

Tesis de Posgrado

Estudios citogenéticos en insectos sudamericanos

Vilardi, Juan César

1983

Tesis presentada para obtener el grado de Doctor en Ciencias Biológicas de la Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en digital.bl.fcen.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

Vilardi, Juan César. (1983). Estudios citogenéticos en insectos sudamericanos. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.
http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_1822_Vilardi.pdf

Cita tipo Chicago:

Vilardi, Juan César. "Estudios citogenéticos en insectos sudamericanos". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1983.
http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_1822_Vilardi.pdf

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

FACULTAD DE CIENCIAS

EXACTAS Y NATURALES

* * * *

TEMA DE TESIS

ESTUDIOS CITOGENÉTICOS EN INSECTOS

SUDAMERICANOS

- AUTOR -

JUAN CESAR VILARDI

DIRECTOR DE TESIS

DR. JUAN HECTOR HUNZIKER

*

LUGAR DE TRABAJO

CATEDRA DE GENÉTICA - DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

*

TESIS PRESENTADA PARA OPTAR AL TÍTULO DE

DOCTOR EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

1 9 8 3

* * * * *

1822
Ej. 2

A mi esposa

A mis Padres

El autor desea expresar su gratitud y reconocimiento al Director de esta tesis, Prof. Dr. Juan H. Hunziker por su permanente aliento, su guía las valiosas discusiones y sugerencias y la lectura crítica del manuscrito. Se agradece profundamente a los Profesores Dr. Axel O. Bachmann y Dr. Ricardo A. Ronderos por la identificación taxonómica de los materiales estudiados y al Lic. Carlos A. Naranjo, la Dra. Lidia Poggio y la Lic. Beatriz O. Saidman por el aliento y las sugerencias recibidas durante la realización de este trabajo. Se agradece asimismo el apoyo financiero recibido del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) y de la Subsecretaría de Ciencia y Técnica por medio de subsidios otorgados al Dr. J. H. Hunziker, Lic. C.A. Naranjo y Dra. L. Poggio. La mayor parte de este estudio fue realizado en condición de Becario Interno del CONICET con lugar de trabajo en el Departamento de Ciencias Biológicas de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (Universidad de Buenos Aires), instituciones a las que se agradece el apoyo recibido.

* * * * *

- TABLA DE CONTENIDO -

INTRODUCCION GENERAL 4

MATERIALES Y METODOS 17

 I. Coleópteros 17

 II. Ortópteros 19

 a) *Staurorhectus longicornis* 19

 b) *Euplectrotettix* 21

 c) *Dichroplus elongatus* 22

ESTUDIOS EN COLEOPTEROS 23

 Introducción 23

 Resultados 23

 Cariotipos 24

 Comportamiento meiótico 29

 Discusión..... 36

ESTUDIOS EN ORTOPTEROS

 Introducción 44

Staurorhectus longicornis 45

 Introducción 45

 Resultados 46

 i) Cariotipo 46

 ii) Fusión Céntrica 48

 iii) Segmento supernumerario 50

 iv) Inversión Pericéntrica 52

 v) Constricciones Elásticas 54

 vi) Frecuencia de Quiasmas 54

 a) Terminalización 55

 b) Variaciones Intraespecíficas de las
 Frecuencias de Quiasmas 57

c) Reordenamientos y Frecuencia de Quiasmas	59
vii) Bando C	62
Discusión	65
i) Estabilidad del Cariotipo	65
ii) Constricciones Elásticas	66
iii) Segmento Supernumerario	67
iv) Inversión Pericéntrica	68
v) Bando C	70
vi) Frecuencia y Terminalización de Quiasmas	70
a) Terminalización	71
b) Variaciones Individuales	72
<u>Euplectrotettix</u>	75
Introducción	75
Resultados	76
i) Cariotipos	76
ii) Comportamiento Meiótico	78
iii) Alteraciones Cromosómicas Espontáneas.....	80
iv) Heterocigota para Inversión	82
v) Frecuencia de Quiasmas	83
Discusión	88
<u>Dichroplus elongatus</u>	95
Introducción	95
Resultados.....	96
i) Cariotipo Básico y Reestructuraciones Cromosómicas	96
ii) Frecuencia de Quiasmas y Terminalización.....	99
a) Terminalización de Quiasmas	99
b) Frecuencia de Quiasmas y Variación entre Individuos	103

c) Varianza entre Células	105
Discusión	109
DISCUSION GENERAL	113
I) Terminalización	113
II) Influencia de la Heterocromatina Supernumeraria..	116
III) Comportamiento Meiótico en Mutantes Cromosómicos.	118
IV) Variaciones Interespecíficas	120
V) Variaciones Intraespecíficas	122
RESUMEN	123
BIBLIOGRAFIA CITADA	126

* * * * *

- INTRODUCCION GENERAL -

Los estudios de citogenética de insectos fueron iniciados en la zona del Río de La Plata por el Prof. Francisco A. Sáez (1898-1976), eminente investigador nacido en Uruguay. Sus primeros trabajos en el tema datan de fines de la década del 20 (Sáez 1928-1929, 1930a,b, c). A través de sus estudios pudieron ser demostrados los mecanismos de evolución cromosómica en el género Dichroplus (Sáez y Pérez Mosquera 1971) los cuales constituyen un verdadero ejemplo de especiación cromosómica y pusieron de manifiesto la importancia de los estudios citogenéticos para la interpretación de la evolución. La línea de trabajo de Sáez fue continuada por Mesa, inicialmente en Uruguay y luego en Brasil, quién comenzó sus investigaciones en la década del 50 (Mesa 1956). En la Argentina, sin embargo, hasta épocas recientes los estudios de citogenética de insectos no tuvieron gran desarrollo. Estudios cromosómicos en coleópteros fueron publicados a fines de los años 70 (Vidal et al. 1977 a, b, c, Vidal y Giacomozzi 1979, Bidau 1981, Vilardi 1981 a) pero la muy abundante fauna de insectos neotropicales de nuestro país está aún poco estudiada citogenéticamente.

Los estudios cromosómicos son de fundamental importancia para la comprensión de mecanismos evolutivos (para una revisión ver White 1973 a). Se ha demostrado por ejemplo que en algunos casos existe una estrecha relación entre la variabilidad cromosómica y la distribución geográfica (John y Lewis 1966)

Las alteraciones en el comportamiento meiótico pueden ser en algunos casos las causantes y en otros un subproducto

de la divergencia entre poblaciones y especies, por lo cual es conveniente analizar diferentes factores que modifican el desarrollo de la meiosis:

- Alteraciones estructurales
- Alteraciones numéricas
- Alteraciones de los mecanismos de control de la recombinación.

Cada uno de estos mecanismos puede tener distintos modos de acción, pero tanto las alteraciones estructurales como las numéricas pueden afectar de manera directa a la recombinación genética.

Las primeras investigaciones sobre el problema de la variabilidad cromosómica en relación con la distribución geográfica fueron realizados en Drosophila por Dobzhansky y Sturtevant (1938) estudiando alteraciones en las secuencias de bandas de los cromosomas politénicos.

Exofenotípicamente las inversiones encontradas en Drosophila no presentaban ninguna manifestación lo cual condujo inicialmente a la errónea suposición de que tales reestructuraciones serían adaptativamente neutras (Dobzhansky 1941) basada en que la selección debería actuar esencialmente sobre los efectos exofenotípicos de la mutación cromosómica (Lewis y John 1963). Esos efectos sin embargo serían manifiestos en muy pocos casos tales como efectos de posición, que, al menos en vegetales, no suelen ser muy notorios (Stebbins 1950).

En D. pseudoobscura (Dobzhansky y Epling 1944) y D. willistoni (Cunha et al. 1950), sin embargo, se pudieron individualizar razas geográficas que se diferenciaban en la exten-

sión de los polimorfismos para inversiones. Esto implicaría que, a pesar de la falta de manifestación externa, estos polimorfismos deberían jugar un papel adaptativo.

Con posterioridad se comprobó que los heterocigotas estructurales tenían ventaja selectiva (Wright y Dobzhansky 1946, Dobzhansky y Pavlovsky 1953) y que esto se debía a un fenómeno de coadaptación de genes en los cromosomas implicados en el reordenamiento (Dobzhansky y Pavlovsky 1958).

Las inversiones, así como otras alteraciones estructurales (translocaciones) tienen un efecto inmediato reduciendo la recombinación en los heterocigotas como consecuencia de (a) una disminución de las zonas apareables y (b) la producción de gametas desbalanceadas a partir de aquellas células en las que hubiera ocurrido sobrecruzamiento dentro de los segmentos cromosómicos reordenados.

Otro ejemplo clásico de sistema de heterocigosis estructural balanceada está constituido por Oenothera lamarckiana - (ver revisión en: Cleland 1950, 1972, Stebbins 1950, Grant 1964) En este caso se encontró un sistema de translocaciones múltiples mantenido mediante un mecanismo que implica localización de quiasmas y un sistema de letales balanceados como medio de impedir la recombinación genética en la descendencia. Finalmente, en Periplaneta americana existe un sistema de hibrididad permanente para translocaciones similar al de Oenothera, mantenido quizás por selección dependiente de la frecuencia o heterosis (Lewis y Jhon 1957, John y Lewis 1958, 1966, John y Quraishi 1964).

Las mutaciones cromosómicas estructurales han sido utilizadas repetidas veces en el curso de la evolución de distintos grupos (ver White 1973 a, Hewitt 1979), pudiendo encontrarse que en poblaciones de organismos de reproducción sexual los rearrreglos pueden estar presentes:

- a) Fijados en condición homocigota (politipia).
- b) Preservados y perpetuados en estado de hibridez permanente (como en Oenothera).
- c) Constituyendo un sistema balanceado con homo y heterocigotas estructurales (polimorfismos cromosómicos como en el caso de Drosophila).

En todos estos casos el papel de las mutaciones cromosómicas está altamente correlacionado con la recombinación. En particular, en los casos (b) y (c) su función sería mantener la integridad de la unidad reproductiva y favorecer los genotipos que ella produce.

No es de esperar que los cambios estructurales puedan ser mantenidos por deriva genética puesto que su efecto inmediato suele ser la disminución de la fertilidad en los heterocigotas, la cual es uno de los componentes más importantes de la eficacia biológica. La supervivencia de un determinado reordenamiento dependerá grandemente de su efecto sobre la meiosis del portador heterocigota. Así, Lewis y John (1963) hablan de fusión preadaptada para referirse a aquéllas que se producen entre cromosomas largos y de longitud similar, pues esta condición favorecería la correcta coorientación del trivalente resultante en M₁. De igual modo Snow y Dunford (1961) lla-

man la atención sobre el hecho que las únicas translocaciones que se han mantenido en la naturaleza son aquéllas en las que los segmentos intersticiales son cortos, de modo que, en general no se forman quiasmas en ellos, lo cual facilita la correcta orientación en la placa del multivalente producido.

Estas observaciones y otras similares sólo permiten predecir qué rearrreglos serían mejor tolerados, pero se mantiene la incógnita de la razón del mantenimiento de los mismos. En vista de que una mutación cromosómica no puede en general considerarse selectivamente neutra, su efecto de disminución de la fertilidad de los heterocigotas tendría que estar contrabalanceada por algún tipo de selección que condujera a un incremento de la frecuencia del reordenamiento. Dado que es generalmente aceptado que la selección actúa a nivel del exofenotipo, la mayoría de los investigadores ha buscado individualizar tales efectos, aunque sólo muy pocos lo consiguieron. Por otra parte, la importancia de rearrreglos tales como inversiones depende en gran medida de las restricciones y extensiones que éstas imponen a la recombinación (Epling et al. 1953, 1955, 1957) Además, se sabe que las inversiones pueden tener efectos intercromosómicos (Schultz y Redfield 1951, Suzuki 1963, Vaio et al. 1979). Esto demuestra que las mutaciones cromosómicas pueden producir alteraciones nucleotípicas que van más allá de las debidas sólo a los problemas estructurales en el apareamiento. Esta influencia sobre el endofenotipo podría ser la base del mantenimiento de los rearrreglos (John y Lewis 1966).

Cunha y Dobzhansky (1954) postularon que la disminu-
ción de la heterocigosis estructural para inversiones en po-

blaciones marginales en Drosophila se debería a que los rearrglos cromosómicos tendrían función ecotípica. En contraposición a esto Carson (1958) propone que la variación en el grado de polimorfismo se debería a selección para aumento o disminución de la recombinación.

El endofenotipo, por definición, no afecta la eficiencia competitiva del individuo, pero sí puede afectar el número de descendientes y su naturaleza. Esto implicaría que sobre el endofenotipo debería actuar una forma de selección retrospectiva (John y Lewis 1966). Por otra parte, se ha comprobado que algunos reordenamientos pueden mantenerse en las poblaciones - merced a mecanismos de acumulación tales como conducción meiótica o no disyunción mitótica (Sandler y Novitski 1957, Nur - 1963, Matthews y Jones 1982).

En síntesis, se podría destacar que:

- 1) En general los efectos exofenotípicos de las reestructuraciones serían, si los hay, muy leves.
- 2) El mecanismo de acción de los reordenamientos en relación con la eficacia biológica no puede aislarse de su efecto sobre la recombinación.
- 3) Algunos reordenamientos tienen mecanismos de acumulación - que interactúan con la selección determinando su manteni-
miento.

De las características endofenotípicas modificadas por los reordenamientos la más notable es la alteración producida en las condiciones de los quiasmas. La frecuencia y distribución de los quiasmas están sometidas a un doble control, gené

tico y ambiental (Shaw 1971b, Henderson 1963a, Rees 1961, Jones y Rees 1967), y seguramente deben estar correlacionadas de alguna manera con la estrategia adaptativa de la especie. Los mecanismos genéticos de regulación de la recombinación pueden ser muy variados, conociéndose algunos que involucran genes mendelianos simples (Beadle 1930, Jones 1967), sistemas de interacción génica (Wagenaar 1960) y poligénicos (Gale y Rees 1970, Shaw 1971a). Un sistema de control de naturaleza posiblemente doble, genética y ambiental, sería la influencia del sexo, puesta de manifiesto en las diferentes distribución y frecuencias de quiasmas observadas en machos y hembras de Stethophyma (Perry y Jones 1974), Myrmecotettix (Hewitt 1976) y Parapleurus y Chrysochraon (Fletcher y Hewitt 1980)..

Con todo, se dispone de poca información acerca de las variaciones en las condiciones de los quiasmas en poblaciones naturales.

Esta información es sumamente importante como primera aproximación para tratar de interpretar los factores que regulan la recombinación y su influencia en la aptitud y evolución de las poblaciones. En relación con esto se destacan nuevamente las mutaciones cromosómicas. Se ha observado que en los heterocigotas estructurales la formación de quiasmas disminuye o se elimina en algunas regiones (Parker et al. 1982). Sturtevant (1919) descubrió un supresor del sobrecruzamiento el cual posteriormente demostró ser una inversión paracéntrica. Esta en heterocigosis aumenta la frecuencia de sobrecruzamiento en otros miembros del complemento (Schultz y Redfield 1951, Luchesi 1976). También fueron demostrados efectos intercromo-

sómicos para translocaciones (Hinton 1965) y cromosomas compuestos (Novitski 1954, Procunier y Suzuki 1967) en D. melanogaster.

En ortópteros se vió que las inversiones pueden disminuir la frecuencia de sobrecruzamiento en la región afectada, pero simultáneamente aumentar tal frecuencia en los segmentos distales al reordenamiento (White y Morley 1955). En Cibolacris parviceps (Hewitt 1967) y en Euchorthippus pulvinatus gallicus (Arana et al. 1980) se observó que la frecuencia de quiasmas era mayor en los heterocigotas para translocaciones que en los homocigotas respectivos. Entre los vegetales se observó en Hypochoeris (Parker et al. 1982) que las frecuencias de quiasmas aumentan en los heterocigotas con respecto a las de los homocariotipos para fusiones y translocaciones.

De todas las reestructuraciones, las que demostrarían más claras influencias sobre las condiciones de los quiasmas son las que involucran la adición de heterocromatina supernumeraria al complemento normal (segmentos y cromosomas supernumerarios) (Henderson 1961, Suzuki 1963, Wolf 1963, Walen 1964, John y Hewitt 1965, 1966a, Cameron y Rees 1967, Jones y Rees 1967, Ayonoadu y Rees 1968, Hewitt y John 1967, 1968, 1970, Westerman 1969, Zečević y Paunović 1969, Abdel-Hameed et al. 1970, Barlow y Vosa 1970, Shaw 1971a, Stephens y Bregman 1972, Zarchi et al. 1972, John 1973, Schroeter y Hewitt 1974, Camacho et al. 1980, Henriques Gil et al. 1982, Santos y Giraldes 1982).

El material heterocromático se consideró durante mucho tiempo como genéticamente inerte, a partir del trabajo de -

Heitz (1933) en el que se observó que el cromosoma Y de Drosophila era heterocromático e inerte. Esta hipótesis es apoyada por el hecho que los individuos portadores de heterocromatina supernumeraria en general no pueden diferenciarse fenotípicamente de los normales. Sin embargo se comprobó en Scilla autumnalis que la expresión de algunas enzimas detectadas por electroforesis estaba influenciada por la presencia de un cromosoma B (Ruíz Rejón et al. 1980, Oliver et al. 1982). En algunos casos se demostró que los B podían disminuir la fertilidad (Jones y Rees 1967, Parker et al. 1978) o aumentar la tasa de mortalidad de los portadores (Léspinasse 1973). Estas observaciones, sumadas a la influencia demostrada de la heterocromatina sobre los quiasmas, harían insostenible la suposición de que la heterocromatina sería un material inerte. Los ajustes en las frecuencias de quiasmas constituyen uno de los medios más directos de regular la recombinación en especies de reproducción sexual (Grant 1958) y por lo tanto se podría suponer que tales ajustes serían adaptativos.

En el intento de estudiar la importancia de los mecanismos de regulación de la recombinación y la posible influencia de las mutaciones cromosómicas sobre aquéllos, dos tipos de enfoques serían de interés:

- 1.- Análisis de la variabilidad intrapoblacional presente en poblaciones naturales con respecto a la frecuencia de quiasmas.
- 2.- Comparaciones interpoblacionales o interespecíficas, estimando si la divergencia entre los grupos se correlaciona

con cambios en los patrones de distribución y/o frecuencia de quiasmas.

Este tipo de estudio es especialmente factible de realizar en insectos y de ellos proviene el mayor cúmulo de información al respecto. El pequeño tamaño de los individuos y los tamaños poblacionales generalmente grandes facilitan las tareas de recolección y, en algunos grupos (especialmente los ortópteros de la familia Acrididae) los cromosomas son de tamaño considerable, se pueden obtener excelentes preparaciones y son muy indicados para estudios de citogenética de poblaciones.

Las figuras diploténicas que pueden obtenerse en especies de ortópteros, permiten individualizar de manera inequívoca los quiasmas, pudiendo estimarse su número y ubicación. Dentro del orden Orthoptera se conocen especies con localización de quiasmas tales como Stethophyma grossum (Shaw 1971a), Parapleurus alliaceus y Crysochraon dispar (Fletcher y Hewitt 1980), aunque en la mayoría de las especies la distribución suele ser irrestricta. Los mecanismos que determinan la posición de los quiasmas están de alguna forma regulados por el sexo porque en general se vió que la localización de quiasmas podía ser estricta en los machos, mientras que en las hembras ésta era mucho menos marcada o inexistente (Perry y Jones 1974, Fletcher y Hewitt 1980).

Otro aspecto que puede ser analizado usando especies de langostas es el problema de la terminalización. Fox (1973) estudiando Schistocerca gregaria llega a la conclusión de que no habría movimiento de quiasmas durante diploteno en esta -

especie. Sus evidencias fueron de tipo estadístico, basadas en la comparación de las frecuencias de quiasmas en distintas etapas del diploteno. Estos resultados se oponen a la hipótesis de que el movimiento de quiasmas sería un fenómeno de ocurrencia universal (Darlington 1958). Otros estudios basados en técnicas de coloración o marcación radioactiva diferencial para las dos cromátides (fluorescencia + Giemsa o marcación con tritio) permitieron demostrar también la ausencia de un proceso de terminalización durante diploteno en Stethophyma grossum (Jones 1971), Schistocerca gregaria (Jones 1977), Locusta migratoria (Tease 1978, Tease y Jones 1978) y en Goninea australasiae (Peacock 1970). A las evidencias obtenidas en estos ortópteros se sumarían las provenientes de estudios en ratón (Polani et al. 1979, Kanda y Kato 1980, Imai y Moriwaki 1982) y centeno (Jones 1978), demostrando que aunque la terminalización pueda realmente ocurrir, como se demostró en muchos estudios (ver: Rhoades 1961, John y Lewis 1965, White 1973 a, Sybenga 1975, Maguire 1981), no sería un fenómeno general.

De todo lo antedicho puede apreciarse el interés que despiertan los ortópteros como material experimental para el estudio de:

- 1) Variaciones en las frecuencias y distribución de quiasmas dentro y entre poblaciones naturales.
- 2) Posibles correlaciones entre alteraciones cromosómicas y dichas variaciones.
- 3) Diferenciación cromosómica entre grupos afines.

Tratando de investigar estos problemas se analizó la

morfología y comportamiento cromosómico en cuatro especies de tres géneros de acrídidos. Dentro de la subfamilia Gomphocerinae se estudiaron las especies Staurorhectus longicornis G. Tos, Euplectrotettix shultzi Bruner y E. conspersus Bruner, y de la subfamilia Melanoplinae, la especie Dichroplus elongatus G. Tos.

Los coleópteros por su parte presentan en general cromosomas de tamaño mucho menor que los de los ortópteros, pero igualmente constituyen un material muy interesante para los estudios citogenéticos. Las especies de este orden se caracterizan por una notable constancia en su número y morfología cromosómica dentro de la mayoría de los géneros (Smith 1953, 1960, Smith y Virkki 1978), siendo los números cromosómicos más frecuentes $2n = 18-20$ (Smith 1950). Una característica particularmente notable en este orden es la presencia de un sistema de determinación del sexo que implica la formación de un bivalente sexual no quiasmático (John y Lewis 1960) que, por su morfología fue denominado bivalente en forma de paracaídas ("paracnute bivalent") (Stevens 1906, Smith 1949, 1950). En coleópteros es común la formación de pocos quiasmas por bivalente (el máximo observado es de un quiasma por brazo) y el estudio de los mismos suele dificultarse por el hecho que el diploteno suele ser difuso (Smith y Virkki 1978).

Con todo, se han descrito casos de distribución irrestricta de quiasmas en el género Pleocoma (Virkki 1967) y algunos pasálidos (Virkki y Reyes Castillo 1972). Por otra parte en el género Chilochorus se observó que los cromosomas podían te-

ner un brazo eucromático y el otro heterocromático por lo cual fueron denominados difásicos (Smith 1965), lo cual limita la formación de quiasmas a un solo brazo.

Esto demuestra que en especies de coleópteros con diploteno no difuso el estudio de la frecuencia y movimiento de quiasmas puede resultar de gran interés. La escasa variación en frecuencia y localización de los quiasmas podría ser indicativa de que en este orden se habrían seleccionado mecanismos muy restrictivos para la regulación de los quiasmas. Para tratar de obtener información sobre este tema se estudiaron seis especies del género Tropisternus Solier perteneciente a la familia Hydrophilidae comparando sus cariotipos y frecuencia y terminalización de quiasmas.

- MATERIALES Y METODOS -

I) COLEOPTEROS

Los ejemplares fueron en su mayoría capturados por el autor, aunque algunos, de las especies T. setiger y T. lateralis, fueron gentilmente cedidos por el Dr. Axel O. Bachmann - quién, además, realizó la determinación sistemática del material, siguiendo, con algunas modificaciones introducidas por él mismo, la clave de Orchymont (1921, 1922).

La procedencia de los materiales es la siguiente:

T. setiger Germ.: Provincia de Buenos Aires, Delta del Paraná; Ciudad de Buenos Aires, alrededores de la Ciudad Universitaria;

T. lateralis Fabr.: Delta del Paraná; Ciudad Universitaria; Provincia de Tucumán, Río Loro y S.M. de Tucumán (Parque Batalla de Tucumán).

T. mutatus Orch.: Provincia de Misiones, Cataratas del Iguazú.

T. acaragua Bach: Cataratas del Iguazú.

T. flavescens Orch: S.M. de Tucumán (Parque Batalla de Tucumán); Río Loro.

T. sharpi Orch: S.M. de Tucumán (Parque Batalla de Tucumán).

Sólo machos fueron utilizados para los estudios citogenéticos, aunque dado que el sexo sólo puede determinarse observando los ejemplares bajo el microscopio estereoscópico, se capturaron también hembras que después de ser usadas como ayu

da en la determinación taxonómica fueron descartadas.

Los testículos fueron extraídos y fijados en 3: 1 (alcohol etílico absoluto: ácido acético glacial) durante tres horas, realizando tres cambios de fijador durante ese período. Los preparados se confeccionaron en el momento o se conservó el material hasta el día siguiente en alcohol etílico 70% en heladera. Este método fue el que dió mejores resultados y no hubo diferencias entre los preparados realizados inmediatamente después del tratamiento en 3: 1 y aquéllos conservados en alcohol 70%.

Los preparados se hicieron por extendido de acuerdo a la técnica de Vidal et al. (1977a). Esta consistió en extender por medio de una lanceta el material testicular colocado sobre una gota de fijador (3:1) en el portaobjetos, dejando secar al aire el preparado.

Para la coloración se utilizó colorante de Giemsa (Gurr R66) 5% en tampón fosfato (pH 7.6), sumergiendo en esta solución los preparados durante aproximadamente diez minutos.

Para el análisis de las frecuencias de quiasmas se contó el número de quiasmas por célula y se estimó la ubicación de los mismos considerando dos categorías: quiasmas intersticiales y quiasmas terminales.

La nomenclatura utilizada en la descripción del cariotipo fue la propuesta por Levan et al. (1964) por la cual se denominan m a los cromosomas cuyo índice centromérico (longitud del brazo corto/longitud total del cromosoma) toma valores entre 0.50 y 0.375

Los cariotipos fueron estudiados mediante el análisis de 6 machos de T. lateralis, 8 de T. setiger, 6 de T. flavescens, 2 de T. snarpi, 4 de T. mutatus y 4 de T. acaragua.

II) ORTOPTEROS

II a) Staurorhectus longicornis G. Tos

Los individuos utilizados de esta especie proceden de muestras tomadas en marzo de 1980 en dos localidades de la provincia de La Rioja. Una de las muestras fue coleccionada en las cercanías del Aeropuerto de la Ciudad de La Rioja y fue denominada población AR. Este sitio se encuentra hacia el Este de la Ciudad. La segunda muestra proviene de un sitio conocido como la Puerta de la Quebrada, situado aproximadamente a unos 30 Km. al Noroeste del lugar que ocupaba la población AR, siendo los ejemplares capturados a ambos lados de la ruta que une La Rioja con Dique Los Sauces (población PQ.)

AR estaba constituida por 35 machos mientras que PQ contenía 25. Sólo machos fueron utilizados en los estudios citológicos dada la alta tasa de división gonial y meiótica en los testículos en contraposición con las dificultades técnicas para el estudio cromosómico en las hembras con menor tasa de división y cuya meiosis no se completa en el ovario sino que se detiene en metafase I. Con todo, se capturaron también algunas hembras con el objeto de ayudar en la determinación taxonómica. La identificación sistemática de S. longicornis como así también de las demás especies de ortópteros estudiadas en el presente trabajo fueron determinadas por el Prof. Ricardo

A. Ronderos, especialista en taxonomía de acrídidos.

A fin de facilitar las tareas de tratamiento hipotónico y fijación del material realizadas durante el viaje de recolección, los ejemplares fueron tratados "in toto", procediendo luego a la disección de los testículos y realización de los preparados en el laboratorio. Así, la hipotonía fue aplicada realizando un corte a lo largo del abdomen y sumergiendo el ejemplar, previamente eterizado, en una solución de KCl al 0.5% durante 30 min. A continuación se pasó al individuo a la solución fijadora constituida por metanol: ácido acético (3:1).

Se probaron varias técnicas para la confección de los preparados citogenéticos. La mayoría de las preparaciones se hicieron dispersando el material testicular, colocado en una gota de ácido acético 60% sobre el portaobjetos, por medio de una pequeña barrita de metal de extremo plano y liso, dejando luego secar los portas al aire, bajo el calor de una lámpara. Con éstos preparados por dispersión se utilizaron diferentes técnicas de coloración. Algunos fueron coloreados con Carbol-Fucsina, mediante la técnica de Carr y Walker (1961), otros con colorante de Giemsa como se describió para coleópteros, y en los restantes se ensayó bandeado C. La técnica de bandeado consistió en tratamiento con solución saturada de $Ba(OH)_2$ durante 20 min. a temperatura ambiente. A continuación los preparados se enjuagaron profusamente en agua destilada y luego fueron sumergidos en SSC 2x (solución salina de citrato = NaCl - 1.753% + citrato de sodio 0.817%) durante 30 min. a 60°C. Estos preparados fueron luego coloreados en la solución de Giemsa durante 3-5 min.

Finalmente, algunos preparados fueron realizados mediante la técnica tradicional de aplastado coloreando con hematoxilina propiónica usando citrato férrico como mordiente, de acuerdo al método de Sáez (1960):

II b) Euplectrotettix

Los individuos estudiados provienen de las localidades que se detallan a continuación:

E. shultzi Bruner: Famatina (prov. de La Rioja), 4 machos; Belén (prov. de Catamarca), 9 machos.

E. conspersus Bruner: Prov. de La Pampa, Salar La Amarga (11 machos), Chacharramendi (3 machos), Santa Rosa (Escuela Agrotécnica, Univ. Nac. de La Pampa) (6 machos); Prov. de La Rioja, Aeropuerto de La Rioja (2 machos).

La hipotonía y fijación del material proveniente de individuos coleccionados en las provincias de La Rioja y Catamarca fue similar a lo descrito para S. longicornis. Los individuos coleccionados en La Pampa fueron disecados y luego los testículos se trataron con KCl 0,5% durante 15 min. y se fijaron luego en fijador de Newcomer (1953) modificado por Hunziker (1966).

Se realizaron preparados por aplastado y por dispersión. Se aplicaron sólo técnicas convencionales de coloración, descritas en la sección correspondiente a S. longicornis.

II c) Dichroplus elongatus G. Tos

Los ejemplares estudiados provienen de una muestra de 23 machos recogida en Raco, provincia de Tucumán, en enero de 1982. Esta localidad se sitúa sobre el cerro San Javier, a unos 700 m sobre el nivel del mar.

Los testículos fueron disecados y sumergidos durante 15 min. en una solución hipotónica compuesta de solución salina para insectos (Drets y Stoll 1974) diluída al 50%. La fijación se efectuó en Newcomer modificado.

Los preparados se realizaron por extendido como se describió anteriormente, coloreando algunos portas en carbol-fucsina y otros en Giemsa 2% en tampón de Sørensen (pH 6.8).

- ESTUDIOS EN COLEOPTEROS -INTRODUCCION

El género Tropisternus consta de alrededor de 58 especies, todas exclusivamente americanas, de las cuales unas 21 pueden encontrarse en la Argentina. Pertenece a la tribu Hydrophilini, que comprende a los hidrofílicos mejor adaptados a la vida acuática (Bachmann 1965). El área de distribución del género es sumamente amplia, extendiéndose desde el Sur de Alaska hasta la provincia de Santa Cruz.

