dentro de ortópteros a una disminución de alguno de estos parámetros debida a la presencia de heterocromatina supernumeraria proviene de Southern (1970), quien observa en el tetigónido *Metrioptera brachyptera* una menor frecuencia media de quiasmas, así como una reducción en la varianza entre células de los individuos portadores de segmentos supernumerarios, en relación con los que no los presentan.

Es un hecho indiscutible que la elevación en el número de quiasmas en las células germinales de un individuo debe conducir a un aumento en el número de combinaciones génicas obtenidas en sus gametos, efecto que se extenderá a su progenie. Por tanto, un incremento en la frecuencia de quiasmas en individuos de cierto tipo, ya sea a nivel de media como de varianza o en ambas a un tiempo, comportará una mayor variabilidad genética en la descendencia de éstos con respecto a la nacida a partir de especímenes con menor frecuencia de quiasmas.

Desde el punto de vista adaptativo, dicha variabilidad podría ser de gran utilidad si, por ejemplo, la población se encontrase en condiciones ambientales extremas. 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 su Teorema Fundamental de la Selección Natural, cuya formulación estricta presupone la constancia del ambiente.

Posteriormente, otros autores han invocado la relación entre cantidad

de variabilidad genética y tasa de cambio evolutivo (Ayala, 1965, 1968) o las oportunidades de actuación de la selección natural (Dobzhansky y col. 1980).

Por el contrario, el que la presencia de cromosomas accesorios determine una disminución en la frecuencia de quiasmas en los individuos portadores provocará, según lo dicho, un descenso en la variabilidad genética de la población afectada. Hay que tener en cuenta que la frecuencia de machos adultos portadores es muy alta en la muestra para la que hemos detectado este efecto de los cromosomas supernumerarios: 70.59% en la generación parental capturada en la naturaleza y 96.88% en su descendencia nacida en el laboratorio. La frecuencia de adultos portadores en la población global es del 85.71%.

Ello significa que dicha población podría verse afectada por el efecto reductor sobre la variabilidad genética que causan los Bs.

Sin embargo, es precisamente el hecho de que se dé tan alto porcentaje de individuos con accesorios lo que nos lleva a pensar que los efectos de dichos cromosomas no deben ser lo suficientemente negativos como para contrarrestar los efectos incrementadores del mecanismo de acumulación en la línea germinal masculina.

Esto es corroborado por la amplia distribución geográfica que presenta *L. migratoria* y la aparición en alta frecuencia del supernumerario en poblaciones de casi todo el mundo. Se trata *L. migratoria* de una especie capaz de explotar casi cualquier tipo de habitat en prácticamente todo el mundo. Por este motivo cabe pensar que una disminución en la variabilidad genética en sus poblaciones podría, por una parte, favorecer la adaptación de la población a ambientes particulares y, por otra, disminuir su capacidad colonizadora. No obstante, ni uno ni otro efecto deben ser muy importantes, ya que el cromosoma accesorio de *L. migratoria* es muy antiguo y no ha impedido que la especie colonice casi todo el planeta.

Sin embargo, la constatación de que los individuos nacidos en el laboratorio, a partir de cruces no controlados de especímenes capturados en el campo, presentan mayor frecuencia de portadores de supernumerarios podría indicar que, en la naturaleza, la frecuencia de accesorios está de algún modo controlada por la selección, aunque también podría suceder que en las condiciones de laboratorio estuviese actuando algún tipo de selección artificial desconocida, que implicase una elevación de la frecuencia de individuos portadores.

Por otra parte, parece claro que el mecanismo de acumulación en la línea germinal masculina -presentado por el cromosoma accesorio en tan alto grado dentro de estas poblaciones- debe contribuir enormemente al mantenimiento de los supernumerarios a lo largo de las sucesivas generaciones. De hecho, la frecuencia de individuos portadores se mantiene en la naturaleza de un año a otro, como hemos demostrado para la población de Gabias.

En este sentido, es interesante destacar la correlación negativa entre frecuencia media de quiasmas por célula y grado de acumulación en la línea germinal que Cabrero y col. (1984) encontraron para los supernumerarios de ciertas poblaciones andaluzas de *L. migratoria*. Su interpretación de este hecho propone que se incrementaría la frecuencia de quiasmas cuando el grado de acumulación fuese pequeño, lo cual favorecería el mantenimiento de los Bs en las poblaciones naturales.

El resultado del mismo test de correlación, aplicado a la población de Gabias que hemos analizado en este trabajo, nos impide extraer una conclusión semejante para dicha población. No hemos encontrado correlación alguna entre frecuencia media de quiasmas y grado de acumulación, como tampoco la hallamos entre aquella y el número medio de Bs en testículos. Asimismo, cabe resaltar que no existe correlación entre la varianza para la frecuencia de quiasmas y ambas variables de la frecuencia de accesorios.

En estos resultados, si coinciden nuestros análisis con los efectuados por Cabrero y col. (*op.cit.*) en las poblaciones que analizaron.

V.3. Transmisión del cromosoma accesorio de *Locusta migratoria*

Los cruzamientos controlados en el laboratorio, en los que se cariotipan tanto los descendientes como los progenitores, son el mejor instrumento para investigar la existencia de mecanismos de acumulación de los cromosomas accesorios en cada uno de los sexos, ya que permiten medir el grado de transmisión neta del cromosoma B a la descendencia. Los cruces en los que uno de los progenitores carece de cromosoma supernumerario son especialmente informativos, debido a que muestran cómo es su transmisión por el progenitor del otro sexo.

Las investigaciones sobre la existencia de mecanismos de acumulación de los cromosomas accesorios adquieren su dimensión más importante a la hora de explicar el significado biológico de estos cromosomas, es decir, el conjunto de mecanismos -tanto de tipo biológico como de tipo ambiental- que permiten que los cromosomas B no sólo se mantengan en las poblaciones naturales, sino que en algunas de ellas lleguen incluso a alcanzar frecuencias muy elevadas que se mantienen de forma constante con el transcurrir de las generaciones.

Son tres los aspectos principales que conviene estudiar para el esclarecimiento del significado biológico de los cromosomas accesorios:

- A) Su transmisión, que delata la posible existencia de fenómenos biológicos constituyentes de mecanismos de acumulación.
- B) Su repercusión sobre la eficacia biológica de los individuos que los llevan en relación con los que no los poseen, en el ambiente particular donde vive la población.
- C) La estabilidad del polimorfismo en las poblaciones naturales a lo largo de varias generaciones sucesivas.

La presente investigación está centrada en el primer y tercer aspectos. El segundo, sin embargo, es muy difícil de analizar en *Locusta migratoria*, debido a que los individuos que suelen capturarse en la península ibérica están en fase solitaria y, por ello, casi siempre son poco numerosos. Este comportamiento hace que sea extremadamente problemática la captura en el campo del número de hembras grávidas (se necesitarían más de 50 en función de la frecuencia del B encontrada en las poblaciones analizadas en este estudio) que permitiera asegurar una cantidad suficiente de hembras de cada clase cariotípica indispensable para el análisis fidedigno de la eficacia biológica.

Tal como parecía deducirse de las conclusiones obtenidas por Lespinasse (1973, 1977, 1981) en sus investigaciones sobre la transmisión del cromosoma accesorio de *L. migratoria*, esta especie sería la única conocida que mostrara mecanismos de acumulación del B en ambos sexos. En los machos, la acumulación deriva de la inestabilidad mitótica de los cromosomas supernumerarios y su paso preferencial a la línea germinal

durante el desarrollo (Kayano, 1971). Este mecanismo de acumulación fue propuesto inicialmente por Nur (1969a), y nosotros lo hemos corroborado en la presente investigación.

En las hembras, la acumulación de los supernumerarios, según Lespinasse, tendría lugar por deriva meiótica de éstos, que provocaría su inclusión preferencial en los oocitos.

Este doble mecanismo de acumulación podría, por sí sólo, explicar cualquier frecuencia de accesorios observada en las poblaciones naturales por alta que fuera. Esto fue lo que nos llevó a revisar los datos de Lespinasse respecto a la transmisión de los cromosomas B de *L. migratoria*, además del hecho de que encontramos algunas deficiencias en su método de análisis de los resultados, ya que en ningún caso sometió a prueba la transmisión de los accesorios bajo la perspectiva mendeliana de la hipótesis binomial correspondiente en función del número de cromosomas supernumerarios aportados por los progenitores.

En su artículo de 1973, Lespinasse indicó que durante la mitosis, los Bs son muy estables y pueden o no aparearse. Cuando hay dos accesorios, en caso de sinapsis, el número de animales con dos Bs en la progenie es ligeramente menor que el de los parentales; en caso de asinapsis, hay una mayor letalidad de individuos y oocitos con dos Bs. Nosotros hemos reexaminado sus resultados experimentales, agrupando los datos de todos los cruces idénticos, con objeto de obtener un número mayor de progenie para los análisis estadísticos (Tablas V.3.1 y V.3.2).

De los datos que este autor obtuvo en 1973 concluimos que las proporciones de la progenie de cruces que implicaban 1B siguen una distribución 1:1. En los cruces donde intervenían dos Bs, las proporciones son, en general, las esperadas para una distribución 1:2:1 cuando cada progenitor porta 1B. Si es el macho quien exhibe los dos Bs, hay una supervivencia diferencial hacia el estado adulto que conduce a una eliminación de los Bs, aunque en el estadio embrionario aún se observe una distribución independiente (1:2:1). Dicha eliminación implica una mortalidad mayor de los embriones 2B, mostrando estos cruces las frecuencias más bajas de eclosión (63.65%) en todos los cruces de Lespinasse. Cuando la hembra porta los 2Bs, la transmisión hacia los embriones no es independiente, siendo el número medio de accesorios en ellos (0.9) más bajo que el esperado (1), lo cual indica una eliminación de supernumerarios en las hembras de este tipo durante la meiosis. A partir de los datos de Lespinasse concluimos que se produce tanto una eliminación meiótica de Bs

en las hembras 2B como en la progenie de los machos 2B, por medio de una mortalidad selectiva de los embriones 2B.

En 1977, Lespinasse calculó la frecuencia de embriones con 2 y 3 Bs procedentes de cruces que implicaban 2 y 3 Bs, respectivamente, y los comparó con los correspondientes a cruces en los cuales los 2B fueron aportados, respectivamente, por el macho y por la hembra. Concluyó que en *L. m. migratorioides* existe un mecanismo de acumulación de los Bs en las hembras (con 2 ó más Bs) que resulta presumiblemente de la segregación preferencial de los accesorios en el pronúcleo de la hembra, al igual que una eliminación del cromosoma supernumerario durante el desarrollo embrionario y larval por medio de no disyunción mitótica.

TABLA V.3.1. Resultados obtenidos de los cruces experimentales realizados por Lespinasse en *L. migratoria*. Los datos de algunos cruces semejantes han sido agrupados con objeto de obtener un número de individuos entre la progenie y, así, incrementar el significado de los tests estadísticos.

Año experim. Lespinasse	Nº Bs implic. en cruces	Tipo de cruce	Código tipo cruce	Nº cruce Lespinas.	% medio eclosión	Progenie											
						Embriones con:					Adultos con						
						0B	1B	2B	3B	4B	0B	1B	2B	3B	4B		
1973	1	♂1B × ♀0B	1	4, 6, 9, 13, 20, 25	89.95	131	121				70	60					
		♂0B × ♀1B	2	5, 12, 17, 19, 21, 22, 27, 30	90.64	192	175				85	81					
	2	♂2B × ♀0B	3	3, 28	63.65	28	48	22			16	39	4				
		♂0B × ♀2B	4	11, 24, 33	87.00	35	110	18			22	61	7				
		♂1B × ♀1B	5	15, 18, 23, 26, 29, 31	82.55	93	213	84			49	97	30				
1977	2	♂2B × ♀0B	6	62, 69, 70	82.83	12	36	12			6	9	5				
		♂0B × ♀2B	7	50, 54, 71, 77	82.43	21	46	28			10	22	16				
		♂1B × ♀1B	8	51, 53, 59, 66, 75, 81, 88	81.71	35	85	33			11	25	12				
	3	♂1B × ♀2B	9	52, 55, 57, 58, 64	78.32	19	55	49	23		6	22	26	2			
		♂2B × ♀1B	10	56, 67, 80, 86, 90	79.30	15	48	44	11		5	23	28	4			
	4	♂2B × ♀2B	11	(see Table 3 from Lespinasse's report)	78.96	23	83	253	121	43	9	37	98	6	6		
	1981	1	♂1B × ♀0B	12	E ₄	83.70	26	30				12	10				
			♂1B × ♀0B	13	P ₅	79.42	10	10									
			♂0B × ♀1B	14	E ₇ , E ₈	81.41	66	55				13	11				
		2	♂0B × ♀1B	15	P ₁₀	88.40	9	11				7	8				
			♂2B × ♀1B	16	E ₂	78.39	15	42	13			6	20	8			
♂2B × ♀0B			17	P ₂	71.88	6	9	5			4	11	5				
♂0B × ♀2B			18	P ₁	82.57	4	9	7			9	19	12				
3		♂1B × ♀1B	19	E ₁	81.85	6	9	5			4	7	3				
		♂1B × ♀1B	20	P ₃	75.03	5	10	5									
		♂2B × ♀1B	21	P ₇	81.80	2	9	9	3		1	5	12	2			
4		♂1B × ♀2B	22	P ₄ , P ₆	67.55	7	26	42	15		4	10	20	2			
		♂2B × ♀2B	23	P ₈	81.56	1	4	13	8	4	2	2	16	0	0		

En nuestro análisis de estos mismos datos (Tabla V.3.2), encontramos que en los cruces donde estaban involucrados 2 ó 3 Bs, no existe ni acumulación ni eliminación de los cromosomas accesorios ya que, en todos los casos, la transmisión de los Bs es independiente (1:2:1 en cruces 2B; 1:3:3:1 en cruces 3B) y que las diferentes clases de embriones con distinto número de accesorios muestran una supervivencia similar. En los cruces donde tanto el macho como la hembra eran portadores de 2B, la transmisión de los supernumerarios no es independiente (1:4:6:4:1), y el número medio de Bs en los embriones (2.15) es más alto que el esperado (2). Sin embargo, el número medio en los adultos (1.76) es apreciablemente inferior al esperado debido a una eliminación de los embriones con 3 y 4 Bs y un aumento correspondiente del tipo 2B. Esta eliminación del accesorio debe ocurrir durante el desarrollo embrionario y larval, como aduce Lespinasse, ya que la frecuencia de eclosión de estos cruces (78.96%) es similar a la de la mayoría de los cruces.