Su habitat está constituido por aguas dulces y tranquilas de charcos y lagunas poco profundas con abundante vegetación y bien oxigenados.

Al iniciarse la presente investigación, en la familia Hydrophilidae se habían estudiado sólo 15 especies de ocho géneros (Arnold 1908, Asana et al. 1942, Smith 1953, 1960, Agarwal 1960a, b, Manna y Lahiri 1972, Bidau 1981) de las cuales sólo una pertenece al género Tropisternus, T. lateralis Fabr., de la cual sólo se ha dado a conocer el número gamético (Smith 1953, 1960).

En el presente estudio se comparan los cariotipos, comportamiento meiótico y mecanismo cromosómico de determinación del sexo en las especies T. lateralis, T. setiger Germ., T. mutatus Orch., T. acaragua Bach., T. sharpi Orch. y T. flavescens Orch. Informes preliminares sobre estas especies ya fueron publicados (Vilardi, 1977, 1979, 1981a.)

RESULTADOS

Cariotipos:

Para las especies T. setiger, T. lateralis, T. flavescens y T. sharpi los cariotipos fueron analizados estudiando células en metafase II. En este estadio fue posible en ellas distinguir con claridad las cromátides y ubicar el centrómero. De este modo, se consigue armar un cariotipo completo usando los cromosomas de dos células hermanas, o sea, provenientes de un único espermatocito I. T. acaragua y T. mutatus presentan cromosomas muy pequeños que en metafase II no muestran ningún detalle debido a la gran contracción cromatínica. Por este motivo se prefirieron estadios de menor condensación que, aunque menos nítidos, permitieron obtener las medidas con mayor precisión. A modo de ejemplo en la figura 1 se muestran las células utilizadas para confeccionar los cariogramas de la figura 2. En las figuras 1 a-d se puede ver que las células son complementarias, siendo ambas los productos de la primera división de un espermatocito. La célula de T. acaragua (fig. 1 e) corresponde a un estadio de prometafase somática, puesto que los centrómeros aparecen ya divididos aunque las cromátides permanecen unidas.

Los cariotipos de todas las especies presentan las mismas características en cuanto a número y morfología cromosómicos y mecanismo cromosómico de determinación del sexo. Los cariogramas de la figura 2 muestran que todas las especies poseen $2n = 18$ cromosomas distribuidos en 9 pares. Uno de los pares es heteromórfico y corresponde al par sexual Xy_p en el cual el \underline{X} es de tamaño mucho mayor que el \underline{y} . Los autosomas y el \underline{X} en todas las especies son cromosomas \underline{m} . El \underline{y} , aunque muy

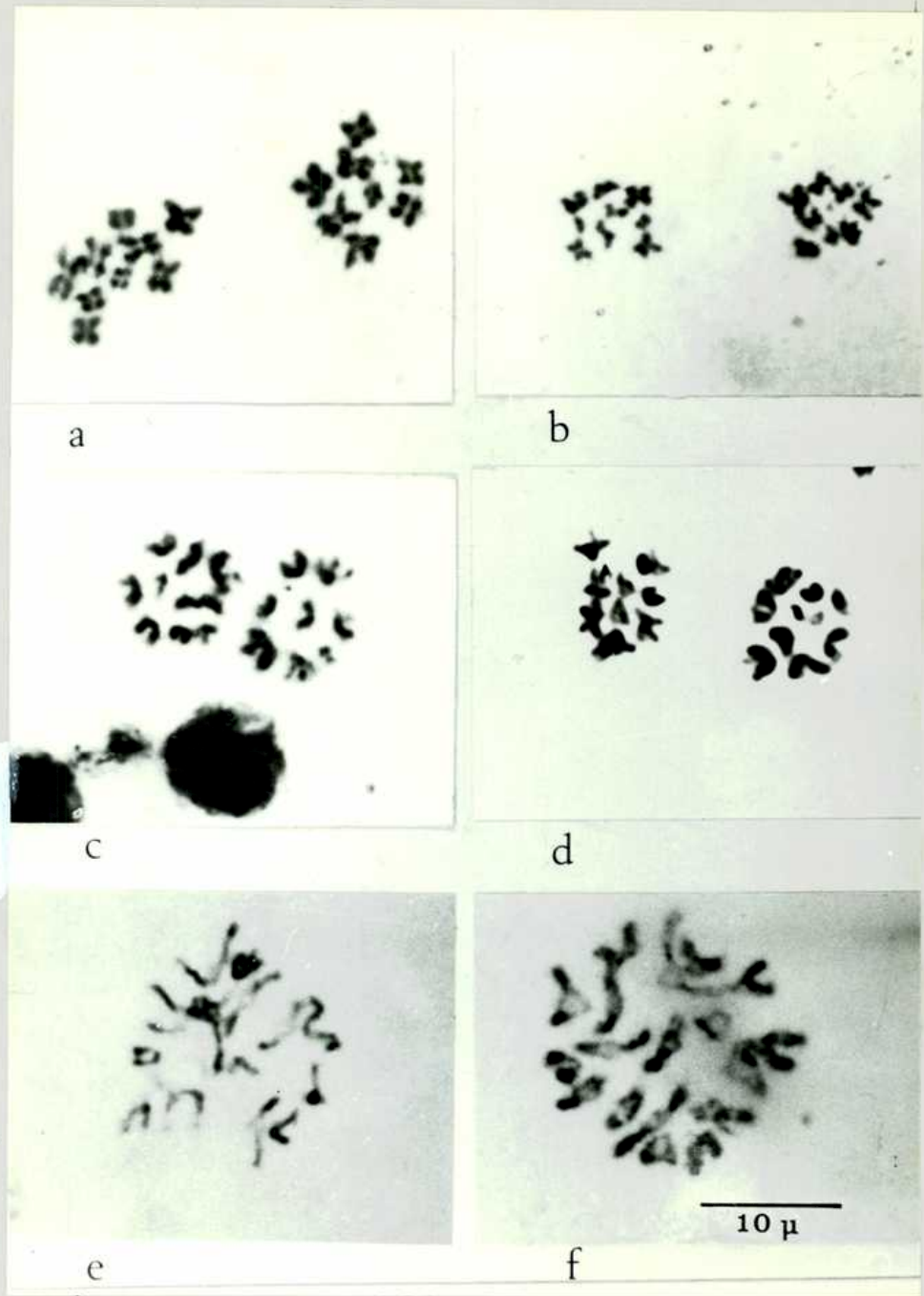


FIGURA 1: Células utilizadas para confeccionar los cariogramas de las especies correspondientes. a) T. setiger; b) T. lateralis; c) T. flavescens; d) T. sharpi; e) T. acaragua; f) T. mutatus. (a)-(d) en metafase II; (e) en prometafase gonial; (f) en metafase-anafase temprana somática.

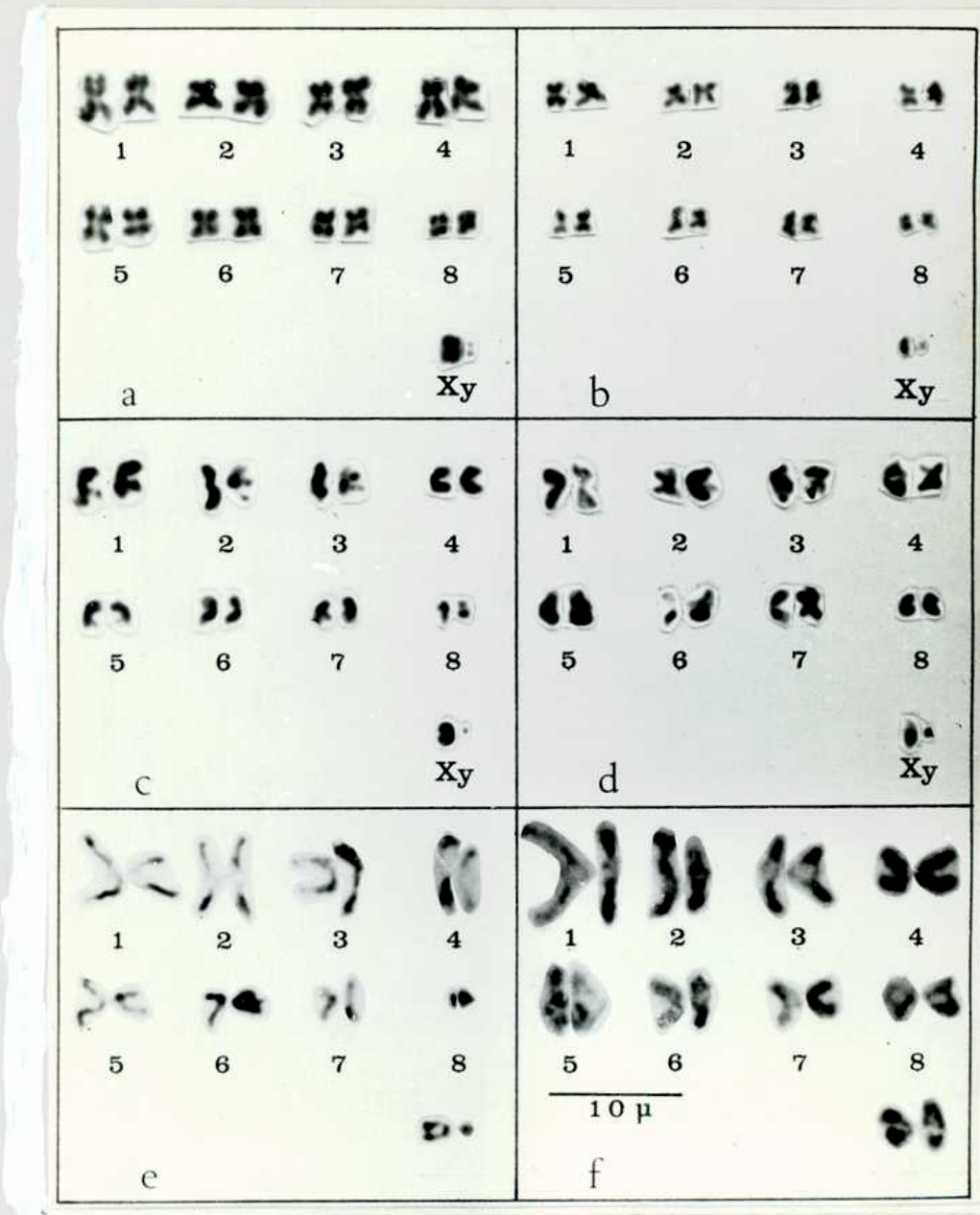


FIGURA 2: Cariogramas representativos de los cariotipos de las seis especies de *Tropisternus* realizados a partir de las correspondientes células de la figura 1. a) *T. setiger*; b) *T. lateralis*; c) *T. flavescens*; d) *T. sharpi*; e) *T. acaragua*; f) *T. mutatus*.

pequeño, demuestra ser m en T. setiger y T. mutatus pero en T. lateralis, T. flavescens, T. sharpi y T. acaragua es un cromosoma diminuto que no permite observar detalles morfológicos tales como la ubicación del centrómero. El X de T. mutatus aparece más condensado que el resto de los cromosomas y el y se ve de gran tamaño en relación a los autosomas comparado con el de otras especies. En metafase II, sin embargo, esta diferencia no fue evidente, por lo cual no pueden sacarse conclusiones a este respecto, pues la contracción diferencial de los cromosomas a lo largo del ciclo puede alterar los tamaños relativos en las distintas etapas de la división y las comparaciones en este caso se basan en estadios distintos.

Teniendo en cuenta la aparente similitud de los cariotipos y la alteración de los tamaños relativos de los cromosomas en distintos estadios se decidió realizar comparaciones entre las respectivas longitudes totales del complemento diploide (LTC) medidas en MII. Este estadio, como lo indican Smith y Virkki (1978), es uno de los más apropiados para este tipo de medidas por la constancia que presenta en él la morfología cromosómica y, en este caso, fue el más útil dada la nitidez que se logró en las preparaciones. Las medidas de LTC de cada especie, obtenidas promediando cinco células se da en la tabla 1. En el caso de T. acaragua y T. mutatus el tamaño de los cromosomas es tan pequeño en metafase II que se da el valor máximo observado en vez del promedio.

En la tabla 1 puede verse que las especies podrían ordenarse en tres grupos en función de su LTC. El conjunto cons

TABLA 1: Longitud total del complemento diploide (LTC) medida en metafase II de las especies estudiadas de Tropisternus.

ESPECIE	LTC
T. setiger	46.00 μm
T. sharpi	44.25 μm
T. flavescens	41.25 μm
T. lateralis	26.00 μm
T. acaragua	19.00 μm
T. mutatus	19.00 μm

tituido por T. setiger, T. sharpi y T. flavescens estaría cons- tituido por las especies con cromosomas de mayor tamaño. T. la- teralis, con un LTC alrededor de un 40% menor que el de las an- teriores estaría en segundo lugar y finalmente T. mutatus y T. acaragua, las dos especies de Misiones, con el menor LTC, - aproximadamente 27% menor que el de T. lateralis y 56% menor - que el de las especies del primer grupo.

Comportamiento meiótico:

El estudio de la meiosis reveló que todas las especies presentan normalmente 9 bivalentes, uno de los cuales es hete- romórfico (fig. 3). Este corresponde al par sexual Xy_p de tipo paracaídas según la denominación propuesta por Stevens (1906). En la mayoría de las células estudiadas este bivalente presen- tó heteropicnosis positiva durante los estadios profásicos de la primera división meiótica. (fig. 3 a, d, e, f, g). También fue común que este bivalente exhibiera heteropicnosis negati- va en MI (fig. 3c) y en algunas oportunidades aparecía fuera de la placa metafásica o aislado de los pares autosómicos.

Para los autosomas se determinó la frecuencia de biva- lentes cerrados, la frecuencia de quiasmas totales y la fre- cuencia de quiasmas intersticiales por célula para células en metafase I y en profase I tardía (diploteno + diacinesis).- Los resultados obtenidos pueden encontrarse en la tabla 2. En ésta se puede ver que en MI no se observó en ninguna especie la presencia de bivalentes cerrados. En profase I en cambio, aunque en baja frecuencia, sí se encontraron células mostran- do bivalentes cerrados.

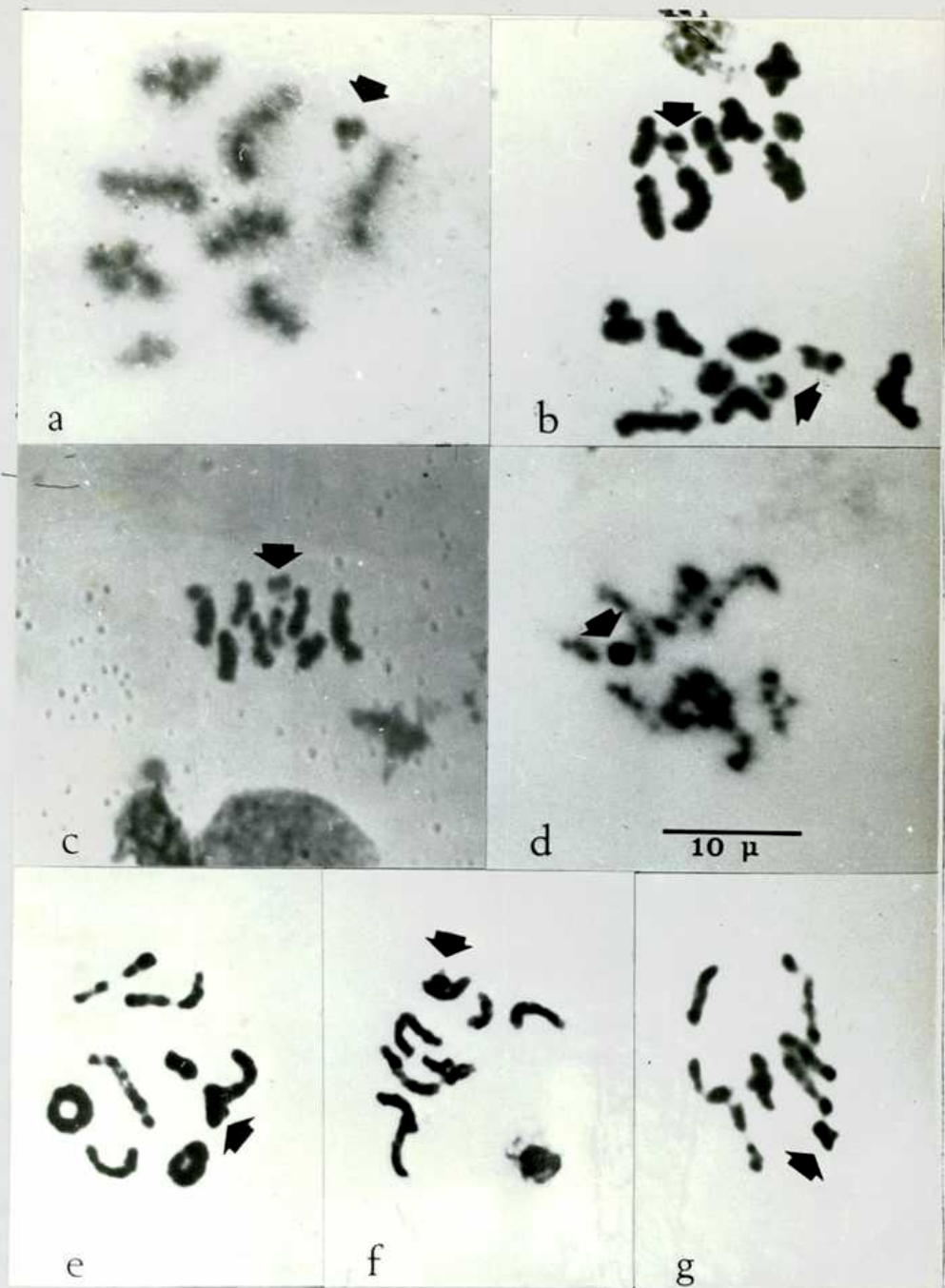


FIGURA 3: Células en división meiótica de las diferentes especies estudiadas. a) Diploteno y b) metafase I de T. setiger; c) metafase I de T. lateralis; d) diploteno de T. flavescens; e) diacinesis de T. sharpi; f) diacinesis de T. acaragua; g) diacinesis de T. mutatus. Las flechas señalan al bivalente sexual en forma de paracaídas (Xy_p) que en (a), (d), (e), (f) y (g) tiene heteropincnosis positiva, mientras que en (c) es heteropincnótico negativo.

TABLA 2: Media, error estándar y rango de variación del número de bivalentes cerrados, número de quiasmas totales y número de quiasmas intersticiales por célula para cada especie, en profase I tardía (diploteno + diacinesis) y metafase I y grado de terminalización de cada especie. Todas estas determinaciones fueron realizadas para los bivalentes autosómicos solamente.

ESPECIE	PROFASE I TARDIA						METAFASE I					
	QUIASMAS CERRADOS		QUIASMAS INTERST.		CELULAS ESTUD.		QUIASMAS CERRADOS		QUIASMAS INTERST.		CELULAS ESTUD.	
	TOTALES	GRADO TERMIN.	TOTALES	GRADO TERMIN.	TOTALES	GRADO TERMIN.	TOTALES	GRADO TERMIN.	TOTALES	GRADO TERMIN.	TOTALES	GRADO TERMIN.
T. setiger	0.14	8.14	1.48	0	8	0.93	29	38%	\bar{X}			
	0.08	0.08	0.26	-	-	0.19	29	38%	E. E.			
	0-1	8-9	0-3	-	-	0-3			Rango			
T. lateralis	0.57	8.57	1.00	0	8	0.56	48	44%	\bar{X}			
	0.29	0.29	0.15	-	-	0.11	48	44%	E. E.			
	0-3	8-11	0-2	-	-	0-1			Rango			
T. flavescens	0.26	8.26	0.31	0	8	0.09	11	71%	\bar{X}			
	0.10	0.10	0.11	-	-	0.09	11	71%	E. E.			
	0-1	8-9	0-1	-	-	0-1			Rango			
T. mutatus	0.06	8.06	0.93	0	8	0.66	24	29%	\bar{X}			
	0.06	0.06	0.23	-	-	0.17	24	29%	E. E.			
	0-1	8-9	0-3	-	-	0-3			Rango			
T. acerague	0.40	8.40	0.60	0	8	0.13	54	72%	\bar{X}			
	0.21	0.21	0.29	-	-	0.05	54	72%	E. E.			
	0-3	8-11	0-4	-	-	0-2			Rango			
T. sharpi	1.50	9.50	0.16	0	8	0.00	10	100%	\bar{X}			
	0.45	0.45	0.15	-	-	-	10	100%	E. E.			
	1-2	9-10	0-1	-	-	-			Rango			

En ningún caso se formó más de un quiasma por brazo, lo cual determina que haya una correlación estricta entre el número de quiasmas y el número de bivalentes cerrados. Esto es, cada célula forma un mínimo de ocho quiasmas (uno por bivalente) y cada quiasma que se forme por encima de este número implicará la formación de un bivalente cerrado pues en los bivalentes con dos quiasmas éstos invariablemente ocurren en brazos distintos. Así, resulta que $N^{\circ}\text{bivalentes cerrados} = N^{\circ}\text{quiasmas totales} - 8$.

T. sharpi fue la especie que presentó la más alta frecuencia de bivalentes cerrados, diferenciándose mucho del resto. Para saber si estas diferencias eran significativas se compararon las medias mediante un análisis de la varianza (tabla 3). Los resultados obtenidos indican diferencias significativas entre especies ($p \sim 0$). Comparando la media de T. sharpi con las de las demás especies tomadas en conjunto mediante el método de Scheffé (1959) se demostró que las diferencias eran significativas ($p \sim 0$). Esto fue corroborado realizando un nuevo análisis de la varianza, pero omitiendo a T. sharpi (tabla 4). En este caso se puede ver que las diferencias no son significativas ($p=0.20$).

La comparación entre las medias de quiasmas intersticiales en profase I por medio del mismo método estadístico (tabla 5) muestra también diferencias significativas entre especies ($p < 0.001$). Por contrastes de Scheffé se obtuvo que las diferencias más importantes y de las cuales depende el valor significativo del estadístico F son las que existen entre las es-

TABLA 3: Análisis de la varianza para comparar las frecuencias de bivalentes cerrados en profase I tardía (diploteno + diacinesis) en las especies de Tropisternus.

Item	G.L.	S. C.	C. M.	F	p
ESPECIES	5	18.2720	3.6544	9.34	10 ⁻⁶
ERROR	90	35.2175	0.3913	--	
TOTAL	95	53.4895	---	--	

Contraste:

T. sharpi vs. demás especies:

$$\left| \frac{f}{S_f} \right| = 6.2657 \quad F_{5,90} = 7.85 \quad p = 10^{-6}$$

TABLA 4: Análisis de la varianza para comparar las frecuencias de bivalentes cerrados en profase I tardía (diploteno + diacinesis) excluyendo a T. sharpi.

Item	G.L.	S. C.	C. M.	F	p
ESPECIES	4	2.4848	0.6212	1.52	0.20
ERROR	79	32.2175	0.4078	--	
TOTAL	83	34.7023	---	--	

TABLA 5: Análisis de la varianza para comparar la frecuencia de quiasmas intersticiales en profase I tardía (diploteno + diacinesis) entre las especies de Tropisternus.

Item	G.L.	S. C.	C. M.	F	p
ESPECIES	5	20.2900	4.0580	5.41	10^{-3}
ERROR	90	67.5433	0.7505	--	
TOTAL	95	87.8333	---	--	

Contraste:

T. setiger+T. lateralis+T. mutatus vs. T. flavescens+T. acaragua+T. sharpi.

$$\left| \frac{f}{S_f} \right| = 4.3094 \quad F_{5,90} = 3.71 \quad p = 0.004$$

TABLA 6: Análisis de la varianza para comparar las frecuencias medias de quiasmas intersticiales en metafase I entre las especies de Tropisternus.

Item	G.L.	S. C.	C. M.	F	p
ESPECIES	5	17.4222	3.4844	7.60	10^{-5}
ERROR	170	70.0096	0.4589	--	
TOTAL	175	95.4318	---	--	

Contraste:

T.setiger + T.lateralis + T.mutatus vs. T.flavescens + T.acaragua + T.sharpi.

$$\left| \frac{f}{S_f} \right| = 5.1728 \quad F_{5,170} = 5.35 \quad p = 0.0001$$

pecies con menor frecuencia. (T. flavescens, T. sharpi y T. acaragua) y T. setiger, T. lateralis y T. mutatus, con frecuencias de quiasmas más altas ($p = 0.004$), mientras que las diferencias entre especies dentro de esos grupos no son significativas.

En la tabla 6 se ven los resultados del análisis de la varianza para comparar las frecuencias medias de quiasmas intersticiales por célula en metafase I de las distintas especies. Las diferencias nuevamente son significativas ($p \approx 0$). Se puede ver en este caso que hay una marcada diferencia entre el grupo de especies T. setiger, T. lateralis y T. mutatus, con medias superiores a 0.5 y las otras tres (T. flavescens, T. sharpi y T. acaragua) cuyas medias no sobrepasan 0.2 El contraste entre estos dos grupos da un valor altamente significativo ($p < 0.001$).

El número total de quiasmas disminuye en forma evidente de profase I a metafase I, lo cual se pone de manifiesto por la total ausencia de bivalentes cerrados en este último estadio. Este hecho podría explicarse suponiendo que en estas especies los quiasmas terminalizan, de modo que en aquellos bivalentes en que se formaron dos quiasmas, uno de ellos se suelta precozmente entre diacinesis y metafase I. La frecuencia de quiasmas intersticiales también disminuye de profase I a metafase I, hecho que apoya la hipótesis de la terminalización. Para cuantificar este proceso de terminalización se propuso un índice (grado de terminalización) que mide la disminución porcentual de la frecuencia de quiasmas intersticiales observada en metafase I con respecto a la frecuencia de los mis-

mos en profase I.

La formulación del mismo es como sigue:

$$GT = \frac{p - m}{p} \times 100$$

p: N° quiasmas en PI
m: N° quiasmas en MI

Este índice indicaría cuántos de los quiasmas intersticiales en profase I dejan de serlo al llegar a metafase I.

Los valores del grado de terminalización para las distintas especies se pueden ver en la última columna de la tabla 2. El valor extremo (100%) corresponde a T. sharpi, en la cual no se observan quiasmas intersticiales en MI. Se puede apreciar que las especies con mayor frecuencia de quiasmas intersticiales (T. setiger, T. lateralis y T. mutatus) son las que presentan menor grado de terminalización, mientras que aquellas con menor frecuencia (T. flavescens, T. sharpi y T. acaragua) presentan los valores más altos de este índice. Este hecho determina que las diferencias entre estos dos grupos de especies se acentúen en metafase I.

DISCUSION

De acuerdo a los resultados del estudio del cariotipo, en las especies consideradas de este género se habría conservado la morfología cromosómica en cuanto en todos los casos se presenta un cariotipo compuesto por cromosomas maticéntricos (al menos los autosomas y el X). Además, todas las especies presentan el mismo mecanismo cromosómico de determinación del sexo el cual involucra cromosomas X e Y de tamaños -

muy distintos y que se asocian en la forma típica del bivalente en paracaídas (Xy_p según la nomenclatura propuesta por Smith 1953). Este tipo de sistema de determinación del sexo es el más común dentro del orden, hecho que sumado a la presencia en este género de un número básico $n=9$ de alta incidencia entre los coleópteros (Smith 1950) permitirían suponer que Tropisternus sería un género relativamente primitivo.

La conservación del número fundamental (nF) no ofrece dudas en lo referente a los autosomas y el \underline{X} , todos evidentemente de tipo \underline{m} . El diminuto tamaño del \underline{y} en algunas especies no permite una adecuada caracterización del mismo. En las especies donde el tamaño del \underline{y} permitió distinguir la posición de la constricción primaria éste demostró ser \underline{m},y , probablemente, dado lo conservativo del cariotipo en este género, el \underline{y} debe ser \underline{m} en todas las especies. Smith (1951) suponía que la asociación entre el \underline{X} y el \underline{y} para formar el Xy_p requiere la participación de los extremos de ambos brazos de los cromosomas sexuales y, si esto fuera cierto, necesariamente el \underline{y} sería \underline{m} en todos los taxones estudiados. Sin embargo, dado que la asociación en el Xy_p sería no quiasmática y mantenida por un cuerpo nucleolar persistente (John y Lewis 1960, John y Shaw 1967) y que otros autores interpretan la misma como establecida a través de un único brazo (Guénin 1950), no puede afirmarse con seguridad cuál debería ser la morfología del \underline{y} en aquellos casos en que éste es puntiforme.

A pesar de la constancia del número cromosómico, al medir la longitud total del complemento se observan diferencias claras entre las especies, siendo la longitud cromosómica de

la especie con mayor LTC (T. setiger) casi 2.5 veces mayor que la de las especies con LTC más bajo (T. mutatus y T. acaragua). Dado que se ha demostrado que en general existe correlación entre LTC y contenido de ADN (Dhillon 1980, Schifino y Winge - 1983) es de esperar que en este caso también las diferencias observadas se deban a diferencias en contenido de ADN. El mecanismo más común para aumento del contenido de ADN es la duplicación génica, proceso que además es de gran importancia en la evolución al proveer nuevas copias de genes que pueden acumular mutaciones sin restricciones salvo letales dominantes - por estar en dosis doble, permitiendo así obtener nuevos genes capaces de especializarse para cumplir nuevas funciones (ver - Ohno 1970). La cromatina extra en algunos casos tiene la propiedad de alterar los patrones de formación de quiasmas, y, con el objeto de detectar efectos de este tipo en las especies de este género, se compararon las frecuencias de quiasmas entre las distintas entidades taxonómicas.

El primer hecho destacable es que habría un control bastante estricto de la formación de quiasmas, puesto de manifiesto por la ausencia de bivalentes que presenten más de un quiasma en el mismo brazo, lo cual implica un fenómeno de interferencia muy marcado dentro de cada brazo. Se observaron en cambio bivalentes cerrados (con dos quiasmas, uno en cada brazo) en profase I, aunque en baja frecuencia. En metafase I es notable en todas las especies la ausencia de bivalentes cerrados y la menor frecuencia de quiasmas intersticiales y totales con respecto a profase I. Estas diferencias han sido atribuidas a la ocurrencia de terminalización, de modo que los -

bivalentes cerrados se abren por liberación de un quiasma y los quiasmas intersticiales se desplazan a posiciones más terminales.

Si bien todas las especies coinciden en presentar una baja frecuencia de quiasmas, al comparar mediante análisis de la varianza las medias de número total de quiasmas en profase I y número de quiasmas intersticiales en profase y metafase I entre las especies, las diferencias encontradas fueron significativas en los tres casos.

Para la comparación del número total de quiasmas (o de bivalentes cerrados, dada la correlación entre estos parámetros) el valor significativo del estadístico se debe principalmente a las diferencias entre T. sharpi y el resto de las especies. Por otra parte, en el caso de los quiasmas intersticiales las diferencias más importantes se dan entre dos grupos de especies, constituídos respectivamente por T. setiger, T. lateralis y T. mutatus por un lado y T. acaragua, T. flavescens y T. sharpi por otro.