TABLA V.3.2. Análisis realizados sobre los datos de Lespinasse de la Tabla anterior. En algunos de los últimos cruces, donde la progenie era escasa, se han agrupado los datos de embriones y adultos para obtener números mayores y más significativos.

Código tipo cruce	Nº medio Bs esperado	Nº medio Bs en embriones	Nº medio Bs en adultos	Transmisión a los embriones	Transmisión a los adultos	Superviv. al estado adulto
1	0.50	0.48	0.46	$\chi^2_{(1)} = 0.40 (1:1)$	$\chi^2_{(1)} = 0.77$	$\chi^2_{(1)} = 0.12$
2	0.50	0.48	0.49	$\chi^2_{(1)} = 0.79 (1:1)$	$\chi^2_{(1)} = 0.05$	$\chi^2_{(1)} = 0.06$
3	1.00	0.94	0.80	$\chi^2_{(2)} = 0.78 (1:2:1)$	$\chi^2_{(2)} = 11.00^{**}$	$\chi^2_{(2)} = 7.44^*$
4	1.00	0.90	0.83	$\chi^2_{(2)} = 23.00^{***}$	$\chi^2_{(2)} = 16.38^{***}$	$\chi^2_{(2)} = 0.85$
5	1.00	0.98	0.89	$\chi^2_{(2)} = 3.74 (1:2:1)$	$\chi^2_{(2)} = 5.94$	$\chi^2_{(2)} = 1.99$
6	1.00	1.00	0.95	$\chi^2_{(2)} = 2.40 (1:2:1)$	$\chi^2_{(2)} = 0.30$	$\chi^2_{(2)} = 1.44$
7	1.00	1.07	1.13	$\chi^2_{(2)} = 1.13 (1:2:1)$	$\chi^2_{(2)} = 1.83$	$\chi^2_{(2)} = 0.22$
8	1.00	0.99	1.02	$\chi^2_{(2)} = 1.73 (1:2:1)$	$\chi^2_{(2)} = 0.12$	$\chi^2_{(2)} = 0.27$
9	1.50	1.52	1.43	$\chi^2_{(3)} = 1.87 (1:3:3:1)$	$\chi^2_{(3)} = 4.95$	$\chi^2_{(3)} = 6.86$
10	1.50	1.43	1.52	$\chi^2_{(3)} = 1.28 (1:3:3:1)$	$\chi^2_{(3)} = 3.82$	$\chi^2_{(3)} = 1.93$
11	2.00	2.15	1.76	$\chi^2_{(4)} = 40.8^{***}$	$\chi^2_{(4)} = 56.2^{***}$	$\chi^2_{(4)} = 36.6^{***}$
12	0.50	0.54	0.45	$\chi^2_{(1)} = 0.29 (1:1)$	$\chi^2_{(1)} = 0.18$	$\chi^2_{(1)} = 0.15$
13	0.50	0.50		$\chi^2_{(1)} = 0.00 (1:1)$		
14	0.50	0.45	0.46	$\chi^2_{(1)} = 1.00 (1:1)$	$\chi^2_{(1)} = 0.17$	$\chi^2_{(1)} = 0.001$
15	0.50		0.54		$\chi^2_{(1)} = 0.26 (1:1)$	$\chi^2_{(1)} = 0.01$
16	1.00	0.97	1.06	$\chi^2_{(2)} = 2.91 (1:2:1)$	$\chi^2_{(2)} = 1.29$	$\chi^2_{(2)} = 0.44$
17	1.00		1.00		$\chi^2_{(2)} = 0.00 (1:2:1)$	$\chi^2_{(2)} = 0.6$
18	1.00		1.10		$\chi^2_{(2)} = 1.47 (1:2:1)$	$\chi^2_{(2)} = 0.16$
19	1.00		0.94		$\chi^2_{(2)} = 0.35 (1:2:1)$	
20	1.00		1.00		$\chi^2_{(2)} = 0.00 (1:2:1)$	
21	1.50		1.65		$\chi^2_{(3)} = 2.83 (1:3:3:1)$	
22	1.50	1.72	1.56	$\chi^2_{(3)} = 6.65 (1:3:3:1)$	$\chi^2_{(3)} = 5.48$	$\chi^2_{(3)} = 3.11$
23	2.00	2.33	1.70	$\chi^2_{(4)} = 4.76 (1:4:6:4:1)$		

Es difícil determinar si la transmisión incrementada de los Bs en los cruces que implican 4 Bs ocurre a través del macho, de la hembra, o de ambos. Lespinasse (1977) encontró que los supernumerarios son mitóticamente inestables en las ovariolas de las hembras con 2, 3 ó 4 BS, y también en los testículos de los machos con 2, 3 ó 4 Bs, cuando estos individuos forman parte de la progenie de cruces que involucran 3 ó 4 accesorios. Es posible que esta inestabilidad pudiera explicar la transmisión incrementada de los Bs en los cruces 4B.

En 1981, Lespinasse estudió 7 poblaciones naturales de *L. migratoria*, concluyendo de nuevo que la transmisión de los Bs es similar para todas ellas. De esta forma, la transmisión binomial se modifica a causa de un mecanismo de acumulación que comporta la segregación preferencial de los accesorios en el pronúcleo femenino y por medio de un mecanismo de acumulación durante el desarrollo embrionario y larval.

En el examen de sus cruces experimentales (Tabla V.3.2), hemos encontrado de nuevo que la transmisión de los Bs es binomial en todos los casos. Además, teniendo en cuenta el mecanismo de acumulación que existe en los testículos de los machos de *L. migratoria* (Nur, 1969; Kayano, 1971; este trabajo), es raro encontrar en las poblaciones naturales machos con un número entero de Bs. Lespinasse (1981) no menciona dicho mecanismo de acumulación en los machos que estudia, aunque nosotros pensamos que este es un importante factor a considerar cuando se analizan sus cruces experimentales.

En resumen, creemos que el único mecanismo de acumulación de los cromosomas accesorios que ha sido demostrado hasta la fecha en *L. migratoria* es el que se deriva de su inestabilidad mitótica en la línea germinal masculina (ver Kayano, 1971) y, además, que puede haber cierta eliminación de los Bs cuando los individuos portan un alto número de ellos.

El análisis de la transmisión de los cromosomas accesorios de *L. migratoria* realizado por nosotros tenía el doble objetivo de demostrar la existencia de posibles mecanismos de acumulación (además del que ocurre durante el desarrollo de los machos) y, por otra parte, de averiguar si las hembras de esta especie pueden ser fertilizadas por más de un macho y tener descendencia de todos ellos. El primer aspecto queda aclarado en la presente investigación, mientras que el segundo puede al menos ser inferido de ella.

Puesto que conocíamos de antemano la existencia de acumulación de los cromosomas accesorios en la línea germinal masculina, cada macho progenitor fue analizado en profundidad para determinar su número medio de Bs. En las hembras progenitoras, tomamos el número medio de Bs de las ovariolas como el correspondiente a la línea germinal, a pesar de que las células estudiadas de las paredes ovariolares pueden considerarse somáticas. Pensamos que era la mejor aproximación que podíamos hacer, dada nuestra imposibilidad de analizar la meiosis femenina.

Cuando en un cruce fueron investigadas dos puestas, se observó que éstas no diferían ni para el número medio de Bs ni para la frecuencia de embriones portadores del supernumerario. Dentro de cada puesta (a excepción de la P15), además, no se observaron diferencias para la frecuencia del accesorio entre los embriones de ambos sexos (Tabla V.3.3).

TABLA V.3.3. Resultados de las comparaciones por puesta entre embriones de distinto sexo para la frecuencia media de Bs (\bar{x}_B).

Población	Cruce	Puesta	Hembras			Machos			t	P	
			\bar{x}_B	N	ϵ	\bar{x}_B	N	ϵ			
Gabias II	1	P17	1,129	27	0,112	0,937	22	0,212	0,189	0,70-0,90	
	2	P42	0,782	14	0,115	0,746	17	0,125	0,211	0,70-0,90	
	3	P39	0,666	8	0,287	0,685	22	0,115	0,061	>0,90	
	4	P41	0,905	14	0,168	0,839	13	0,190	0,261	0,70-0,90	
	5	P15	1,934	16	0,196	1,223	12	0,211	2,471	0,01-0,05	
			P18	1,626	17	0,237	1,686	10	0,128	0,221	0,70-0,90
	6		P19	0,847	13	0,274	0,675	17	0,179	0,525	0,50-0,70
		P23	0,853	17	0,220	0,730	13	0,216	0,398	0,50-0,70	
Padul	1	P8	2,779	16	0,257	2,216	17	0,167	1,842	0,05-0,10	
	2	P32	1,455	20	0,193	1,326	10	0,258	0,400	0,50-0,70	
	3	P36	0,987	9	0,278	0,781	17	0,181	0,620	0,50-0,70	
	4	P20	1,402	15	0,268	1,456	14	0,212	0,159	0,70-0,90	
			P26	1,070	17	0,213	0,944	13	0,211	0,419	0,50-0,70

Dada la inestabilidad de los cromosomas accesorios en machos y hembras, lo que implicaba que el número de supernumerarios en los progenitores de los cruces mostraba variación continua, la prueba de la hipótesis de transmisión mendeliana del B fue realizada mediante dos tipos de tests, basándose ambos en el cálculo de las frecuencias cigóticas esperadas en función de las frecuencias gaméticas esperadas del

comportamiento meiótico de los Bs en los machos. Con ello, teníamos en cuenta la acumulación de los accesorios en el macho progenitor y, por tanto, podía descartarse que el resultado de los tests estadísticos pudiera verse influido por tal acumulación.

El primer análisis consistió en comparar la frecuencia observada de embriones sin B y con B con las frecuencias cigóticas esperadas, calculadas por combinación aleatoria de los gametos paternos y maternos. Este era el test más fiable que podíamos realizar, ya que permite medir si el número medio de Bs observado en los embriones descendientes de un cruce es significativamente diferente del esperado tras sumar las tasas teóricas de transmisión del supernumerario por cada progenitor. Este análisis indica, por tanto, si el grado de transmisión del cromosoma accesorio es 0.5 por cada uno de los Bs portado por los progenitores.

El segundo tipo de test llevado a cabo consiste en comparar las frecuencias esperadas de los distintos tipos cigóticos con las frecuencias observadas de embriones con los números originales de supernumerarios correspondientes. Esta segunda aproximación al problema de medir la transmisión del B se basa, debido a la inestabilidad mitótica del accesorio en los embriones, en la asunción de que el número de Bs observado en la mayoría de las células de un embrión es la cifra de supernumerarios que poseía originalmente ese individuo en el estadio de cigoto. Este análisis permite comparar simultáneamente las diferentes combinaciones cigóticas y, por tanto, indica si la fertilización gamética es o no aleatoria. No obstante, el resultado de este test es dependiente del primero, ya que el tipo OB es considerado en ambos, por lo que debe tenerse en cuenta aquel análisis para interpretar éste.

Uno de los requisitos que deben cumplir los cruces controlados realizados en el laboratorio es que la hembra sea virgen en el instante de ser puesta en contacto con el macho, por lo que lo ideal es utilizar hembras en el último estadio ninfal. En nuestro caso, esto fue posible sólo en algunos cruces. No obstante, el control de la biología reproductora en el laboratorio nos permitió deducir que todas las hembras utilizadas eran vírgenes en el momento de ser capturadas. Esta deducción se basa en el hecho observado de que las hembras que fueron aprehendidas en estadio de ninfa tardaron unos 28 días en poner por vez primera desde que fueron fecundadas por el macho. Un periodo de tiempo similar fue detectado en las hembras que se capturaron ya adultas. En caso de estar fecundadas en el campo, pensamos que hubieran tardado menos tiempo en realizar la primera

puesta.

Cinco de los seis cruces realizados entre un macho y una hembra (3 de Gabias y 2 de Padul) mostraron transmisión mendeliana del cromosoma accesorio. El otro (cruce 3 de Padul) presentó transmisión del B significativamente reducida. En este cruce, la frecuencia observada de embriones portadores del supernumerario podría ser explicada por deriva meiótica en la hembra, pero no puede decirse lo mismo de las frecuencias de los distintos cariotipos para el número original de Bs, por lo que el resultado de este cruce no puede ser interpretado en su totalidad. Queda claro, sin embargo, que en todo caso el cromosoma accesorio no sufrió acumulación en este cruce, sino que, por el contrario, fue parcialmente eliminado.