La especie con mayor frecuencia de bivalentes cerrados es al mismo tiempo la que presenta la menor frecuencia de quiasmas intersticiales, Esto podría explicarse suponiendo que las especies difieren en la determinación de la localización del primer quiasma, distancia diferencial (d) de acuerdo al modelo de Mather (1937), pero no difieren en la distancia de interferencia (i). Si la distancia i es de longitud cercana a la de los cromosomas más largos, la formación de un quiasma intersticial excluiría la formación de un segundo quias

ma y, por ende, la formación de bivalentes cerrados. Este sería el caso de la especie T. setiger que posee la mayor frecuencia de quiasmas intersticiales y la menor frecuencia de bivalentes cerrados. El extremo opuesto corresponde al caso de T. sharpi en la cual el primer quiasma se formaría cerca del extremo y eso permitiría la formación de un segundo quiasma con mayor frecuencia que en las otras especies. De este modo, a una baja frecuencia de quiasmas intersticiales corresponde una mayor frecuencia de bivalentes cerrados. Efectivamente, representando la distribución de las especies en un sistema de ejes frecuencia de bivalentes cerrados en función de frecuencia de quiasmas intersticiales (fig.4) se ve que dentro de los grupos de especies con tamaños cromosómicos semejantes. (T. sharpi, T. flavescens y T. setiger por un lado y T. mutatus y T. acaragua por otro) se da una correlación inversa entre frecuencia de bivalentes cerrados y frecuencia de quiasmas intersticiales.

En función de la disminución de la frecuencia de quiasmas intersticiales se definió un coeficiente, el grado de terminalización que es una medida del desplazamiento de los quiasmas de segmentos intersticiales a regiones terminales que ocurre de profase I a metafase I. Los valores de este coeficiente fueron en general más altos en las especies que presentan menores frecuencias de quiasmas intersticiales (T. sharpi, T. acaragua y T. flavescens) que en las especies con frecuencias mayores (T. setiger, T. lateralis y T. mutatus) lo cual indicaría que en las primeras los quiasmas terminalizarían más rápido, por lo cual en ellas la disminución porcentual del número de quiasmas intersticiales por célula es mayor. Esta dis-

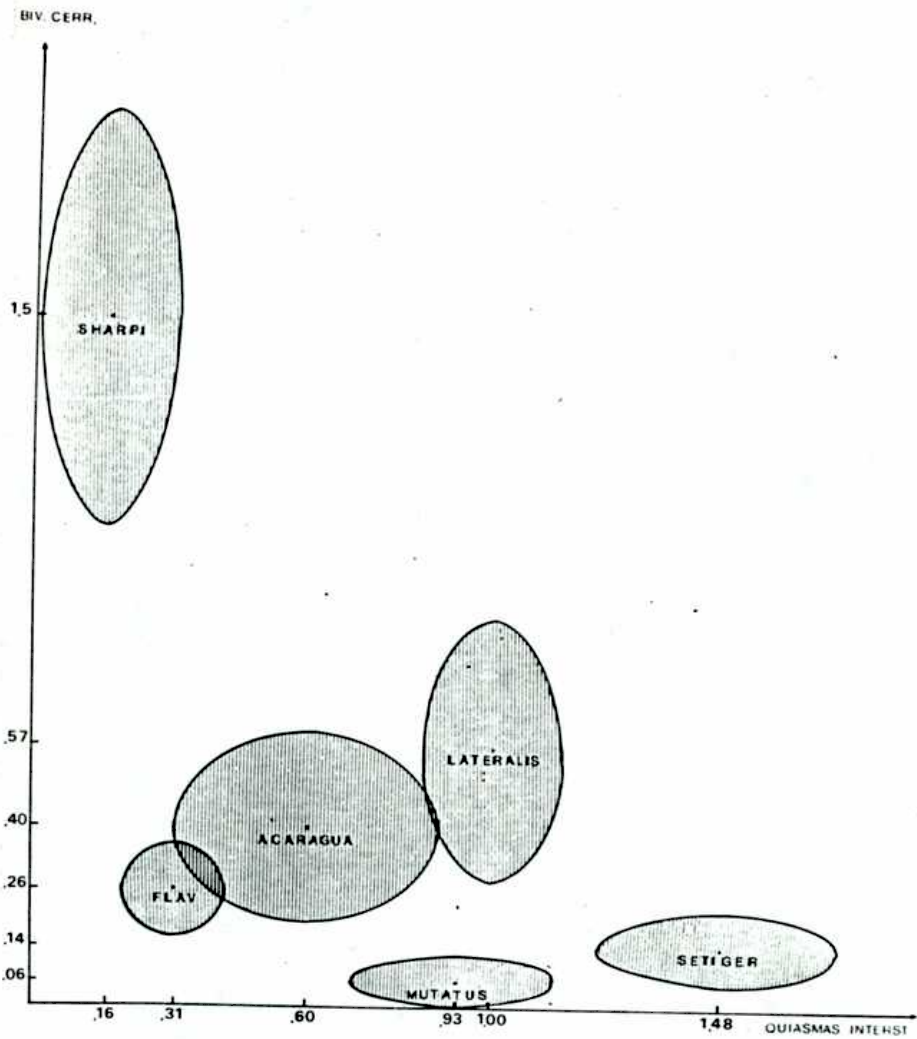


FIGURA 4: Gráfico representando las especies de *Tropisternus* sobre un sistema de coordenadas frecuencia de bivalentes cerrados en función de la frecuencia de quiasmas intersticiales. Cada especie está representada por un óvalo cuyo centro coincide en el gráfico con la media de los parámetros indicados correspondiente a la misma, y los ejes vertical y horizontal simbolizan respectivamente los errores estándar de la frecuencia de bivalentes cerrados y de número de quiasmas intersticiales por célula.

minución diferencial del número de quiasmas intersticiales determina que las diferencias en la frecuencia de estos quiasmas entre los dos grupos de especies se hagan más notables en meta fase I.

De acuerdo a las observaciones realizadas se podría concluir que en este género se han mantenido las características generales de la morfología cromosómica, pero, aún dentro de la poca variabilidad en el comportamiento meiótico, las especies presentan diferencias observables. No puede en función de estos datos decidirse la probable función de tales diferencias por la imposibilidad de diferenciar causa de efecto. Es decir, estas variaciones podrían ser las causantes o sólo un subproducto del proceso de especiación, pero de todos modos es de esperar que las condiciones de los quiasmas, por su influencia en el comportamiento regular de los bivalentes en la meiosis y en la recombinación genética, que puede ser una importante fuente de variabilidad, tenga algún significado adaptativo. De las diferencias observadas las más importantes de destacar son las encontradas entre T. lateralis y T. flavescens. Estas dos entidades fueron consideradas subespecies, es decir, respectivamente T.lateralis lateralis y T.lateralis flavescens. Sin embargo, su verdadera categoría taxonómica presenta ciertas dudas según criterios morfológicos (Bachmann, com. pers.). Además, estos dos grupos son simpátricos en muchas localidades, y en este trabajo los ejemplares de Tucumán de ambas especies fueron colectados en la misma charca, no habiéndose encontrado ninguna forma morfológicamente intermedia. Los datos obtenidos en este estudio citogenético muestran diferencias marcadas entre estos

dos taxones en cuanto a tamaño cromosómico, frecuencia de bivalentes cerrados, frecuencia de quiasmas intersticiales y grado de terminalización. Por su LTC T. flavescens se relaciona más con T. setiger y T. sharpi que con T. lateralis, y en el gráfico de bivalentes cerrados en función de quiasmas intersticiales las posiciones de T. flavescens y T. lateralis aparecen claramente separadas.

Estas observaciones apoyarían la hipótesis de que T. flavescens y T. lateralis presentan diferencias suficientemente grandes - como para ser consideradas especies distintas.

- ESTUDIOS EN ORTOPTEROS -

INTRODUCCION

Las reestructuraciones cromosómicas en los ortópteros frecuentemente se relacionan con procesos de diferenciación racial y especiación (White 1957a, 1978, Sáez y Pérez Mosquera - 1971, Shaw 1976), y, por otra parte, situaciones de polimorfismos para la presencia de bivalentes heteromórficos, translocaciones, fusiones céntricas y variaciones numéricas del cariotipo han sido descriptas en numerosas especies de este orden - (White 1973a, Hewitt 1979).

Estas mutaciones cromosómicas, desde su origen, tendrán influencias sobre el comportamiento meiótico de los portadores que en algunos casos pueden llegar a ser muy importantes. El mantenimiento de tales polimorfismos en las poblaciones dependerá fundamentalmente de la interacción entre los distintos efectos de los reordenamientos sobre la meiosis, aunque no debe descartarse un posible efecto sobre el exofenotipo. El estudio de los reordenamientos que ocurren en poblaciones naturales es muy importante para tratar de determinar el posible papel de tales mutaciones y sus influencias sobre la recombinación y otros procesos.

Hay en la literatura una serie de trabajos referidos al estudio de la influencia de distintas alteraciones cromosómicas sobre la formación de quiasmas en diferentes especies de ortópteros (Hewitt y John 1965, John y Hewitt 1966a, Sannomiya 1968, Shaw 1971b, Hewitt 1979), pero en muchos casos los

resultados son discordantes, variando según la especie considerada.

En el presente trabajo se analizan poblaciones naturales de cuatro especies pertenecientes a tres géneros de ortópteros de la familia Acrididae. Dado que los problemas estudiados en cada caso son algo diferentes, se comentarán separadamente los resultados obtenidos para cada género.

A) Staurorhectus longicornis

Introducción:

Las informaciones previas sobre las características citológicas de S. longicornis G. Tos eran sumamente escasas, sólo referidas al número gamético y basadas en el estudio de sólo unos pocos ejemplares (Sáez 1956b, Mesa 1956, Mesa et al. 1982). De acuerdo a las mismas esta especie presenta 11 bivalentes autosómicos y un univalente (X) en la meiosis del macho.

En el presente estudio se completó esta información a través del estudio del cariotipo, utilizando técnicas convencionales y de bandeo C, y del comportamiento meiótico. Se detectó además la existencia de polimorfismos cromosómicos, por lo cual se utilizó este material para tratar de observar si tales reordenamientos podían alterar de alguna manera los patrones de formación de quiasmas, estudiando en él las variaciones en las frecuencias, localización y terminalización de quiasmas. Resultados preliminares de este estudio han sido ya comunicados (Vilardi 1981b).

Resultados:

i) Cariotipo

El cariotipo de S. longicornis fue determinado mediante el estudio de células en división gonial y en anafase I y metafase II de la meiosis. En la mayoría de los individuos estudiados el número cromosómico era $2n=23$, siendo el mecanismo cromosómico de determinación del sexo de tipo XX ♀♀/XO ♂♂. Estas características por lo tanto corresponderían al cariotipo básico de la especie. Los autosomas pueden ser agrupados en tres pares largos (L1-L3), seis medianos (M4-M9) y dos pequeños (S10-S11) (fig. 5).

La longitud del cromosoma X relativa a la de los autosomas varía en los distintos estadios analizados como consecuencia de la contracción diferencial de este cromosoma que presenta un ciclo de condensación-decondensación diferente del resto de los cromosomas, pero en promedio es similar al par L3. Durante la profase meiótica el X es heteropicnótico positivo, como en la mayoría de las especies de ortópteros (fig. 5B, 8C).

Todos los cromosomas tienen centrómeros terminales, de modo que, al menos a nivel del microscopio óptico, no existe un brazo corto distinguible. Por esta razón ellos pueden ser denominados t de acuerdo a la nomenclatura propuesta por Levvan et al. (1964) o simplemente telocéntricos si se acepta que este tipo de cromosoma pueda realmente existir como lo postulan John y Hewitt (1968) y Hewitt y John (1971). El X presenta una constricción secundaria, probablemente organizadora nu

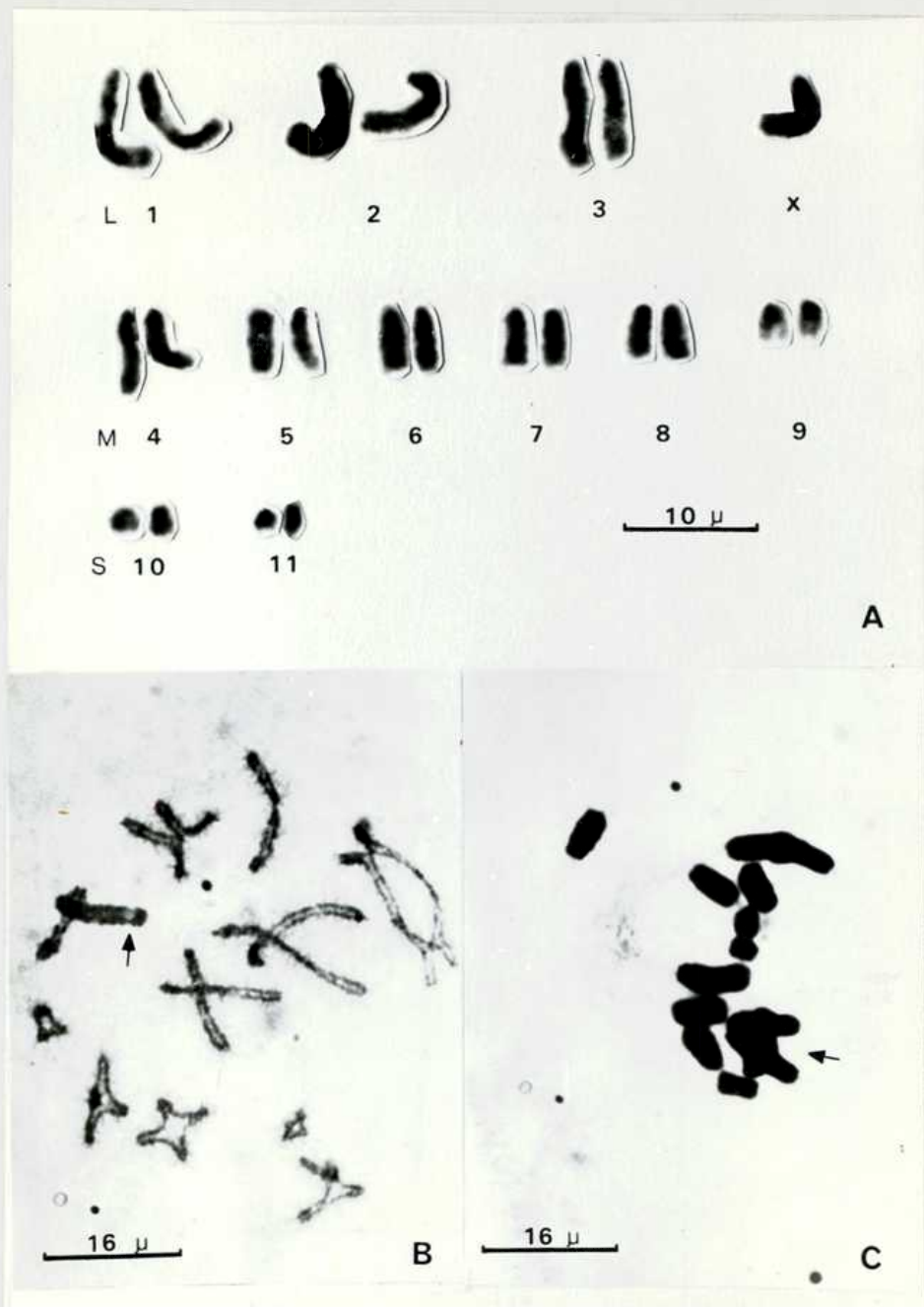


FIGURA 5: A) Cariograma representativo del cariotipo básico de *S. longicornis*. B) Célula en diploteno en la cual se señala la constricción secundaria procéntrica en el X (flecha). C) Célula en metafase I del individuo heterocigota para la fusión L2-L3 mostrando el correspondiente trivalente en orientación alterna (flecha).

cleolar, procéntrica (cercana a la región centromérica) que determina un satélite lineal el cual abarca la mayor parte del brazo cromosómico (fig. 5B). Esta constricción fue más claramente visible en profase meiótica, especialmente en diploteno, mientras que en metafase I, metafase II y metafase gonial se hace menos evidente como consecuencia de la mayor contracción cromosómica y de la desintegración del nucleolo característica de estos estadios.

Los individuos que presentaban este cariotipo básico tenían meiosis regular, formando invariablemente 11 bivalentes+X (fig. 5B)

ii) Fusión céntrica

Uno de los 35 individuos analizados de la población AR tenía su cariotipo compuesto por $2n = 21 AA + X$, siendo uno de sus cromosomas de tipo sm (submetacéntrico). Este cromosoma se habría originado por fusión céntrica entre un cromosoma del par L2 y uno del par L3 (fig. 6A). Durante la meiosis este individuo formaba invariablemente 1 III + 9 II + X (fig. 5C).

El estudio de la coorientación centromérica, basado en la observación de diez células en cada estadio, indicó que en anafase I los centrómeros no homólogos de los cromosomas libres L2 y L3 se orientaban siempre hacia el mismo polo, mientras que el centrómero del cromosoma fusionado L2-3 lo hacía el polo opuesto (fig. 6B). Esto ocurría a pesar de que en metafase I la orientación del trivalente era lineal o alterna con aproximadamente la misma frecuencia. La forma de segregación observada en anafase I conduciría a la producción de gametas

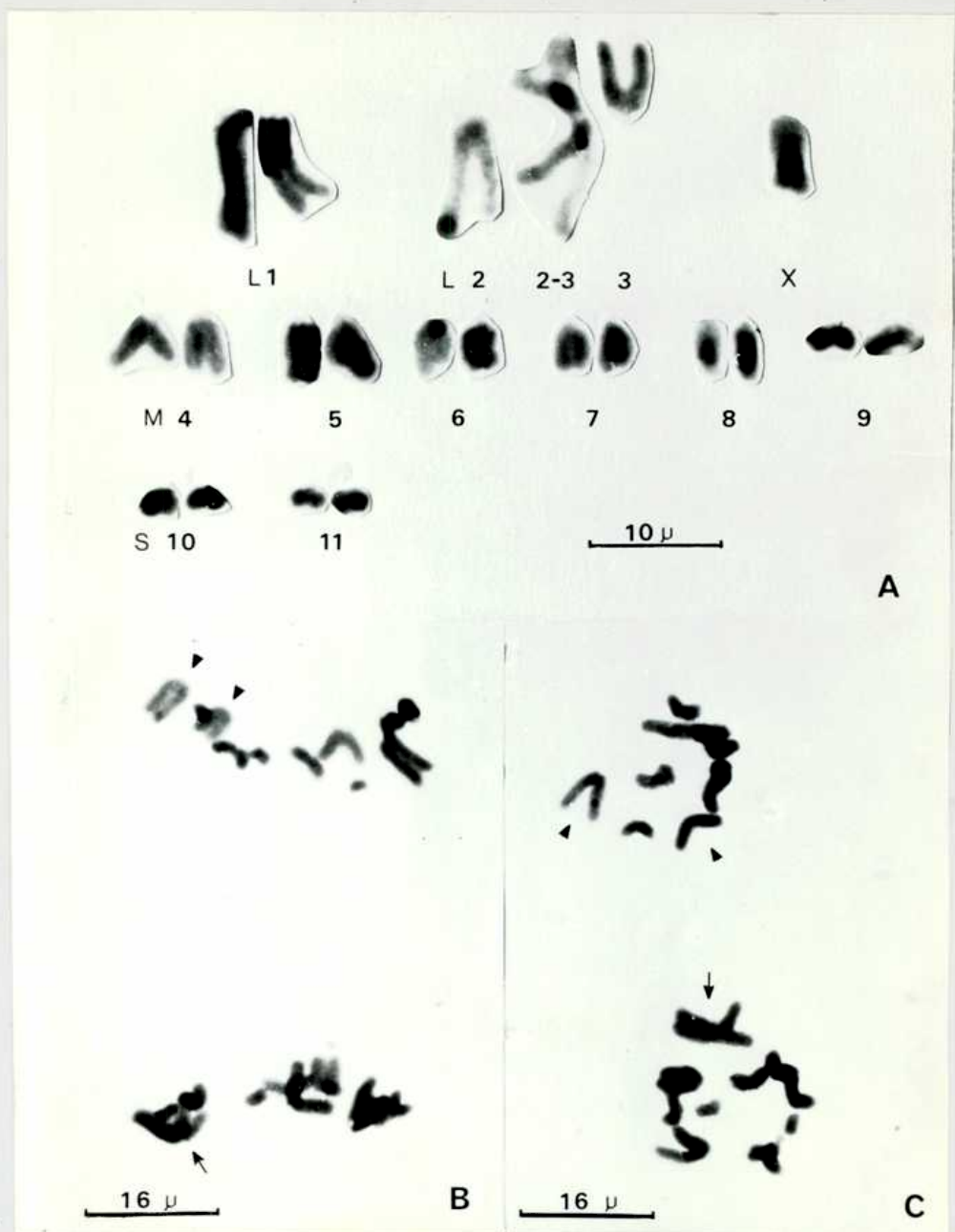


FIGURA 6: A) Cariograma en anafase I del heterocigota para la fusión L2-L3. B) Anafase I y C) metafase II del mismo individuo: en ambos casos el submetacéntrico producido por la fusión (flecha) migra (o ha migrado) a un polo, mientras que los cromosomas no fusionados L2 y L3 (puntas de flecha) lo hacen juntos hacia el opuesto.

balanceadas, lo cual estaría apoyado por la observación de cinco pares de células hermanas en metafase II en las cuales se vio que siempre el fusionado L2-3 se encontraba en una de las células mientras que los dos cromosomas libres L2 y L3 estaban en la otra (fig.6C).

iii) Segmento supernumerario

En tres individuos de AR y dos de PQ el par L2 era heteromórfico por la presencia de un segmento proximal heterocromático adyacente a la región centromérica, la cual permanece en el extremo.

El segmento supernumerario es claramente visible en paquiteno en todas las células analizadas (fig. 7A). En diploteno el heteromorfismo se hace aún más evidente debido a que una constricción elástica separa el segmento supernumerario, asociado con la región centromérica, del resto del cromosoma (fig. 7B). Esta constricción no se observó en los individuos carentes del segmento supernumerario y sí era característico en todos los heterocigotas para el bloque heterocromático extra, razón por la cual se supone que ambas estructuras estarían relacionadas de alguna manera.

En diacinesis la constricción sigue siendo visible pero ya no tiene el aspecto estirado del estadio previo, debido probablemente a la mayor condensación de la cromatina, y finalmente en metafase I, al aumentar aún más la condensación se hace muy difícil de distinguir.

En los heterocigotas se estudió un gran número de células

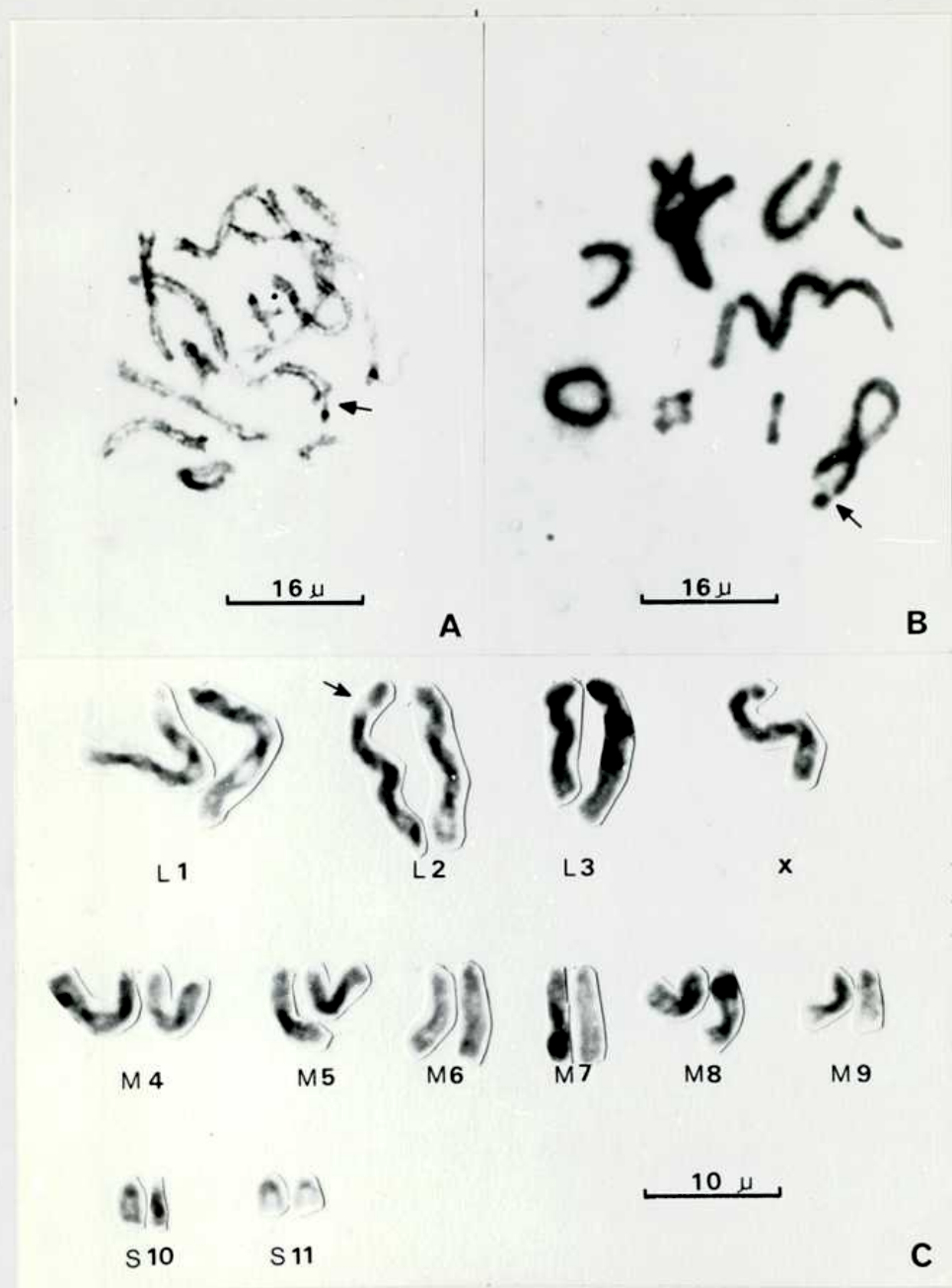


FIGURA 7: A) Célula en paquíteno de un heterocigota para el segmento supernumerario en el par L2. La flecha señala al segmento extra desapareado. B) Diploteno de otro individuo portador de la misma reestructuración. El bloque heterocromático supernumerario se encuentra separado del resto del cromosoma por una constricción elástica (flecha). C) Cariograma de un heterocigota para el segmento supernumerario. Flecha = constricción.

las, no habiéndose encontrado evidencias que sugieran un origen por translocación del segmento extra. La localización proximal del bloque determinó que los quiasmas se produjeran siempre distalmente. La consecuencia es que el segmento segrega invariablemente durante la primera división meiótica.

En los individuos heterocigotas se pudo estudiar el cariotipo analizando células en división somática. El cariógrama representativo del cariotipo (fig. 7C) muestra que el par L2 es heteromórfico y en el cromosoma portador se puede ver que la posición del centrómero es terminal y que la constricción secundaria separa el bloque heterocromático del resto del brazo.

iv) Inversión pericéntrica

Uno de los individuos de AR exhibía un bivalente heteromórfico correspondiente al par M8 (fig. 8A). Este bivalente presentaba uno de sus miembros más condensado y formando un ángulo recto con su homólogo. Este hecho fue interpretado como la ocurrencia de una inversión pericéntrica que abarcaría prácticamente el brazo cromosómico entero. La consecuencia de esta reestructuración sería un desplazamiento del centrómero de un extremo del cromosoma al otro, sin que se modifique aparentemente la morfología que seguiría siendo la de un cromosoma t. Los quiasmas no podrían ocurrir dentro del segmento invertido, por lo cual quedarían restringidos a las regiones teloméricas. La suposición de que pueda producirse sobrecruzamiento en un segmento tan reducido tiene su apoyo en que en este organismo se observaron durante el presente estudio bivalentes ditácticos y éstos se consideran como debidos a la formación

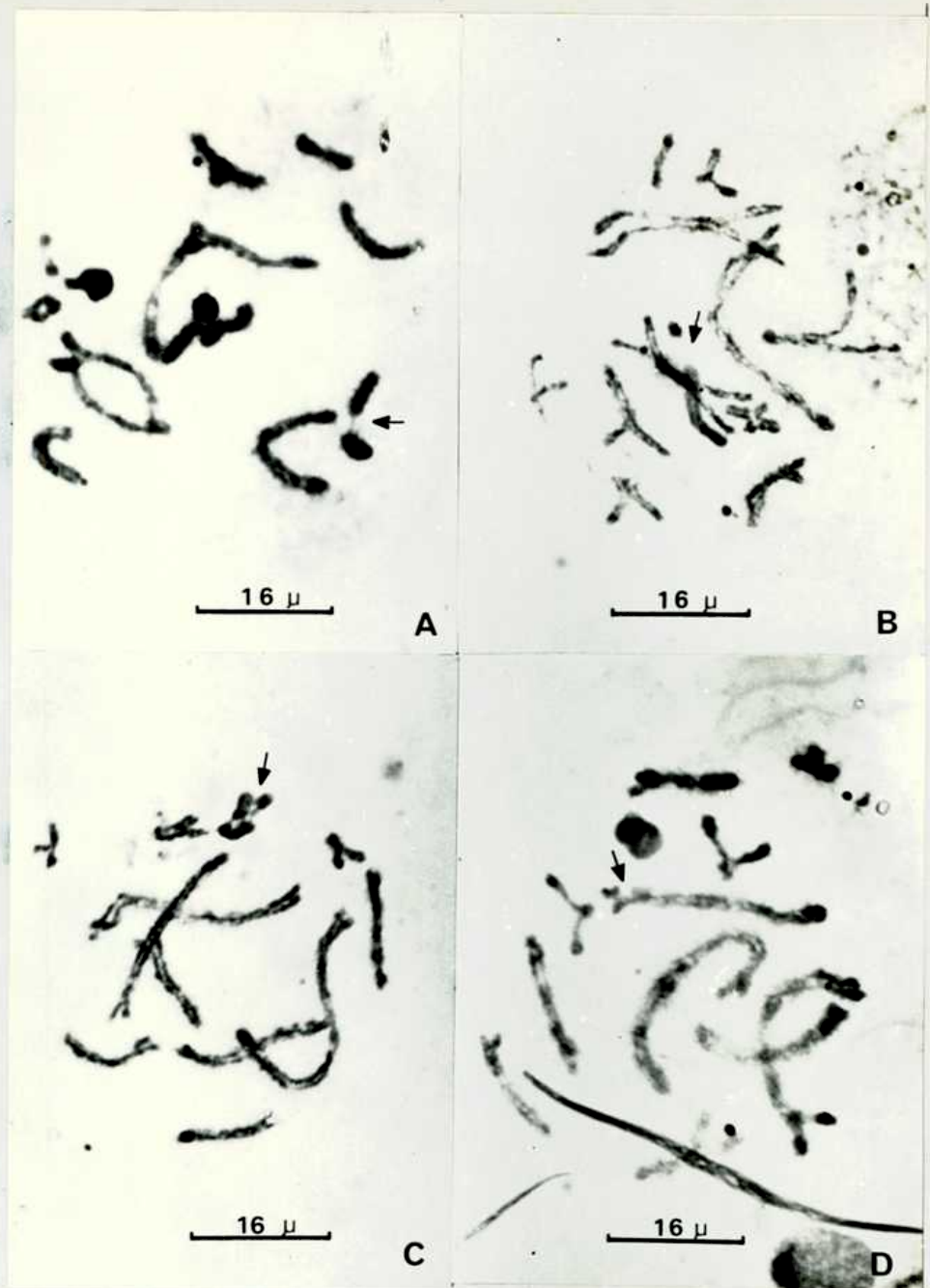


FIGURA 8: A) Célula en diploteno del individuo de *S. longicornis* heterocigota para la inversión pericéntrica en el par M8. La flecha señala al bivalente heteromórfico. B) Paquíteno tardío-diploteno mostrando la constricción procéntrica del X distendida (flecha). C) Paquíteno de un individuo que presenta dos constricciones elásticas en el cromosoma X (flecha). D) Paquíteno de un heterocigota para una constricción elástica en el par L3 (flecha).

de un quiasma dentro de la región centromérica (John y Hewitt 1966b) o en un brazo corto no visible (White 1973a).

v) Constricciones elásticas

En el curso de este estudio se detectaron constricciones elásticas que ocurrían en distintos cromosomas. Una de ellas fue ya descrita en el par L2 relacionada con el polimorfismo para el segmento supernumerario observado en el mismo par. Además de éste, se encontraron estructuras similares en el cromosoma X y en el par L3.