Estos cruces descartan, por tanto:

- la existencia de un mecanismo de acumulación del B en la hembra
- la presencia de acumulación en los machos que no sea la derivada de la inestabilidad mitótica del supernumerario durante el desarrollo de la línea germinal
- la existencia de algún tipo de fertilización preferencial entre los gametos masculinos y femeninos.

El resto de cruces realizados iban encaminados a investigar la posibilidad de que las hembras de *L. migratoria* sean fertilizadas por más de un macho y tengan descendencia con cada uno de ellos. Esta investigación fue motivada a raíz de que este hecho fuese argumentado o discutido en diferentes especies de ortópteros (Hunter-Jones, 1960; Lucov y Nur, 1973; Webb y Nehaus, 1979) y porque, de ser así, habrá que tenerlo en cuenta en futuros análisis de hembras grávidas capturadas en la naturaleza y su descendencia.

Podemos asumir para estos cruces que la transmisión del B es mendeliana, o bien hay eliminación, tal como demostramos con nuestros cruces de un macho con una hembra.

En el cruce 3 de Gabias, compuesto por una hembra y dos machos, observamos transmisión deficiente del B fuese cual fuese el macho progenitor, la cual podría ser explicada por deriva meiótica total del supernumerario hacia los corpúsculos polares de la meiosis materna. Esta hipótesis podría ser admitida solamente para uno de los machos, concre-

tamente el único que fue observado copulando con la hembra, lo que descartaría al otro macho como progenitor de los embriones.

En el cruce 4 de Padul, integrado al igual que el caso anterior por una hembra y dos machos, no podría rechazarse la hipótesis de que cualquiera de los dos machos fuese el progenitor de los embriones, ya que:

- a) los dos machos fueron observados copulando con la hembra.
- b) no se apreciaba gran diferencia entre el número medio de Bs de ambos machos (1.183 y 1.40), lo que deja poco margen de sensibilidad para los tests estadísticos aplicados.

En el cruce 2+4 de Gabias, formado por dos hembras y dos machos, la transmisión mendeliana sólo puede ser asumida en el caso de que cada una de las hembras fuese fertilizada por los dos machos y tuviese descendencia de ambos. Así, la hembra 6 poseía 0.97 Bs en sus ovarias, y los dos machos eran 0B y 1.7B, respectivamente. Si dicha hembra hubiese sido fecundada por el primer macho, cabría esperar un número medio de Bs en los embriones de la descendencia de alrededor de 0.5. El número observado (0.762) era, sin embargo, superior al esperado, lo que sólo podría haberse logrado por acumulación del B en la meiosis femenina, un fenómeno que quedó descartado por los resultados obtenidos en los cruces de un macho con una hembra. No obstante, este macho fue observado copulando con la hembra, lo que indica que pudo ser padre de los embriones (o al menos de parte de ellos).

Si el macho progenitor fuese el 1.7B, el número de accesorios esperado en los embriones sería de alrededor de 1.35, casi el doble del observado. La tasa de eliminación del B que sería requerida para que pudiera aceptarse la posibilidad de que este macho fuese el único padre de los embriones, no podría ser explicada exclusivamente por deriva meiótica.

La posibilidad de que ambos machos hubiesen fertilizado por igual a la hembra 6 y que ésta tuviese descendencia con ambos no era, sin embargo, rechazada por los tests estadísticos bajo la hipótesis de transmisión mendeliana. El mismo resultado se obtuvo para la hembra 10. El cruce de dos hembras y dos machos nos permite concluir que las hembras de *Locusta migratoria* pueden tener descendencia con más de un macho simultáneamente, al menos bajo condiciones de laboratorio.

V.4. Mecanismo de acumulación de los cromosomas accesorios de *Locusta migratoria*.

De nuestra investigación sobre la transmisión de los cromosomas supernumerarios de *L. migratoria*, se deduce que el único mecanismo de acumulación mostrado por estos cromosomas es el derivado de su inestabilidad mitótica durante las mitosis embrionarias previas a la determinación de la línea germinal y su inclusión preferencial en las células destinadas a formar parte de ésta.

Resulta, por tanto, muy interesante analizar en profundidad la inestabilidad mitótica de los cromosomas accesorios durante el desarrollo embrionario, y determinar su repercusión sobre el número de supernumerarios observado en los tejidos y órganos de los individuos adultos.

En embriones de seis días, puede ya observarse la incidencia de la inestabilidad mitótica del B, ya que en muchos de ellos (61.41%) existe variación entre células para el número de supernumerarios. Esta variación sólo puede derivar de la existencia de no disyunciones primarias del cromosoma accesorio en las anafases mitóticas que dan origen a células con números de Bs contiguos al número original de Bs del cigoto, sufriendo algunas de éstas posteriores no disyunciones secundarias que dan lugar a números de accesorios más alejados de la cifra cigótica original.

La inestabilidad mitótica del B sigue en los embriones unos patrones generales que se ven reflejados en algunos tejidos adultos. Así, la frecuencia de inestabilidad es similar entre embriones hermanos procedentes de puestas distintas, pero es desigual entre embriones no hermanos (de cruces diferentes; ver tabla IV.4.1), así como también lo es entre ciegos gástricos de machos adultos obtenidos de cruces distintos (por ejemplo, los cruces 5 y 6 de Gabias; ver Tabla IV.4.3). La frecuencia de inestabilidad del B era igualmente similar en embriones de ambos sexos (Tabla IV.4.1).

A nivel poblacional, la frecuencia de inestabilidad tanto en los embriones como en los ciegos gástricos de los machos adultos era semejante en Gabias y en Padul.

En todos los machos adultos y en la mitad de las hembras se observó algún tipo de variación para el número de accesorios (Tabla IV.4.3). En las hembras, ésta era tanto inter- como intraovariolar, y también se daba en

sus ciegos gástricos. En todos los machos analizados existía variación interfolicular para el número de Bs, mientras el 30% de ellos mostraban, además, variación intrafolicular (Tabla IV.4.7). En estos machos, el 12.5% de los folículos testiculares muestran variación para el número de Bs (Tabla IV.4.8).

Los resultados sobre la inestabilidad mitótica intrafolicular eran coincidentes en los machos de Gabias y de Padul. Pensamos que tal inestabilidad intrafolicular ocurre una vez desarrollados los testículos, y podría tener lugar en las mitosis espermatogoniales premeióticas. Esta inestabilidad no parece conducir a acumulación del B, puesto que los folículos que la exhiben no tienen un número medio de supernumerarios significativamente mayor que los folículos con número constante de accesorios (Tabla IV.4.9).

En los ciegos gástricos de machos y hembras adultos fue observada una frecuencia similar de inestabilidad mitótica del B (ver Tabla IV.4.3), lo cual refleja lo obtenido en los embriones. En este mismo sentido, la frecuencia de embriones con inestabilidad mitótica del B era similar a la frecuencia de machos adultos con variación en el número de accesorios en sus ciegos gástricos (ver Tabla IV.4.4). De aquí podemos deducir que los machos con número constante de Bs en sus ciegos gástricos derivan presumiblemente de embriones sin inestabilidad mitótica del supernumerario en los seis primeros días del desarrollo y, por otra parte, que los machos con número variable de Bs en sus ciegos gástricos derivan de embriones que ya mostraban inestabilidad mitótica del accesorio a los seis días del desarrollo.

Puesto que todos los machos adultos muestran variación interfolicular para el número de Bs, no cabe duda que la inestabilidad mitótica del supernumerario se da en todos los embriones en un momento u otro de su desarrollo.

Por otra parte, la frecuencia de inestabilidad en la línea somática es constante entre sexos, entre diferentes estadios del desarrollo (embriones y adultos) y entre poblaciones. Esto nos lleva a pensar en la existencia de algún mecanismo de regulación de la inestabilidad del B, cuyo funcionamiento parece regirse por unos patrones bastante constantes.

Cuando la inestabilidad se expresa antes de los seis días conduce a variación en el número de Bs, tanto en los ciegos gástricos como en los testículos. En cambio, cuando lo hace después de los seis días, sólo produce variación en los testículos. Esto arroja alguna luz sobre el

significado de las células embrionarias que muestran inestabilidad mitótica antes de los seis días. Así, si en este periodo de tiempo tuviera lugar la determinación de las células destinadas a formar los ciegos gástricos, la inestabilidad -o estabilidad- del B en éstos podría reflejar la situación embrionaria, de tal forma que los embriones con inestabilidad desarrollasen ciegos gástricos con dicha inestabilidad. Al mismo tiempo, en los embriones sin inestabilidad se desarrollarían ciegos gástricos con número constante de Bs.

El grado de inestabilidad permite cuantificar la variación para el número de accesorios en cualquier tejido, órgano o individuo. Cuando no hay variación, su valor es 0, y siempre que la haya podrá calcularse este parámetro.

A nivel poblacional, el grado de inestabilidad del B es similar en embriones y ciegos de adultos de Padul, pero es mayor en adultos que embriones de Gabias. Esto parece indicar que la inestabilidad mitótica del supernumerario continúa en las células determinadas para ciegos gástricos aún después de los seis días en la población de Gabias, pero no en la de Padul. No obstante, cuando se hace esta comparación entre embriones y adultos hermanos, el resultado es contradictorio de unos cruces a otros en Gabias, lo que apoya la existencia de algún componente genético implicado en la regulación de la inestabilidad del cromosoma accesorio durante la embriogénesis.

La inestabilidad mitótica de los cromosomas accesorios de *L. migratoria* puede conducir a su acumulación o eliminación preferencial en cada tejido u órgano de los individuos adultos. Hemos investigado este hecho en los testículos y en los ciegos gástricos masculinos. Para ello, se han tenido en cuenta los resultados obtenidos sobre la inestabilidad del B, con las siguientes premisas:

- El número original de accesorios en el cigoto que dio origen a cada macho adulto se ve, de alguna manera, reflejado en sus ciegos gástricos.
- Si el número de Bs es constante en ciegos, éste es presumiblemente el número de supernumerarios original del cigoto. Esta hipótesis se basa en la suposición de que estos machos deriven de embriones sin inestabilidad en los seis primeros días,

periodo en el que se determinan las células de los ciegos.

- Si el número de accesorios es variable en este tejido somático, y dado que los grados de inestabilidad son en su mayoría inferiores al 50%, hemos considerado que el número de Bs observado en la mayor parte de las células representa al número de Bs cigótico original.

Calculamos así la tasa de acumulación en todos los machos analizados, y observamos que la acumulación media (30%) es similar en las dos poblaciones analizadas. También es muy semejante a las obtenidas por Nur (1969a) en poblaciones japonesas (27-32%) y por Cabrero y col. (1984) en poblaciones españolas (28.5% en Baños de la Encina y 31.9% en Carboneras).

A pesar de que la mayoría de los machos analizados mostraron acumulación del supernumerario en los testículos (Tablas IV.4.11 y IV.4.12), en algunos tal acumulación era negativa, es decir, el B resultaba parcialmente eliminado de la línea germinal. Este hecho se daba con mayor frecuencia en los machos con variación para el número de accesorios en sus ciegos gástricos que en los que no mostraban dicha variación, sobre todo en la población de Gabias.

Hemos observado resultados contradictorios entre poblaciones para la acumulación del B en la línea germinal masculina, en función de su estabilidad o inestabilidad en los ciegos gástricos y del lugar donde se desarrollaron los individuos analizados (campo o laboratorio). Así, en Gabias, los cromosomas accesorios de *L. migratoria* mostraron una mayor tendencia a la acumulación en la línea germinal masculina (38.8%) cuando eran estables en los ciegos gástricos que cuando exhibían inestabilidad (16.78%). En Padul se da el fenómeno contrario: la acumulación fue mayor en los machos con número de Bs variable en los ciegos gástricos (42.74%) que en los que mostraron número constante de supernumerarios (16.72%).

Por otra parte, en los machos con B estable en ciegos, la acumulación en testículos era mayor cuando los individuos procedían de la naturaleza que cuando habían sido criados en el laboratorio. En los machos con accesorio inestable en ciegos, sin embargo, se observó el fenómeno contrario: la acumulación era mayor en los individuos de laboratorio que en los del campo (ver Tabla IV.4.13).

La base de estas diferencias no puede ser esclarecida por el momento, aunque está claro que puede deberse tanto a diferencias en el sustrato

genético con el que se enfrentan los cromosomas accesorios en las dos poblaciones (en el primer caso), como a influencias ambientales, derivadas del cultivo en el laboratorio (en el segundo caso). Esto mismo podría explicar el hecho de que los cromosomas accesorios estudiados por Lespinasse (1973, 1977) en un cultivo de laboratorio sean mitóticamente estables en la línea germinal. De hecho, Dearn (1974) demostró una influencia de las condiciones de cultivo en el laboratorio de especímenes de *L. migratoria* sobre la frecuencia de quiasmas.

Finalmente es interesante destacar que, calculada la acumulación en los ciegos gástricos en aquellos machos con número variable de Bs en dicho tejido, ésta resultó ser negativa en todas las muestras y en la gran mayoría de los individuos. Dicho resultado parece lógico si pensamos que la inestabilidad mitótica del accesorio en los ciegos se produce, como la testicular, durante el desarrollo embrionario. Si las células con mayor número de Bs son incorporadas en la línea germinal, es de esperar que el resto quede en tejidos somáticos como, por ejemplo, los ciegos gástricos.