Como se indicó más arriba, el cromosoma X presentaba en todos los individuos una constricción procéntrica. En uno de los individuos de la población AR esta constricción presentaba un aspecto extremadamente estirado. (fig. 8B), condición que era particularmente evidente en diploteno. En otro individuo de la misma población el X presentaba una segunda constricción en posición mediana, estando en este caso ambas constricciones estiradas, de modo que el cromosoma presentaba un aspecto tripartito (fig. 8C). En metafase I las constricciones no estaban ya estiradas y tenían un aspecto normal.

Un individuo de AR mostraba heteromorfismo en el par L3 puesto de manifiesto por la formación de una constricción elástica en uno de sus miembros. En paquiteno esta característica podía verse muy claramente (fig. 8D), pero en los estadios posteriores, a medida que la condensación cromosómica progresa se hace menos evidente.

vi) Frecuencia de quiasmas

Los estudios de las frecuencias de quiasmas se dirigie-

ron hacia la resolución de tres tipos de problemas. El primero de ellos se refiere a la ocurrencia o no de terminalización de quiasmas en este organismo desde el período de diploteno a metafase I. El segundo aspecto se relaciona con el estudio de la variabilidad en frecuencia y distribución de quiasmas dentro de la especie (entre y dentro de poblaciones). Finalmente el tercer ítem considerado fue el análisis de una posible correlación entre las variaciones de las frecuencias de quiasmas y la presencia de un determinado reordenamiento cromosómico.

vi-a) Terminalización de quiasmas

El análisis de la terminalización se llevó a cabo mediante la comparación de las frecuencias de quiasmas en los estadios de diploteno, diacinesis y metafase I. En primer término se compararon las frecuencias medias de quiasmas totales por célula (tabla 7) mediante un análisis de la varianza de dos factores (individuos x estadios) estudiando en 13 individuos de ambas poblaciones cinco células en cada estadio por individuo.

El análisis estadístico (tabla 8) demostró la existencia de diferencias altamente significativas entre individuos y entre estadios ($p < 0.01$) y una interacción no significativa ($p > 0.05$) entre estadio x individuo. Se realizaron comparaciones entre estadios utilizando el método de contrastes de Scheffé (1959) y éstas indicaron que hay diferencias altamente significativas entre diploteno y los estadios subsiguientes ($p < 0.01$), pero diacinesis y metafase I no difieren significativamente entre sí ($p > 0.05$). Estos resultados demuestran que el número

TABLA 7: Frecuencias medias y error estándar de quiasmas totales por célula para diploteno, diacinesis y metafase I en Staurorhectus longicornis.

Estadio	Frec.	E. E.
DILOTENO	12.877	0.307
DIACINESIS	12.477	0.165
METAFASE I	12.246	0.237

TABLA 8: Análisis de la varianza para la comparación del número total de quiasmas por célula entre diploteno, diacinesis y metafase I en S. longicornis.

Item	G.L.	S. C.	.C. M.	F	p
ESTADIOS	2	13.2410	6.6205	6.94	0.001
INDIVIDUOS	12	194.0000	16.1667	16.95	~ 0
INTERACCION	24	28.4923	1.1872	1.24	0.213
ERROR	156	148.8000	0.9538	--	
TOTAL	194	384.5333	---	--	

Contrastes:

Diploteno vs. Diacinesis + Metafase I

$$\left| \frac{f}{S_f} \right| = 3.47 \quad F = 6.02 \quad p = 0.003$$

Diacinesis vs. Metafase I

$$\left| \frac{f}{S_f} \right| = 1.35 \quad F = 0.91 \quad p = 0.400$$

total de quiasmas por célula tiende a disminuir de diploteno a estadios posteriores.

Seguidamente se procedió a estudiar si habían variaciones en los patrones de distribución de quiasmas, considerando la relación entre número de quiasmas intersticiales/número de quiasmas totales.

Las medias obtenidas para este parámetro se pueden encontrar en la tabla 9. La comparación de estos valores se realizó empleando el mismo método que en el estudio de número total de quiasmas, y los resultados (tabla 10) indicaron que las diferencias entre estadios son altamente significativas, al igual que las diferencias entre individuos ($p \ll 0.01$), mientras que la interacción estadio x individuo no es significativa ($p > 0.05$).

Los contrastes, por su parte indicaron diferencias altamente significativas ($p \ll 0,01$) entre diploteno y los otros dos estadios, y también entre diacinesis y metafase I. La conclusión de estos resultados sería que la ubicación de los quiasmas varía de diploteno a metafase I en forma continua. De diacinesis a metafase I el número total de quiasmas no variaría (tabla 8), pero la proporción de quiasmas intersticiales en el primer estadio es mayor que en el segundo, lo que implicaría un desplazamiento de los quiasmas de regiones intersticiales a segmentos más terminales.

vi-b) Variaciones intraespecíficas de las frecuencias de quiasmas.

Dadas las variaciones entre individuos observadas en el

TABLA 9: Frecuencias medias de quiasmas intersticiales/quiasmas totales por célula en diploteno, diacinesis y metafase I en Staurorhectus longicornis.

Estadio	Frec.	E. E.
DIPLOTENO	0.522	0.003
DIACINESIS	0.420	0.003
METAFASE I	0.338	0.003

TABLA 10: Análisis de la varianza para comparar los valores de proporción de quiasmas intersticiales por célula entre diploteno, diacinesis y metafase I en S. longicornis.

Item	G.L.	S. C.	C. M.	F	p
ESTADIOS	2	1.1005	0.5503	48.61	~ 0
INDIVIDUOS	12	2.5071	0.2089	18.46	~ 0
INTERACCION	24	0.3159	0.0132	1.16	0.28
ERROR	156	1.7657	0.0113	--	
TOTAL	194	5.6892	---	--	

Contrastes:

Diploteno vs. Diacinesis + Metafase I

$$\left| \frac{f}{S_f} \right| = 8.85 \quad F = 39.16 \quad p \sim 0$$

Diacinesis vs. Metafase I

$$\left| \frac{f}{S_f} \right| = 4.36 \quad F = 9.50 \quad p = 0.0001$$

parágrafo anterior, se decidió comparar las dos poblaciones, AR y PQ, en función de sus respectivos patrones de frecuencia y distribución de quiasmas en diploteno.

En primer término se compararon las medias de número total de quiasmas por célula estudiando 19 individuos de AR y 16 de PQ, mediante el análisis de aproximadamente 10 células por individuo (tabla 11).

El método estadístico empleado fue un análisis de la varianza de un factor para nuestras anidadas (individuos dentro de población) (tabla 12). Los resultados de esta prueba indicaron que las diferencias entre las poblaciones no eran significativas ($p > 0.05$), pero habrían diferencias altamente significativas ($p \ll 0.01$) entre individuos dentro de cada población.

Las medias de quiasmas intersticiales/quiasmas totales por célula de las dos poblaciones (tabla 13) fueron comparadas mediante el mismo método que se usó para quiasmas totales. Los resultados (tabla 14) son similares a los anteriores en cuanto no muestran diferencias significativas entre poblaciones ($p > 0.05$) pero sí se observan diferencias intrapoblacionales significativas ($p \ll 0.01$).

vi-c) Reordenamientos y frecuencias de quiasmas

Para tratar de determinar si las variaciones entre individuos se podían correlacionar con la presencia de reordenamientos cromosómicos, se reunieron los datos de ambas poblaciones, dado que éstas, como se demostró, no difieren significativamente, y con los valores de frecuencia de quiasmas tota

TABLA 11: Frecuencias medias de quiasmas totales por célula en las poblaciones AR y PQ de Staurorhectus longicornis.

<u>población</u>	<u>media</u>
AR	12.584
PQ	13.125
TOTAL	12.817

TABLA 12: Análisis de la varianza para comparar las poblaciones AR y PQ de S. longicornis en cuanto a su frecuencia media de quiasmas por célula.

<u>Item</u>	<u>G. L.</u>	<u>S. C.</u>	<u>C. M.</u>	<u>F</u>	<u>p</u>
POBLACIONES	1	24.6961	24.6961	2.37	0.133 •
INDIVIDUOS	33	344.5776	10.4417	7.12	~ 0
ERROR	307	450.2000	1.4664	--	
TOTAL	341	819.4737	---	--	

TABLA 13: Frecuencias medias de la relación quiasmas intersticiales/quiasmas totales en las poblaciones AR y PQ de Staurorhectus longicornis.

<u>Población</u>	<u>media</u>
AR	0.466
PQ	0.519
TOTAL	0.490

TABLA 14: Análisis de la varianza para comparar las medias de quiasmas intersticiales/quiasmas totales de las poblaciones AR y PQ de S. longicornis.

<u>Item</u>	<u>G.L.</u>	<u>S. C.</u>	<u>C. M.</u>	<u>F</u>	<u>p</u>
POBLACIONES	1	0.0092	0.0092	0.54	0.468
INDIVIDUOS	33	5.5637	0.1686	13.65	~ 0
ERROR	307	3.7909	0.0123	--	
TOTAL	341	9.3635	---	--	

les y la relación quiasmas intersticiales/quiasmas totales en diploteno, se realizaron sendos histogramas (fig. 9A, 9B). La media de quiasmas totales (fig. 9A, tabla 11) fue 12.817 con una amplia dispersión, como se espera dadas las grandes diferencias entre individuos (tablas 8 y 12). Sobre el gráfico se indica el tipo de rearrreglo estructural observado en los individuos pertenecientes a cada intervalo de frecuencia, de modo que se puede ver que los individuos con reordenamientos se distribuyen sobre buena parte del rango de la distribución encontrándose individuos con segmento supernumerario a ambos lados de la media, de manera que no se puede relacionar ningún reordenamiento con ninguna tendencia respecto de la frecuencia de quiasmas.

El histograma para quiasmas intersticiales/quiasmas totales (fig. 9B) conduce a conclusiones similares, esto es, los individuos con reestructuraciones se distribuyen a ambos lados de la media.

vii) Bandeo C

La técnica de bandeo C permitió caracterizar los bivalentes en diploteno de acuerdo a su patrón de bandeo. La figura 10 muestra un cariograma meiótico bandeado en este estadio. En él se pueden ver regiones C positivas intersticiales y teloméricas en varios bivalentes. El X y el par M7 son totalmente heterocromáticos, por lo cual este último puede considerarse el megamérico de esta especie.

Las bandas heterocromáticas son también visibles en paquiteno, pero de diacinesis a estadios posteriores son menos

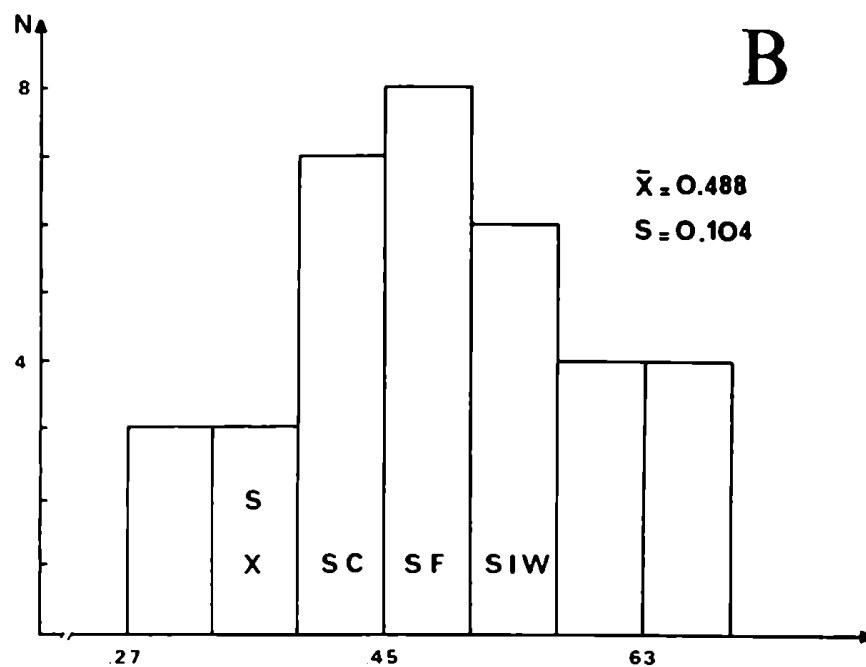
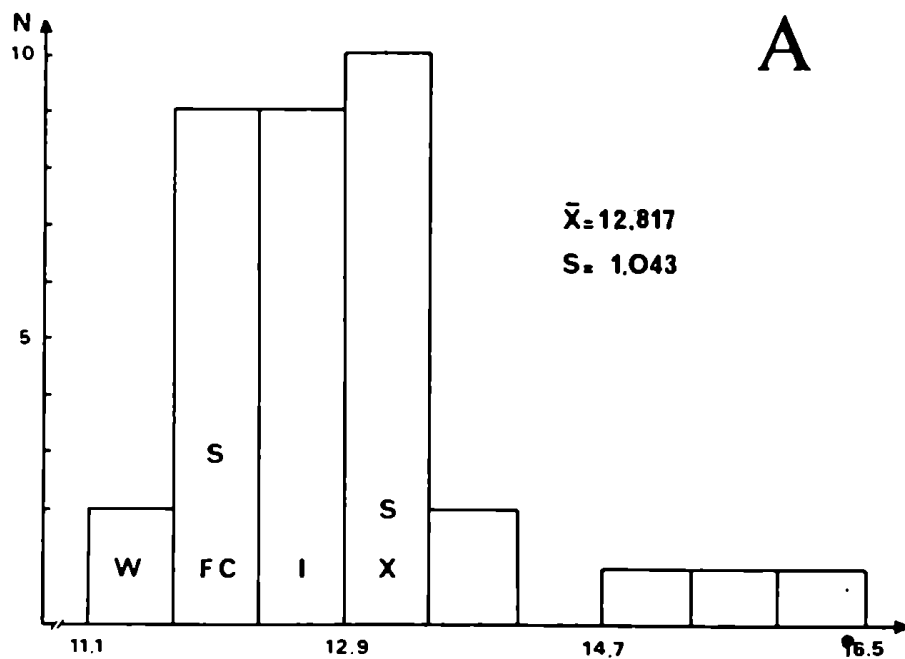


FIGURA 9: A) Histograma de distribución de frecuencias para el promedio de número total de quiasmas por célula en diploteno incluyendo individuos de las poblaciones AR y PQ de S. longicornis. B) Histograma de la distribución de frecuencias para la proporción de quiasmas intersticiales a totales en diploteno. En ambos histogramas los individuos portadores de reordenamientos cromosómicos están representados por medio de símbolos dentro del correspondiente intervalo de frecuencias, a la altura de la ordenada correspondiente al número de individuos observados. S: segmento supernumerario en el cromosoma L2; W: dos constricciones elásticas en el X; X: una constricción elástica en el X; I: inversión pericéntrica heterocigótica en el par M8; C: heteromorfismo para una constricción en el par L3; F: heterocigosis para fusión céntrica entre los pares L2-L3.

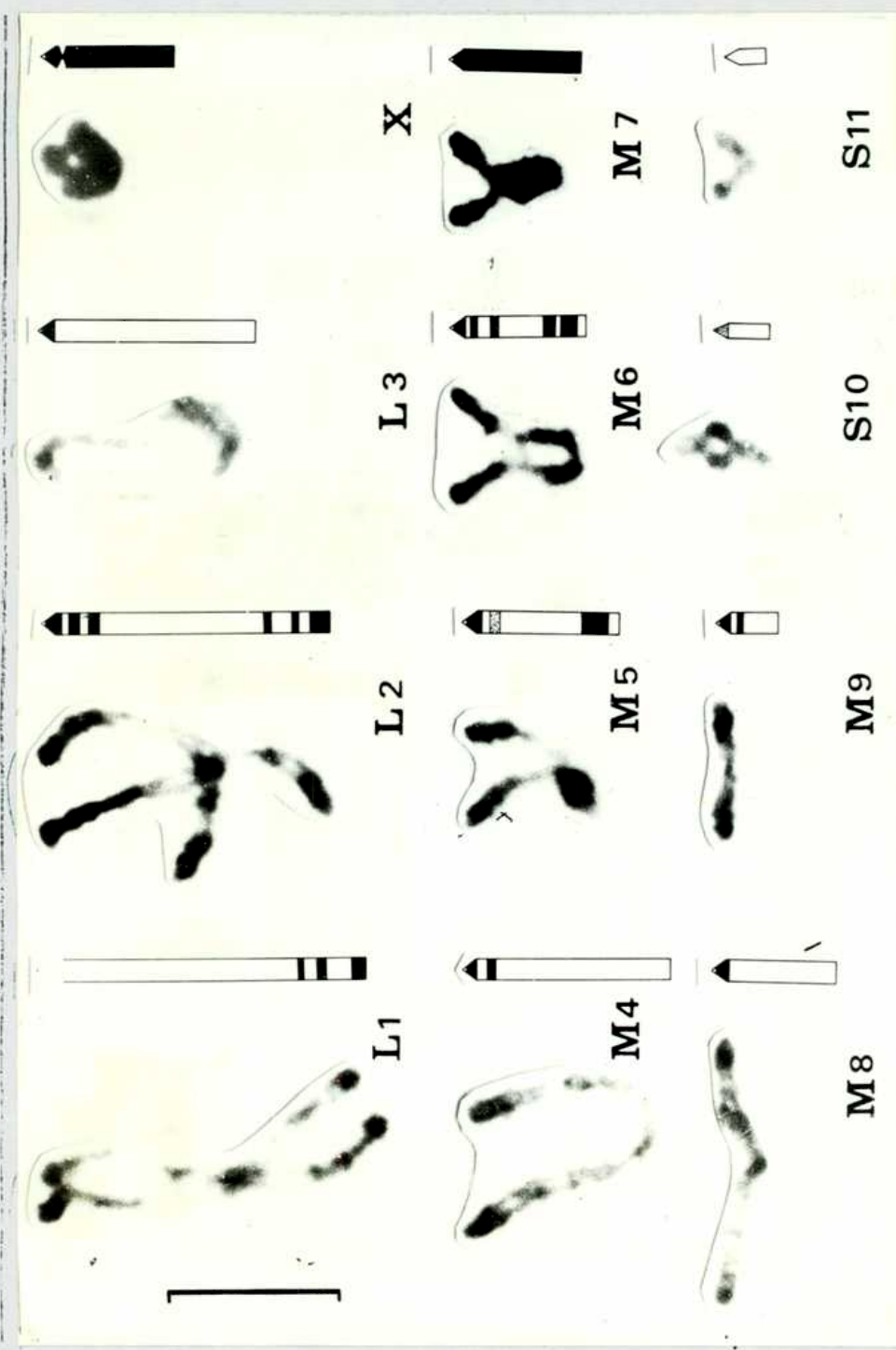


FIGURA 10: Cariograma en diploteno de *Staurorhectus longicornis* coloreado mediante la técnica de bandeado C. Se observan bandas no centroméricas en los pares L1, L2, M4, M5, M6 y M9. El par M7, completamente heteroploidómico, corresponde al megamérico de esta especie. Barra = 10 μ m.

distinguibles a medida que la condensación de la cromatina aumenta.

Discusión:

i) Estabilidad del cariotipo

El cariotipo de S. longicornis puede ser considerado primitivo por cuanto corresponde al esquema básico de la familia Acrididae: $2n=23$ cromosomas monobraquiales en los machos y un mecanismo sexual de tipo XO ♂♂/XX ♀♀ (White 1973a, Hewitt 1979). La constricción procéntrica en el X es también una característica relativamente frecuente en este grupo. Con todo, el cariotipo y el comportamiento meiótico en esta especie no son tan estables como podría suponerse a partir de sus características generales, ya que se detectaron alteraciones del esquema básico en 10 de 60 individuos analizados. En el caso de las alteraciones encontradas en individuos únicos no puede determinarse en función de los datos presentes si se está en presencia de un verdadero polimorfismo o si los portadores son simplemente mutantes espontáneos recientemente aparecidos. A este respecto, los criterios comunmente utilizados para considerar que una población es polimórfica es que la variante menos frecuente esté en una frecuencia no menor del 5% (criterio más restrictivo) o no menor del 1% (criterio más amplio) (Dobzhansky et al. 1980).

Los individuos con inversión pericéntrica, fusión céntrica, constricción elástica en el par L3 y una o dos constricciones elásticas en el X todos provienen de la población AR,

cuyo tamaño muestral era de 35 individuos. La frecuencia de cada una de las alteraciones en autosomas (inversión, fusión y constricción en L3) sería de 1.4%, mientras que la frecuencia de las alteraciones en el \underline{X} sería de 2.8% (para autosomas $q_{\pm} = \frac{1}{2} \times \frac{1}{35}$ y para el \underline{X} $q_{\pm} = \frac{1}{35}$).

Las frecuencias observadas estarían por lo tanto entre los dos valores críticos y, por ser eventos únicos dentro de la muestra, no puede tomarse una decisión segura. Por otra parte, los segmentos supernumerarios sí pueden ser considerados en un estado polimórfico, puesto que su frecuencia estimada en AR y PQ fue de 0.04 y que, dado el tamaño de la muestra es conveniente optar por el criterio más amplio.

ii) Constricciones elásticas

White (1957b) describió en Keyacris (antes Moraba) scurra la presencia de bivalentes heteromórficos con segmentos cromosómicos extremadamente estirados durante la primera división meiótica, denominando a estos segmentos "constricciones elásticas". Desde entonces a la fecha tales constricciones han sido observadas en muchos otros ortópteros. Estas ocurren invariablemente en cromosomas megaméricos que contienen el organizador nucleolar, mientras que en otros cromosomas se encontró que esta extensión se desarrollaba sólo en aquellos casos en que el organizador se encuentra entre el centrómero y un quiasma localizado distalmente a éste. (John, 1976). En S. longicornis se observó en este estudio que se producían constricciones elásticas en el \underline{X} , que por su condición de univalente

durante la meiosis en el macho no puede formar quiasmas, contradiciendo por lo tanto las observaciones previas. Las constricciones observadas en autosomas se encontraban en todos los casos situadas contiguamente a la región pericéntrica y en uno de los casos se pudo demostrar una clara relación entre la constricción y un segmento supernumerario heterocromático.

Las observaciones en S. longicornis y el hecho que las constricciones elásticas sean comunes en el par megamérico hacen suponer una posible vinculación entre tales extensiones y la heterocromatina. En los casos presentados en este estudio, parece poco probable que todas las constricciones elásticas sean organizadores nucleolares, lo cual concuerda con John (1976) que considera improbable que todas las constricciones elásticas correspondan a organizadores nucleolares estirados.

iii) Segmento supernumerario

El segmento supernumerario encontrado en este trabajo presenta características similares a las observadas por Shaw (1971a) en un mutante de Schistocerca gregaria, en el cual la heterocigosis fue detectada en 14 de 24 folículos analizados. En este mutante no se halló evidencia de movimiento de material entre cromosomas, descartando la translocación como mecanismo de origen del segmento, por lo cual se supone que el bloque extra habría surgido "de novo" a través de un proceso de duplicación y heterocromatinización. En el caso presentado aquí los folículos no se analizaron individualmente dado que la mayoría de los preparados se hicieron por dispersión,

pero el segmento era claramente visible en todas las células estudiadas (más de 60) en paquiteno y diploteno, de modo que puede considerarse que no se trata de un mosaico sino que los cinco individuos portadores (3 AR + 2 PQ) serían heterocigotas para el segmento. Por analogía con el caso descrito por Shaw podría suponerse que también en este caso el origen del segmento sería una duplicación. Cabe sin embargo la posibilidad de que una translocación desigual entre la región adyacente al centrómero del \underline{X} , incluyendo la región pericentromérica y la constricción procéntrica, y la región pericentromérica de un cromosoma L2 haya producido un cromosoma \underline{X} no funcional (por pérdida del centrómero) que se perdería y un cromosoma L2 que habría incorporado la heterocromatina pericentromérica y la constricción del \underline{X} .

Un hecho notable del caso descrito en este trabajo es que el segmento ocurre en uno de los cromosomas largos, mientras que en la mayoría de los casos registrados previamente este tipo de reordenamiento ocurría en cromosomas pequeños -- (John 1973).

iv) Inversión pericéntrica

La inversión aquí demostrada es similar a la descrita por Sáez (1963) fijada en el neo-Y de Dichroplus bergii. En el caso presentado en este estudio se supone que como consecuencia de la inversión prácticamente todo el cromosoma, salvo las regiones terminales, tendría su secuencia invertida con respecto a la original (fig.11). En paquiteno no se observaron asas de inversión por lo que se supone que las zonas de apareamiento

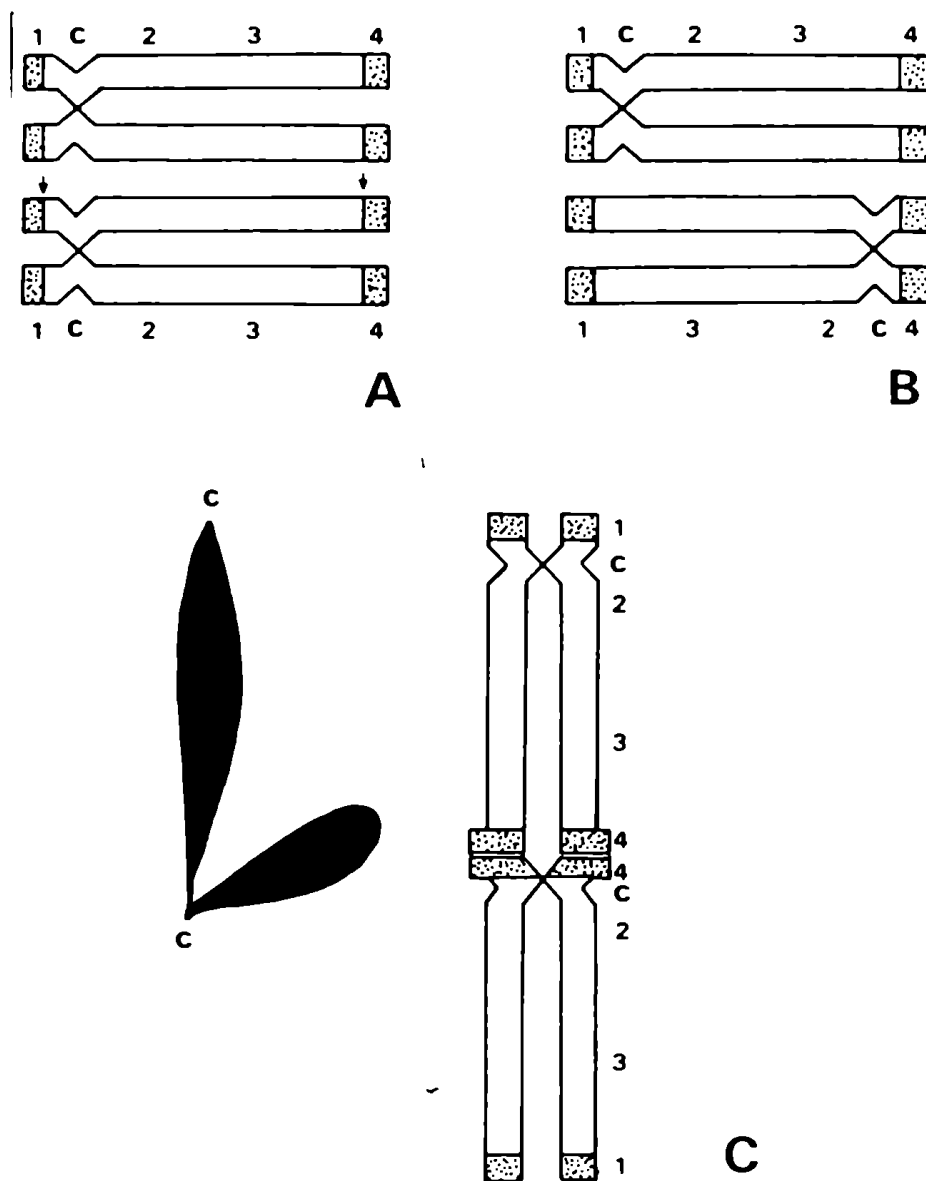


FIGURA 11: Interpretación del bivalente heteromórfico observado en la figura 8A. A) Ordenamiento original. Las flechas indican los puntos de ruptura. B) Inversión. Las áreas punteadas no están incluidas en la inversión y constituyen las regiones de formación de quiasmas. C) Esquema del apareamiento y apariencia del bivalente de diploteno a metafase I. c: centrómero; 1-4: diferentes regiones del cromosoma.

miento se reducirían a las regiones terminales. Este fenómeno de pseudosinapsis ha sido observado en ortópteros (Nur 1968, Fletcher y Hewitt 1978) y otros insectos como así también en roedores polimórficos para inversiones pericéntricas (White 1973b) y evitaría la disminución de la fertilidad causada por el sobre-cruzamiento dentro de la región invertida en los heterocigotas.

v) Bandeo C

El bandeo C demostró la presencia de bandas centroméricas, teloméricas e intersticiales. Este último tipo de bandas ha sido descrito en ortópteros en comosomas B y megaméricos (Fontana y Vickery 1974, Klásterská et al. 1974, John y Freeman 1976, Webb y Westerman 1978). En Zoniopoda tarsata se describieron bandas de este tipo en los pares cromosómicos más largos (Cardoso y Di Tomaso 1980). El caso presentado aquí sería comparable a este último puesto que los bivalentes con bandas intersticiales tienen un comportamiento regular durante la meiosis.

vi) Frecuencia y terminalización de quiasmas

La frecuencia de quiasmas generalmente muestra una distribución no aleatoria (Haldane 1931) lo que implica que el número y la posición de los mismos debe estar sujeta a algún tipo de control. Shaw (1971b) demostró la existencia de un componente ambiental en el mecanismo de regulación de los quiasmas. Por otra parte, como se indicó previamente, se han presentado casos en los cuales la frecuencia de quiasmas podía estar afectada por genes mendelianos simples, sistemas de interacción génica y sistemas poligénicos. Existen además -

muchos trabajos que indican que la heterocromatina supernumeraria puede ejercer algún efecto sobre las condiciones de los quiasmas como así también las translocaciones e inversiones.