VI. CONCLUSIONES

VI. CONCLUSIONES

PRIMERA:

Los cromosomas accesorios son parcialmente heterocromáticos y muestran reacciones heterogéneas a diferentes técnicas de bandeado cromosómico.

SEGUNDA:

La presencia de los cromosomas supernumerarios produce una disminución en la frecuencia media de quiasmas y la varianza entre células.

TERCERA:

Los cruces controlados por parejas demuestran que el único mecanismo de acumulación de los cromosomas accesorios de *Locusta migratoria* es el derivado de su inestabilidad mitótica durante el desarrollo embrionario de la línea germinal masculina, no existiendo acumulación a través de las hembras ni tipo alguno de fertilización gamética preferencial.

CUARTA:

Los cruces controlados múltiples sugieren la posibilidad de que las hembras de *Locusta migratoria* sean en ocasiones fertilizadas y tengan descendencia con más de un macho simultáneamente.

QUINTA:

El cromosoma supernumerario muestra inestabilidad en todos los tejidos, órganos y tipos de individuos analizados.

SEXTA:

La frecuencia de inestabilidad del B en ciegos gástricos de individuos adultos es similar a la observada en embriones de seis días de edad, lo que permite deducir que aquellos machos que muestran estabilidad del accesorio en ciegos derivan de embriones con B estable y, por otra parte, los que poseen supernumerarios inestable en ciegos procederían de embriones con B inestable.

SEPTIMA:

La inestabilidad del cromosoma accesorio durante la embriogénesis conduce a su acumulación en los testículos y, paralelamente, a su eliminación de los ciegos gástricos.

VII. BIBLIOGRAFIA

VII. BIBLIOGRAFIA

- ABDEL-HAMEED, F.; ROTHAM, D.L. & FLINN, R.R. (1970). Structural and numerical aberrations in natural populations of the grasshopper *Melanoplus differentialis differentialis*. *Genetics*, 64, (Supplement 1): 1.
- ADOLPH, K.W.; CHENG, S.M. & LAEMMLI, U.K. (1977). Role of nonhistone proteins in metaphase chromosome structure. *Cell*, 12, 805-816.
- ALCHE, J.D. (1986). Significado biológico de los cromosomas accesorios de *Eyprepocnemis plorans*. Tesis de Licenciatura. Universidad de Granada. 126 pp.
- ALCHE, J.D.; NAVAS-CASTILLO, J. & CAMACHO, J.P.M. (1985). Bando G en *Eyprepocnemis plorans*. *Orthoptera*, 1, 336-339.
- AMOS, A. & DOVER, G. (1981). The distribution of repetitive DNAs between regular and supernumerary chromosomes in species of *Glossina* (Tsetse): a two-step process in the origin of supernumeraries. *Chromosoma*, 81, 673-690.
- ARANA, P.; HENRIQUES-GIL, N. & SANTOS, J.L. (1985). Factores que afectan a la coorientación en un cuadrivalente de saltamontes. *Orthoptera*, 1, 392-396.
- ARRIGHI, F.E. & HSU, T.C. (1971). Localization of heterochromatin in human chromosomes. *Cytogenetics*, 10, 81-86.
- ASHBY, G.J. (1976). Locusts. En: *The UFAW handbook on the Care and Management of Laboratory Animals*. Churchill Livingstone. Edimburgo. 635 pp.
- AVDULOV, N. & TITOVA, N. (1933). Additional chromosomes in *Paspalum stoloniferum* Bosco. *Bull. Appl. Bot. Genet. and Plant Breeding*, 11-d series 2, 165-172.
- 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.
- BABCOCK, E.B. (1947). The genus *Crepis*, part two. *Univ. Calif. Bot.*, 22
- BAHR, G.F. & LARSEN, P.M. (1974). Structural "bands" in human chromosomes. *Adv. Cell. Mol. Biol.*, 3, 191-212.
- BAHR, G.F.; MIKEL, U. & ENGLER, W.F. (1973). Correlates of chromosomal banding at the level of ultrastructure. In: *Chromosome identification - Techniques and applications in Biology and Medicine* (Caspersson, T. & Zeck, L., eds.), Academic Press, New York and London, 280-289.

- BATTAGLIA, E. (1964). Cytogenetics of B-chromosomes. *Caryologia*, 17, 245-299.
- BELLA, J.L.; DE LA TORRE, J.; LOPEZ FERNANDEZ, C. & GOSALVEZ, J. Consideraciones morfométricas y cromosómicas en algunas especies del género *Arcyptera* (Orthoptera: Acrididae). *Orthoptera*, 1, 293-304.
- BERGERARD, J.; CARTON, Y. & LESPINASSE, R. (1972). Analyse électrophorétique en gel de polyacrylamide des protéines de l'hémolimpe de *Locusta migratoria*. Influence des chromosomes surnuméraires dans la sous-espèce *migratorioides* Reiche et Fairmaire. *C. R. Acad. Sci Paris*, 275, série D, 783-786.
- BICUDO, H.E.M. de C. (1982). Silver staining and the nucleolar organizing activity in *Drosophila* species of the mulleri complex and their hybrids. *Rev. Brasil. Genet.* 1, 31-50.
- BIDAU, C.J. (1986). A nucleolar-organizing B chromosome showing segregation-distortion in the grasshopper *Dichroplus pratensis* (Melanoplinae, Acrididae). *Can. J. Genet. Cytol.*, 28, 138-148.
- BLASI, K. & WALLACE, N.L. (1984). Raising grasshoppers. *Carolina Tips*, 47, 21-22.
- BLOOM, S.E. & GOODPASTURE, C. (1976). An improved technique for selective staining of nucleolar organizer regions in human chromosomes. *Human Genet.*, 34, 199-206.
- BOSEMARK, N.O. (1957). Further studies on accessory chromosomes in grasses. *Hereditas*, 43, 236-297.
- BOUGOURD, S.M. & PARKER, J.S. (1979). The B-chromosome system of *Allium schoenoprasum*. III. An abrupt change in B-frequency. *Chromosoma*, 75, 385-392.
- BRANHAM, D.E. & BHATTARAI, C. (1977). The effect of B-chromosome number of chiasma frequency within and between individuals of *Gibasis linearis* (Commelinaceae). *Chromosoma*, 64, 343-348.
- BREGMAN, A.A. (1973). Lateral subunits in C-bands of unreplicated chromosomes of *Dissosteira carolina* (L.) (Orthoptera: Acrididae). *Can. J. Genet. Cytol.*, 15, 757-761.
- BURGOS, M.; JIMENEZ, R. & DIAZ DE LA GUARDIA, R. (1986). A rapid, simple and dependable combined method for G-banding in mammalian and human chromosomes. *Stain Technology*, (en prensa).
- BUYS, C.H.C.M. & OSINGA, J. (1980). Abundance of protein-bound sulfhydryl and disulfide groups at chromosomal nucleolus organizing regions. *Chromosoma*, 77, 1-11.
- BURKHOLDER, G.D. & DUCZEK, L.L. (1980). Proteins in chromosome banding. I. Effect of G-banding treatments on the proteins of isolated nuclei. *Chromosoma*, 79, 29-41.
- BUYS, H.C.M. & OSINGA, J. (1982). A relation between G-, C- and N-bands pattern as revealed by a progressive oxidation of chromosomes and

a note on the nature of N-bands. *Genetica*, 53, 3-9.

- CABRERO, J. (1985). Estudios citogenéticos en saltamontes de la subfamilia Gomphocerinae: Heterocromatina, reordenaciones cromosómicas y actividad nucleolar. *Tesis Doctoral*, Univ. Granada, 192 pp.
- CABRERO, J. & CAMACHO, J.P.M. (1985). Cytological evidence for either polyspermy or polar-body activation in mosaic embryos of *Chorthippus brunneus* (Orthoptera, Acrididae). *Genetica*, 66, 81-84.
- CABRERO, J. & CAMACHO, J.P.M. (1986). Cytogenetic studies in gomphocerine grasshoppers. I. Comparative analysis of chromosome C-banding pattern. *Heredity*, 56, 365-372.
- CABRERO, J. & CAMACHO, J.P.M. (1987). The B-chromosome system of the grasshopper *Chorthippus vagans*. I. Reduced meiotic transmission but increased fertilisation by 1B males. *Can. J. Genet. Cytol.* (en prensa).
- CABRERO, J.; VISERAS, E. & CAMACHO, J.P.M. (1984). The B-chromosomes of *Locusta migratoria*. I. Detection of negative correlation between mean chiasma frequency and the rate of accumulation of the B's; a reanalysis of the available data about the transmission of these B chromosomes. *Genetica*, 64, 155-164.
- CAMACHO, J.P.M. (1980). Variabilidad cromosómica en poblaciones naturales de Tettigonioidae, Pamphagoidea y Acridoidea. *Tesis Doctoral*, Univ. Granada, 190 pp.
- CAMACHO, J.P.M.; BELDA, J. & CABRERO, J. (1985). Meiotic behaviour of the holocentric chromosomes of *Nezara viridula* (Insecta, Heteroptera) analysed by C-banding and silver impregnation. *Can. J. Genet. Cytol.*, 27, 490-497.
- CAMACHO, J.P.M. & CABRERO, J. (1986). Cytological analysis of a spontaneous translocation heterozygote mosaic in *Chorthippus binotatus* (Orthoptera, Acrididae). *Heredity*, 57, 263-266.
- CAMACHO, J.P.M.; CABRERO, J. & VISERAS, E. (1981). C-heterochromatin variation in the genus *Eumigus* (Orthoptera: Pamphagoidea). *Genetica*, 56, 185-188.
- 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.
- CAMACHO, J.P.M.; NAVAS-CASTILLO, J. & CABRERO, J. (1985). Segmentos cromosómicos supernumerarios y actividad NOR. *Orthoptera*, 1, 350-354.
- CAMACHO, J.P.M.; NAVAS-CASTILLO, J. & CABRERO, J. (1986). Extra nucleolar activity associated with presence of a supernumerary chromosome segment in the grasshopper *Oedipoda fuscocincta*. *Heredity*, 56, 237-241.

- CAMACHO, J.P.M.; VISERAS, E.; NAVAS, J. & CABRERO, J. (1984). C-heterochromatin content of supernumerary chromosome segments of grasshoppers: detection of an euchromatic extra segment. *Heredity*, 53, 167-175.
- CAMERON, D.R. (1934). The chromosomes and relationships of *Crepis syriaca* (Bornm). *Univ. Calif. Publ. Agr. Sci.*, 6, 357-386.
- CAMERON, F.M. & REES, H. (1967). The influence of B-chromosomes on meiosis in *Lolium*. *Heredity*, 22, 446-450.
- CANO, M.I.; HENRIQUES-GIL, N.; ARANA, P. & SANTOS, J.L. (1985). Un polimorfismo incipiente para cromosomas B. *Orthoptera*, 1, 316-323.
- CARDOSO, H.; SAEZ, F.A. & BRUM-ZORRILLA, N. (1974). Location, Structure and behavior of C-heterochromatin during meiosis in *Dichroplus silveraidoi* (Acrididae, Orthoptera). *Chromosoma*, 48, 51-64.
- CARR, G.D. & CARR, R.L. (1982). Micro- and nucleolar-organizing B-chromosomes in *Calycadenia* (Asteraceae). *Cytologia*, 47, 79-87.
- CARROLL, M. (1920). An extra dyad and an extra tetrad in the spermatogenesis of *Camnula pellucida* (Orthoptera): numerical variations in the chromosome complex within the individual. *J. Morph.*, 34, 375-455.
- CLEMENTE, M.E.; GARCIA, M.D. & PRESA, J.J. (1985). Estudio sobre la biología en cautividad de *Caelifera* (Insecta, Orthoptera). *Orthoptera*, 1, 256-261.
- COMINGS, D.E. (1972). Structure and function of chromatin. *Adv. Hum. Genet.*, 3, 237-431.
- COMINGS, D.E. (1974). The role of heterochromatin. In: *Birth Defects, Int. Congr. Ser. No.*, 310, ed. A.G. Motulsky, W. Lentz, 44-52. Amsterdam: Excerpta Med.
- COMINGS, D.E. (1978). Mechanisms of chromosome banding and implications for chromosome structure. *Ann. Rev. Genet.*, 12, 25-46.
- COMINGS, D.E.; AVELING, E.; OKADA, T.A. & WYANDT, H.E. (1973). The mechanism of C- and G-banding of chromosomes. *Exp. Cell. Res.*, 77, 469-493.
- COMINGS, D.E. & OKADA, T.A. (1975). Mechanisms of chromosome banding. VI. Whole mount electron microscopy of banded metaphase chromosomes and comparison to pachytene chromosomes. *Exp. Cell. Res.*, 93, 267-274.
- CZAKER, R. (1978). Silver staining in transcriptionally active NORs of meiotic and mitotic cells in *Acheta domesticus* L. (Orthoptera). *Chromosoma*, 68, 187-193.
- DARLINGTON, C.D. (1973). Chromosome botany and the origins of cultivated plants (Allen & Unwin, eds). Third edition, London.
- DARLINGTON, C.D. & KEFALLINON, M. (1957). Correlated chromosome aberra-

- tions at meiosis in *Gasteria*. *Chromosoma*, 8, 364-370.
- DAVIES, E.D.G. & SOUTHERN, D.I. (1976). Giemsa C-banding within the genus *Clossina* (Diptera, Glossinidae). *Genetica*, 46, 413-418.
- DEARN, J.M. (1974). Phase transformation and chiasma frequency variation in Locusts. II. *Locusta migratoria*. *Chromosoma*, 45, 339-352.
- DEARN, J.M. (1975). Chiasma frequency and adaptability in locust. *Evolution*, 29, 572-574.
- DIEZ, M. & PUERTAS, M.J. (1984). Interchromosome effects on chiasma distribution due to translocation in *Locusta migratoria*. *Genetica*, 63, 189-194.
- DNYANSAGAR, V.R. & PINGLE, A.R. (1979). Effects of fragments and probable origin of B-chromosomes in *Solanum viarum* Dunal. *Cytologia*, 44, 561-569.
- DOBZHANSKY, Th.; AYALA, F.J.; STEBBINS, G.L. & VALENTINE, J.W. (1980). *Evolución*. Ed. Omega, S.A., Barcelona.
- DUTRILLAUX, B.; de GRUCHY, J.; FINAZ, C. & LEJEUNE, J. (1971). Mise en évidence de la structure fine des chromosomes humains par digestion enzymatique (pronase en particulier). *Compt. Rend. Acad. Sér. D*, 273, 587.
- EMME, H. (1928). Karyologie der gattung *Secale* L.Z. *VererbLehre*, 47, 99-124.
- ENGEL, W.; ZENZES, M.T. & SCHMID, M. (1977). Activation of mouse ribosomal RNA genes at the 2-cell stage. *Hum. Genet.*, 38, 57-63.
- ESPONDA, P. & SANCHEZ-RUFAS, J. (1980). Chromosome polarization during spermatogenesis of Orthoptera. *Arch. Biol. Med. Exp.*, 13, 343-350.
- EVANS, H.J. (1960). Supernumerary chromosomes in wild populations of the snail *Helix pomatia* L. *Heredity*, 15, 129-138.
- FERGUSON-SMITH, M.A. & PAGE, B.M. (1973). Pachytene analysis in human reciprocal (10:11) translocation. *J. Med. Genet.*, 10, 283-286.
- FERNANDEZ-PIQUERAS, J.; RODRIGUEZ-CAMPOS, A.; SENTIS-CASTAÑO, C. & ROJO GARCIA, E. (1983). Chromosomal location of the active NORs in the *Steropleurus martorelli* complex. *Genetica*, 61, 9-12.
- FERNANDEZ-PIQUERAS, J.; RODRIGUEZ-CAMPOS, A.; SENTIS-CASTAÑO, C. & ROJO GARCIA, E. (1984). C-heterochromatin variation in the monospecific genus *Baetica* (Orthoptera: Tettigoniidae). *Caryologia*, 37, 69-76.
- FISHER, R.A. (1930). The genetical theory of natural selection. Clarendon Press, Oxford.
- FLAVELL, R.B. & O'DELL, M. (1979). The genetic control of nucleolus formation in wheat. *Chromosoma*, 71, 135-152.
- FOMINAYA, A. & JOUVE, N. (1985a). Analysis of centromere co-orientation

- in intervarietal hybrids of common wheat (*Triticum aestivum* L.) by means of C-banding. *Heredity*, 54, 367-371.
- FOMINAYA, A. & JOUVE, N. (1985b). C-banding at meiosis as a means of analyzing cytogenetic structure in wheat. *Can. J. Genet. Cytol.*, 27, 689-696.
- FOMINAYA, A. & JOUVE, N. (1986). Analysis of interference in a double interchange heterozygote of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Heredity*, 56, 1-6.
- FONTANA, P.G. & VICKERY, V.R. (1973). Segregation-distortion in the B-chromosome system of *Tettigidea lateralis* (Say) (Orthoptera: Tettigidae). *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.
- FONTANA, P.G. & VICKERY, V.R. (1976). Cytotaxonomic studies on the genus *Boonacris* I. The "eastern" taxa and a comparison with the related general *Dendrotettix* and *Appalachia* (Orthoptera: Cantantidae: Podismini). *Can. J. Genet. Cytol.*, 18, 625-652.
- FORESTI, F.; ALMEIDA-TOLEDO, L.F. & PATHAK, S. (1983). Silver-stained NOR and synaptonemal complex analysis during male meiosis of *Tilapia rendalli*. *The Journal of Heredity*, 74, 127-128.
- FORESTI, F.; ALMEIDA-TOLEDO, L.F. & TOLEDO, F. (1981). Polymorphic nature of nucleolus organizer regions in fishes. *Cytogenet. Cell Genet* 31, 137-144.
- FOX, D.P.; CARTER, K.C. & HEWITT, G.M. (1973). Giemsa banding and chiasma distribution in the Desert Locust. *Heredity*, 31, 272-276.
- FOX, D.P. & SANTOS, J.L. (1985). W-bands and nucleolus expression in *Schistocerca gregaria* and *Locusta migratoria*. *Heredity*, 54, 333-341
- FRÖST, S. & ISING, G. (1964). Cytogenetics of fragment chromosomes in barley. *Hereditas*, 52, 176-180.
- GALLACHER, A.; HEWITT, G. & GIBSON, I. (1973). Differential Giemsa staining of heterochromatic B-chromosomes in *Myrmeleotettix maculatus* (Thunb) (Orthoptera: Acrididae). *Chromosoma*, 40, 167-172.
- GARCIA, M.D. & PRESA, J.J. (1985). Observaciones sobre el comportamiento en cautividad de *Eumigus cucullatus* (BOLIVAR, 1978) (Orthoptera Pamphagidae). *Bol. Asoc. Esp. Entom.* (en prensa).
- GARCIA-LAFUENTE, R.; LOPEZ-FERNANDEZ, C. & GOSALVES, J. (1983). Extra heterochromatin in natural population of *Gomphocerus sibiricus* (Orthoptera: Acrididae). 2. Chiasma distribution in the M₂ bivalent. *Cytobios*, 37, 149-155.
- GARCIA DE LA VEGA, C. (1985). Diferenciación cromosómica en dos especies del género *Dociostaurus*. *Orthoptera*, 1, 268-292.

- GARCIA DE LA VEGA, C.; LOPEZ-FERNANDEZ, I.; GOSALVEZ, J. & RUFAS, J.S. (1982). Cytogenetic studies on *Chorthippus jucundus* (Fisch.) (Orthoptera). II. Heterochromatin variation and NOR localization. *Cytobios*, 34, 7-14.
- GARCIA DE LA VEGA, C.; LOPEZ-FERNANDEZ, I.; RUFAS, J.S. & GOSALVEZ, J. (1985). Variabilidad cromosómica en *Chorthippus jucundus*. *Orthoptera*, 1, 278-283.
- GIRALDEZ, R. & SANTOS, J.L. (1981). Cytological evidence for preferences of identical over homologous but not-identical meiotic pairing. *Chromosoma*, 82, 447-451.
- GOODPASTURE, C. & BLOOM, S.E. (1975). Visualization of nucleolar organizer regions in mammalian chromosomes using silver staining. *Chromosoma*, 53, 37-50.
- GOTOH, K. (1924). über die chromosomenzahl von *Secale cereale*. *L. Bot. Mag.*, Tokyo, 38, 135-152.
- GOSALVEZ, J.; GARCIA DE LA VEGA, C.; RUFAS, J.S. & LOPEZ-FERNANDEZ, C. (1985). Unstable B-chromosomes producing abnormal spermatid nuclei in *Sphingonotus coerulans* (Orthoptera). *Arch. Biol.*, 96, 15-22.
- GOSALVEZ, J.; LOPEZ-FERNANDEZ, C. & MORALES-AGACINO, E. (1981). The chromosome system in three species of the genus *Arcyptera* (Orthoptera: Acrididae). I. Heterochromatin variation, DNA content and NOR activity. *Acrida*, 10, 191-203.
- GREEN, D.M.; KEZER, J. & NUSSBAUM, R.A. (1984). Triploidy in Hochstetter's frog, *Leiopelma hochstetteri*, from New Zealand. *New Zealand Journal of Zoology*, 11, 457-460.
- GREILHUBER, J. (1977). Why plant chromosomes do not show G-bands. *Theor. Appl. Genet.*, 50, 121-124.
- GUILLEN, A. & RUIZ-REJON, M. (1984). The B-chromosome system of *Allium sphaerocephalon* L. (Liliaceae): Types, effects and origin. *Caryologia*, 37, 259-267.
- HAAF, T. & SCHMID, M. (1984). An early stage of ZW/ZZ sex chromosome differentiation in *Poecilia sphenops* var. *melanistica* (Poeciliidae, Cyprinodontiformes). *Chromosoma*, 89, 37-41.
- HAGELE, K. (1977). Differential staining of polytene chromosome bands in *Chironomus* by Giemsa banding methods. *Chromosoma*, 59, 207-216.
- HAGELE, K. (1979). Characterization of heterochromatin in *Schistocerca gregaria* by C- and N-banding methods. *Chromosoma*, 70, 239-250.
- HANCOCK, J.M. & SUMNER, A.T. (1982). The role of proteins in the production of different types of chromosome bands. *Cytobios*, 35, 37-46.
- HEITZ, E. (1931). Nucleolen und chromosomen in der gattung *Vicia*. *Planta*, 15, 495-505.
- HENDERSON, A.S.; EICHER, E.M.; YU, M.T. & ATWOOD, K.C. (1974). The chro

- mosomal location of ribosomal DNA in the mouse. *Chromosoma*, 49, 155-160.
- HENDERSON, A.D.; WARBURTON, D. & ATWOOD, K.C. (1972). Location of DNA in the human chromosome complement. *Proc. Natn. Acad. Sci. USA*, 69, 3394-3398.
- HENDERSON, A.D.; WARBURTON, D. & ATWOOD, K.C. (1974). Localization of rRNA in the chromosome complement of the rhesus (*Macaca mulatta*). *Chromosoma*, 44, 367-370.
- HENRIQUES-GIL, N. (1984). El sistema de cromosomas accesorios de *Eyprepocnemis plorans* (Acrididae: Orthoptera). *Tesis Doctoral*, Universidad Complutense. Madrid. 114 pp.
- HENRIQUES-GIL, N.; ARANA, P. & SANTOS, J.L. (1983). Spontaneous translocations between B chromosomes and the normal complement in the grasshopper *Eyprepocnemis plorans*. *Chromosoma*, 88, 145-148.
- HENRIQUES-GIL, N.; ARANA, P. & SANTOS, J.L. (1984). Factors affecting the meiotic pairing behavior of B chromosomes in the grasshopper *Eyprepocnemis plorans*. *Can. J. Genet. Cytol.*, 26, 664-668.
- HENRIQUES-GIL, N.; CANO, M.I.; ARANA, P. & SANTOS, J.L. (1985). Citogenética de poblaciones de *Eyprepocnemis plorans*. *Orthoptera*, 1, 312-315.
- HENRIQUES-GIL, N.; JONES, G.H.; CANO, M.I.; ARANA, P. & SANTOS, J.L. (1986). Female meiosis during oocyte maturation in *Eyprepocnemis plorans* (Orthoptera: Acrididae). *Can. J. Genet. Cytol.*, 28, 84-87.
- HENRIQUES-GIL, N.; SANTOS, J.L. & ARANA, P. (1984). Evolution of a complex B-chromosome polymorphism in the grasshopper *Eyprepocnemis plorans*. *Chromosoma*, 89, 290-293.
- HENRIQUES-GIL, N.; SANTOS, S.L. & GIRALDEZ, R. (1982). B-chromosome polymorphism and interchromosomal chiasma interference in *Eyprepocnemis plorans* (Acrididae; Orthoptera). *Chromosoma*, 85, 349-359.
- HERRERO, P. & GOSALVEZ, J. (1985). Presence of introchromatidic bands in mitotic chromosomes of *Triturus marmoratus* (Amphibia: Caudata). *Experientia*, 41, 683-684.
- HEWITT, G.M. (1973a). The integration of supernumerary chromosomes into the Orthopteran genome. *Cold. Spr. Harb. Symp. Quant. Biol.* 38, 183-194.
- HEWITT, G.M. (1973b). Variable transmission rates of a B-chromosome in *Myrmeleotettix maculatus* (Thunb) (Acrididae: Orthoptera). *Chromosoma*, 40, 83-106.
- HEWITT, G.M. (1973c). Evolution and maintenance of B-chromosomes. *Chromosomes Today*, 4, 351-369.
- 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 Cyto genetics*, vol 3: Insecta 1 Orthoptera, Gebrüder Borntraeger, Berlin-Stuttgart, 170 pp.
- HEWITT, G.M. & JOHN, B. (1970). The B-chromosome system of *Myrmeleotettix maculatus* (Thunb.). 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.
- HOFGARTNER, F.J.; KRONE, W. & JAIN, K. (1979). Correlated inhibition of ribosomal RNA synthesis and silver staining by actinomycin D. *Hum. Genet.*, 47, 329-333.
- HOLMQUIST, G. (1979). The mechanism of C-banding: Depurination and elimination. *Chromosoma*, 72, 203-224.
- HOWELL, W.M. (1977). Visualization of ribosomal gene activity: silver stains proteins associated with rRNA transcribed from oocyte chromosomes. *Chromosoma*, 62, 361-367.
- HOWELL, W.M.; DENTON, T.E. & DIAMOND, J.R. (1975). Differential staining of the satellite regions of human acrocentric chromosomes. *Experientia*, 31, 260-262.
- HSIANG, W. (1958). Cytological studies on migratory locust hybrid, *Locusta migratoria migratoria* L. x *Locusta migratoria manilensis* Meyen. *Acta Zool. Sinica*, 10, 53-59.
- HSU, T.C. (1974). Procedures for inducing C-bands and G-bands in mammalian chromosomes. *Mammal. Chrom. Newsl.*, 15, 88-96.
- HSU, T.C.; SPIRITO, S.E. & PARDUE, M.L. (1975). Distribution of the 18 + 28 S ribosomal genes in mammalian genomes. *Chromosoma*, 53, 25-36.
- HUNTER-JONES, P. (1960). Fertilization of eggs of the desert locust by spermatozoa from successive populations. *Nature*, 185, 336.
- HUTCHINSON, J. (1975). Selection of B chromosomes in *Secale cereale* and *Lolium perenne*. *Heredity*, 34, 39-52.
- ITOH, H. (1934). Chromosomal variation in the spermatogenesis of a grasshopper, *Locusta danica* L. *Jap. J. Genet.*, 10, 115-134.
- JACKSON, R.C. (1960). Supernumerary chromosomes in *Haplopappus gracilis*. *Evolution*, 14, 135.
- 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.
- JIMENEZ, R.; BURGOS, M. & DIAZ DE LA GUARDIA, R. (1984). Karyotype and