Con tales antecedentes se consideró interesante estudiar las variaciones en las frecuencias de quiasmas y el proceso de terminalización en S. longicornis y tratar de determinar si las reestructuraciones observadas podían influir sobre la recombinación.

vi-a) Terminalización

El primer aspecto considerado fue el movimiento de quiasmas. En este caso, a diferencia del estudio realizado por Fox (1973) con S. gregaria, el estudio no se basó en las variaciones a lo largo del período diploténico, sino en la comparación de las frecuencias de quiasmas en distintos estadios (diploteno, diacinesis y metafase I).

Los resultados obtenidos indicarían que en S. longicornis se produce un movimiento continuo de quiasmas de diploteno a metafase I, puesto que hay una disminución del número total de quiasmas al pasar de diploteno a diacinesis, y una disminución de la relación quiasmas intersticiales/quiasmas totales al pasar de diacinesis a metafase I. Así, algunos de los quiasmas presentes en diploteno llegarían a soltarse al llegar a diacinesis, mientras que el resto continuaría terminalizando hasta metafase I, de modo que se desplazan a regiones terminales.

Las diferencias entre estadios no pueden ser atribuí-

das a variaciones entre cistos, como se propuso en otros casos (Shaw 1971b, Ennis 1972), dado que los preparados fueron hechos por dispersión de manera que cada uno de ellos tenía células - provenientes de varios cistos. Además, los valores no significativos de los cocientes de varianzas para la interacción individuo x estadio observados en las tablas 8 y 10 indican que todos los individuos muestran el mismo tipo de variación entre estadios.

vi-b) Variaciones individuales

Si la frecuencia de quiasmas tuviera una distribución aleatoria, ésta debería ser de tipo Poisson (Haldane 1931), por lo tanto, por las propiedades de esta distribución la media - tendría que ser igual a la varianza. Sin embargo, en todos los individuos estudiados la varianza entre células era mucho más baja que la media del ejemplar. Los eventos que tienen lugar previo a y durante la formación de los quiasmas estarían regulados ambiental y genéticamente (Rees 1961, Lindsley et al. - 1968), por lo tanto, si la varianza entre células es mucho menor que lo esperado por azar, es posible que algún determinante, génico o ambiental, esté actuando de manera de canalizar - las frecuencias y reducir la varianza intraindividual.

Cuando se compararon individuos de la misma y de distintas poblaciones se puso de manifiesto la existencia de una alta variabilidad interindividual tanto en la frecuencia (número total) como en la distribución (proporción de quiasmas intersticiales) de quiasmas (diferencias significativas entre in

dividuos en tablas 12 y 14). Las poblaciones estudiadas distaban entre sí unos 30 Km. y entre ellas había una barrera constituida por la ciudad de La Rioja. Las condiciones ecológicas de las dos poblaciones eran diferentes, puesto que AR se encontraba en una zona llana y arenosa, muy alterada por la actividad humana, donde Larrea cuneifolia era la vegetación dominante. PQ por su parte se situaba al pie de la Sierra de Velazco, en un terreno pedregoso en el cual Bulnesia foliosa era abundante junto con varias gramíneas. Con todo, las poblaciones no difieren en cuanto a las condiciones de los quiasmas (diferencias entre poblaciones no significativas en tablas 12 y 14), de manera que se podría decir que las diferencias ambientales no serían demasiado importantes, o, al menos, no serían las únicas. Esto discrepa con lo hallado en S. gregaria y Stethophyma grossum (Shaw 1971a), aunque en aquel estudio las condiciones de trabajo eran controladas pues se trataba de poblaciones experimentales. Sin embargo, en S. longicornis la variación interna entre cistos, cuya influencia fue observada por Shaw (1971a) y Ennis (1972), podría tener mayor importancia que la variación ambiental. De todas maneras, la gran varianza entre individuos observada debería estar asociada con una alta variación genética. Gran número de autores postulan que las alteraciones cromosómicas estructurales pueden tener una marcada influencia sobre las condiciones de los quiasmas. Sin embargo, en el caso aquí presentado no pudo demostrarse la existencia de una correlación entre la presencia de un determinado reordenamiento y variaciones en las frecuencias de quiasmas. Por el contrario, la variación interin-

dividual fue mucho mayor de lo que podrían explicar los re-
arreglos encontrados, puesto que los individuos heterocigotas -
estructurales se distribuían al azar, abarcando gran parte del
rango de variación de frecuencias. La variación interindivi-
dual por lo tanto debe ser cuidadosamente analizada antes de -
asignar a un determinado reordenamiento una cierta acción so-
bre las condiciones de los quiasmas. En varios estudios (Kaya-
no y Nakamura 1960, Hewitt y John 1965, Sannomiya 1968, Arana
et al. 1980) fenómenos tales como interferencia y coorienta-
ción centromérica son estudiados en individuos heterocigotas
para fusiones y translocaciones comparando los datos de un
(o unos pocos) mutante (s) con los valores de individuos nor-
males. En base a este estudio se hace evidente que este tipo
de comparación no será válido a menos que se pueda demostrar
que la variación individual es despreciable. Este no es el ca-
so de las poblaciones consideradas en el presente trabajo, de
modo que sería erróneo usar datos de un único individuo porta-
dor de una fusión o una inversión para estudiar la influencia
de estos rearrreglos sobre las condiciones de los quiasmas. En
el caso de los heterocigotas para el segmento extra en el par
L2 los individuos portadores se hallan dispersos a lo largo -
del rango de variación (fig.9), de modo que el segmento no ten-
dría influencias evidentes sobre las frecuencias de quiasmas.

En el caso de los estudios mencionados previamente po-
dría ser que las poblaciones estudiadas exhibieran menor va-
riación individual por ser experimentales, o que los cromoso-
mas involucrados fueran portadores de genes que controlan la
recombinación. En el caso aquí descrito, por el contrario,-

los cromosomas con alteraciones estructurales (cuatro de los doce del complemento haploide) no portarían genes relacionados con el control de la recombinación o, si lo hacen, los rearrreglos no alterarían su expresión génica.

B) Euplectrotettix

Introducción

Entre los acrídidos se conocen casos en los cuales las especies de un género se han diferenciado por procesos que involucran reordenamientos cromosómicos (Sáez y Pérez Mosquera - 1971, White 1973a, Hewitt 1979) y por esta razón es interesante el estudio citogenético comparativo de especies relacionadas.

En este estudio se analizaron los cariotipos de las especies E. shultzi Bruner y E. conspersus Bruner en muestras provenientes de poblaciones de la Argentina. En ellas se pudo comprobar la existencia de un polimorfismo para la presencia de un isocromosoma supernumerario y la ocurrencia de mutaciones cromosómicas espontáneas. Los supernumerarios o cromosomas B ocurren con una frecuencia relativamente alta entre los ortópteros y pueden mostrar variaciones con respecto a su morfología y comportamiento meiótico (Jones 1975, Puertas 1975, Jones y Rees 1982). A pesar de que se están estudiando con gran interés, el papel de estos cromosomas en los sistemas genéticos continúa siendo un enigma. Por esta razón se decidió estudiar en estas especies si los cromosomas B tenían alguna consecuencia sobre el comportamiento meiótico, comparando las -

frecuencias de quiasmas en individuos portadores y libres de supernumerarios.

Se estudiaron además las consecuencias meióticas de las mutaciones cromosómicas y se compararon las dos especies con referencia a sus frecuencias y distribución de quiasmas.

Resultados:

i) Cariotipos

Los cariotipos de ambas especies fueron determinados por medio del estudio de células meióticas en anafase I y metafase II y de células goniales en metafase. En ambos taxones se comprobó que el cariotipo está compuesto de $2n=23$ cromosomas en los machos y que el mecanismo cromosómico de determinación del sexo es de tipo XO ♂♂/XX ♀♀ (fig.12). Todos los cromosomas del complemento normal tienen centrómero terminal, siendo por lo tanto considerados telocéntricos o t.

Las longitudes cromosómicas relativas fueron muy similares en estas especies. El cromosoma X es el más largo del complemento y los autosomas pueden ser agrupados en tres pares largos (L1 - L3), cinco medianos (M4-M8) y tres pequeños (S9-S11).

En algunos individuos de ambas especies se sumaban al complemento normal hasta dos cromosomas B de gran tamaño, con el centrómero en posición mediana (fig. 12B, 13A, 14). Este cromosoma era aún más largo que el X y heterocromático. Por sus características morfológicas y su comportamiento meiótico (ver más adelante) se lo consideró un isocromosoma (Dar-

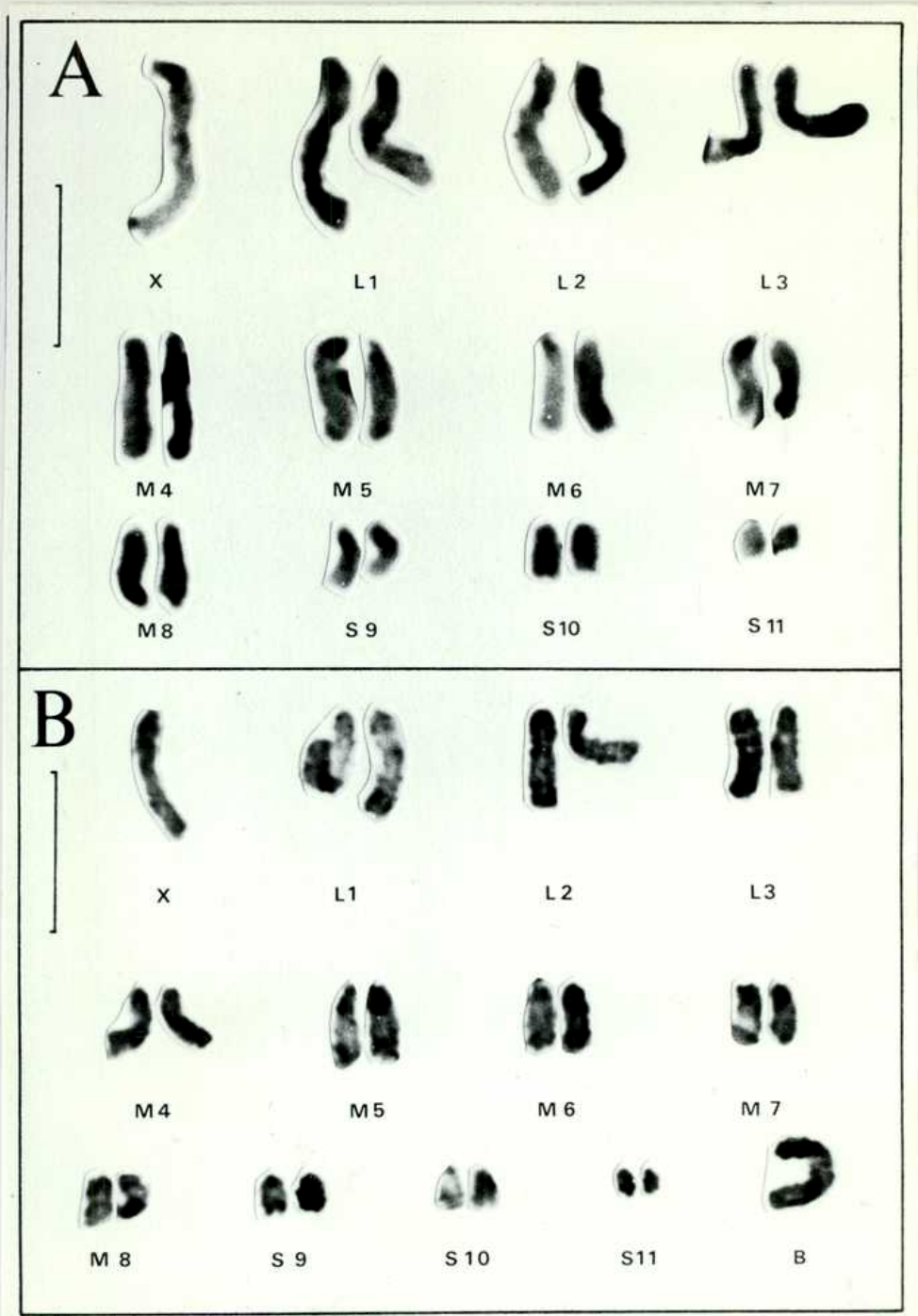


FIGURA 12: A) Cariograma representativo del cariotipo básico de *Euplectrotettix shultzi*. B) Cariograma realizado a partir de una célula de un individuo de *E. conspersus* portador de un B. Barra = 10 µm.

lington 1940), es decir, un cromosoma cuyos brazos son la imagen espectacular uno del otro, conteniendo ambos la misma información genética. Este cromosoma accesorio fue encontrado en las poblaciones de Famatina y Belén de E. shultzi y aparentemente en las poblaciones de Salar La Amarga y Chacharramendi de E. conspersus se halla el mismo cromosoma.

ii) Comportamiento meiótico

Los individuos con el complemento cromosómico básico ($2n=23$) formaban durante la meiosis 11 bivalentes +X. En los ejemplares con un iso-B éste se presentaba como un univalente en forma de anillo o herradura debido a que sus brazos tenían la capacidad de aparearse entre sí, formando una asociación terminal de naturaleza probablemente quiasmática (fig.14B). En los individuos con dos B, lo más común fue que ellos formarían dos univalentes en anillo (ó herradura) (fig. 14C), aunque en algunas pocas células los dos supernumerarios se agrupaban formando un bivalente (fig. 14 D).

En ciclo de condensación-decondensación del B era similar al del X, mostrando heteropicnosis positiva durante profase I y II y prometafase II. El B al igual que el X se segrega en la primera división meiótica y se divide ecuacionalmente en anafase II. No hubo evidencias de que ocurriera asociación entre el X y el B de modo que la segregación de estos cromosomas sería independiente.

Las características morfológicas y de comportamiento meiótico del B eran idénticas en ambas especies y también la incidencia de este cromosoma (número observado de B por indi-

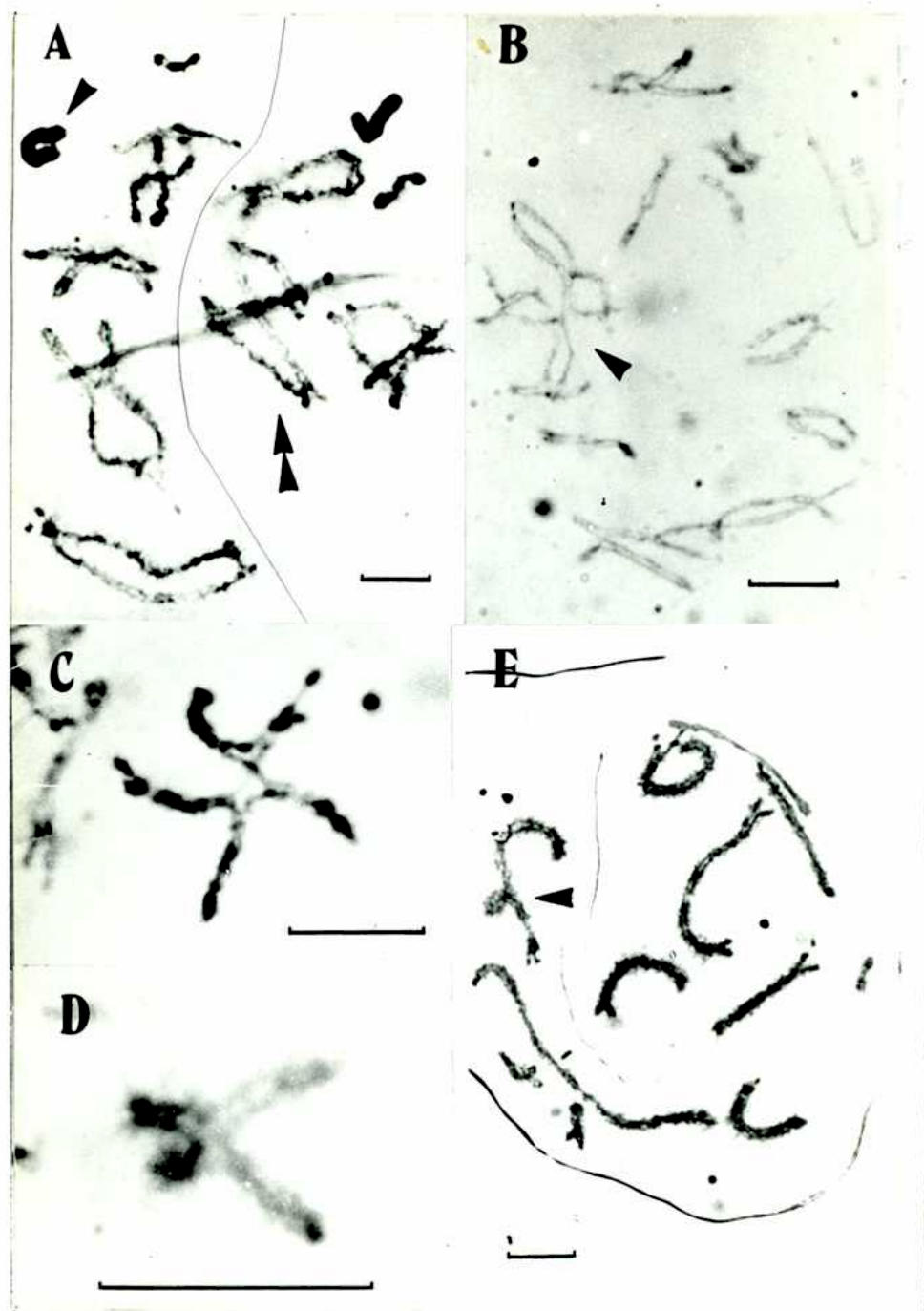


FIGURA 13: Alteraciones cromosómicas espontáneas. A) Cuadrivalente por tetrasomía observado en una célula única en diploteno en un individuo de Euplectrotettix shultzi. Flecha: cuadrivalente; punta de flecha: B. B) Cuadrivalente por intercambio de material entre no homólogos encontrado en una célula en diploteno de un individuo de E. conspersus. Punta de flecha: cuadrivalente. C) Pentavalente observado en paquíteno en una célula de un individuo de E. conspersus. D) Bivalente en diploteno con una cromátide dicéntrica y una acéntrica producido por sobrecruzamiento dentro de la región invertida en el heterocigota para inversión de la especie E. conspersus. E) Célula en paquíteno del mismo individuo de (D) mostrando el asa de inversión (punta de flecha). Barra = 10 μm .

viduo) era muy similar en los dos grupos: 0.23 B/individuo en E. shultzi y 0.21 en E. conspersus.

iii) Alteraciones cromosómicas espontáneas

La mayoría de los individuos mostraba un comportamiento meiótico normal, como se describió en el párrafo precedente. Sin embargo, se detectaron varias irregularidades, puestas de manifiesto por la formación de asociaciones múltiples.

La figura 13A muestra una célula en diploteno de un individuo de E. shultzi portador de un B en la cual la configuración meiótica es $1\text{ IV} + 10\text{ II} + \text{X} + \text{B}$. El número total de autosomas es por lo tanto 24 lo que permite suponer que el cuadrivalente es debido a tetrasomía. El resto de las células de este individuo presentaba configuraciones normales. En E. conspersus también se encontraron mutantes con células anormales únicas. Ellos corresponden a un individuo en el cual se observó una célula en diploteno cuya configuración fue: $1\text{ IV} + 9\text{ II} + \text{X}$ (fig. 13B) y otro en el que se encontró una célula en paquíteno que presentaba un pentavalente (fig. 13C). El origen de estos multivalentes, a diferencia del descrito en E. shultzi, sería tal vez por heterocigosis para translocaciones recíprocas. Si éste fuera el caso, el cuadrivalente de la figura 13B se habría originado por una translocación de un segmento intercalar. Este reordenamiento requiere la ocurrencia de cuatro roturas y que los segmentos intercambiados sean de tamaños similares. La probabilidad de ocurrencia de tales eventos parece ser extremadamente baja. La explicación alternativa sería que hayan ocurrido dos roturas y fusión de cromátides no

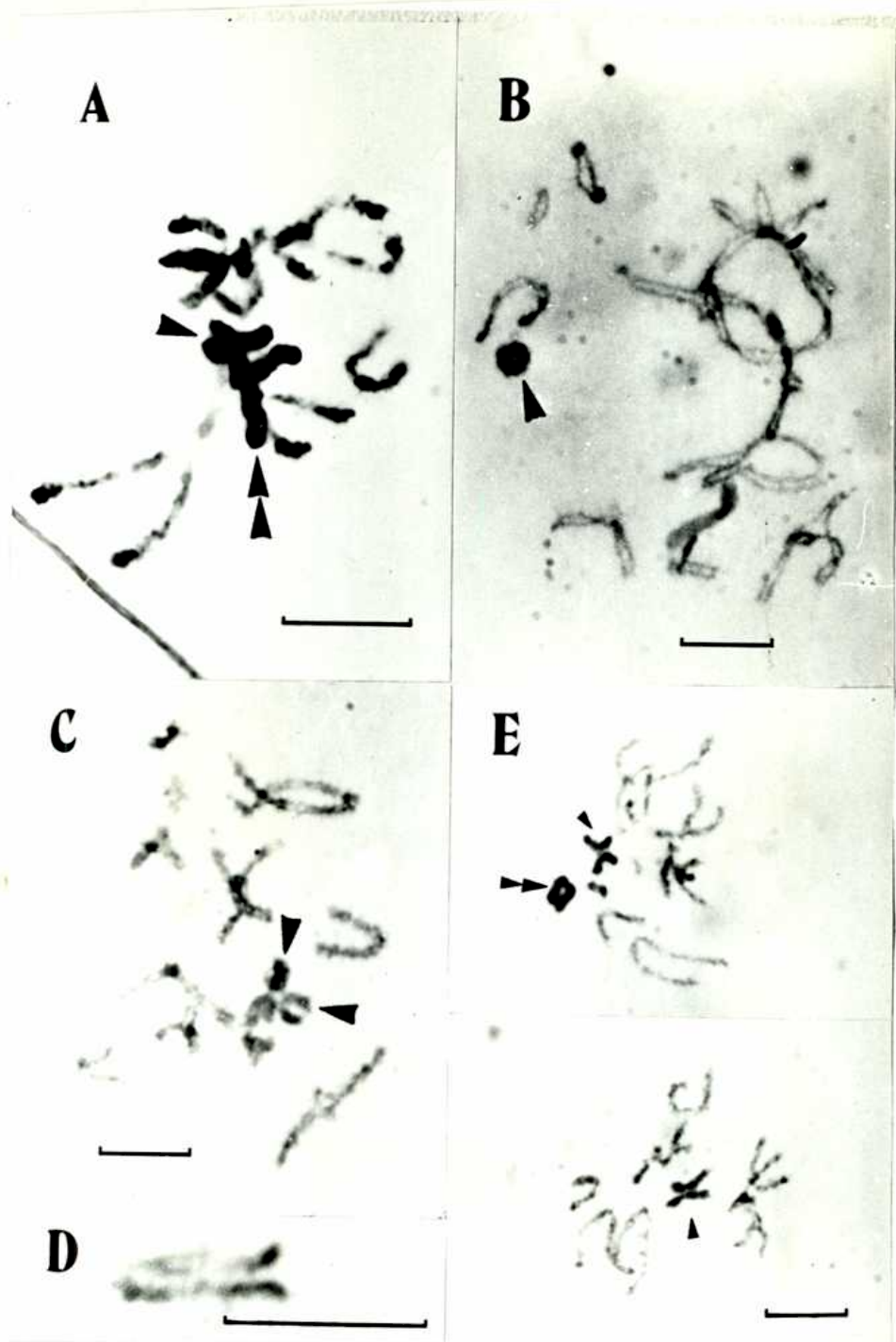


FIGURA 14: A) Prometafase II de un individuo de *Euplectrotettix shultzi* portador de un B (punta de flecha: B; flecha: X). B) Célula en diploteno de un individuo de *E. conspersus* mostrando un univalente B en anillo (punta de flecha). C) Diploteno de un individuo de *E. conspersus* con dos B, mostrando dos univalentes B en herradura. D) Dos cromosomas B apareados en paquíteno en un individuo de *E. conspersus*. E) Células hermanas en prometafase II del mismo individuo de (C) mostrando un B en cada polo (puntas de flecha) y el X (flecha) en la célula superior. Barra = 10 μ m.

homólogas. Esta hipótesis requiere que los dos cromosomas no homólogos hayan estado lo suficientemente próximos entre sí en el momento de las roturas, y que éstas y la fusión se produzcan después del estadio S previo a la meiosis. Este mecanismo impone una severa restricción al tiempo disponible para la ocurrencia del intercambio. Ninguna de estas dos hipótesis, por lo tanto puede ser excluida. Por su parte el pentavalente de la figura 13C requiere para su origen cuatro roturas, y en este caso no se dispone de una hipótesis alternativa. La ocurrencia de roturas cromosómicas en individuos de las poblaciones estudiadas sería relativamente muy frecuente lo cual hace que la hipótesis de translocación para el cuadrivalente de la figura 13B sea quizás más probable que la de rotura-fusión.

Dado que en todos los casos los multivalentes fueron hallados en células únicas, se podría suponer que la alteración que los determinó se debería haber producido una o unas pocas divisiones goniales previas a la meiosis. El cuadrivalente observado en E. shultzi probablemente se habría originado por no disyunción o citomixis, conduciendo esto a tetrasomía en una sola célula.

iv) Heterocigota para inversión

De los dos individuos de E. conspersus de La Rioja, uno resultó ser heterocigota para una inversión paracéntrica. Esta condición se hizo evidente por la formación de una asa de inversión en paquiteno (fig. 13E). No se encontraron células de este ejemplar en anafase I, por lo cual no se pudo verificar la formación del puente y el fragmento consecuente. Sin

embargo la heterocigosis para inversión fue confirmada por la observación de células en diploteno. En la figura 13D se puede ver un bivalente en el cual se ha producido un intercambio de tipo en U que sería consecuencia de la ocurrencia de sobrecruzamiento dentro del asa de inversión. En este bivalente se ha formado entonces una cromátide dicéntrica que en anafase I constituirá un puente y una cromátide acéntrica que corresponde al fragmento del mismo estadio.

v) Frecuencia de quiasmas

Como en el caso de S. longicornis, se estudió la frecuencia y distribución de quiasmas mediante la determinación del número total de quiasmas y la proporción de quiasmas intersticiales por célula en diploteno. Con estos datos se determinó inicialmente si para cada especie existían diferencias significativas entre las distintas poblaciones muestreadas. Para ello se compararon los datos obtenidos estudiando aproximadamente nueve células por individuo mediante un análisis de la varianza.

Para E. shultzi (tablas 15 y 16) se encontró que las poblaciones de Famatina y Belén no diferían significativamente ni en número total de quiasmas ni en la proporción de quiasmas intersticiales por célula ($p \gg 0.05$). Se encontró sin embargo que existían diferencias altamente significativas entre los individuos de cada población ($p \ll 0.01$).

Los resultados para E. conspersus (tablas 17 y 18) fueron muy similares, esto es, las diferencias entre poblaciones no fueron significativas ($p > 0.05$) mientras que existe una -

TABLA 15: Análisis de la varianza para comparar los valores medios de número de quiasmas por célula entre las poblaciones de Famatina y Belén de Euplectrotettix shultzi.

Item	G.L.	S. C.	C. M.	F	p
POBLACIONES	1	0.8001	0.8001	0.13	0.73
INDIVIDUOS	8	48.5203	6.0650	6.27	$\leq 10^{-5}$
ERROR	76	73.5750	0.9681	--	
TOTAL	85	122.8954	---	--	

TABLA 16: Análisis de la varianza para comparar las poblaciones de Famatina y Belén de E. shultzi con respecto a la proporción de quiasmas intersticiales por célula.

Item	G.L.	S. C.	C. M.	F	p
POBLACIONES	1	0.06351	0.06351	0.96	0.36
INDIVIDUOS	8	0.52677	0.06585	6.05	$\leq 10^{-5}$
ERROR	76	0.82719	0.01088	--	
TOTAL	85	1.41747	---	--	

TABLA 17: Análisis de la varianza para comparar las poblaciones de La Amarga, Chacharramendi y Santa Rosa de Euplectrotettix conspersus con respecto al número total de quiasmas por célula.

Item	G.L.	S. C.	C. M.	F	p
POBLACIONES	2	19.6817	9.8408	1.25	0.325
INDIVIDUOS	11	86.7980	7.8907	5.03	$\leq 10^{-5}$
ERROR	110	172.7139	1.5701	--	
TOTAL	123	279.1936	---	--	

TABLA 18: Análisis de la varianza para comparar la proporción de quiasmas intersticiales por célula entre las poblaciones de La Amarga, Chacharramendi y Santa Rosa de E. conspersus.

Item	G.L.	S. C.	C. M.	F	p
POBLACIONES	2	0.16151	0.08076	2.83	0.102
INDIVIDUOS	11	0.31426	0.02857	3.20	$\leq 10^{-3}$
ERROR	110	0.98336	0.00894	--	
TOTAL	123	1.45913	---	--	

gran variabilidad intrapoblacional ($p \ll 0.01$).

Dado que los resultados de estos estudios demostraron - que eran más importantes las diferencias entre individuos que entre poblaciones se agruparon los datos de todas las poblaciones para cada especie y con ellos se compararon las especies - entre sí. Si bien de este modo se incluyen en el error las diferencias entre poblaciones de cada especie, éstas no son demasiado importantes.

En la tabla 19 se resumen los resultados del análisis - de la varianza para comparar las especies E. shultzi y E. conspersus con respecto al número total de quiasmas por célula. Las diferencias entre especies, aunque no muy grandes son estadísticamente significativas ($0.01 < p < 0.05$). Dado que al agrandar el error agrupando individuos de distintas poblaciones aumenta la probabilidad de aceptar la hipótesis nula (igualdad de medias), la significación del estadístico permite decir que las especies diferirían en cuanto al número total de quiasmas por célula. En este análisis se pone nuevamente de manifiesto la alta variabilidad entre individuos ($p \ll 0.01$).

Al comparar los valores de quiasmas intersticiales/quiasmas totales por célula (tabla 20) se encuentra que las especies no difieren en la distribución de sus quiasmas ($p > 0.05$), aunque hay una alta variabilidad interindividual ($p \ll 0.01$).

Resumiendo, se podría decir que E. conspersus tiene una mayor frecuencia de quiasmas que E. shultzi (tabla 21) pero - que no difieran en la localización de los mismos, medida en proporción de quiasmas intersticiales.

TABLA 19: Análisis de la varianza para comparar las especies Euplectrotettix shultzi y E. conspersus con respecto al número total de quiasmas por célula.

Item	G.L.	S. C.	C. M.	F	p
ESPECIES	1	49.4090	49.4090	6.68	0.017
INDIVIDUOS	23	170.0434	7.3932	5.48	~ 0
ERROR	194	261.8444	1.3479	--	
TOTAL	218	481.2968	---	--	

TABLA 20: Análisis de la varianza para la comparación de la proporción de quiasmas intersticiales por célula entre E. shultzi y E. conspersus.

Item	G.L.	S. C.	C. M.	F	p
ESPECIES	1	0.03092	0.03092	0.65	0.43
INDIVIDUOS	23	1.09630	0.04767	4.98	~ 0
ERROR	194	1.85864	0.00958	--	
TOTAL	218	2.98586	---	--	

TABLA 21: Valores medios de número total de quiasmas y proporción de quiasmas intersticiales por célula para individuos con y sin B de las especies E. shultzi y E. conspersus, y probabilidad de que las diferencias entre individuos portadores y libres de B se deban al azar.

	Quiasmas Totales				Intersticiales/Totales			
	Glob.	-B	+B	p	Glob.	-B	+B	p
<u>E. sh.</u>	14.03	13.79	14.50	0.84	0.701	0.725	0.656	~1
<u>E. co.</u>	15.01	15.02	14.95	~1	0.725	0.720	0.754	~1

Mediante contrastes realizados por el método de Sheffé (1959) se compararon luego las frecuencias de quiasmas entre individuos portadores y libres de B dentro de cada especie (tabla 21). Las diferencias entre cariomorfos pueden considerarse despreciables ($p \gg 0.05$) tanto para quiasmas totales como para quiasmas intersticiales/quiasmas totales, por lo que podría concluirse que los B en estas especies no afectarían las condiciones de los quiasmas.

Discusión:

E. shultzi y E. conspersus comparten las características cariotípicas de la mayoría de los acrídidos, es decir, $2n=23$ cromosomas monobraquiales con mecanismo de determinación del sexo de tipo $XO \sigma\sigma/XX \text{ } \varphi\varphi$. Las similitudes de los cariotipos de éstas especies son muy evidentes tanto en la morfología cuanto en las longitudes relativas de los cromosomas. Mesa et al. (1982) estudiaron tres especies no identificadas pertenecientes a este género provenientes de Paraguay, Uruguay y Brasil, que fueron denominadas provisoriamente Euplectrotettix sp. N°1, E. sp N°2 y E sp. N°3.

En estos tres taxones se encontró el mismo número cromosómico y mecanismo cromosómico de determinación del sexo. Aunque no se dispone de información acerca de los cariotipos de las mismas, el número cromosómico $2n=23$ en general se asocia en los acrídidos con cromosomas acro o telocéntricos, por lo tanto se podría suponer que en todas las especies de este género estudiadas cromosómicamente hasta el presente se habrían conservado las características cariotípicas, y que por lo tanto

la tasa de alteración cariotípica habría sido relativamente baja en este grupo. Esta conclusión está avalada por el hecho que E. shultzi y E. conspersus son polimórficas para un iso-B con las mismas características. Sin embargo, el descubrimiento de alteraciones cromosómicas, algunas de las cuales requieren la ocurrencia de múltiples roturas, en una frecuencia relativamente alta, sería un indicio de que habría una alta tasa de mutaciones cromosómicas en este grupo, quizás debida al efecto de los plaguicidas que se emplean para controlar las poblaciones de langostas. De hecho, se estudiaron alrededor de 300 células, habiéndose encontrado tres mutaciones espontáneas y un individuo heterocigota para inversión. Si se consideran sólo las aberraciones correspondientes a la generación en estudio, la frecuencia de las mismas sería de aproximadamente $3/300 = 1\%$.

Para mutaciones génicas, la tasa de sustitución alélica (= tasa de evolución) es:

$$k = m \text{ para mutaciones neutras.}$$

$$k = 4N_e m s \text{ para mutaciones favorables (Nei 1975)}$$

donde: k es la tasa de sustitución alélica, N_e el tamaño efectivo de la población, m la tasa de mutación y s el coeficiente de selección. Para mutaciones cromosómicas es de esperar una relación similar aunque como las alteraciones estructurales en general requieren al menos dos roturas, probablemente la ecuación debería ser cuadrática:

$$k \propto m^2 s$$

Dado que, para valores de m comprendidos entre 0 y 1, $m^2 < m$, la tasa de evolución cromosómica debería ser en general -

menor que la génica, pero de todos modos, si m es alta como en el caso de Euplectrotettix y k es baja, es necesario que haya un coeficiente de selección alto en contra de las mutaciones recientemente aparecidas para que la proporción se conserve. Así, es de esperar que en este grupo actúe una fuerte selección responsable del mantenimiento del patrón establecido de número y morfología cromosómicos.

En el caso estudiado se plantea el problema de explicar el origen y mantenimiento del iso-B en las poblaciones. Cromosomas supernumerarios han sido encontrados en un gran número de plantas y animales (para una revisión se recomienda consultar a Rutishauser 1960, Battaglia 1964, John y Lewis 1965, 1968, White 1973a, Muntzing 1974, Jones 1975, Puertas 1975, Hewitt 1973, 1979, Jones y Rees 1982). Sin embargo sus efectos a nivel fenotípico son cuestión de debate. Como se indicó en la introducción muchos autores proponen que la heterocromatina supernumeraria podría tener efectos sobre las condiciones de los quiasmas, sin embargo en Camnulla pellucida (Schroeter y Hewitt - 1974) y S. longicornis (como se vió previamente) no se detectaron influencias evidentes del material heterocromático extra a este respecto. Se podría concluir entonces que la heterocromatina sería un material heterogéneo cuyos efectos por lo tanto pueden ser variables. Los cromosomas B no pueden considerarse un material genéticamente inerte puesto que pueden contener genes reguladores (Oliver et al. 1982), ejercer efectos sobre la fertilidad (Jones y Rees 1967) y la tasa de mortalidad (Lespinasse 1973) y desplegar actividad organizadora nucleolar -

(Carr y Carr 1982), sin embargo los supernumerarios suelen ser considerados elementos parasíticos mantenidos por la interacción de mecanismos de acumulación tales como no disyunción mitótica o conducción meiótica (Nur 1963, Matthews y Jones 1982), - con fuerzas selectivas que actuarían en contra de los individuos portadores de B.

En el caso de Euplectrotettix el B se podría haber originado por misdivisión (Darlington 1939, 1940) de un autosoma, seguido de heterocromatinización. Dado que el supernumerario presenta en ambas especies las mismas características se puede suponer que este reordenamiento ocurrió independientemente en cada especie o que ocurrió una sola vez en un antecesor previo a la divergencia entre los dos taxones. Ya que la probabilidad de que ocurran dos mutaciones con idénticas características debería ser sumamente baja, la segunda alternativa parece más probable. Si éste es el caso, el B, una vez originado ha sido mantenido en las poblaciones hasta la actualidad. El B es estable mitótica y meióticamente, puesto que no hay variaciones intraindividuales con respecto al número de B por célula, al menos en los machos. Por este motivo no puede suponerse que estén actuando mecanismos de acumulación en el mantenimiento del polimorfismo. Las similitudes cariotípicas observadas entre E. shultzi y E. conspersus a pesar de la considerable tasa de mutación cromosómica indicarían que en este grupo estaría actuando un proceso de ortoselección cariotípica (White 1965). En tales condiciones los cromosomas B habrían sido conservados sin cambios y en frecuencias prácticamente idénticas desde la divergencia de las especies. Es de esperar

por lo tanto que este polimorfismo tenga algún valor selectivo para las poblaciones. Ya que aparentemente no presenta efectos exofenotípicos, se compararon las frecuencias de quiasmas entre individuos portadores y libres de B, tratando de descubrir las influencias (si éstas existieran) de los B sobre la recombinación (tabla 21). Los resultados de este análisis indicaron que las diferencias entre individuos portadores y no portadores de B no eran significativas tanto para número total de quiasmas como para la proporción de quiasmas intersticiales por célula, en ambas especies.

Sobre la base de estas observaciones no es posible determinar el papel exacto que juegan los B en el sistema genético de estas especies, pero aparentemente no se relacionaría con efectos exofenotípicos ni con influencias sobre la recombinación, quedando como única posibilidad algún tipo de efecto a nivel regulatorio.

Las variaciones de las frecuencias de quiasmas se estudiaron entre y dentro de especies (tablas 15-20). Se destaca a partir de los análisis estadísticos que la variación individual dentro de cada especie es sumamente grande, similarmente a lo observado previamente en S. longicornis (tablas 8, 10, 12, 14) y en Chorthippus brunneus (Laurie y Jones 1981). También se encontró que la variación entre células, dentro de individuo, es marcadamente reducida (la varianza dentro de individuo es mucho menor que la media), lo que estaría de acuerdo con la idea de que la frecuencia de quiasmas no tiene una distribución aleatoria (Haldane 1931). Las diferencias entre individuos podrían ser debidas a componentes genéticos o am-

bientales. Mather (1937) propuso que las propiedades de los quiasmas podían ser definidas en términos de dos parámetros: la distancia diferencial (d) y la distancia de interferencia (i). d se define como la distancia a la cual se forma el primer quiasma con relación a un punto fijo (arbitrario) del cromosoma, e i es la distancia media entre dos quiasmas vecinos. Henderson (1963b) encontró que este modelo explicaba las observaciones realizadas en Schistocerca gregaria considerando d, medida desde el telómero, igual a cero, esto es, el primer quiasma se formaría en la región terminal del cromosoma. Si los valores que pueden tomar estos dos parámetros estuvieran determinados por sistemas poligénicos, podrían ser influidos muy fuertemente por el ambiente, y ésta podría ser la explicación para las diferencias interindividuales.

Las especies presentaron diferencias significativas ($0.01 < p < 0.05$) aunque no demasiado grandes para la media de quiasmas totales por célula y diferencias no significativas para la relación quiasmas intersticiales/quiasmas totales por célula (tablas 18 y 20).

De acuerdo al modelo propuesto estas diferencias podrían explicarse considerando que las especies habrían divergido poco en los sistemas que determinan la distancia d, puesto que no hay diferencias en la proporción de quiasmas intersticiales, pero en promedio i podría ser un poco mayor en E. shultzi de terminando que disminuya la probabilidad de que se forme un segundo quiasma en cada bivalente, lo que determinaría una menor frecuencia de quiasmas totales que en E. conspersus.

Concluyendo, se podría proponer que en el género Euplectotettix estaría actuando una fuerte selección ortocariotípica en contra de la mayor parte de los individuos portadores de reestructuraciones y cuya consecuencia sería un cariotipo y comportamiento meiótico altamente conservativos.

C) Dichroplus elongatus

Introducción:

Dichroplus es un género que abarca más de cuarenta especies y en el cual se han descrito casos muy interesantes de especiación cromosómica, que pueden ser considerados clásicos (Sáez y Pérez Mosquera 1971). Los procesos involucrados en la evolución de estas especies incluyen inversiones pericéntricas y fusiones céntricas y en tándem en autosomas y alosomas, procesos que han conducido a una reducción del número de cromosomas desde el básico $2n=23$ (XO) de la familia Acrididae al cariotipo extremo de D. silveiraguidoi compuesto de $2n=8$ (XY) (Sáez 1956a). Estos rearrreglos alcanzaron fijación en muchas de las especies originando cariotipos estables, pero, al menos en cuatro especies (D. fuscus, D. maculipennis, D. pratensis y D. vitattus) se conserva el polimorfismo para fusiones céntricas (Mesa et al. 1982), de modo que, probablemente, mediante un muestreo extensivo, se podrían detectar muchos otros casos de especies polimórficas o politípicas.

Las especies de este género, por lo tanto, pueden constituir un excelente material para el estudio tanto de los mecanismos de evolución cromosómica, como de los efectos de las alteraciones cromosómicas en el sistema genético. D. elongatus es conocida como una especie que presenta un cariotipo primitivo, es decir, con $2n=23$ cromosomas telocéntricos en los machos y mecanismo cromosómico de determinación del sexo de tipo XO ♂♂/XX ♀♀ (Sáez 1930c, 1956b, Sáez y Pérez Mosquera 1971, Mesa 1956, Mesa

et al 1982, Lafuente 1977, Lafuente y Guerra 1977), pero en el presente estudio se detectó la ocurrencia de un polimorfismo para un cromosoma B en una muestra proveniente de la provincia de Tucumán.

Considerando el gran número de informes acerca de influencias de la heterocromatina supernumeraria sobre las condiciones de los quiasmas y los resultados positivos obtenidos en muchos de ellos, se decidió estudiar las frecuencias de quiasmas en los individuos con y sin cromosomas accesorios, analizando además el problema de la terminalización de quiasmas y las variaciones de la frecuencia de quiasmas de diploteno a metafase I, con el objeto de estudiar en esta especie los efectos de ta les cromosomas sobre el comportamiento meiótico.

Resultados:

i) Cariotipo básico y reestructuraciones cromosómicas

Como se indicó previamente, el complemento básico de D. elongatus se compone de 23 cromosomas en los machos con mecanismo sexual XO ♂/XX ♀♀ de modo que en la mayoría de los individuos la configuración meiótica observada era: 11 II + X (fig. 15a).

En cuatro de los 23 individuos estudiados se detectó un cromosoma supernumerario (B) acrocéntrico y heterocromático, cuya longitud es aproximadamente la tercera parte de la del X. El número de B por espermatocito primario era variable dentro de cada individuo, siendo el rango de variación de 0-4. Esto implica que el B es mitóticamente inestable, ya que la

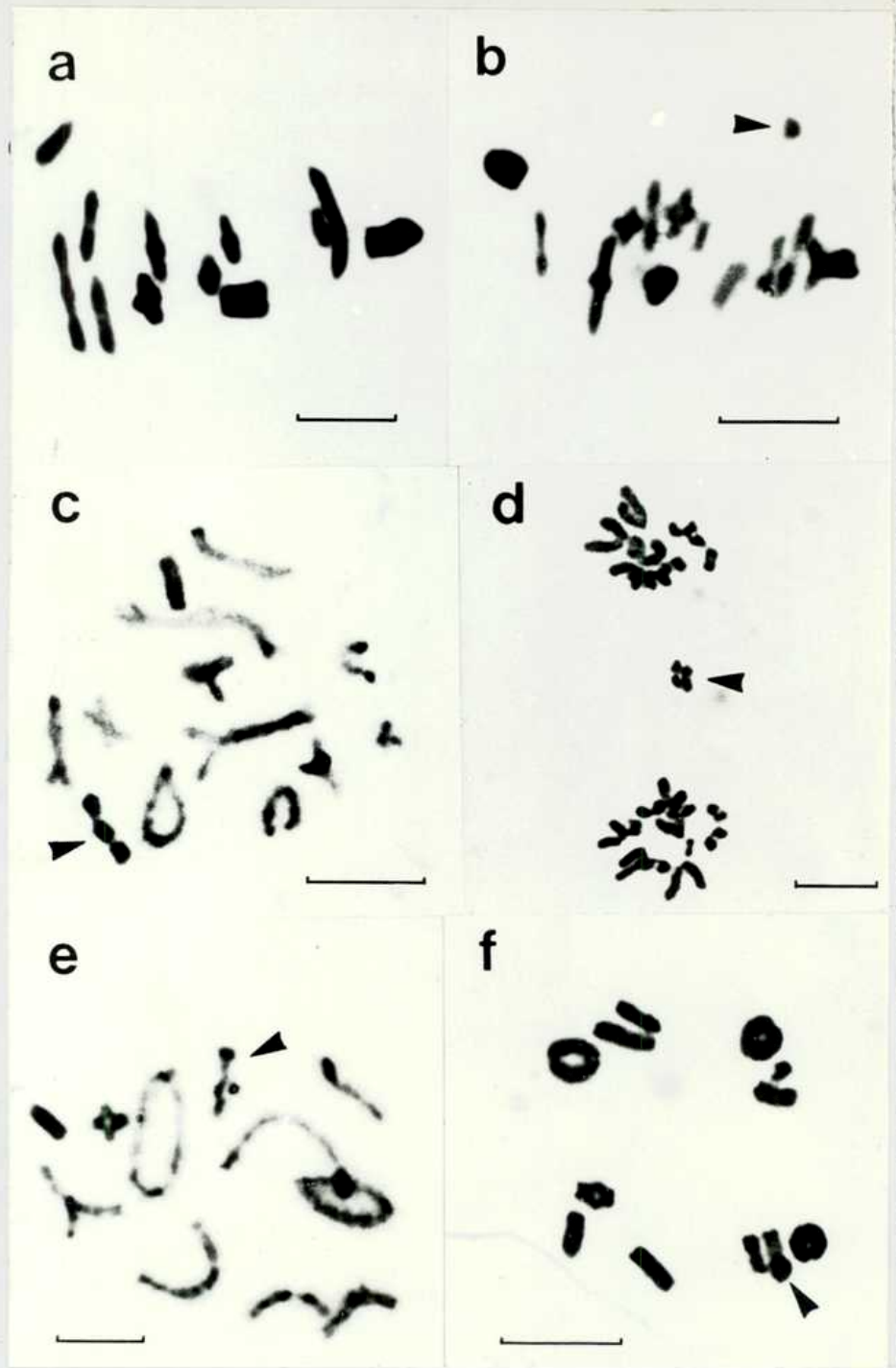


FIGURA 15: a) Metafase I de un individuo de *Dichroplus elongatus* con complemento cromosómico básico. b) Metafase I con un B (punta de flecha). c) Paquiteno tardío mostrando una cadena de tres B (punta de flecha). d) Anafase I con un bivalente B rezagado en el ecuador. e) Diploteno de un individuo heterocigota para un segmento supernumerario terminal en el par 9. (punta de flecha). f) Diacinesis de un heterocigota para un segmento supernumerario proximal en el par 8 (punta de flecha). Barra = 10 μm .

disyunción irregular de este cromosoma durante las divisiones goniales explicaría las variaciones en el número de supernumerarios por célula. En los espermatoцитos con un sólo B, éste formaba un univalente heterocromático extra durante la primera división meiótica (fig. 15b). Cuando en una misma célula se hallaban dos B, éstos tenían la capacidad de aparearse y formar un bivalente, pero algunas veces se mantenían no asociados, como dos univalentes. Tres B en el mismo espermatoцитo I tenían también la posibilidad de aparearse o no aparearse, de modo que se observaron diferentes configuraciones: una cadena de tres (fig. 15c), un bivalente + un univalente, o tres univalentes. Cuando cuatro B se encontraban en la misma célula no se veían múltiples, sino dos bivalentes o un bivalente + dos univalentes.

La asociación en los bivalentes B muy probablemente sería quiasmática, puesto que si los supernumerarios tuvieran la capacidad de relacionarse por algún tipo de asociación no homóloga heterocromática, sería de esperar que también lo hicieran con el X o con regiones heterocromáticas de los autosomas, lo cual en general no ocurrió o era relativamente raro. La asociación de la cadena de tres en cambio no es clara. En este múltiple el cromosoma central de la cadena está asociado por la región terminal distal con uno y por la región céntrica con el otro de los restantes B. La asociación terminal seguramente sería quiasmática, por analogía con lo que ocurre en los bivalentes. La asociación céntrica por su parte podría deberse a la ocurrencia de un quiasma en, o muy cerca de, el centrómero o en el diminuto brazo corto. Este evento en general

es poco probable, de modo que también podría suponerse que la asociación fuera debida a aglutinamiento ("stickness").

Juntamente con su inestabilidad mitótica los B muestran también irregularidades en la segregación, incluso en células - en las cuales estuvieran formando bivalentes. En metafase I los bivalentes B se encuentran a veces desplazados hacia un polo, - lo cual determina que ambos cromosomas migren hacia el mismo polo sin experimentar disyunción. En otras células los bivalentes B se rezagan en anafase I (fig. 15d) de manera que no llegan a ser incluidos en el núcleo del espermatocito secundario, constituyendo por lo tanto un micronúcleo.

Además de los B se encontraron otros reordenamientos en individuos únicos heterocigotas para la alteración. Ellos corresponden a dos segmentos supernumerarios heterocromáticos - con diferentes características y localizados en cromosomas - distintos. Uno de ellos es un bloque terminal en el cromosoma 9 (fig. 15e). A causa de su ubicación los quiasmas se forman siempre intersticialmente, de manera que la segregación del segmento ocurre invariablemente en anafase II. El otro segmento se sitúa proximalmente en el cromosoma 8 (fig. 15f). En este caso los quiasmas se forman siempre distalmente al bloque, de modo que éste segrega siempre en la primera división meiótica.

ii) Frecuencia de quiasmas y terminalización

ii-a) Terminalización de quiasmas

De modo similar a lo descrito para S. longicornis, se analizó mediante análisis estadísticos el movimiento de quias

mas de diploteno a metafase I, comparando las frecuencias de quiasmas en distintos estadios. Los datos de todos los individuos fueron agrupados de manera que la variación entre individuos quedó incluida en el error. Diploteno y diacinesis fueron subdivididos en dos estadios: temprano y tardío, de manera que se compararon los valores medios entre un total de cinco estadios, estudiando un promedio de 140 células por estadio.

Las medias para número total de quiasmas por célula (tabla 22) fueron comparadas mediante un análisis de la varianza. Los resultados del mismo (tabla 23) indican que existen diferencias significativas entre estadios ($p < 0.01$). Los contrastes entre medias realizados mediante el método de Scheffé (1959) demostraron que las únicas diferencias significativas son las que existen entre diploteno temprano y los demás estadios. La conclusión sería que algunos quiasmas se liberan al pasar de diploteno temprano a diploteno tardío, disminuyendo así el número total de quiasmas, pero desde diploteno tardío a metafase I este número permanece constante.

Las medias para la proporción de quiasmas intersticiales por célula para cada estadio se pueden encontrar en la tabla 24, y los resultados de la comparación de las mismas en la tabla 25. El análisis de la varianza indicó que las diferencias entre las medias son altamente significativas ($p \ll 0.01$). Al realizar los contrastes entre las medias se pudo comprobar que la proporción de quiasmas intersticiales por célula disminuye a lo largo de diploteno hasta diacinesis (diferencias altamente significativas entre diploteno temprano y diploteno

TABLA 22: Frecuencias medias de quiasmas totales por célula en los cinco estadios considerados en Dichroplus elongatus.

Diploteno		Diacinesis		M I
temp.	tard.	temp.	tard.	
13.31	13.00	12.77	12.98	12.84

TABLA 23: Análisis de la varianza para comparar las frecuencias de quiasmas totales de la tabla 22.

Item	G.L.	S. C.	C. M.		p
ESTADIOS	4	17.7008	4.4252	5.04	0.0005
ERROR	693	608.2304	0.8777	--	
TOTAL	697	625.9312	---	--	

Contraste:

Diploteno temprano vs. estadios posteriores

$$\left| \frac{f}{S_f} \right| = 3.7176 \quad F = 3.46 \quad p = 0.0083$$

TABLA 24: Frecuencias medias de quiasmas intersticiales/quiasmas totales por célula correspondientes a los cinco estadios estudiados en Dichroplus elongatus.

Diploteno		Diacinesis		M I
temp.	tard.	temp.	tard.	
0.6219	0.5463	0.5050	0.4711	0.4737

TABLA 25: Análisis de la varianza correspondiente a la comparación de las medias de la tabla 24.

Item	G.L.	S. C.	C. M.		p
ESTADIOS	4	1.6495	0.4125	21.92	~0
ERROR	694	13.0539	0.0188	--	
TOTAL	698	14.7034	---	--	

Contrastes: Comparación de cada estadio con los estadios posteriores.

Diploteno temp.	$\left \frac{f}{S_f} \right = 7.5248$	F = 14.16	p ≈ 0
Diploteno tard.	$\left \frac{f}{S_f} \right = 4.4990$	F = 5.06	p = 0.0005
Diacinesis temp.	$\left \frac{f}{S_f} \right = 2.4589$	F = 1.51	p = 0.2000
Diacinesis tard.	$\left \frac{f}{S_f} \right = 0.1737$	F = 0.008	p ≈ 1

tardío con respecto a estadios posteriores), pero durante diacinesis y hasta metafase I la misma permanece constante. La conclusión a la que se llega es que el proceso de terminalización ocurre, pero sólo en etapas tempranas de la meiosis y que muchos de los quiasmas atraviesan diacinesis y metafase I sin terminalizar, llegando en estas condiciones a los comienzos de anafase I.

La observación de células anafásicas apoya las conclusiones emanadas del estudio estadístico (fig. 16a, b, c,). En estadios tempranos de la anafase I, en el momento en que la separación de los homólogos está apenas comenzando, algunos quiasmas no están todavía terminalizados. A medida que la migración progresa no se produce un proceso del tipo de la terminalización y esto se pone en evidencia por el hecho que los segmentos de cromátides situados entre el punto en el cual estaba situado el quiasma en metafase I y el telómero migran dispuestos paralelamente al plano ecuatorial.

En la figura 17 se esquematizan las distintas configuraciones anafásicas de acuerdo al número de quiasmas y la ubicación que ocupaban en el bivalente en metafase I.

ii-b) Frecuencia de quiasmas y variación entre individuos

Considerando que no existen diferencias significativas para el número total de quiasmas por célula desde diploteno tardío hasta metafase I, los datos de estos estadios fueron agrupados y con ellos se compararon las frecuencias de quiasmas entre individuos y entre cariomorfos (individuos portadores y libres de B). Para este estudio se analizaron unas 27 cé

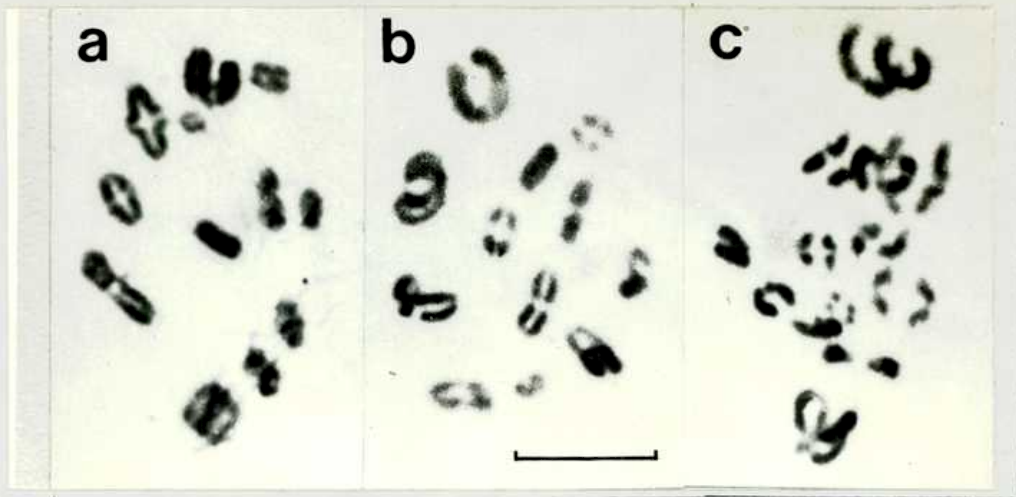


FIGURA 16: a) Metafase I tardía de *Dichroplus elongatus*: nótese la existencia de varios bivalentes que están por iniciar la separación con quiasmas aún intersticiales. b) y c) Anafase I temprana: las cromátides homólogas se mantienen paralelas entre sí durante la migración a partir del lugar que ocupaba el quiasma en MI. Barra=10 μ m.

	P+T	P	I	T
MI				
AI				

FIGURA 17: Interpretación de los cromosomas de la figura 16 de acuerdo al número y ubicación de los quiasmas en metafase I. P: quiasma proximal; T: quiasma terminal; I: quiasma intersticial; P+T: un quiasma proximal y un quiasma terminal.

lulas por individuo. Los valores medios para individuos con y sin cromosomas supernumerarios se pueden encontrar en la tabla 26. El análisis de la varianza correspondiente (tabla 27) indicó que existen diferencias altamente significativas entre individuos (dentro de cariomorfo) ($p \ll 0.01$), pero las diferencias entre individuos portadores y libres de B no fueron significativas ($p > 0.05$). Con los valores medios de número total de quiasmas por célula de cada individuo se realizaron dos histogramas de frecuencias (fig. 18a, b) uno para todos los individuos de la muestra agrupados y otro en el cual se indican separadamente los portadores y libres de B. En la figura 17b se puede ver que los individuos portadores de B están distribuidos a ambos lados de la media, de modo que existe superposición de los histogramas para individuos con y sin B. Esto indicaría que los B no influenciarían la frecuencia media de quiasmas por célula,

ii-c) Variánza entre células

Las varianzas entre células para número total de quiasmas por célula fueron calculadas para los individuos con y sin B. Estos valores fueron comparados estadísticamente encontrándose que las diferencias entre cariomorfos eran significativas ($t_{21} = 2.21, 0.01 < p < 0.05$), siendo mayor la media de los individuos portadores de B (tabla 28).

El histograma de la figura 19 muestra que, aunque solapan en cierta proporción las distribuciones de individuos con y sin B, los portadores de cromosomas accesorios se encuentran todos a la derecha (valores más altos) de la media

TABLA 26: Frecuencia de quiasmas totales por célula en individuos de Dichroplus elongatus portadores y libres de B.

+B	-B
13.1045	12.8333

TABLA 27: Análisis de la varianza para comparar las frecuencias de quiasmas entre individuos con y sin B de D. elongatus.

Ítem	G.L.	S. C.	C. M.	F	p
CARIOTIPOS	1	7.7628	7.7628	1.33	0.26
INDIVIDUOS	21	122.9301	5.8538	8.81	~ 0
ERROR	609	404.7739	0.6647	--	
TOTAL	631	535.4668	---	--	

TABLA 28: Varianzas medias de número total de quiasmas por célula para individuos de D. elongatus con y sin cromosomas accesorios, valor del estadístico t y probabilidad de que las diferencias se deban al azar.

+B	-B	t ₂₁	p
0.946	0.578	2.21	0.019

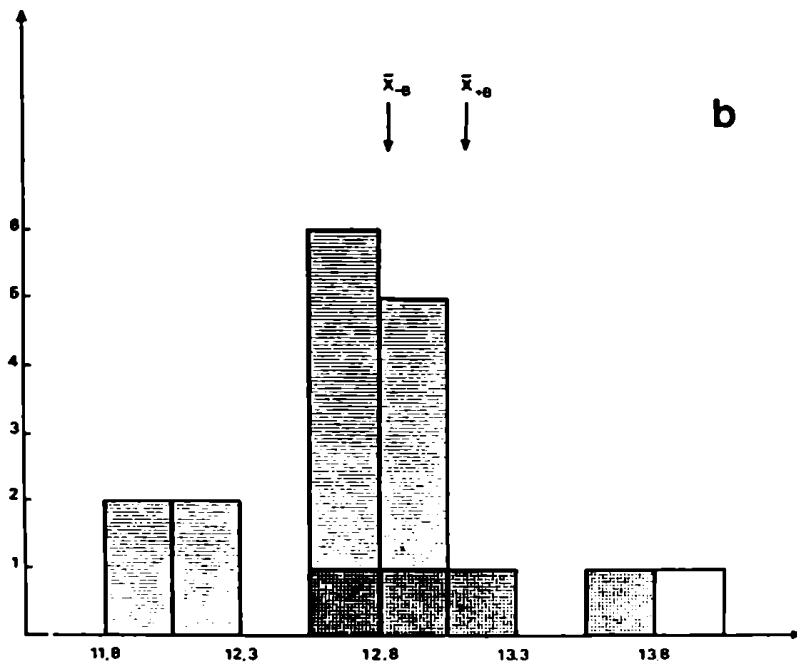
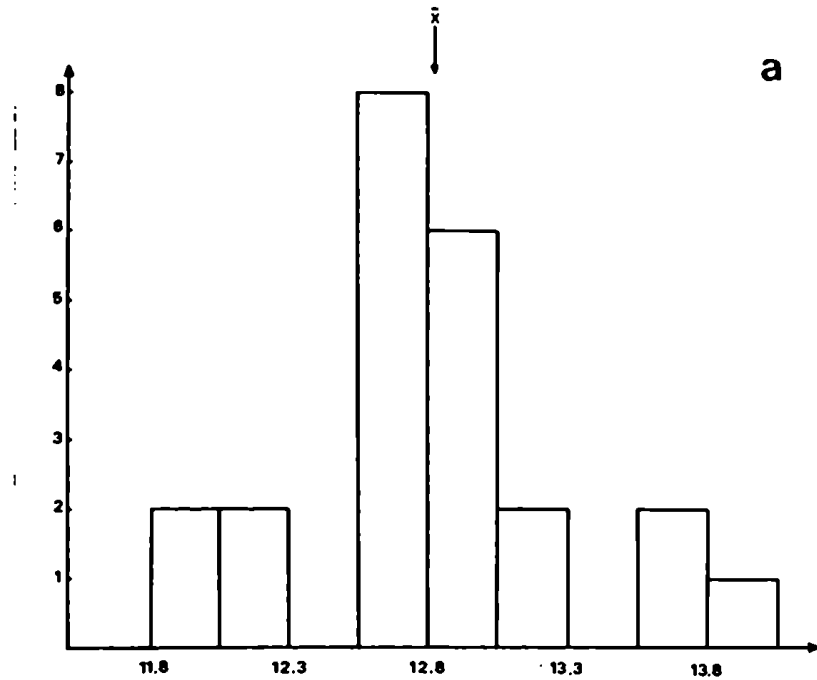


FIGURA 18: a) Histograma de distribución de frecuencias para la media de número de quiasmas por célula incluyendo individuos con y sin B de Dichroplus elongatus. b) Lo mismo que (a) pero diferenciando los individuos portadores (|||||) de los libres de B (≡≡≡).