- chromosome banding in the mole (*Talpa occidentalis*) from the south east of the Iberian peninsula. Implications on its taxonomic position. *Caryologia*, 37, 253-258.
- JOHN, B. (1981). Heterochromatin variations in natural populations. *Chromosomes today*, 7, 128-137.
- JOHN, B.; APPELS, R. & CONTRERAS, N. (1986). Population cytogenetics of *Atractomorpha similis*. II. Molecular characterization of the distal C-band polymorphisms. *Chromosoma*, 94, 45-58.
- JOHN, B. & HEWITT, G.M. (1965). The B-chromosome system of *Myrmeleotettix maculatus* (Thunb). I. The mechanics. *Chromosoma*, 16, 548-578.
- JOHN, B. & KING, M. (1977). Heterochromatin variation in *Cryptobothrus chrysophorus*. II. Patterns of C-banding. *Chromosoma*, 65, 59-79.
- JOHN, B. & KING, M. (1980). Heterochromatin variation in *Cryptobothrus chrysophorus*. III. Synthetic hybrids. *Chromosoma*, 78, 165-186.
- JOHN, B. & KING, M. (1983). Population cytogenetics of *Atractomorpha similis*. I. C-band variation. *Chromosoma*, 88, 57-68.
- JOHN, B.; KING, M.; SCHWIEZER, D. & MENDELAK, M. (1985). Equilocality of heterochromatin distribution and heterochromatin heterogeneity in acridid grasshoppers. *Chromosoma*, 91, 185-200.
- JOHN, B. & LEWIS, K.R. (1965). The meiotic system. *Protoplasmatologia* VI, FI, 1-355. Springer-Verlag Wien.
- JOHN, B. & LEWIS, K.R. (1968). The chromosome complement. *Protoplasmatologia*, 4.
- JONES, G.H. (1978). Giemsa C-banding of rye meiotic chromosomes and the nature of "terminal" chiasmata. *Chromosoma*, 66, 45-57.
- JONES, K. (1978). Aspects of chromosome evolution in higher plants. *Advanc. Bot. Res.*, 6, 120-194.
- JONES, R.N. (1975). B-chromosome systems in flowering plants and animal species. *Int. Rev. Cytol.*, 40, 1-100.
- JONES, R.N. & REES, H. (1982). B Chromosomes. Academic Press Inc. (London) LTD, 266 pp.
- JOUVE, N.; GONZALEZ, J.M.; FOMINAYA, A. & FERRER, E. (1984). The analysis of meiosis of the B genome in common wheat. *Can. J. Genet. Cytol.*, 27, 17-22.
- KING, M. (1980). C-banding studies on Australian Hylid frogs: Secondary constriction structure and the concept of euchromatin transformation. *Chromosoma*, 80, 191-217.
- KUMARASWAMY, K.R. & RAJASEKARASETTY, M.R. (1976). Pattern of C-banding in *Acrida turrita* (Acrididae, Orthoptera). *Curr. Sci.*, 45, 762-763
- LEE, C.L.Y.; WELCH, J.P. & LEE, S.H.S. (1973). Banding of human chromo-

- somes by protein denaturation. *Nature New Biology*, 241, 142-143.
- LESPINASSE, R. (1973). Comportement des chromosomes surnuméraires et relation avec le taux de mortalité dans une population africaine de *Locusta migratoria migratorioides*. *Chromosoma*, 44, 107-122.
- LESPINASSE, R. (1977). Analyse de la transmission des chromosomes surnuméraires chez *Locusta migratoria migratorioides* R. et F. (Orthoptera, Acrididae). *Chromosoma*, 59, 307-322.
- LESPINASSE, R. (1981). Les chromosomes B chez *Locusta migratoria* (Orthoptera, Acridoidea): Analyse de leur fréquence et de leur transmission dans des populations d'origine géographique différente. *Acrida*, 10, 131-144.
- LEWIS, K.R. & JOHN, B. (1959). Breakdown and restoration of chromosome stability following inbreeding in a locust. *Chromosoma*, 10, 589-618.
- LEWITSKY, G.A. (1931). The morphology of chromosomes. *Bull. Appl. Bot. Genet. Plant Breed*, 27, 19-174.
- LICHTENBERGER, M.J. (1983). Quick and reversible staining methods for G and Q-bands of chromosomes. *Stain Technology*, 58, 185-188.
- LOIDL, J. (1982). B-chromosomes in *Allium flavum* (Liliaceae) and some related species. *Plant Syst. Evol.*, 139, 197-207.
- LUCIANI, J.M.; MORAZZANI, M.R. & STAHL, A. (1975). Identification of pachytene bivalents in human male meiosis using G-banding technique. *Chromosoma*, 52, 275-282.
- LUCOV, Z. & NUR, U. (1973). Accumulation of B-chromosomes by preferential segregation in females of the grasshopper *Melanoplus femur-rubrum*. *Chromosoma*, 42, 289-306.
- LOPEZ-FERNANDEZ, C. & GOSALVEZ, J. (1981). Differential staining of a heterochromatic zone in *Arcyptera fusca* (Orthoptera). *Experientia*, 37, 240.
- LOPEZ-FERNANDEZ, C. & GOSALVEZ, J. (1982). Detection of abnormal spermatid nuclei in Orthoptera by silver staining. *Cytobios*, 34, 71-74.
- MATSUI, S. (1974). A note on constitutive heterochromatin in *Drosophila melanogaster* chromosomes. *Japan. J. Genet.*, 49, 171-173.
- MATSUI, S. & SASAKI, M. (1973). Differential staining of nucleolus organizers in mammalian chromosomes. *Nature*, 246, 148-150.
- McCLINTOCK, B. (1934). The relation of a particular chromosomal element to the development of the nucleoli in *Zea mays*. *Z. Zellforsch*, 21, 294-328.
- McKAY, R.D.G. (1973). The mechanism of G and C banding in mammalian metaphase chromosomes. *Chromosoma*, 44, 1-14.
- MEISNER, P.F.; CHUPREVICH, T.W. & INHORN, S.L. (1973). Giemsa banding specificity. *Nature New Biol.*, 245, 145-147.

- MELANDER, Y. (1950). Accessory chromosomes in animals, especially in *Poecilus tenuis*. *Hereditas*, 36, 19-38.
- MEREDITH, R. (1969). A simple method for preparing meiotic chromosomes from mammalian tests. *Chromosoma*, 26, 254-258.
- MICHAILOVA, P. & GERCHEVA, P. (1982). Cytotaxonomical characteristics of the species of genus *Endochironomus* Kieff (Diptera, Chironomidae). *Caryologia*, 35, 1, 33-56.
- MILLER, D.A.; DEV, D.A.; TANTRAVAH, R. & MILLER, O.J. (1976). Suppression of human nucleolus organizer activity in mouse-human somatic hybrid cells. *Exp. Cell Res.*, 101, 235-243.
- MILLER, L. & BROWN, D.D. (1969). Variation of the activity of nucleolar organizers and their ribosomal gene content. *Chromosoma*, 28, 430-444.
- MILLER, O.J.; MILLER, D.A.; DEV, V.G.; TANTRAVAH, R. & CROCE, C.M. (1976). Expression of human and suppression of mouse nucleolar organizer activity in mouse-human somatic cells hybrids. *Proc. Acad. Sci. USA*, 73, 4531-4535.
- MOENS, P.B. (1973). Quantitative electron microscopy of chromosome organization at meiotic prophase. *Cold. Spr. Harb. Symp. quant. Biol.* 38, 99-107.
- MOTARA, M.A. & RAI, K.S. (1977). Chromosomal differentiation in two species of *Aedes* and their hybrids revealed by giemsa C-banding. *Chromosoma*, 64, 125-132.
- MORITZ, C. (1984). The origin and evolution of parthenogenesis in *Heteronotia binoclei* (Gekkonidae). I. Chromosome banding studies. *Chromosoma*, 89, 151-162.
- MÜNTZING, A. (1974). Accessory chromosomes. *Annual Review of Genetics*, 8, 243-266.
- NAVAS-CASTILLO, J.; CABRERO, J. & CAMACHO, J.P.M. (1986a). Heterochromatin variants in *Baetica ustulata* (Orthoptera: Tettigoniidae) analysed by C and G banding. *Heredity*, 56, 161-165.
- NAVAS-CASTILLO, J.; CABRERO, J. & CAMACHO, J.P.M. (1986b). C-banding response of seven supernumerary heterochromatic segments in grasshoppers. *Cytobios*, 47, 107-113.
- NAVAS-CASTILLO, J. & CAMACHO, J.P.M. (1985). Detección de una inversión paracéntrica en *Oedipoda charpentieri*. *Orthoptera*, 1, 372-375.
- NUR, U. (1963). A mitotically unstable supernumerary chromosome with an accumulation mechanism in a grasshopper. *Chromosoma*, 14, 407-422.
- NUR, U. (1966a). Harmful supernumerary chromosomes in a mealy bug population. *Genetics*, 54, 1225-1238.
- NUR, U. (1966b). The effect of supernumerary chromosomes on the development on mealy bugs. *Genetics*, 54, 1239-1249.

- NUR, U. (1969a). Mitotic instability leading to an accumulation of B-chromosomes in grasshoppers. *Chromosoma*, 27, 1-19.
- NUR, U. (1969b). Harmful B-chromosomes in a mealy bug: Additional evidence. *Chromosoma*, 28, 280-297.
- NUR, U. (1977). Maintenance of a "parasitic" B chromosome in the grasshopper *Melanoplus femur-rubrum*. *Genetics*, 87, 499-512.
- OKADA, T.A. & COMINGS, D.E. (1974). Mechanisms of chromosome banding. III. Similarity between G-bands of mitotic chromosomes and chromomeres of mitotic chromosomes. *Chromosoma*, 48, 65-71.
- OLIVER, J.L.; POSSE, F.; MARTINEZ-ZAPATER, J.M.; ENRIQUEZ, A.M. & RUIZ REJON, M. (1982). B-chromosomes and E1 isozyme activity in mosaic bulbs of *Scilla autumnalis* (Liliaceae). *Chromosoma*, 85, 399-403.
- OLMO, E.; COBROR, O.; MORESCALCHI, A. & ODIERNA, G. (1984). Homomorphic sex chromosomes in the lacertid lizard *Takydromus sexlineatus*. *Heredity*, 53, 457-459.
- ODIERNA, G.; OLMO, E. & COBROR, O. (1985). C-band variability in some Lacertidae (Sauria, Reptilia). *Experimentia*, 41, 944-946.
- OSTERGREN, G. (1945). Parasitic nature of extra fragment chromosomes. *Bot. Notiser*, 2, 157-163.
- PARDUE, M.L. & GALL, J.G. (1970). Chromosomal localization of mouse satellite DNA. *Science*, 168, 1356-1358.
- PARDUE, M.L. & HSU, T.C. (1975). Locations of the 18S and 28S ribosomal genes on the chromosomes of the Indian muntjak. *J. Cell Biol.*, 64, 251-254.
- PASCUAL, F.; CABRERO, J. & CAMACHO, J.P.M. (1985). Citotaxonomía del género *Eumigus* Bol. (Orthoptera, Pamphagidae). *Orthoptera*, 1, 262-268.
- PATHAK, S. & ARRIGHI, F.E. (1973). Loss of DNA following C-banding procedures. *Cytogen. Cell. Genet.*, 12, 414-422.
- PATTON, J.L. (1977). B-chromosome system in the pocket mouse. *Perognathus baileyi*: meiosis and C-band studies. *Chromosoma*, 60, 1-14.
- PERRY, P.E. & JONES, G.H. (1974). Male and female meiosis in grasshoppers. I. *Stethophyma grossum*. *Chromosoma*, 47, 227-236.
- PIMPINELLI, S.; SANTINI, G. & GATTI, M. (1976). Characterization of *Drosophila* heterochromatin II. C- and N-banding. *Chromosoma*, 57, 377-386.
- POWELL, J.B. & BURTON, C.W. (1966). Nucleolar organizing accessory chromosomes in pearl millet. *Crop. Sci.*, 6, 131-134.
- PRIVITERA, E. (1981). Silver staining in *Drosophila melanogaster*: NOR behavior in heterocyploid cultured cells. *Experientia*, 37, 705-706.
- PUERTAS, M.J. (1975). B-chromosomas. *Ser. Monogr. Dpto. Genética Fac.*

Biol., Univ. Complutense, Madrid, 2, 54 pp.