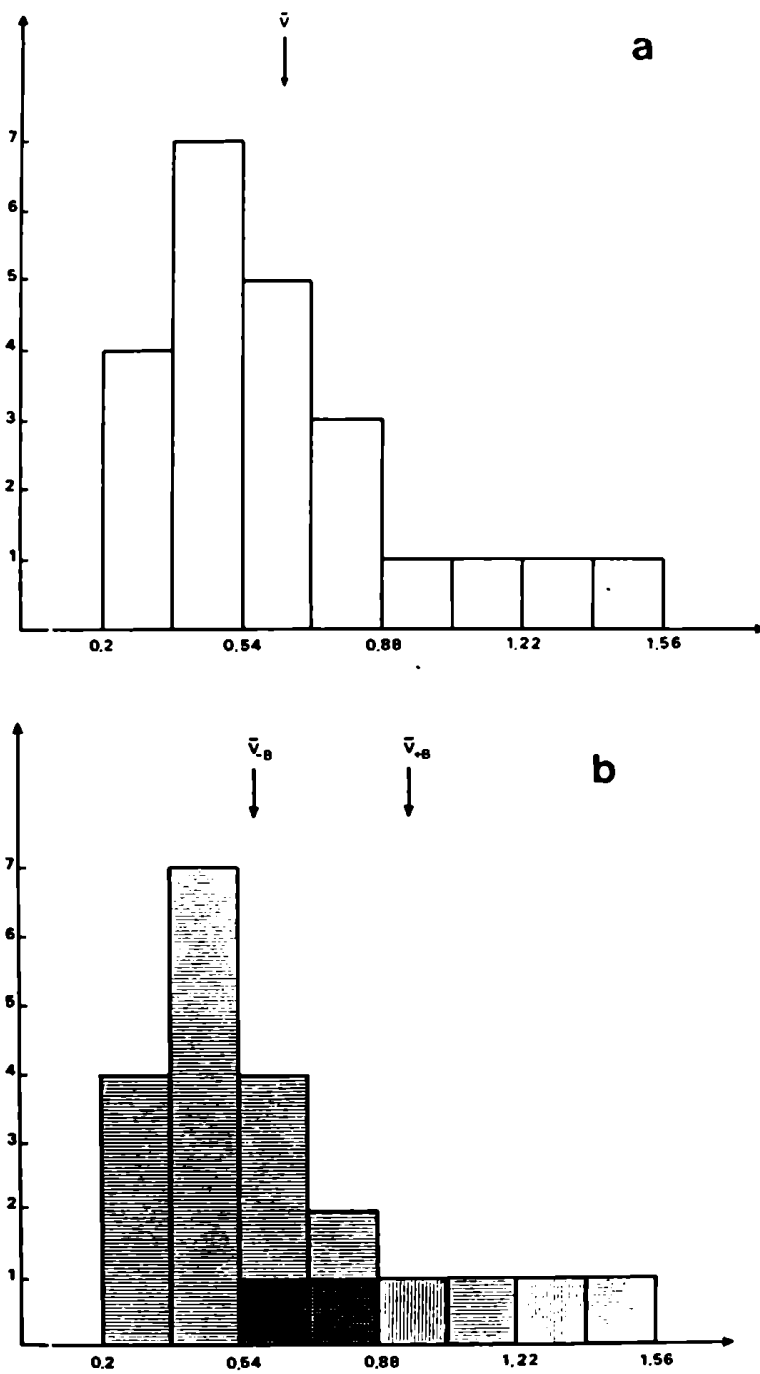


FIGURA 19: a) Histograma de distribución de frecuencias para la varianza entre células del número total de quiasmas incluyendo individuos portadores y libres de B de Dichroplus elongatus. b) Igual que (a) pero diferenciando los individuos con (▨▨▨▨▨▨▨▨) y sin (▨▨▨▨) B.

poblacional.

Discusión:

En la actualidad es bien conocido el hecho de que los quiasmas son la manifestación citológica de la recombinación genética (Creighton y Mc Clintock 1931, Brink y Cooper 1935, Brown y Zohary 1955).

El estudio de las frecuencias de quiasmas da por lo tanto una importante información acerca de la capacidad de una especie o población que posee flexibilidad genética para responder mediante recombinaciones a condiciones ambientales cambiantes.

Como se dijo anteriormente, las condiciones de los quiasmas estarían determinadas genética y ambientalmente y en muchos casos la heterocromatina supernumeraria y los reordenamientos cromosómicos forman parte del mecanismo de control de la recombinación, Es de esperar que las mutaciones cromosómicas tengan su efecto más importante a nivel del endofenotipo (John y Lewis 1966) y por esta razón se trató de determinar en D. elongatus la posible función de la heterocromatina supernumeraria en el sistema genético de regulación de los quiasmas.

Los segmentos supernumerarios hallados durante el presente estudio no pueden ser analizados como un verdadero polimorfismo por cuanto fueron encontrados en individuos únicos. Podrían por lo tanto tratarse de mutantes recientes en los cuales aún no ha actuado la selección para permitir ajustes en el efecto de tales bloques, o podría ser una variante cromosómica en vías de extinción. En este trabajo, por lo tanto, se

focalizó la atención sobre dos problemas fundamentales relacionados con el comportamiento meiótico. El primero de ellos fue el estudio del movimiento de quiasmas desde diploteno hasta metafase I, y el otro se refirió a la influencia de los cromosomas B sobre la frecuencia de quiasmas.

El estudio de la terminalización se realizó mediante un método similar al aplicado en el estudio previamente comentado sobre S. longicornis y el realizado por Fox (1973) en S. gregaria, pero los resultados obtenidos distan de los alcanzados en ambos de estos trabajos. En S. gregaria el movimiento de quiasmas se estudió sólo durante diploteno dividiendo el período en cuatro etapas. Comparando las frecuencias de quiasmas de dichos estadios no se obtuvo evidencias de que ocurra terminalización durante diploteno. En S. longicornis como se indicó oportunamente, se estudiaron los períodos de diploteno, diacinesis y metafase I y los resultados indicaron que el movimiento de quiasmas se producía en forma continua. En D. elongatus los presentes resultados indicarían que ocurriría terminalización durante diploteno (contrariamente a lo visto en S. gregaria), pero finalizaría en diacinesis, no habiendo movimiento de quiasmas desde este estadio hasta metafase I (en oposición al caso de S. longicornis), siendo estas últimas conclusiones apoyadas por las observaciones de células anafásicas que demostrarían que la separación no requeriría una completa terminalización previa.

Informes previos presentan evidencias tanto en favor (Maguire 1981) como en contra (Peacock 1970, Jones 1971, -

1977, 1978; Tease 1978, Tease y Jones 1978, Polani et al. 1979, Kanda y Kato 1980, Imai y Moriwaki 1982) de la existencia del proceso de terminalización. Considerando los resultados discordantes obtenidos en D. elongatus y S. longicornis se debería concluir que el mismo no sería un proceso de ocurrencia universal y que su importancia relativa variaría en diferentes organismos.

Los cromosomas B encontrados en la especie en consideración en esta sección mostraron ser inestables tanto mitóticamente como meióticamente, de modo que se producen gametas con números variables de B a partir de un mismo individuo. La existencia o no de un mecanismo de acumulación como el de Camnu-lla pellucida (Nur 1963) responsable del mantenimiento de los supernumerarios, aunque es posible no puede ser demostrada con los datos actuales puesto que no se estudiaron tejidos somáticos. Para establecer las posibles influencias de los B sobre las condiciones de los quiasmas se compararon inicialmente las frecuencias medias de quiasmas totales entre los individuos portadores y libres de B. El análisis estadístico no demostró diferencias entre los grupos con cariotipos distintos, pero dentro de cada grupo habían diferencias entre individuos altamente significativas, condición similar a la encontrada en Chorthippus brunneus (Laurie y Jones 1981) y en S. longicornis, E. shultzi y E. conspersus (este trabajo), pero opuesta a la de la especie humana (Laurie et al. 1981) probablemente a causa de un mecanismo de control más rígido de la formación de quiasmas. Probablemente en especies que habitan ambientes de grano grueso la selección favorece la existencia de una

regulación menos estricta de las frecuencias y localización de quiasmas como medio de aumentar la variabilidad liberada en cada generación. Esto podría ser la causa del mantenimiento de los B de D. elongatus. Al comparar estadísticamente las varianzas entre células entre individuos con y sin supernumerarios se vio que en los primeros (tabla 28, fig.18) los valores tendían a ser mayores, o sea, que en los portadores de B habría mayor variación entre células con respecto al número de quiasmas formados. Esto determinaría que las gametas de estos individuos fueran más variables en cuanto a la cantidad de recombinación y también en cuanto al número de cromosomas B que transmitirían. Esta mayor variabilidad podría determinar que hubiera mayor cantidad de sobrevivientes por generación, descendientes de los individuos con cromosomas accesorios, pues podrían responder más eficientemente a condiciones cambiantes del medio.

- DISCUSION GENERAL -

I) TERMINALIZACION

La terminalización ó movimiento de los quiasmas de regiones intersticiales a zonas terminales de los bivalentes fue considerada durante mucho tiempo como un proceso de ocurrencia universal (Darlington 1958). Sin embargo, dado que la persistencia de los quiasmas de diploteno a metafase I es lo que asegura en la mayoría de los organismos la correcta disyunción de los cromosomas en la primera división meiótica (Darlington 1960), es difícil entender el propósito de dicho proceso que tendería a disminuir el número de quiasmas a medida que progresa la meiosis. Podría suponerse entonces que la terminalización sería, como propone Swanson (1957) un mero subproducto de la condensación cromosómica y no tendría una verdadera función.

Para superar el problema de la desinapsis que podría ocurrir como consecuencia de la terminalización, Darlington (1965) propone que los bivalentes serían mantenidos luego de la terminalización por medio de una afinidad especial de los telómeros. Egel (1979) propone que esta unión entre los telómeros de las cromátides hermanas podría ser sustanciada por restos de la membrana nuclear, a la cual se unen los telómeros antes de que las cromátides hermanas puedan ser distinguidas, o bien, podría deberse a una unión covalente ADN-ADN, en cuyo caso, la separación de los cromosomas requeriría de una nucleasa similar a las enzimas de restricción aisladas de

las bacterias, y que corresponderían a la telomero-asa cuya existencia fue sugerida por White (1959).

En maíz (Maguire 1979, 1981) y en trigo (Fu y Sears 1973) se ha demostrado la ocurrencia de una genuina terminalización. Sin embargo, se han obtenido resultados que demostrarían que la terminalización no ocurriría en los ortópteros Goniaea australasiae (Peacock 1970), Stethophyma grossum (Jones 1971), Schistocerca gregaria (Fox 1973, Jones 1977) y Locusta migratoria (Tease 1978, Tease y Jones 1978), así como en ratón (Polani et al. 1979, Kanda y Kato 1980, Imai y Moriwaki 1982) y en centeno (Jones 1978).

A lo largo del presente trabajo el proceso de terminalización fue verificado en las seis especies estudiadas del género Tropisternus y en S. longicornis. En ambos casos se observó al pasar de estadios profásicos a metafase I una disminución del número de quiasmas por célula y de la proporción de quiasmas intersticiales (lo cual es equivalente a un aumento en el coeficiente de terminalización). En D. elongatus en cambio, sólo hubo disminución del número de quiasmas totales y de la proporción de quiasmas intersticiales de diploteno a diacinesis temprana, indicando esto que la terminalización sería parcial, deteniéndose desde diacinesis hasta el fin de la metafase I. La separación en la primera anafase meiótica en esta especie también demostró la ausencia de una completa terminalización.

Es interesante de destacar que aparentemente la presencia o no de terminalización no guarda relación con el paren-

tesco de los grupos. Así, entre los ortópteros de la familia Acrididae se pueden encontrar grupos en donde no habría movimiento de quiasmas (ver más arriba) y otros como Melanoplus (Hearne y Huskins 1935) y S. longicornis, en los cuales la terminalización fue demostrada. Por otra parte, como se indicó anteriormente, entre las gramíneas se encontró que no había terminalización en el centeno, pero sí ocurría este proceso en el maíz y el trigo.

Si se comparan las frecuencias de quiasmas de D. elongatus y S. longicornis, los valores medios obtenidos para quiasmas totales en diploteno son bastante similares (tablas 7, 11, 22). Así, puede descartarse la idea de que el grado de terminalización dependa de la frecuencia de quiasmas en todos los casos. En organismos en los cuales no ocurriría movimiento de quiasmas aparentemente se conservarían hasta metafase I, en los sitios de formación de los mismos, piezas del complejo sinaptonémico (Westergaad y von Wettstein 1970, Gillies 1975, Holm y Rasmussen 1977, Zickler 1977) y serían éstos los responsables del mantenimiento de la ubicación de aquellos. Esta podría ser quizás la razón de la variación del grado de terminalización, pues pequeñas diferencias a nivel del sistema enzimático responsable de la desagregación del complejo sinaptonémico podría determinar que ocurra o no movimiento de quiasmas, sin necesidad de grandes diferencias en el sistema meiótico.

II) INFLUENCIA DE LA HETEROCROMATINA SUPERNUMERARIA

La heterocromatina supernumeraria puede existir de dos formas, cromosomas B o segmentos cromosómicos extra. Ambos tipos fueron hallados en varias de las especies estudiadas a lo largo de este trabajo. Segmentos supernumerarios fueron detectados en S. longicornis y en D. elongatus, mientras que cromosomas B se encontraron en E. shultzi, E. conspersus y D. elongatus. La heterocromatina comprende un material heterogéneo en su naturaleza que se agrupa dentro de esta denominación por el sólo hecho de presentar un ciclo de condensación-decondensación distinto del grueso de la cromatina, considerada como de ciclo normal, o eucromatina. Es de esperar por lo tanto que las distintas formas en que se pueda encontrar la heterocromatina tengan un efecto particular sobre sus portadores. Con todo, en general se acepta que la heterocromatina extra puede producir alteraciones en los patrones de formación de quiasmas, siendo éste su único efecto identificado hasta el presente (John y Hewitt 1965, 1966a, Jones y Rees 1967, Shaw 1971a). En algunos casos particulares se han observado correlaciones entre la fertilidad y la tasa de mortalidad y la presencia de cromosomas B, como se indicó en la introducción.

En el presente estudio se dispuso de material heterocromático de distintas fuentes y en los casos en que la incidencia del reordenamiento lo permitió se realizaron estudios estadísticos con el objeto de determinar si se observaban alteraciones en los patrones de formación de quiasmas en los

portadores, en comparación con los individuos con cariotipo normal.

En el caso de S. longicornis los segmentos supernumerarios no mostraron ninguna influencia sobre la frecuencia media ni la varianza entre células del número total de quiasmas por célula. Lo mismo ocurrió en el caso de los cromosomas B en Euplectrotettix. En Dichroplus tampoco los B alteran la frecuencia media de quiasmas por célula, pero sí se detectaron diferencias significativas en la varianza entre células entre cariotipos. Significativamente, D. elongatus fue, de las especies de ortópteros estudiadas en este trabajo, la que presentaba la menor varianza entre células, lo cual indicaría una regulación más estricta de la formación de quiasmas. Probablemente, en las especies con un control más débil de la frecuencia de quiasmas se sentirían menos los efectos de la heterocromatina extra, o estarían en el máximo de variación intraindividual tolerable. En D. elongatus los cromosomas B producen una descanalización del número de quiasmas por célula, cuya consecuencia sería el aumento de la varianza. Alternativamente, podría suponerse que el efecto de la alteración de la varianza entre células no se debería a la naturaleza heterocromática del material supernumerario, sino a determinados factores génicos presentes en el B de D. elongatus, mientras que los genes contenidos en la heterocromatina supernumeraria de S. longicornis y las especies estudiadas de Euplectrotettix no afectarían el control de la formación de quiasmas.

III) COMPORTAMIENTO MEIOTICO EN MUTANTES CROMOSOMICOS

Las mutaciones cromosómicas comparten una característica general que es su tendencia a producir una disminución de la fertilidad de los portadores, aunque su complemento cromosómico esté balanceado. Algunas reestructuraciones sin embargo, producen efectos relativamente leves, como en el caso de las fusiones céntricas entre cromosomas largos, especialmente en especies con localización distal de quiasmas, en los que se espera una segregación generalmente regular del trivalente formado en el heterocigota. Las translocaciones e inversiones, en cambio suelen tener efectos más drásticos. La distinción entre éstos efectos leves y drásticos llevó a la suposición de que las alteraciones cuya acción sobre el comportamiento meiótico es poco importante podrían conducir a polimorfismos estables, mientras que aquéllas que reducen en forma importante la fertilidad de los heterocigotas podrían actuar como mecanismos de aislamiento y no podrían constituir polimorfismos estables (Hewitt 1979).

Dentro del primer grupo podrían incluirse los segmentos supernumerarios encontrados en S. longicornis y D. elongatus, los cromosomas B de E. shultzi, E. conspersus y D. elongatus y la fusión céntrica, inversión pericéntrica y constricciones elásticas observadas en S. longicornis.

En todos estos casos se comprobó que la segregación regular conducía en general a la formación de gametas balanceadas. De estos ejemplos puede suponerse con cierta seguridad que los segmentos supernumerarios de S. longicornis y cromoso

mas B de las otras especies constituyen verdaderos polimorfismos. En los demás rearreglos, habiéndose observado un sólo portador, no puede asegurarse que éste no sea simplemente un mutante.

Los rearreglos observados en Euplectrotettix que implicaban formación de multivalentes corresponden claramente al segundo grupo. Todas estas mutaciones se encontraron en células únicas, y, a pesar de la alta tasa de ocurrencia de las mismas, serían rápidamente eliminadas de la población por selección. La inversión paracéntrica en E. conspersus fue hallada en un único individuo y, probablemente, éste sea un mutante. Esta alta frecuencia para las mutaciones cromosómicas espontáneas podría deberse a efectos clastogénicos de los insecticidas utilizados en la agricultura.

Así, se puede ver que en los casos presentados aquí se cumplirían las predicciones acerca de los rearreglos que podrían constituir polimorfismos.

La obtención de un nuevo carácter adaptativamente superior detectable exofenotípicamente sería más sencilla de alcanzar a través de mutaciones de punto, las cuales se originan en heterocigosis sin deteriorar la fertilidad del portador. Dadas las consecuencias meióticas de las alteraciones cromosómicas, la evolución se valdría de este mecanismo sólo cuando las mutaciones génicas no pudieran ser utilizadas para alcanzar un determinado progreso. Este sería el caso de los caracteres relacionados con el endofenotipo, en especial el comportamiento cromosómico (John y Lewis 1966. Esto podría corresponder a la situación

de los cromosomas B de D. elongatus para los cuales se propone un efecto sobre la variabilidad liberada por los portadores. En este caso el individuo que lleva el B no es favorecido en forma directa por la selección, pero su descendencia sería más variable, pudiendo adaptarse mejor a las condiciones de un ambiente heterogéneo.

IV) VARIACIONES INTERESPECIFICAS

En el presente estudio se analizaron las variaciones en cariotipo y comportamiento meiótico entre especies de Tropisternus y de Euplectrotettix.

En el caso de los coleópteros se trató con especies con un rígido control de la formación de quiasmas que determinaba una escasa variabilidad dentro de cada especie. Al comparar los distintos taxones con respecto a las frecuencias de quiasmas intersticiales y de bivalentes cerrados por célula se observó que las especies presentaban características diferenciales. Con respecto a la morfología cromosómica las únicas diferencias evidentes se refieren al tamaño de los cromosomas. Si se comparan las condiciones de los quiasmas entre especies con LTC similares (T. setiger, T. sharpi y T. flavescens o T. acaragua y T. mutatus) se detectan diferencias claras en las condiciones de sus quiasmas. Esto indicaría que no hay una correlación entre el tamaño cromosómico y las condiciones de los quiasmas.

Las especies E. shultzi y E. conspersus por su parte presentaron cariotipos muy similares y no poseen diferencias demasiado grandes en sus respectivas frecuencias de quiasmas.

Sin embargo, esta similitud en el comportamiento meiótico podría ser sólo aparente. Cuando se estudia la correlación entre la frecuencia media de quiasmas por célula y la varianza entre células en individuos de E. shultzi el valor obtenido --- ($r=-0.2209$) no fue significativo ($p= 0.54$). Por el contrario, en E. conspersus la correlación ($r=0.8833$) fue altamente significativa ($p<0.01$), y la recta de regresión obtenida:

$$V = -5.3626 + 0.4543 \bar{X}$$

se ajustó a los resultados obtenidos ($p \sim 0$).

La existencia de una correlación positiva entre la media de quiasmas y la varianza entre células fue observada también en S. longicornis ($r= 0.6141$; $p < 0.01$) y D. elongatus ($r= 0.5215$; $p=0.01$), siendo las correspondientes rectas de regresión:

$$\underline{S. longicornis}: \quad V = -8.0012 + 0.7367 \bar{X} \quad (p < 0.01)$$

$$\underline{D. elongatus}: \quad V = -3.7688 + 0.3440 \bar{X} \quad (p = 0.01)$$

Esta mayor variación al aumentar la media podría indicar que el mecanismo de control es más débil en los individuos con mayores valores, de modo que las variaciones en el ambiente interno (entre cistos) podría afectar más las condiciones de los quiasmas. Otra hipótesis, quizás más factible es que el mecanismo de regulación de la recombinación podría deberse a un sistema poligénico. Cuando los efectos individuales de los poligenes son aditivos, no existe una correlación entre la media y la varianza para el carácter. Este sería el caso de E. shultzi. La existencia de una correlación significativa -

entre los dos parámetros, como en S. longicornis, D. elongatus y E. conspersus, es un indicio de que los efectos individuales de los poligenes serían multiplicativos en vez de aditivos. Así, podría suponerse la existencia de diferencias en el sistema genético de control de la recombinación entre estas últimas especies y E. shultzi. Esto pone de manifiesto la importancia de los estudios estadísticos para la comprensión de los mecanismos genéticos que regulan el comportamiento meiótico, y que los mecanismos de acción génica para controlar un mismo carácter pueden diferir entre especies relacionadas.

V) VARIACIONES INTRAESPECIFICAS

En las especies de ortópteros estudiadas en el presente trabajo se observó un patrón irrestricto en la localización de los quiasmas. En especies con estas características es importante estudiar las variaciones entre individuos de una misma población con respecto a número y distribución de quiasmas. La literatura empero no abunda en este tipo de estudios. En las especies aquí consideradas se encontró una alta variabilidad individual en forma similar a lo observado en otro acrido, Chorthippus brunneus (Laurie y Jones 1981), pero opuesta a la situación observada en el hombre (Laurie et al. 1981) en el cual se supone que, como reflejo de un control más rígido de la formación de quiasmas, la variabilidad interindividual es menor.

En Caledia (Shaw y Knowles 1976) se encontró que existían diferencias significativas en los patrones de distribución de quiasmas entre poblaciones y razas. Esto indicaría -

que, de alguna manera, la selección podría favorecer en determinadas condiciones un aumento o disminución de la variabilidad liberada por recombinación. La flexibilidad genética es una característica sujeta a una selección retrospectiva, por cuanto la selección actúa sobre la descendencia y no sobre el propio individuo. En *Bambúseas* (Hunziker et al. 1982) se observó una correlación entre el hábito y el número cromosómico, que podría ser explicada por un proceso de selección para mantener un cierto grado de flexibilidad genética. La regulación de la frecuencia de quiasmas sería otro medio para lograr el mismo fin en grupos de especies con igual número de cromosomas (como en los acrídidos) y tal vez se relacione con la amplitud del grano ambiental o la estrategia adaptativa de la especie.

En *Euplectrotettix* y *S. longicornis*, a diferencia de lo hallado en *Caledia*, las variaciones entre individuos fueron más importantes que las diferencias entre poblaciones. Quizás en este caso la estrategia escogida sea la de mantener un gran polimorfismo en los genes que regulan la recombinación, mientras que en *Caledia* habría una tendencia hacia la politipia.

R E S U M E N

A lo largo del presente estudio se enfocaron distintos aspectos del estudio citogenético en insectos, utilizando materiales con distintas características. En algunos casos (*Tropisternus*) el estudio de comportamiento y morfología cromosómicos permitió establecer diferencias entre las especies que podrían ser usadas para resolver problemas taxonómicos. En *Euplectrotettix* por el contrario no pudieron demostrarse diferencias citológicas entre los dos taxones estudiados.

El estudio estadístico de la frecuencia y distribución de quiasmas dió además información que permite la comprobación de la existencia o no de un proceso de terminalización.. de quiasmas que pudo correlacionarse con las observaciones de células en anafase I. Así, en S. longicornis se demostró la ocurrencia de terminalización a lo largo de todo el período diplo-teno-metafase I, mientras que en D. elongatus se encontró que ésta se detiene en diacinesis.

El estudio del comportamiento meiótico en mutantes cromosómicos espontáneos permite predecir los rearrreglos que podrían mantenerse en estado polimórfico. La comparación de individuos normales con otros portadores de heterocromatina supernumeraria dió resultados diferentes en distintas especies. Sólo en D. elongatus habría un aparente efecto de aumento de la varianza entre células en los individuos portadores de cromosomas accesorios. En Euplectrotettix se supone que los cromosomas B hallados podrían ser muy antiguos, puesto que se habrían originado antes de la divergencia entre E. shultzi y E. conspersus. Tanto los segmentos supernumerarios como los cromosomas accesorios deberían tener alguna función para el organismo, que determine su supervivencia en las poblaciones, pero los mecanismos de mantenimiento podrían deberse a causas tan diversas como la naturaleza misma de la heterocromatina extra.

El análisis de la correlación entre la media de quiasmas de un individuo y su correspondiente varianza entre células demostró diferencias entre especies que podría ser expli

casas suponiendo que la regulación de la formación de quiasmas se debería en las especies en cuestión al efecto de poligenes, que podrían ser aditivos o multiplicativos.

Finalmente, se observaron entre los ortópteros importantes variaciones entre individuos dentro de cada población, las cuales reflejarían alta variabilidad genética sumada a una gran influencia ambiental sobre la formación de los quiasmas.

Burgin

Wald

BIBLIOGRAFIA CITADA

- Abdel-Hameed, F.; Rootham, D. L.; Flinn, R. R. 1970. Structural and numerical aberrations in natural populations of the grasshopper Melanoplus differentialis differentialis. Genetics 64 (Suppl. 1): s1 (Abstr.).
- Agarwal, U. 1960a. Chromosome number and sex mechanism in sixteen species of Indian Coleoptera. Curr. Sci. (Bangalore) 29, 139-140.
- Agarwal, U. 1960b. Chromosomes of Berosus indicus Mots (Coleoptera-Hydrophilidae). Curr. Sci. 29, 404-405.
- Arana, P; Santos, J. L.; Giraldez, R. 1980. Chiasma interference and centromere co-orientation in a spontaneous translocation heterozygote of Euchorthippus pulvinatus gallicus (Acrididae; Orthoptera). Chromosoma (Berl.) 78, 327-340.
- Arnold, G. 1908. The nucleolus and microchromosomes in the spermatogenesis of Hydrophilus piceus (Linn.). Arch. Zellf. 2, 181-190.
- Asana, J. J.; Makino, S.; Niiyama, H. 1942. A chromosome survey of some Indian insects IV. On the sex chromosomes of some species of beetles (Coleoptera). Cytologia (Tokyo) 12, 187-205.
- Ayonoadu, U.; Rees, H. 1968. The influence of B-chromosomes on chiasma frequencies in Black Mexican Sweet corn. Genetica ('s-Gravenhague) 39,75-81.
- Bachmann, A. 1965. El género Dibolocelus en la Argentina (Coleoptera-Hydrophilidae). Rev. Soc. Entomol. Argent. 27, 65-72.
- Barlow, P. W.; Vosa, C. G. 1970. The effect of supernumerary chromosomes on meiosis in Puschkinia libanotica Liliaceae).

- Chromosoma (Berl.) 30, 344-355.
- Battaglia, E. 1964. Cytogenetics of B-chromosomes. *Caryologia* (Firenze) 17, 245-299.
- Beadle, G. W. 1930. Genetical and cytological studies of Mendelian asynapsis in Zea mays. Cornell Univ. Exp. Sta. Mem. 129, 1-23.
- Bidau, C. J. 1981. Estudios cromosómicos en cuatro especies del género Berosus (Coleoptera-Hydrophilidae). *Mendeliana* 5, 19-32.
- Brink, R. A.; Cooper, D. C. 1935. A proof that crossing-over involves an exchange of segments between homologous chromosomes. *Genetics* 20, 22-35.
- Brown, S. W.; Zohary, D. 1955. The relationship of chiasmata and crossing-over in Lilium formosanum. *Genetics* 40, 850-873.
- Camacho, J. P. M.; Carballo, A. R.; Cabrera, J. 1980. The B-chromosome system of the grasshopper Eyprepocnemis plorans subsp. plorans (Charpentier). *Chromosoma* (Berl.) 80, 163-176.
- Cameron, F. M.; Rees, H. 1967. The influence of B-chromosomes on meiosis in Lolium. *Heredity* 22, 446-450.
- Cardoso, H.; Di Tomaso, M. V. 1980. Regiones heterocromáticas y organizadora nucleolar durante la meiosis de Zoniopoda tarsata (Orthoptera-Romaleidae). *Mendeliana* 4, 47-56.
- Carr, D. H.; Walker, J. E. 1961. Carbol-fuchsin as a stain for human chromosomes. *Stain Technol.* 36, 233-236.
- Carr, G. D.; Carr, R. L. 1982. Micro and nucleolar-organizing B-chromosomes in Calycadenia (Asteraceae). *Cytologia* (Tokyo) 47, 79-87.
- Carson, H. L. 1958. Response to selection under different conditions of recombination in Drosophila. Cold Spr. Harb. Symp.

Quant. Biol. 23, 291-306.