- PUERTAS, M.J. & CARMONA, R. (1976). Greater ability of pollen tube growth in rye plants with 2B chromosomes. *Theor. Appl. Genet.*, 47, 41-43.
- RAGHUVANSHI, S.S. & KUMAR, G. (1983). No male sterility gene on B-chromosomes in *Plantago coronopus*. *Heredity*, 51, 429-433.
- RAMEL, C. (1981). A B-chromosome system of *Myrmeleotettix maculatus* (Thunb.) (Orthoptera: Acrididae) in Sweden. *Hereditas*, 92, 309-313.
- RAMON Y CAJAL, S. (1903). Un sencillo método de coloración selectiva del retículo protoplasmático. *Trap. Lab. Invest. Biol.*, 2, 129-221.
- REES, H. & JAMIESON, A. (1954). A supernumerary chromosome in *Locusta*. *Nature*, 173, 43-44.
- REES, H. & HUTCHINSON, J. (1974). Nuclear DNA variation due to B-chromosomes. *Cold Spr. Harb. Simp. Quant. Biol.*, 38, 175-182.
- RHOADES, M.M. & DEMPSEY, E. (1972). On the mechanism of chromatin loss induced by the B chromosome in maize. *Genetics*, 71, 73-96.
- RHOADES, M.M. & DEMPSEY, E. (1973). Chromatin elimination induced by the B chromosome of maize I. Mechanism of loss and the pattern of endosperm variegation. *J. Hered.*, 64, 12-18.
- ROBINSON, P.M. (1973). The ecological genetics of B-chromosomes in *Myrmeleotettix maculatus* (Thunb) (Acrididae: Orthoptera). Ph.D. Thesis Univ. 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.
- RODMAN, T.C. (1974). Human chromosome banding by Feulgen stain aids in localizing classes of chromatin. *Science*, 184, 171-173.
- RODMAN, T.C. & TAHILIANI, S. (1973). The Feulgen banded karyotype of the mouse: Analysis of the mechanisms of banding. *Chromosoma*, 42, 37-56.
- ROTHFELS, K.H. (1950). Chromosome complement, polyploidy and supernumeraries in *Neopodismopsis abdominalis* (Acrididae). *J. Morph.*, 87, 287-315.
- ROTHFELS, K.H. & PROCUNIER, B. (1975). The B-chromosomes of *Neopodismopsis abdominalis* (Acrididae). *Chromosoma*, 52, 137-148.
- RUFAS, J.S.; JIMENEZ-MARTIN, G. & ESPONDA, P. (1982). Presence of a chromatid core in mitotic and meiotic chromosomes of grasshoppers. *Cell Biology International Reports*, 6, 3, 261-267.
- RUFAS, J.S. & GOSALVEZ, J. (1982). Development of silver stained structures during spermatogenesis of *Schistocerca gregaria* (Forsk.) (Orthoptera: Acrididae). *Caryologia*, 35, 261-267.

- RUFAS, J.S.; GOSALVEZ, J.; LOPEZ-FERNANDEZ, C. & CARDOSO, H. (1983). Complete dependence between Ag NORs and C-positive heterochromatin revealed by simultaneous Ag-NOR C-banding method. *Cell Biology International Reports*, 7, 4, 275-281.
- RUFAS, J.S.; GOSALVES, J.; GIMENEZ-MARTIN, G. & ESPONDA, P. (1983). Localization and development of kinetochores and a chromatid core during meiosis in grasshoppers. *Genetica*, 61, 233-238.
- RUFAS, J.S.; ITURRA, P. DE SOUZA, W. & ESPONDA, P. (1982). Simple silver staining procedures for the location of nucleolus and nucleolar organizer under light and electron microscopy. *Arch. Biol.*, 93, 267-274.
- RUIZ REJON, M.; POSSE, F. & OLIVER, J.L. (1980). The B chromosome system of *Scilla autumnalis* (Liliaceae): Effects at the isozyme level. *Chromosoma*, 79, 341-348.
- RUTISHAUSER, A. (1960). Zur genetic überzähliger chromosomen. *Arch. J. Klaus-Stiftung*, 35, 440-458.
- SANNOMIYA, M. (1962). Intra-individual variation in number of A and B chromosomes in *Patanga japonica*. *Chromos. Inform. Serv.*, 3, 30-32.
- SANNOMIYA, M. & KAYANO, H. (1969). Local variation and year-to-year change in frequencies of B chromosomes in natural populations of two grasshopper species. *Jap. J. Genet.*, 44: Suppl. 1, 84-92.
- SANTOS, J.L. (1980). Variación de la heterocromatina constitutiva en el cariotipo de los Acridoidea y su efecto en el comportamiento cromosómico en meiosis. *Tesis Doctoral*, Univ. Complutense, Madrid, 38 pp.
- SANTOS, J.L.; ARANA, P. & GIRALDEZ, R. (1983). Chromosome C-banding patterns in Spanish Acridoidea. *Genetica*, 61, 65-74.
- SANTOS, J.L.; ARANA, P.; HENRIQUES-GIL, N. & CANO, M.I. (1985). Citogenética de un híbrido interespecífico. *Orthoptera*, 1, 305-311.
- SANTOS, J.L.; CANO, M.I.; HENRIQUES-GIL, N. & ARANA, P. (1985). Distribución y frecuencia de quiasmas en presencia y ausencia de heterocromatina supernumeraria. *Orthoptera*, 1, 154-175.
- SANTOS, J.L. & GIRALDEZ, R. (1978). The effect of C-heterochromatin in chiasma terminalisation in *Chorthippus biguttulus* L. (Acrididae, Orthoptera). *Chromosoma*, 70, 59-66.
- SANTOS, J.L. & GIRALDEZ, R. (1982). C-heterochromatin polymorphism and variation in chiasma localization in *Euchorthippus pulvinatus gallicus* (Acrididae, Orthoptera). *Chromosoma*, 85, 507-518.
- SANTOS, J.L.; HENRIQUES-GIL, N.; ARANA, P. & CANO, M.I. (1985). Heterocromatina y roturas cromosómicas. *Orthoptera*, 1, 340-344.
- SANTOS, J.L.; HENRIQUES-GIL, N. & ARANA, P. (1985). Specific chromosome breakage at meiosis in C-heterochromatin mutants of the grasshopper *Euchorthippus pulvinatus*. *Can. J. Genet. Cytol.*, 27, 644-649.

- SANTOS, J.L.; ORELLANA, J. & GIRALDEZ, R. (1983). Pairing competition between identical and homologous chromosomes in rye and grasshoppers. *Genetica*, 104, 677-684.
- SATYA-PRAKASH, K.L. & PATHAK, S. (1984). Silver staining pattern of male meiosis in the house cricket. *The Journal of Heredity*, 75, 319-320
- SCHMID, M.; HAAF, T.; GEILE, G. & SIMS, S. (1983). Chromosome banding in Amphibia. VIII. An unusual XY/XX-sex chromosome system in *Gastrotheca ruibambae* (Anura, Hylidae). *Chromosoma*, 88, 69-82.
- SCHMIADY, H.; MUNKE, M. & SPERLING, K. (1979). Ag-staining of nucleolus organizer regions on human prematurely condensed chromosomes from cells with different ribosomal RNA gene activity. *Exp. Cell Res.*, 121, 425-428.
- SCHMID, M.; MULLER, H.J.; STASCH, S. & ENGEL, W. (1983). Silver staining of nucleolus organizer regions during human spermatogenesis. *Hum. Genet.*, 64, 363-370.
- SCHMIADY, H.; WEGNER, R.D. & SPERLING, K. (1975). Relative DNA content of human euchromatin and heterochromatin after G, D and Giemsa 11 banding. *Humangenetik*, 29, 85-89.
- SCHNEDL, W. (1971). Banding pattern of human chromosomes. *Nature*, 293, 93-94.
- SCHNEDL, W. (1973). Giemsa banding techniques. En: *Chromosome identification - technique and application in biology and medicine* (Eds. Caspersson, T. & Zech, L). Nobel Symposium 23 of the Royal Swedish Academy of Sciences, Stockholm. Academic Press, New York & London, 34-37.
- SCHROETER, G.L. & HEWITT, G.M. (1974). The effects of supernumerary chromatin in three species of grasshopper. *Can. J. Genet. Cytol.*, 16, 285-296.
- SCHULZ-SCHAEFFER, J. (1966). A possible origin of B chromosomes. *Z. Pfl. Zucht*, 55, 21-28.
- SCHWARZACHER, H.G.; MIKELSAAR, W.V. & SCHNEDL, W. (1978). The nature of the Ag-staining of the nucleolus organizer regions. Electron- and light-microscopic studies on human cells in interphase, mitosis, and meiosis. *Cytogenet. Cell Genet.*, 20, 24-39.
- SEABRIGHT, M. (1971). A rapid banding technique for human chromosomes. *Lancet.*, 2, 971-972.
- SENTIS, C. & FERNANDEZ-PIQUERAS, J. (1985). Características estructurales de los NORs principales y secundarios. *Orthoptera*, 1, 364-369.
- SENTIS, C.; SANTOS, J.L. & FERNANDEZ-PIQUERAS, J. (1985). Naturaleza y variaciones de la heterocromatina constitutiva en *Baetica ustulata* *Orthoptera*, 1, 345-349.
- SENTIS, C.; SANTOS, J.L. & FERNANDEZ-PIQUERAS, J. (1986). C-heterochromatin polymorphism in *Baetica ustulata*: intraindividual variation

- and fluorescence banding patterns. *Chromosoma*, 94, 65-70.
- SHAW, D.; WEBB, G.C. & WILKINSON, P. (1976). Population cytogenetics of the genus *Caledia* (Orthoptera: Acridina). II. Variation in the pattern of C-banding. *Chromosoma*, 56, 169-190.
- SHAW, M.W. (1984). The population genetics of the B-chromosome polymorphism of *Myrmeleotettix maculatus* (Orthoptera: Acrididae). *Biological Journal of the Linnean Society*, 23, 77-100.
- SHAW, M.W. & HEWITT, G.M. (1984). The effect of temperature on meiotic transmission rates of the B chromosome of *Myrmeleotettix maculatus* (Orthoptera: Acrididae). *Heredity*, 53, 259-268.
- SHAW, M.W. & HEWITT, G.M. (1985). The genetic control of meiotic drive acting on the B-chromosome of *Myrmeleotettix maculatus* (Orthoptera Acrididae). *Heredity*, 54, 187-194.
- SHAW, M.W.; HEWITT, G.M. & ANDERSON, D.A. (1985). Polymorphism in the rates or meiotic drive acting on the B-chromosome of *Myrmeleotettix maculatus*. *Heredity*, 55, 61-68.
- SHIRAIISHY, Y. & YOSIDA, T.H. (1972). Banding pattern analysis of human chromosomes by use of a urea treatment technique. *Chromosoma*, 37, 75-83.
- SIMS, S.H.; MACGREGOR, H.C.; PELLATT, P.S. & HORNER, H.A. (1984). Chromosome 1 in crested and marbled newts (*Triturus*). An extraordinary case of heteromorphism and independent chromosome evolution. *Chromosoma*, 89, 169-185.
- SINHA, A.K.; LINScombe, V.A.; GOLLAPUDI, B.B.; FLAKE, R.E. & PARK, C.N. (1985). Supernumerary chromosomal elements in lymphocytes cultured from phenotypically normal human adult males. *Cytobios*, 43, 49-65.
- SKINNER, D.M. (1977). Satellite DNA's. *Bioscience*, 27, 790-796.
- SOUTHERN, D.I. (1970). Polymorphism involving heterochromatic segments in *Metrioptera brachyptera*. *Chromosoma*, 30, 154-168.
- STEPHENS, R.T. & BREGMAN, A.A. (1972). The B-chromosome system of the grasshopper *Melanoplus femur-rubrum*. *Chromosoma*, 38, 297-311.
- STOLZE, K. (1925). Die chromosomenzahlen der hauptsächlichsten getreidearten nebst allgemeinen betrachtungen über chromosomen, chromosomenzahl und chromosomengrosse im pflanzenreich. *Bibliotheca Genetica*, 8, 1-71.
- SUBRAHMANYAM, N.C. & AZAD, A.A. (1978). Nucleoli and ribosomal RNA cistron numbers in *Hordeum* Species and Interspecific hybrids exhibiting suppression of secondary constriction. *Chromosoma*, 69, 265-273.
- SUJA, J.A. & RUFAS, J.S. (1985). Posibles causas de un cambio en la posición del centrómero en el cromosoma S₁₁ de *Aiolopus strepens* (Orthoptera: Acrididae). *Orthoptera*, 1, 376-386.
- SUMNER, A.J. (1972). A simple technique for demonstrating centromeric