Cleland, R. E. 1950. Studies on Oenothera cytogenetics and phylogeny. Indiana Univ. Publ. Sci. 16, 1-348.

Cleland, R. E. 1972. Oenothera: Cytogenetics and Evolution. Academic Press, New York.

Creighton, H. S.; Mc Clintock, B. 1931. A correlation of cytological and genetical crossing-over in Zea mays. Proc. Natl. Acad. Sci. (Wash.) 17, 492-497.

Cunha, A. B. da; Burla, H.; Dobzhansky, Th. 1950. Adaptive chromosomal polymorphism in Drosophila willistoni. Evolution 4, 212-235.

Cunha, A. B. da; Dobzhansky, Th. 1954. A further study of chromosomal polymorphism in Drosophila willistoni in its relation to the environment. Evolution 8, 119-134.

Darlington, C. D. 1939. Misdivision and the genetics of the centromere. J. Genet. 37, 341-364.

Darlington, C. D. 1940. The origin of isochromosomes. J. Genet. 39, 351-361.

Darlington, C. D. 1958. Evolution of genic systems (2nd ed.). Edinburg, London. Oliver and Boyd.

Darlington, C. D. 1960. Chromosomes and the theory of heredity. Nature 187, 892-895.

Darlington, C. D. 1965. Cytology. J. & A. Churchill. London.

Dhillon, S. S. 1980. Nuclear volume, chromosome size and DNA content relationships in three species of Pinus. Cytologia (Tokyo) 45, 555-560.

Dobzhansky, Th. 1941. Genetics and the origin of species (2nd ed.). Columbia Univ. Press, New York.

Dobzhansky, Th.; Ayala, F. J.; Stebbins, G. L.; Valentine, J. W.

1980. Evolución. Ed. Omega. Barcelona.

Dobzhansky, Th.; Epling, C. 1944. Contributions to the genetics, taxonomy and ecology of Drosophila pseudoobscura and its relatives. Carneg. Inst. Washington Publ. 554, 1-183.

Dobzhansky, Th.; Pavlovsky, O. 1953. Indeterminate outcome of certain experiments on Drosophila populations. *Evolution* 7, 198-210.

Dobzhansky, Th.; Pavlovsky, O. 1958. Interracial hybridization and breakdown of coadapted gene complexes in Drosophila paulistorum and Drosophila willistoni. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 44, 622-629.

Dobzhansky, Th.; Sturtevant, A. H. 1938. Inversions in the chromosomes of Drosophila pseudoobscura. *Genetics* 23, 28-64.

Drets, M. E.; Stoll, M. 1974. C-banding and non-homologous associations in Grillus argentinus. *Chromosoma (Berl.)* 48, 367-390.

Egel, R. 1979. Telomeres and chiasma terminalization. *Hereditas* 91, 138-140.

Ennis, T. 1972. Meiosis in Diabrotica (Coleoptera: Chrysomelidae): Chiasma frequency and variation. *Canad. J. Genet. Cytol.* 14, 113-128.

Epling, C.; Mitchell, D. F.; Mattoni, R. H. T. 1953. On the role of inversions in wild populations of Drosophila pseudoobscura. *Evolution* 7, 342-365.

Epling, C.; Mitchell, D. F.; Mattoni, R. H. T. 1955. Frequencies of inversion combinations in the third chromosome of wild males of Drosophila pseudoobscura. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 41, 915-921.

- Epling, C.; Mitchell, D. F.; Mattoni, R. H. T. 1957. The relation of an inversion system to recombination in wild populations. *Evolution* 11, 225-247.
- Fletcher, H. L.; Hewitt, G. M. 1978. Non homologous synaptonemal complex formation in a heteromorphic bivalent in Keyacris scurra (Morabinae, Orthoptera). *Chromosoma (Berl.)* 65, 271-281.
- Fletcher, H. L.; Hewitt, G. M. 1980. A comparison of chiasma frequency and distribution between sexes in three species of grasshoppers. *Chromosoma (Berl.)* 77, 129-144.
- Fontana, P. G.; Vickery, V. R. 1976. Cytotaxonomic studies on the genus Boonacris. I. The eastern taxa and comparison with the related genera Dendrotettix and Appalachia (Orthoptera: Catantopidae: Podismini). *Can. J. Genet. Cytol.* 18, 625-652.
- Fox, D. P. 1973. The control of chiasma distribution in the locust Schistocerca gregaria (Forsk.) *Chromosoma (Berl.)* 43, 289-328.
- Fu, T. K.; Sears, E. R. 1973. The relationship between chiasmata and crossing-over in Triticum aestivum. *Genetics* 75, 231-246.
- Gale, M. D.; Rees, H. 1970. Genes controlling chiasma frequency in Hordeum. *Heredity* 25, 393-410.
- Gillies, C. B. 1975. An ultrastructural analysis of chromosomal pairing in maize. *C. R. Trav. Lab. Carlsberg* 40, 135-161.
- Grant, V. 1958. The regulation of recombination in plants. *Cold Spr. Harb. Symp. Quant. Biol.* 23, 337-363.
- Grant, V. 1964. The architecture of germoplasm. J. Wiley, N. York
- Guénin, H. A. 1950. Chromosomes et hétérochromosomes de *Tenebrio-*

nides. *Genetica* 25, 157-182.

- Haldane, J. B. S. 1931. The cytological basis of genetical interference. *Cytologia* (Tokyo) 3, 54-65.
- Hearne, E. M.; Huskins, C. L. 1935. Chromosome pairing in Melanoplus femur rubrum. *Cytologia* (Tokyo) 6, 123-147.
- Heitz, E. 1933. Die somatische heteropyknose bei Drosophila melanogaster und ihre genetische bedutung. *Z. Zellforsch* 20, 237-287.
- Henderson, S. A. 1961. The chromosomes of the British Tetrigidae (Orthoptera). *Chromosoma* (Berl.) 12, 553-572.
- Henderson, S. A. 1963a. Temperature and chiasma formation in Schistocerca gregaria. I. An anlysis of the response at a constant 40°C. *Heredity* 18, 77-94.
- Henderson, S. A. 1963b. Chiasma distribution at diplotene in a locust. *Heredity* 18, 173-190.
- Henriques-Gil, N.; Santos, J. L.; Giráldez, R. 1982. B-chromosome polymorphism and interchromosomal chiasma interference in Eyprepocnemis plorans (Acrididae; Orthoptera). *Chromosoma* (Berl.) 85, 349-359.
- Hewitt, G. M. 1967. An interchange which raises chiasma frequency. *Chromosoma* (Berl.) 21, 285-295.
- Hewitt, G. M. 1973. The integration of supernumerary chromosomes into the Orthopteran genome. *Cold Spr. Harb. Symp. Quant. Biol.* 38, 183-194.
- Hewitt, G. M. 1976. Meiotic drive for B-chromosomes in the primary oocytes of Myrmeleotettix maculatus (Orthoptera: Acrididae). *Chromosoma* (Berl.) 56, 381-391.
- Hewitt, G. M. 1979. Orthoptera. In: John, B.; Bauer, H.; Kayano, H.; Levan, A.; White, M. (eds.). *Animal Cytogenetics Vol.*

- 3: Insecta 1. Gebrüder Borntraeger. Berlin, Stuttgart.
- Hewitt, G. M.; John, B. 1965. The influence of numerical and structural chromosome mutations on chiasma conditions. *Heredity* 20, 123-135.
- Hewitt, G. M.; John, B. 1967. The B-chromosome system of Myrmeleotettix maculatus. III. The statistics. *Chromosoma (Berl.)* 21, 140-162.
- Hewitt, G. M.; John, B. 1968. Parallel polymorphism for supernumerary segments in Chorthippus parallelus (Zetterstedt). I. British populations. *Chromosoma (Berl.)* 25, 319-342.
- 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 locusts. I. Chorthoicetes terminifera. *Chromosoma (Berl.)* 34, 302-323.
- Hinton, C. 1965. The effects of heterozygous autosomal translocations on recombination in the X-chromosome of Drosophila melanogaster. *Genetics* 51, 971-982.
- Holm, P. B.; Rasmussen, S. W. 1977. Three-dimensional reconstruction of meiotic chromosomes in human spermatocytes. *Chromosomes Today* 6, 83-93.
- Hunziker, J. H. 1966. Números cromosómicos y cariotipos de varias especies sudamericanas de Agropyron y Elymus (Gramineae). *Kurtziana* 3, 151-156.
- Hunziker, J. H.; Wulff, A. F.; Soderstrom, T. R. 1982. Chromosome studies on the Bambusoideae (Gramineae). *Brittonia* 34, 30-35.
- Imai, H. T.; Moriwaki, K. 1982. A re-examination of chiasma ter-

- minalization and chiasma frequency in male mice. *Chromosoma* (Berl.) 85, 439-452.
- John, B. 1973. The cytogenetic systems of grasshoppers and locusts. II. The origin and evolution of supernumerary segments. *Chromosoma* (Berl.) 44, 123-146.
- John, B. 1976. Myths and mechanisms of meiosis. *Chromosoma* (Berl.) 54, 295-325.
- John, B.; Freeman, M. 1976. The cytogenetic systems of grasshoppers and locusts. III. The genus Tolgadia (Oxyinae: Acrididae). *Chromosoma* (Berl.) 55, 105-119.
- John, B.; Hewitt, G. M. 1965. The B-chromosome system of Myrmeleotettix maculatus (Thunb.). II. The statics. *Chromosoma* (Berl.) 17, 121-138.
- John, B.; Hewitt, G. M. 1966a. A polymorphism for heterochromatic supernumerary segments in Chorthippus parallelus. *Chromosoma* (Berl.) 18, 254-271.
- John, B.; Hewitt, G. M. 1966b. Karyotype stability and DNA variability in the Acrididae. *Chromosoma* (Berl.) 20, 155-172.
- John, B.; Hewitt, G. M. 1968. Patterns and pathways of chromosome evolution within the Orthoptera. *Chromosoma* (Berl.) 25, 40-74.
- John, B.; Lewis, K. R. 1958. Studies on Periplaneta americana. III. Selection for heterozygosity. *Heredity* 12, 185-197.
- John, B.; Lewis, K. R. 1960. Nucleolar controlled segregation of the sex bivalent in beetles. *Heredity* 15, 431-439.
- John, B.; Lewis, K. R. 1965. The meiotic system. *Protoplasmatologia* VI/F/1. Wien - New York: Springer.
- John, B.; Lewis, K. R. 1966. Chromosome variability and geographical distribution in insects. *Science* 152, 711-721.

- John, B.; Lewis, K. R. 1968. The chromosome complement. *Proto-plasmatologia VI/A*. Wien-New York: Springer.
- John, B.; Quraishi, H. B. 1964. Studies on Periplaneta americana. IV. Pakistani populations. *Heredity* 19, 147-156.
- John, B.; Shaw, D. D. 1967. Karyotype variation in Dermestid beetles. *Chromosoma (Berl.)* 20, 371-385.
- Jones, G. H. 1967. The control of chiasma distribution in rye. *Chromosoma (Berl.)* 22, 69-90.
- Jones, G. H. 1971. The analysis of exchanges in tritium-labelled meiotic chromosomes. II. Stethophyma grossum. *Chromosoma (Berl.)* 34, 367-382.
- Jones, G. H. 1977. A test of early terminalization of chiasmata in diplotene spermatocytes of Schistocerca gregaria. *Chromosoma (Berl.)* 63, 287-294.
- Jones, G. H. 1978. Giemsa C-banding of rye meiotic chromosomes and the nature of terminal chiasmata. *Chromosoma (Berl.)* 66, 45-57.
- Jones, R. N. 1975. B-chromosome systems in flowering plants and animal species. *Int. Rev. Cytol.* 40, 1-100. N. York-Academic Press.
- Jones, R. N.; Rees, H. 1967. Genotypic control of chromosome behaviour in rye. XI. The influence of B-chromosomes in meiosis. *Heredity* 22, 333-347.
- Jones, R. N.; Rees, H. 1982. B-chromosomes. Academic Press. London, New York, Paris, San Diego, San Francisco, Sao Paulo, Sydney, Tokyo, Toronto.
- Kanda, N.; Kato, H. 1980. Analysis of crossing-over in mouse meiotic cells by BrdU labelling technique. *Chromosoma (Berl.)* 78, 113-121.
- Kayano, H.; Nakamura, K. 1960. Chiasma studies in structural hybrids. V. Heterozygotes for a centric fusion and for a translocation in Acrida lata. *Cytologia (Tokyo)* 25, 476-480.

- Klásterská, I.; Natarajan, A. T.; Ramel, C. 1974. Heterochromatin distribution and chiasma localization in the grasshopper Bryodema tuberculata (Fabr.) (Acrididae). *Chromosoma* (Berl.) 44, 393-404.
- Lafuente, N. 1977. Citogenética del género Dichroplus. *An. Mus. Hist. Nat. Valparaíso, Chile* 10, 211-214.
- Lafuente, N.; Guerña, R. 1977. Citotaxonomía de cuatro especies de Dichroplus. *An. Mus. Hist. Nat. Valparaíso, Chile* 10, 205-210.
- Laurie, D. A.; Hultén, M.; Jones, G. H. 1981. Chiasma frequency and distribution in a sample of human males. *Chromosomes* 1, 2 and 9. *Cytogenet. Cell Genet.* 31, 153-166.
- Laurie, D. A.; Jones, G. H. 1981. Inter-individual variation in chiasma distribution in Chorthippus brunneus (Orthoptera: Acrididae). *Heredity* 47, 409-416.
- Lespinasse, R. 1973. Comportement des chromosomes surnuméraires et relation avec le taux de mortalité dans une population africaine de Locusta migratoria migratorioides. *Chromosoma* (Berl.) 44, 107-122.
- Levan, A.; Fredga, K.; Sandberg, A. A. 1964. Nomenclature for centromeric position of chromosomes. *Hereditas* 52, 201-220.
- Lewis, K. R.; John, B. 1957. Studies on Periplaneta americana. II. Interchange heterozygotes in isolated populations. *Heredity* 11, 11-22.
- Lewis, K. R.; John, B. 1963. *Chromosome marker*. Churchill, London.
- Lindsley, D. L.; Sandler, L.; Nicoletti, B.; Trippa, G. 1968. Genetic control of recombination in Drosophila. In: Re-

plication and recombination of genetic material. Austr. Acad. Sci. Canberra.

Lucchesi, J. C. 1976. Interchromosomal effects. In: The genetics and biology of Drosophila. M. Ashburner & E. Novitski (eds.). London, New York, San Francisco: Academic Press.

Maguire, M. P. 1979. Direct cytological evidence for true terminalization of chiasmata in maize. *Chromosoma (Berl.)* 71, 283-287.

Maguire, M. P. 1981. Chiasma maintenance and terminalization across a homeologous bivalent segment. *Chromosoma (Berl.)* 82, 107-112.

Manna, G. K.; Lahiri, M. 1972. Chromosome complement and meiosis in forty six species of Coleoptera. *Chrom. Inf. Serv.* 13, 9-11.

Mather, K. 1937. The determination of position in crossing-over. II. The chromosome length chiasma frequency relation. *Cytologia (Tokyo) Fujii Jub. vol.*, 514-526.

Matthews, R. B.; Jones, R. N. 1982. Dynamics of the B-chromosome polymorphism in rye. I. Simulated populations. *Heredity* 48, 345-369.

Mesa, A. 1956. Los cromosomas de algunos acridoideos uruguayos. *Agros (Rev. Est. Agron. Montevideo)* 141, 32-45.

Mesa, A.; Ferreira, A.; Carbonell, C. S. 1982. Cariología de los acridoideos neotropicales: Estado actual de su conocimiento y nuevas contribuciones. *Ann. Soc. Ent. Fr. (N. S.)* 18, 507-526.

MUntzing, A.: 1974. Accesory chromosomes. *Ann. Rev. Genetics* 8, 243-266.

- Nei, M. 1975. Molecular population genetics and evolution. North Holland/American Elsevier. Oxford-New York.
- Newcomer, E. H. 1953. A new cytological and histological fixing fluid. *Science* 118, 161.
- Novitski, E. 1954. The compound X-chromosomes in Drosophila. *Genetics* 39, 127-140.
- Nur, U. 1963. A mitotically unstable supernumerary chromosome with an accumulation mechanism in a grasshopper. *Chromosoma (Berl.)* 14, 407-422.
- Nur, U. 1968. Synapsis and crossing-over within a paracentric inversion in the grasshopper Camnula pellucida. *Chromosoma (Berl.)* 25, 198-214.
- Ohno, S. 1970. Evolution by gene duplication. Springer Verlag, New York-Hedelberg-Berlin.
- Oliver, J. L.; Posse, F.; Martínez-Zapater, J. M.; Enriquez, A. M.; Ruiz-Rejón, M. 1982. B-chromosomes and E-1 isozyme activity in mosaic bulbs of Scilla autumnalis (Liliaceae). *Chromosoma (Berl.)* 85, 399-403.
- Orchymont, A. D. 1921. Le genre Tropisternus (Coleoptera-Hydrophilidae). *Ann. Soc. Entomol. Belgique* LXI, 349-374.
- Orchymont, A. D. 1922. Le genre Tropisternus (Coleoptera-Hydrophilidae). *Ann. Soc. Entomol. Belgique* LXII, 11-47.
- Parker, J. S.; Ainsworth, C. C.; Tailor, S. 1978. The B-chromosome system of Hypochoeris maculata. II. B-effects on meiotic A-chromosome behaviour. *Chromosoma (Berl.)* 67, 123-143.
- Parker, J. S.; Palmer, R. W.; Whitehorn, M. A. F.; Edgar, L. A. 1982. Chiasma frequency effects of structural chromosome change. *Chromosoma (Berl.)* 85, 673-686.
- Peacock, W. J. 1970. Replication, recombination and chiasmata in

- Goniaea australasiae (Orthoptera: Acrididae). Genetics 65, 593-617.
- Perry, P. E.; Jones, G. M. 1974. Male and female meiosis in grasshoppers. I. Stethophyma grossum. Chromosoma (Berl.) 47, 227-236.
- Polani, P. E.; Crolla, J. A.; Seller, M. J.; Moir, F. 1979. Meiotic crossing-over exchange in the female mouse visualized by BrdU substitution. Nature 278, 348-349.
- Procunier, D.; Suzuki, D. T. 1967. Interchromosomal effects on crossing-over in Drosophila melanogaster. IV. Canad. J. Genet. Cytol. 9, 874-879.
- Puertas, M. J. 1975. B-cromosomas. Ser. Monogr. Dpto. Genética, Fac. Biol., Univ. Complutense de Madrid, vol. 2, 54 pp.
- Rees, H. 1961. Genotypic control of chromosome form and behaviour. Bot. Rev. 27, 288-318.
- Rhoades, M. M. 1961. Meiosis. In: The Cell 3 (J. Brachet & A. E. Mirsky eds.). New York-London. Academic Press, 1-75.
- Ruiz-Rejón, M.; Posse, F.; Oliver, J. L. 1980. The B-chromosome system of Scilla autumnalis (Liliaceae): Effects at the isozyme level. Chromosoma (Berl.) 79, 341-348.
- Rutishauser, A. 1960. Zur genetic überzähliger chromosomen. Arch. J. Klaus-Stiftung. 35, 440-458.
- Sáez, F. A. 1928-1929. Exhibición de microfotografías de cromosomas de ortópteros sudamericanos y consideraciones relativas al tema. Resumen. Physis (Bs. As.) 9, 101-106.
- Sáez, F. A. 1930a. Investigaciones sobre los cromosomas de algunos ortópteros de la América del Sur. I. Número y organización de los complejos en cuatro géneros de acridios. Rev. Mus. La Plata (Arg.) 32, 317-361.

- Sáez, F. A. 1930b. Nota sobre los complejos de cromosomas en cuatro especies de ortópteros (Acrididae) del Río de la Plata. Arch. Soc. Biol. Montevideo 2, 35-43.
- Sáez, F. A. 1930c. Organización y número de cromosomas en los ortópteros de América del Sur. Congr. Internac. Biolog. Montevideo. Sección Citología, Histología, Embriología y Anatomía, 1-8. Arch. Soc. Biol. Montevideo Supl. 7, 1912-1919.
- Sáez, F. A. 1956a. Caso extraordinario de un ortóptero acrídido con ocho cromosomas diploides y mecanismo sexual XY. Biológica (Santiago, Chile) 22, 27-30.
- Sáez, F. A. 1956b. Cytogenetics of South American Orthoptera. Nature 177, 490.
- Sáez, F. A. 1960. El empleo de la hematoxilina acética o propiónica para el estudio de los cromosomas con la técnica de aplastamiento. Com. Soc. Biol. Montevideo. Mimeografiado.
- Sáez, F. A. 1963. Gradient of heterochromatinization in the evolution of the sexual system neo X-neo Y. Portugaliae, Acta Biol. Ser. A7 (1-2), 111-138.
- Sáez, F. A.; Pérez Mosquera, G. 1971. Citogenética del género Dichroplus (Orthoptera, Acrididae). En: Recientes adelantos en biología. R. Mejía y J. Moguilevsky (eds.). Buenos Aires, 110-120.
- Sandler, L.; Novitski, E. 1957. Meiotic drive as an evolutionary force. Amer. Naturalist 91, 105-110.
- Sannomiya, M. 1968. Chiasma studies in structural hybrids. X. Further studies in Acrida lata. Jap. J. Genet. 43, 103-108.
- Santos, J. L.; Giráldez, R. 1982. C-heterochromatin polymorphism and variation in chiasma localization in Euchorthippus

- pulvinatus gallicus (Acrididae, Orthoptera). *Chromosoma* (Berl.) 85, 507-518.
- Scheffé, H. 1959. The analysis of variance. Wiley, New York.
- Schifino, M. T.; Winge, H. 1983. Karyotypes and nuclear DNA content of species of the Briza complex and some other genera of Poaceae (Gramineae). *Rev. Brasil. Genet.* VI, 245-259.
- Schroeter, G. L.; Hewitt, G. M. 1974. The effects of supernumerary chromatin in three species of grasshopper. *Can. J. Genet. Cytol.* 16, 285-296.
- Schultz, J.; Redfield, H. 1951. Interchromosomal effects on crossing-over in Drosophila. *Cold Spr. Harb. Symp. Quant. Biol.* 16, 175-197.
- Shaw, D. D. 1971a. The supernumerary segment system of Stethophyma. II. Heterochromatin polymorphism and chiasma variation. *Chromosoma* (Berl.) 34, 19-39.
- Shaw, D. D. 1971b. Genetic and environmental components of chiasma control. I. Spatial and temporal variation in Schistocerca and Stethophyma. *Chromosoma* (Berl.) 34, 281-301.
- Shaw, D. D. 1976. Population genetics of the genus Caledia (Orthoptera-Acridinae). *Chromosoma* (Berl.) 54, 221-243.
- Shaw, D. D.; Knowles, G. R. 1976. Comparative chiasma analysis using a computerised optical digitiser. *Chromosoma* (Berl.) 59, 103-127.
- Smith, S. G. 1949. Evolutionary changes in the sex chromosomes of Coleoptera. I. Wood borers of the genus Agrilus. *Evolution* 3, 344-357.
- Smith, S. G. 1950. The cytotaxonomy of Coleoptera. *Can. Entom.* 82, 58-68.
- Smith, S. G. 1951. Evolutionary changes in the sex chromosomes

- of Coleoptera II. *Genetica* 25, 522-524.
- Smith, S. G. 1953. Chromosome numbers of Coleoptera. *Heredity* 7, 31-48.
- Smith, S. G. 1960. Chromosome numbers of Coleoptera II. *Can. J. Genet. Cytol.* 2, 66-68.
- Smith, S. G. 1965. Heterochromatin, colchicine and karyotype. *Chromosoma (Berl.)* 16, 162-165.
- Smith, S. G.; Virkki, N. 1978. Coleoptera. In: John, B.; Bauer, H.; Kayano, H.; Levan, A.; White, M. (eds.). *Animal Cytogenetics*, vol. 3, Insecta 5. Gebrüder Borntraeger. Berlin-Stuttgart.
- Snow, R.; Dunford, M. P. 1961. A study of interchange heterozygosity in a population of *Datura metooides*. *Genetics* 46, 1097-1110.
- Stebbins, G. L. 1950. *Variation and evolution in plants*. New York: Columbia Univ. Press.
- Stephens, R. T.; Bregman, A. A. 1972. The B-chromosome system of the grasshopper *Melanoplus femur rubrum*. *Chromosoma (Berl.)* 38, 297-311.
- Stevens, N. M. 1906. *Studies in spermatogenesis II*. Publ. Carneg. Inst. N° 36: Pf. I, 3-32.
- Sturtevant, A. H. 1919. Contributions to the genetics of *Drosophila melanogaster*. III. Inherited linkage variations in the second chromosome. *Carneg. Inst. Wash. Publ.* 278, 305-341.
- Suzuki, D. 1963. Interchromosomal effects on crossing-over in *Drosophila melanogaster*. II. A re-examination of X-chromosome inversion effects. *Genetics* 48, 1605-1617.
- Swanson, C. P. 1957. *Cytology and cytogenetics*. Englewood Cliffs,

New York: Prentice-Hall, Inc.

- Sybenga, J. 1975. Meiotic configurations. Monogr. on Theor. Appl. Genet., vol. 1 (Frankel, R.; Grossman, M.; de Zeeuw, D. eds.). Berlin-Heidelberg-New York: Springer.
- Tease, C. 1978. Cytological detection of crossing-over in BrdU substituted meiotic chromosomes using the fluorescens plus Giemsa technique. *Nature* 272, 823-824.
- Tease, C.; Jones, G. H. 1978. Analysis of exchange in differentially stained meiotic chromosomes of Locusta migratoria after BrdU substitution and FPG staining. I. Crossover exchanges in monochiasmate bivalents. *Chromosoma (Berl.)* 69, 163-178.
- Vaio, E. S. de; Goñi, B.; Rey, C. 1979. Chromosome polymorphism in populations of the grasshopper Trimerotropis pallidipennis from Southern Argentina. *Chromosoma (Berl.)* 71, 371-386.
- Vidal, O. R.; Giacomozzi, R. O.; Riva, R. 1977a. Los cromosomas de Typophorus nigritus Fab. (Coleoptera, Chrysomelidae, Eumolpinae). Polimorfismo $Xy (Xy_p)$ / $Xyy (Xyy_p)$. *Physis (c)* 37, 177-184.
- Vidal, O. R.; Giacomozzi, R. O.; Riva, R. 1977b. Los cromosomas de la subfamilia Dynastinae (Coleoptera, Scarabeidae). I. Inversión pericéntrica en Diloboderus abderus (Stum) 1862. *Physis (c)* 37, 303-309.
- Vidal, O. R.; Riva, R.; Giacomozzi, R. O. 1977c. Números cromosómicos de Coleoptera de la Argentina. *Physis (c)* 37, 341-342.
- Vidal, O. R.; Giacomozzi, R. O. 1979. Los cromosomas de la sub-

- familia Dynastinae (Coleoptera, Scarabeidae). II. Las bandas C en Enema pan (Fabr.). *Physis* (c) 38, 113-119.
- Vilardi, J. C. 1977. Estudios cromosómicos en el género Tropisternus (Coleoptera-Hydrophilidae). *Actas VIII Congr. Arg. Genet.* (Posadas, Misiones), 63-64.
- Vilardi, J. C. 1979. Estudios cromosómicos en seis especies del género Tropisternus (Coleoptera-Hydrophilidae). *Actas (I) IV Congr. Latinoam., X Congr. Arg. Genét.* (Mendoza), pag. 21.
- Vilardi, J. C. 1981a. Estudios cromosómicos en seis especies del género Tropisternus (Coleoptera-Hydrophilidae). *Mendeliana* 5, 9-18.
- Vilardi, J. C. 1981b. Polimorfismos cromosómicos y frecuencias de quiasmas en dos poblaciones de Staurorhectus longicornis (Orthoptera-Acrididae). *Actas XII Congr. Arg. Genét.* (Salta), pag. 25.
- Virkki, N. 1967. Chromosome relationships in some North American Scarabeoid beetles, with special reference to Pleocoma and Trox. *Canad. J. Genet. Cytol.* 9, 107-125.
- Virkki, N.; Reyes Castillo, P. 1972. Cytotaxonomy of Passalidae (Coleoptera). *An. Esc. Nac. Ci. Biol. Mexico* 19, 49-83.
- Wagenaar, E. B. 1960. Note on a case of localized asynapsis in Triticum. *Can. J. Bot.* 38, 265-267.
- Walén, K. H. 1964. Somatic crossing-over in relationship to heterochromatin in Drosophila melanogaster. *Genetics* 49, 905-923.
- Webb, G. C.; Westerman, M. 1978. G- and C-banding in the Australian grasshopper Phaulacridium vittatum. *Heredity* 41, 131-136.

- Westergaard, M.; von Wettstein, D. 1970. Studies on the mechanism of crossing-over. IV. The molecular organization of the synaptonemal complex in Neottiella (Cooke) Saccardo (Ascomycetes). C. R. Trav. Lab. Carlsberg 37, 239-268.
- Westerman, M. 1969. Parallel polymorphisms for supernumerary segments in Chorthippus parallelus (Zetterstedt). II. French populations. Chromosoma (Berl.) 26, 7-21.
- White, M. J. D. 1957a. Cytogenetics of the grasshopper Moraba scurra. I. Meiosis of interracial and interpopulation hybrids. Austr. J. Zool., 5, 285-304.
- White, M. J. D. 1957b. Cytogenetics of the grasshopper Moraba scurra. IV. Heterozygosity for "elastic constrictions". Austr. J. Zool. 5, 348-354.
- White, M. J. D. 1959. Telomeres and terminal chiasmata, a reinterpretation. Univ. Texas Publ. 5914, 107-111.
- White, M. J. D. 1965. Principles of karyotype evolution in animals. In: S. J. Geerts (ed.). Genetics Today (Proc. XI Int. Congr. Genetics) 2, 391-397.
- White, M. J. D. 1973a. Animal cytology and evolution (3rd ed.). Cambridge. At the University Press.
- White, M. J. D. 1973b. The chromosomes. (6th ed.). Chapman & Hall. London.
- White, M. J. D. 1978. Modes of speciation. W. H. Freeman & Co., San Francisco.
- White, M. J. D.; Morley, F. H. W. 1955. Effects of pericentric rearrangements on recombination in grasshoppers. Genetics 40, 607-619.
- Wolf, B. E. 1963. Kontrolle des crossingover vom temperaturbedingten allozykliegrad und vom α -heterochromatin des X-

- cromosoms bei Phryne cincta. Chromosoma (Berl.) 13, 646-701.
- Wright, S.; Dobzhansky, Th. 1946. Genetics of natural populations. XII. Experimental reproduction of some of the changes caused by natural selection in certain populations of Drosophila pseudoobscura. Genetics 31, 125-150.
- Zarchi, Y.; Simchen, G.; Hillel, J.; Schaap, T. 1972. Chiasmata and the breeding system in wild populations of diploid wheats. Chromosoma (Berl.) 38, 77-94.
- Zečević, L.; Paunović, D. 1969. The effect of B-chromosomes on chiasma frequency in wild populations of rye. Chromosoma (Berl.) 27, 198-200.
- Zickler, D. 1977. Development of the synaptonemal complex and the "recombination nodules" during meiotic prophase in the seven bivalents of the fungus Sordaria macrospora Auersw. Chromosoma (Berl.) 61, 289-316.