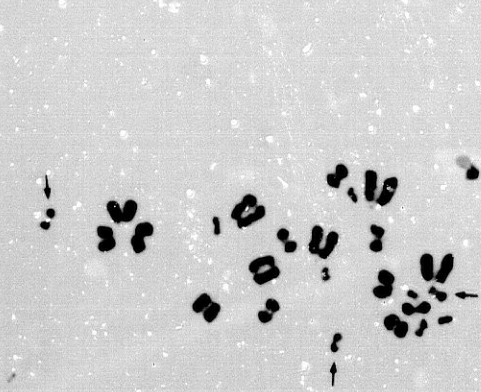
- heterochromatin. *Expl. Cell Res.*, 75, 304-306.
- SUMNER, A.T.; EVANS, H.J. & BUCKLAND, R.A. (1971). New technique for distinguishing between human chromosomes. *Nature New Biology*, 232, 31-32.
- SUN, N.C.; CHU, E.H.Y. & CHANG, C.C. (1974). Staining method for the banding patterns of human mitotic chromosomes. *Caryologia*, 27, 315-324.
- TEOH, S.B. & JONES, R.N. (1978). B chromosome selection and fitness in rye. *Heredity*, 41, 35-48.
- TEOH, S.B.; REES, H. & HUTCHINSON, J. (1976). B chromosome selection in *Lolium*. *Heredity*, 37, 203-213.
- TOBGY, H.A. (1943). A cytological study of *Crepis fuliginosa*, *C. neglecta* and their F₁ hybrid and its bearing on the mechanism of phylogenetic reduction in chromosome number. *J. Genet.* 45, 67-111.
- TORRE, J. de la; BELLA, J.L.; LOPEZ-FERNANDEZ, C. & GOSALVEZ, J. (1985). Actividad nucleolar múltiple: variación intracromosómica en especies del género *Arcyptera*. *Orthoptera*, 1, 355-363.
- TORRE, J. de la; LOPEZ-FERNANDEZ, C.; NICHOLS, R. & GOSALVEZ, J. (1986). Heterochromatin readjusting chiasma distribution in two species of the genus *Arcyptera*: The effect among individuals and populations. *Heredity*, 56, 177-184.
- TRAUT, W.; WINKING, H. & ADOLPH, S. (1984). An extra segment in chromosome 1 of wild *Mud musculus*: a C-band positive homogeneously staining region. *Cytogenet. Cell. Genet.*, 38, 290-297.
- TSUCHIYA, T. (1969). Cytogenetics of a new type of barley with 16 chromosomes. *Chromosoma*, 26, 130-139.
- UTAKOJI, T. (1972). Differential staining patterns of human chromosomes treated with potassium permanganate. *Nature*, 239, 163-170.
- UVAROV, B.P. (1977). Grasshoppers and Locust. II. Centre for Overseas Pest Research., London, 613 pp.
- VERSCHAEVE, L.; KIRSCH-VOLDERS, M. & SUSANNE, C. (1981). Silver staining of human acrocentrics in metaphase does not reflect an induced inhibition in NOR activity. *Exp. Cell Res.*, 136, 459-461.
- VIINIKKA, Y. (1973). The occurrence of B-chromosomes in white spruce. *Proc. R. Soc. Lond. B.*, 198, 325-344.
- VISERAS, E. (1982). Estudio de la variabilidad cromosómica en poblaciones naturales de Sierra Nevada del saltamontes *Omocestus bolivari*. *Tesis Licenciatura*, Univ. Granada. 95 pp.
- VISERAS, E. & CAMACHO, J.P.M. (1984). Polysomy in *Omocestus bolivari*: endophenotypic effects and suppression of nucleolar organizing region activity in the extra autosomes. *Can. J. Genet. Cytol.*, 26, 547-556.
- VISERAS, E. & CAMACHO, J.P.M. (1985). The B chromosome system of *Omocestus*

- tus bolivari*: Changes in B-behaviour in Ma-polysomic B-males. *Heredity*, 54, 385-390.
- WANG, H.C. & FEDOROFF, S. (1972). Banding in human chromosomes treated with trypsin. *Nature New Bid.*, 235, 52-53.
- WARCZALOWSKA-SLIVA, E.; MARYANSKA-NADACHOWSKA, A. & JORDAN, M. (1978). C- and G-banding in mitotic chromosomes of *Acheta domesticus* (Orthoptera). *Folia Biologica*, 26, 295-300.
- WEBB, G.C. (1976). Chromosome organization in the Australian plague locust *Chortoicetes terminifera*. 1. Banding relationships of the normal and supernumerary chromosomes. *Chromosoma*, 55, 229-246.
- WEBB, G.C. & KOMAROWSKI, I. (1976). Haplo-diploid locust embryos arising by accidental thelytoky in *Chortoicetes terminifera* investigated by G-banding. *Chromosoma*, 55, 247-251.
- WEBB, G.C. & NEHAUS, P. (1979). Chromosome organisation in the Australian plague locust *Chortoicetes terminifera*. 2. Banding variants of the B-chromosome. *Chromosome*, 70, 205-238.
- WEBB, G.C. & WESTERMAN, M. (1978). G- and C-Banding in the Australian grasshopper *Phaulacridium vittatum*. *Heredity*, 41, 131-136.
- WEBB, G.C.; WHITE, M.J.D.; CONTRERAS, N. & CHENEY, J. (1978). Cytogenetics of the parthenogenetic grasshoppers *Warramaba* (formerly *Moraba*) *virgo* and its bisexual relatives. IV. Chromosome banding studies. *Chromosoma*, 67, 309-339.
- WESTERMAN, M. (1975). Population cytology of the genus *Phaulacridium*. *Heredity*, 34, 11-27.
- WESTERMAN, M. & FONTANA, P.G. (1973). Polymorphisms for extra heterochromatin in *Phaulacridium marginale*. *Heredity*, 31, 223-229.
- WESTERMAN, M. & HEWITT, G.M. (1985). Chromosome banding in *Podisma pedestris*. *Heredity*, 55, 157-161.
- 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. (1973). *Animal Cytology and Evolution*. 3rd Ed. Cambridge Univ. Press, London and New York.
- WHITE, M.J.D. & CONTRERAS, N. (1982). Cytogenetics of the parthenogenetic grasshopper *Warramaba virgo* and its bisexual relatives. VIII. Karyotypes and C-banding patterns in the clones of *W. virgo*. *Cytogenet. Cell. Genet.*, 34, 168-177.
- YOSIDA, T.H. & SAGAI, T. (1972). Banding pattern analysis of polymorphic karyotypes in the black rat by a new differential staining technique. *Chromosoma*, 37, 387-394.

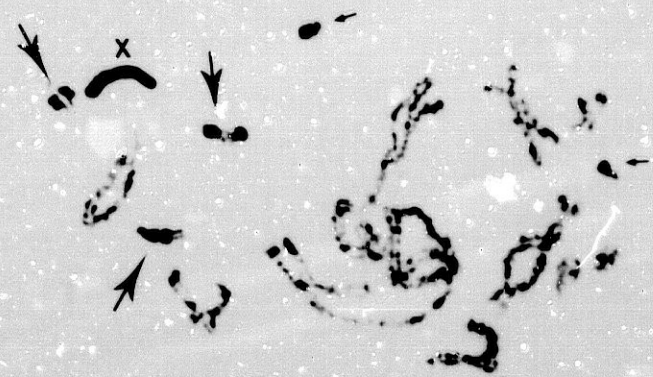
- YUNIS, J.J. & SANCHEZ, O. (1973). G-banding and chromosome structure. *Chromosoma*, 44, 15-23.
- ZHAN, T.S. PATHAK, S. & LIANG, J.C. (1984). Induction of G-bands in the chromosomes of *Melanoplus sanguinipes* (Orthoptera, Acrididae). *Canad. J. Genet. Cytol.*, 26, 354-259.
- ZUK, J. (1969). The additional heterochromatic chromosome and its influence on sex chromosome pairing in *Rumex*. *Heredity*, 24, 69-74.

FIGURAS 1-6. Los cromosomas accesorios de *Locusta migratoria*.

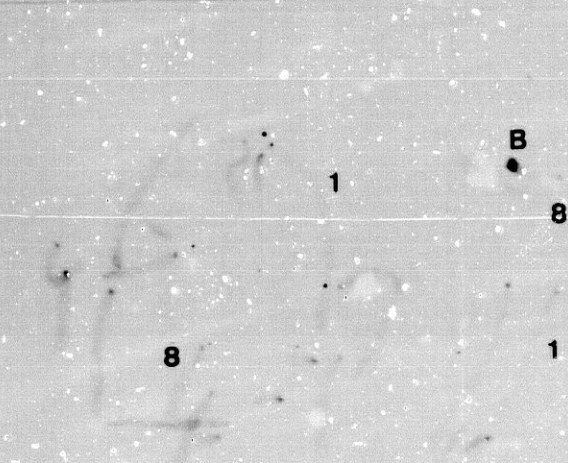
- Figura 1. Metafase mitótica de los ciegos gástricos de un macho portador de supernumerarios teñida con orceína lactopropiónica. Se observan tres Bs (flechas), de tamaño ligeramente superior al de los autosomas pequeños.
- Figura 2. Diplotene de un macho portador teñida con orceína. Esta célula posee 8 cromosomas accesorios (3 II -flechas grandes- + 2 I -flechas pequeñas-), fácilmente diferenciables de los autosomas por su zona heteropicnótica distal. Obsérvense los dos tipos de bivalentes B en cuanto a su asociación por la eucromatina (los dos superiores) o por la heterocromatina (el inferior).
- Figura 3. Bandas C en embriones. Nótese la zona heterocromática distal del B intensamente bandeada, así como las bandas C negativas que muestran los pares 1 y 9.
- Figura 4. Bandas G en embriones. En el autosoma 2 aparece una banda clara distal y en las parejas 8 y 9 se observa una interbanda clara intersticial. El bandeo del B se muestra claramente en la ampliación de la parte superior de la figura. Éste posee una banda G oscura en el centro, rodeada de dos interbandas claras, con delgadas bandas oscuras en ambos extremos.
- Figura 5. Diplotene de un macho de *L. migratoria* sometida a impregnación argéntica. La presencia de nucleolos permite localizar las NORs principales en los bivalentes 2, 6 (posición distal) y 9 (intersticial). En algunos bivalentes se observan nucleolos pequeños asociados a NORs secundarias (L₁, L₂, M₃, M₄, M₅ y S₁₁). El B carece de NORs activas.
- Figura 6. Inestabilidad intrafolicular. Microfotografía efectuada sobre un folículo de un macho de *L. migratoria* en la que se observa una célula con 1 B y otra con 2 Bs.



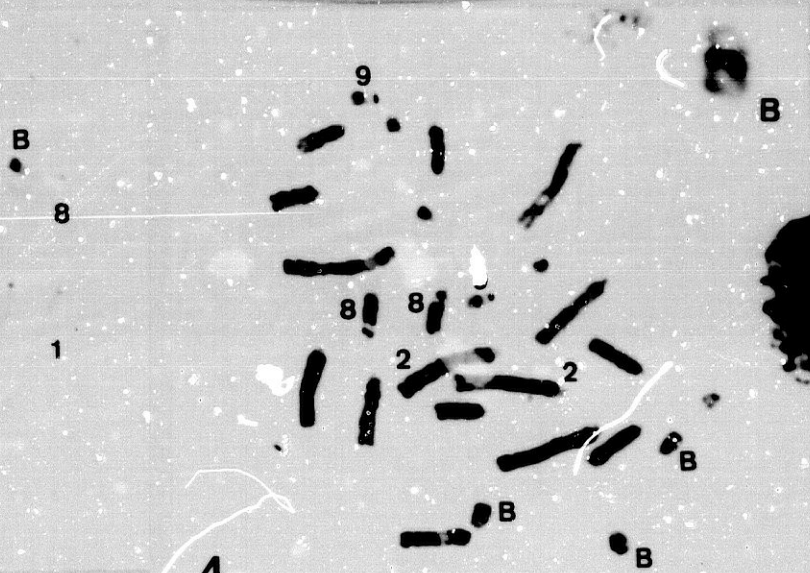
1



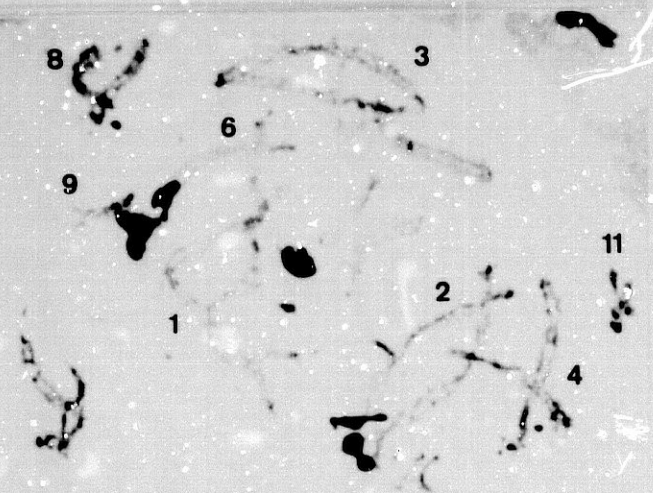
2



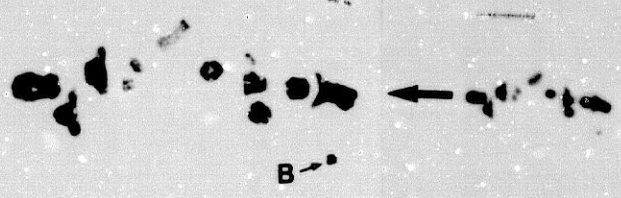
3



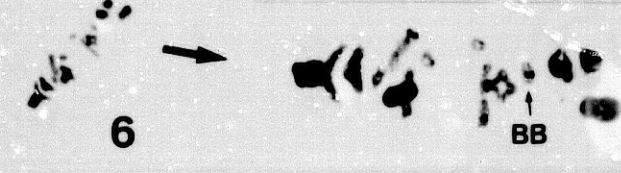
4



5



6



BB